



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO ANIMAL**

**MARCADORES FENOTÍPICOS PARA  
CARACTERIZAÇÃO DE CAPRINOS COM DIFERENTES  
NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS ENDOPARASITOSES  
GASTRINTESTINAIS**

**RENATA MARIA ALVES COUTINHO**

**MACAÍBA / RN – BRASIL  
FEVEREIRO / 2012**

RENATA MARIA ALVES COUTINHO

**MARCADORES FENOTÍPICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE  
CAPRINOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS  
ENDOPARASITOSE GASTRINTESTINAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Giotto Zaros

MACAÍBA / RN – BRASIL  
FEVEREIRO DE 2012

Seção de Informação e Referência

Catálogo da Publicação na Fonte. UFRN / Biblioteca Central Zila Mamede

Coutinho, Renata Maria Alves

Marcadores fenotípicos para caracterização de caprinos com diferentes níveis de resistência às endoparasitoses gastrintestinais / Renata Maria Alves Coutinho. – Macaíba, RN, 2012.

61 f. : il.

Orientadora: Lilian Giotto Zaros.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Produção Animal.

**MARCADORES FENOTÍPICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE  
CAPRINOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS  
ENDOPARASITOSE GASTRINTESTINAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN, Unidade Acadêmica Especializada em Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Produção Animal.

APROVADA EM \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Lilian Giotto Zaros (UFRN)  
Presidente (Orientadora)

---

Prof. Dr. Luiz da Silva Vieira (Embrapa Caprinos e Ovinos)  
Co-Orientador / Examinador

---

Profa. Dra. Elizete Teresinha Santos Cavalcanti (UFRN)  
Examinadora

---

Profa. Dra. Maria de Fátima Souza (UFRN)  
Examinadora

Dedico este trabalho à minha mãe, meu exemplo de luta e dedicação, cujo apoio sempre foi essencial.

Ao meu esposo, pela paciência, apoio e amor.

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me proporcionado mais uma conquista.

A minha mãe, Maria do Céu Alves, que me orientou com amor, exemplo e muita garra, me incentivando em cada etapa que vivi, vencendo todos os obstáculos. A ela minha admiração.

Ao meu marido Juan Carlos Campero, fonte inesgotável de amor e incentivo, estimulando meus trabalhos junto a Universidade e fora dela, obrigada pela compreensão.

Aos meus amados familiares (irmãs, avó, tios e primos), que cada um, a sua maneira, torceu por mais essa conquista.

A Profa. Dra. Lilian Giotto Zaros pela oportunidade de ser sua aluna orientada e compartilhar de seus conhecimentos, por servir de exemplo de dedicação e competência, além da sua estimável amizade.

Ao Dr. Luiz da Silva Vieira, pelo acolhimento na Embrapa Caprinos e pela Co-orientação.

Ao Alberto Luiz de Andrade Júnior, sem ele teria levado o dobro de tempo para realizar boa parte dos trabalhos, muito obrigada!

A Flávia Aline Bressani pelo carinho, acolhimento e ensinamentos na Embrapa Pecuária Sudeste.

A Marcela Souza pela amizade e acolhimento em sua casa na cidade de São Carlos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da UFRN: Coordenadores, professores e funcionários.

A CAPES pelo apoio financeiro.

Aos meus colegas de Pós-Graduação da turma de 2010 da UFRN: Alano Luna, Mirela Gurgel, Cynthia Araújo, Vanessa Nunes, João Neto, Vitor Bruno e José Geraldo, pelos bons momentos vivenciados durante o curso.

Aos que me ajudaram no laboratório de Parasitologia da Embrapa Caprinos e Ovinos: Dona Helena, Sueline, Maximiana, Felipe e Camila.

Aos “Amigos do Projeto”: Aline, Luiz, Fernanda, Raí e Patrícia pelos momentos de descontração e cumplicidade.

A todos que contribuíram e torceram para conclusão de mais uma etapa.

## MARCADORES FENOTÍPICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE CAPRINOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS ENDOPARASITOSES GASTRINTESTINAIS

Coutinho, Renata Maria Alves. Marcadores fenotípicos para caracterização de caprinos com diferentes níveis de resistência às endoparasitoses gastrintestinais. 2012. 62 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal). Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. Macaíba-RN, 2012.

Resumo: O presente trabalho teve como objetivo de avaliar e caracterizar fenotipicamente caprinos com diferentes níveis de resistência a nematoides gastrintestinais. Em um período de 93 dias, 60 caprinos F2 oriundos do cruzamento de animais  $\frac{1}{2}$  Saanen e  $\frac{1}{2}$  Anglo-nubiano foram mantidos em uma mesma área de pastagem cultivada irrigada de capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. Cv Tanzânia). A cada sete dias, fezes e sangue foram coletados para contagem de ovos por grama de fezes (OPG), coproculturas, contagem de eosinófilos, determinação de volume globular e proteína plasmática total, respectivamente. No mesmo dia das coletas, os animais foram pesados e avaliados quanto ao escore da condição corporal e grau de anemia com auxílio no cartão FAMACHA. Com base na média de OPG, os doze animais com as maiores médias de OPG (grupo susceptível) e os doze animais com as menores médias de OPG (grupo resistente) foram identificados e selecionados para serem abatidos e necropsiados para a recuperação, contagem e identificação dos parasitos presentes. Os animais pertencentes ao grupo resistente apresentaram menor média de OPG ( $P < 0,0001$ ) e 4,7 vezes menos parasitos adultos do que os animais do grupo susceptível. O grupo resistente obteve maior média de volume globular (26,48%) e proteína plasmática total (6,24 g/dl) do que os animais susceptíveis (24,04% e 5,82g/dl, respectivamente). A média de eosinófilos foi semelhante nos dois grupos. O gênero *Haemonchus* foi o mais prevalente a nas coproculturas, seguido por *Trichostrongylus* e *Oesophagostomum*. A contagem de nematoides foi maior no abomaso do grupo susceptível do que no grupo resistente. As espécies identificadas foram *H. contortus* no abomaso e *T. colubriformis* no intestino delgado. Conclui-se que OPG, volume globular e proteína plasmática total foram marcadores fenotípicos eficientes para identificar animais resistentes e susceptíveis às infecções causadas por nematoides gastrintestinais.

PALAVRAS CHAVE: Caprinos, FAMACHA, nematoides, OPG, resistência, volume globular.

## PHENOTYPIC MARKERS TO CHARACTERIZE GOATS WITH DIFFERENT LEVELS OF RESISTANCE TO GASTROINTESTINAL NEMATODES

Coutinho, Renata Maria Alves. Phenotypic markers to characterize goats with different levels of resistance to gastrointestinal nematodes. 2012. 62 f. Master Science Degree in Animal Production. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN. Macaíba - RN, 2012.

**ABSTRACT:** The aim of this study was to evaluate and characterize phenotypically goats with different levels of resistance to gastrointestinal nematodes. For a period of 93 days, 60 F2 goats originated from ½ Saanen and ½ Anglo-nubian animals were kept in the same area of pasture. Every seven days, feces and blood were collected for eggs per gram counts of feces (EPG) and cultures of feces and to determine the number of eosinophils, packed cell volume and total plasma protein, respectively. On the same day, the animals were weighed and submitted to body score condition and FAMACHA method to worm control. Based on the average of EPG, the twelve animals with the highest average (susceptible group) and the twelve animals with the lowest average of EPG (resistant group) were selected, slaughtered and necropsied to recovery, counting and parasites identification. The resistant animals present lower EPG mean ( $P < 0.0001$ ) and 4.7 fold less parasites than susceptible animals. The resistant group presented higher mean packed cell volume (26.48%) and total plasma protein (6.24 g / dl) than susceptible one (24.04% e 5.82g/dl, respectively). The average number of eosinophils was similar in both groups. The *Haemonchus* sp. was the most prevalent in the culture of feces, followed by *Trichostrongylus* sp. and *Oesophagostomum* sp.. The counting of nematodes in the abomasum of susceptible group was higher than in resistant one. The species identified were *H. contortus* in abomasums and *T. colubriformis* in small intestine. It can be concluded that EPG, packed cell volume and total plasma protein were useful phenotypic markers to identify animals as resistant and susceptible to gastrointestinal nematodes infections.

**KEY WORDS:** Goats, EPG, FAMACHA, nematode, packed cell volume, resistance.



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Escala de escore de condição corporal segundo características de deposição de gordura do animal.....	28
TABELA 2	Efeito da variação do sexo dos animais e dos desafios (períodos entre as vermifugações) sobre as variáveis fenotípicas volume globular (VG), proteína plasmática total (PPT), eosinófilos (EOS), contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e peso corporal dos caprinos F2.....	32
TABELA 3	Média ( $\pm$ desvio padrão) de OPG, volume globular (VG), proteína plasmática total (PPT), eosinófilos (EOS) e peso dos caprinos F2 resistentes e susceptíveis a endoparasitoses gastrintestinais.....	33
TABELA 4	Coefficientes de correlação entre as variáveis utilizadas para caracterização fenotípica de caprinos F2 (n=60): volume globular (VG), Proteína plasmática total (PPT), contagem de ovos por grama de fezes (OPG), eosinófilos (EOS) e peso.....	42
TABELA 5	Frequência (porcentagem) de falsos negativos e positivos, verdadeiros negativos e positivos considerando os caprinos com FAMACHA 3, 4 e 5 anêmicos e volume globular $\leq 18\%$ , $\leq 19\%$ , $\leq 22\%$ , $\leq 24\%$ e $\leq 27\%$ positivo para anemia.....	44
TABELA 6	Eficácia do diagnóstico de anemia pelo método FAMACHA nos caprinos F2 resistentes e susceptíveis em relação ao VG ( $\leq 18\%$ , $\leq 19\%$ , $\leq 22\%$ , $\leq 24\%$ e $\leq 27\%$ ) e FAMACHA 3, 4 e 5 positivos para o quadro de anemia.....	45
TABELA 7	Média (mínimo-máximo) da contagem de nematoides gastrintestinais em caprinos F2 resistentes e susceptíveis a endoparasitoses gastrintestinais.....	49
TABELA 8	Comprimento total médio dos nematoides ( $\mu\text{m}$ ), dos espículos (menor e maior - $\mu\text{m}$ ) e ganchos espiculares (menor e maior - $\mu\text{m}$ -) dos machos e de ovojetor das fêmeas ( $\mu\text{m}$ ) recuperados dos animais dos grupos resistente e susceptível.....	50

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Esquema experimental demonstrando início do experimento (OPG=0), vermifugação e abate com base na média de OPG do rebanho .....	25
FIGURA 2	Local para avaliação da condição corporal e formas de palpação da região lombar em caprinos.....	28
FIGURA 3	Distribuição do escore da condição corporal dos caprinos do grupo resistente (a) e do grupo susceptível (b).....	39
FIGURA 4	Porcentagem de caprinos em cada classe do FAMACHA dos grupos resistente (A) e susceptível (B).....	40
FIGURA 5	Porcentagem de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais observadas nas coproculturas de caprinos F2.....	47
FIGURA 6	Imagens do microscópio óptico (aumento de 100x) dos nematoides gastrintestinais. A) <i>H. contortus</i> (região anterior – papilas cervicais). B) Órgão reprodutor masculino de <i>H. contortus</i> .C) Fêmea de <i>H. contortus</i> com tipo de vulva botão. D) Fêmea de <i>H. contortus</i> com tipo de vulva linguiforme. E) Fêmea de <i>H. contortus</i> com tipo de vulva lisa. F) <i>T. colubriformis</i> .....	51
FIGURA 7	Distribuição de acordo com o sexo do parasito <i>H. contortus</i> encontrado no abomaso de caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B).....	52
FIGURA 8	Distribuição do tipo de lábio vulvar em fêmeas do parasito <i>H. contortus</i> presente no abomaso dos caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B).....	52
FIGURA 9	Distribuição de acordo com o sexo do parasito <i>T. colubriformis</i> encontrado no intestino delgado de caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B).....	53

## SUMÁRIO

1.	REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
1.1	A CAPRINOCULTURA E AS ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS .....	12
1.2	REFERÊNCIAS .....	16
2.	MARCADORES FENOTÍPICOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE CAPRINOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS ENDOPARASIToses GASTRINTESTINAIS .....	19
	RESUMO.....	20
2.1	INTRODUÇÃO.....	21
2.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.2.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO E PERÍODO DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO.....	23
2.2.2	ANIMAIS EXPERIMENTAIS E SISTEMA DE MANEJO.....	23
2.2.3	ATIVIDADES EXPERIMENTAIS.....	24
2.2.4	ANÁLISES PARASITOLÓGICAS.....	25
	Contagem de OPG e coprocultura.....	25
2.2.5	ANÁLISES HEMATOLÓGICAS.....	26
	Volume Globular .....	27
	Contagem de Eosinófilos .....	27
	Proteína Plasmática Total .....	27
2.2.6	AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL E PESAGEM DOS ANIMAIS .....	27
2.2.7	DIANÓSTICO DE ANEMIA PELO MÉTODO FAMACHA .....	28
2.2.8	NECRÓPSIA PARA RECUPERAÇÃO DOS PARASITOS.....	29
2.2.9	CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DOS NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS .....	29
2.2.10	CORRELAÇÃO ENTRE VOLUME GLOBULAR E GRAU DE ANEMIA PELO MÉTODO FAMACHA.....	30
2.2.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	31
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	32
2.3.1	AVALIAÇÃO DAS FONTES DE VARIAÇÃO.....	32

2.3.2	CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS.....	32
2.3.3	CORRELAÇÕES ENTRE OS PARÂMETROS FENOTÍPICOS.....	42
2.3.4	COPROCULTURA.....	47
2.3.5	CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DOS NEMATÓIDES	
	GASTRINTESTINAIS .....	49
2.4	CONCLUSÃO.....	55
2.5	REFERÊNCIAS.....	56

# 1. REFERENCIAL TEÓRICO

## 1.1 A CAPRINOCULTURA E AS ENDOPARASITOSES GASTRINTESTINAIS

Atualmente a caprinocultura vêm despertando grande interesse na política econômica do país, pelo fato dos animais serem considerados de grande rusticidade, conseguindo produzir, mesmo que em sistemas não otimizados e em áreas secas e desprovidas de pastagem estável. Os caprinos são utilizados para a produção de alimentos de alto valor protéico como carne e leite, e a renda familiar das propriedades é incrementada pela venda de animais vivos, peles e esterco (Silva, 2008).

Entretanto, a caprinocultura é uma atividade que ainda precisa crescer para que possa se consolidar no mercado consumidor. Dentre os entraves encontrados por esta atividade, destacam-se as endoparasitoses gastrintestinais, reconhecidas mundialmente como fator limitante na produção de pequenos ruminantes, já que estão presentes desde o Equador até as regiões polares (TORRES-ACOSTA E HOSTE, 2008; VIEIRA et al., 2009).

As endoparasitoses gastrintestinais são responsabilizadas por elevadas perdas econômicas, em decorrência do retardo do crescimento dos animais, perda de peso, redução do consumo de alimento, queda na produção de leite, baixa fertilidade e nos casos de infecções severas, aumento das taxas de mortalidade (VIEIRA 2008; COSTA 2009), sendo os principais helmintos que acometem os caprinos pertencentes à classe Nematoda, e na sua grande maioria à família Trichostrongylidae (Lima, 2010). Os caprinos em grande parte são parasitados pelos nematoides *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus axei* no abomaso; *Strongyloides papillosus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Cooperia sp.* e *Bunostomum trigonocephalum*, no intestino delgado e *Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris ovis*, *T. globulosa* e *Skrjabinema sp.*, no intestino grosso. Desses parasitos, *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides papillosus* e *Oesophagostomum colubianum* são os que apresentam maior prevalência e maior intensidade de infecção, sendo considerados os nematoides de maior importância econômica para a exploração de caprinos e ovinos no Nordeste (MARTINS FILHO; MENEZES, 2001; VIEIRA, 2005; COSTA, 2009).

As enfermidades parasitárias que acometem os caprinos apresentam uma variedade de agentes etiológicos. Além disso, o manejo da criação e as condições

climáticas da região também exercem grande influência na prevalência das parasitoses. Para melhor compreensão, podem-se classificar os principais fatores que interferem na epidemiologia dos nematoides gastrintestinais em fatores ambientais e fatores do hospedeiro (VIEIRA, 2005).

Dentre os fatores ambientais, o clima, a topografia, o tipo e a lotação da pastagem devem ser conhecidos e estudados em diferentes regiões, uma vez que resultados obtidos em pesquisas realizadas em uma região nem sempre podem ser aplicados a outras localidades, já que cada região apresenta uma espécie de nematoide com maior incidência, uma vegetação ou variedade de capim específica, dentre outras variáveis (GENARI; AMARANTE, 2006).

Dentre os fatores relacionados aos hospedeiros destacam-se aqueles que têm influência na resposta imunológica. Animais mantidos em condições nutricionais precárias ou animais em gestação apresentam maior susceptibilidade às infecções por nematoides. Os animais mais jovens também são mais susceptíveis à infecção (GENARI; AMARANTE, 2006).

A raça é outro fator que tem merecido grande atenção em estudos em todo o mundo (GENARI; AMARANTE, 2006; AMARANTE *ET AL.*, 2009; LIMA, 2010). Fatores etários, raciais, individuais e de condição fisiológica interferem na resposta do hospedeiro contra os parasitos (AMARANTE *et al.*, 2009). Além desses, a boa alimentação dos animais, com utilização de dietas em níveis adequados de nutrientes, principalmente de proteína, apresenta-se como uma maneira efetiva de se diminuir a susceptibilidade dos animais, notadamente aqueles de maior exigência nutricional (BRICARELLO *et al.*, 2005, AMARANTE, 2004).

Para o controle das endoparasitoses gastrintestinais, o método mais utilizado é a administração de anti-helmínticos (MELO *et al.*, 2003). Porém, a utilização de fármacos com ação anti-helmíntica, além de elevar o custo de produção, compromete o ecossistema através da persistência de seus resíduos, podendo provocar graus de intoxicação variados, de forma extremamente efetiva induzindo o aparecimento de parasitos resistentes (URQUHART *et al.*, 1998).

Uma forma de tratamento muito recomendado é o controle integrado de parasitos (CIP) que é definido como a adoção de um conjunto de medidas estratégicas que visam principalmente reduzir a infecção dos animais e a contaminação da pastagem, assim como manter a eficácia dos fármacos. O CIP deve ser utilizado em todas as

situações, mas, particularmente quando existe resistência anti-helmíntica. São fatores essenciais para um bom desempenho desta metodologia, a disponibilidade de técnicas para o diagnóstico de resistência, verificação da eficiência dos anti-helmínticos, conhecimento da epidemiologia parasitária local e uma mudança na mentalidade dos técnicos e produtores para utilizar métodos menos dependentes dos anti-helmínticos (MOLENTO, 2005). Recentemente foram revisadas algumas das técnicas alternativas a serem utilizadas no Brasil, incluindo o manejo do rebanho e de pastagens, pastoreio rotacionado, descontaminação prévia das pastagens, pastoreio com alternância de categorias e ou espécies de hospedeiros, controle biológico, seleção genética, nutrição, vacinas e fitoterapia (CEZAR et al., 2008).

Outra maneira de reduzir os impactos causados pelas infecções gastrintestinais é através do tratamento seletivo, utilizando o método FAMACHA. Este foi desenvolvido na África do Sul (VAN WKY, 1997), tendo como principal alvo animais da espécie ovina. Seu objetivo é identificar clinicamente animais que apresentem diferentes graus de anemia frente à infecção por *H. contortus*, o que possibilita o tratamento de forma seletiva, sem a necessidade de recorrer a exames laboratoriais. Desse modo, são medicados apenas os animais que apresentam sintomas clínicos acentuados de endoparasitoses, deixando sem tratamento aqueles que não apresentam anemia clínica (Vilela *et al.*, 2008). Embora o método tenha sido desenvolvido para ovinos, adaptações são possíveis para a utilização em caprinos. A coloração da conjuntiva de caprinos sadios tem menor intensidade quando comparada a ovinos sadios (MOLENTO et al., 2004). Outra alternativa, ainda pouco utilizada, para o controle das endoparasitoses gastrintestinais é a seleção genética para a característica de resistência. Aumentar a resistência ou tolerância do rebanho é uma maneira de evitar os danos causados pelos nematoides e tem sido mais estudada e utilizada em ovinos e caprinos devido a importância econômica desses animais (AMARANTE, 2004). A identificação de animais com maior resistência diminui a contaminação das pastagens, o uso de anti-helmínticos e os danos causados pelos nematoides aos animais (GRAY, 1997).

A característica de resistência é herdável, daí a importância de selecionar animais mais resistentes aos nematoides, formando um rebanho que, a longo prazo, possa ser caracterizado como tolerante as endoparasitoses gastrintestinais (SOTOMAIOR, 2007). Esta característica vem sendo relacionada a características fenotípicas dos animais, que podem ser utilizadas como marcadores fenotípicos

(BENVENUTI, 2011; NEVES et al, 2012), visando a identificação daqueles animais com potencial genético para resistência às endoparasitoses gastrintestinais. Dentre os principais marcadores fenotípicos, destacam-se: volume globular (MATTOS et al., 2005; SILVA et al., 2008), variação da hemoglobina (LUZ et al., 2010), número de mastócitos (MEEUSEN et al., 2005), classificação do grau de anemia pelo método FAMACHA (SOTOMAIOR, 2007; SOLANO, 2008) e contagem de ovos nas fezes (BENVENUTI, 2011; NEVES et al., 2012), que tem sido o mais utilizado como critério de seleção (GOOD et al., 2006).

A utilização do OPG, volume globular, proteína plasmática total, eosinófilos sanguíneos e aplicação do método FAMACHA como marcadores fenotípicos vem se mostrando ferramentas viáveis na caracterização de caprinos e ovinos resistentes e susceptíveis a verminose gastrintestinal (BENVENUTI, 2011; NEVES et al., 2012). Parâmetros produtivos como escore da condição corporal e o ganho de peso também podem ser utilizados, desde que sejam acompanhados de outros marcadores fenotípicos (KENYON et al., 2009).



## 1.2 REFERÊNCIAS

- AMARANTE, A.F.T. Controle integrado de helmintos de bovinos e ovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, supl.1, p.68-71, 2004.
- AMARANTE, A. F. T. et al. Resistance of Santa Ines and crossbred ewes to naturally acquired gastrointestinal nematodes infections. **Veterinary Parasitology**, v.108, p.99-107, 2009.
- BENVENUTI, C.L. **Caracterização fenotípica de caprinos mestiços resistentes e susceptíveis a verminose gastrintestinal no Nordeste do Brasil**. Março de 2011. 100 f. Dissertação. Universidade Estadual Vale do Acaraú, Programa de Mestrado em Zootecnia. Sobral-CE, 2011.
- BRICARELLO, P.A. et al. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. **Veterinary Parasitology**. v 134,p. 99–109, 2005.
- CEZAR A.S., CATTO, J.B.; BIANCHIN, I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**. v. 38 (7), p. 2083-2091. 2008.
- COSTA, V.M. de M. **Doenças parasitárias em ruminantes no Semiárido e alternativas para o controle das parasitoses gastrintestinais em ovinos e caprinos**. 2009. 58 f. Dissertação.Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Saúde e Tecnologia Rural Campos de Patos Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária. Patos-PB, 2009.
- GENARI, S.M; AMARANTE, A.F.T. Helmintos de ovinos e caprinos. **Biológico**, v.67, n.1/2, p.13-17, 2006.
- GRAY, G. D. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. **Veterinary Parasitology**, v. 72, p.345-366, 1997.
- GOOD, B. et al. Texel sheep are more resistant to natural nematode challenge than Suffolk sheep based on fecal egg count and nematode burden. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p. 317-327, 2006.
- KENYON, F. et al. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. **Veterinary Parasitology**. Nova Zelândia, v.164, p. 3–11 , 2009.
- LIMA, A.R.C. de. **Potencial anti-helmíntico da folha de bananeira (*Musa sp*) em caprinos (*Capra hircus*) naturalmente infectados do semi-árido paraibano**. Monografia. Universidade Federal de Campina Grande. Patos, setembro de 2010.

- LUZ, D.O. et al. Eritrograma e variantes de hemoglobina em caprinos da raça Canindé. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootenia**, v.62, n.1, p.208-210, 2010.
- MARTINS FILHO, E.; MENEZES, R.C.A.A. Parasitos gastrintestinais em caprinos (*Capra hircus*) de uma criação extensiva na microrregião de Curimataú, Estado da Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v.10, n. 1, p. 41-44, 2001.
- MATTOS, M.J.T. et al. Influência do parasitismo por nematódeos sobre o perfil hematológico de caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Rio grande do Sul. v.57, n.1, p.133-135, 2005.
- MEEUSEN, E.N.; BALIC, A.; BOWLES, V. Cells, cytokines and other molecules associated with rejection of gastrointestinal nematode parasites. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 18, n. 108, p. 1215, 2005.
- MELO, A. C. F. L. et al. Nematodeos resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, p. 339-344, 2003.
- MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de equídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**. Santa Maria. v.35, n.6, p.1477, nov-dez, 2005.
- MOLENTO, M.B. et al. Método FAMACHA® como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1139-1145, 2004.
- NEVES, M.R.M. et al. Phenotypic markers to characterize Santa Inês crossbreed sheep naturally infected by gastrointestinal nematodes. No prelo. **Veterinary Parasitology**. Jan 2012.
- SILVA, C.A.S. et al. Estudo comparativo da carga parasitária e hematócrito em caprinos (*capra hircus* L.) abatidos em matadouro público. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande- PB, v.04, 01-06, 2008.
- SILVA, H.M. da. **Parasitismo gastrintestinal em diferentes intensidades de pastejo no capim tanzânia, em caprinos**. Abril de 2008. 109 f. Dissertação. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, São Paulo, abril de 2008.
- SOLANO, G.B. **Ensaio Preliminares para Validação do Método Famacha em Condições de Semi-Árido Paraibano**. Monografia. Universidade Federal de Campina Grande. Medicina Veterinária. Patos-PB, 2008.
- SOTOMAIOR, C.S. **Polimorfismo do gene da proteína prion celular (prpc) e a susceptibilidade/resistência ao scrapie em ovinos no estado do Paraná**. 2007. 136 f. Tese. Universidade Federal do Paraná, Pós-Graduação em Processos Biotecnológicos. Curitiba- PR, 2007.

TORRES-ACOSTA, J.F.T.; H. HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastrointestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminants**. Res. 77, 159–173. 2008.

URQUHART, G. M. et al. *Parasitologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 1998, 276 p.

VAN WYK, J. A.; MALAN, F. S.; BATH, G. F. Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa – what are the options? In: Workshop of managing anthelmintic resistance in endoparasites, 1997, Sun City, South Africa. **Proceedings...** Sun City. p.51-63, 1997.

VIEIRA, L. da S. **Endoparasitoses gastrintestinais em caprinos e ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2005. 32p. Embrapa Caprinos. Documentos, 58.

\_\_\_\_\_. **Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos**. *Tecnologia & Ciência Agropecuária*, João Pessoa, v.2, n.2, p.49-56, jun. 2008.

VIEIRA, L. da S. et al. **Panorama mundial dos métodos de controle de endoparasitoses**. In: **4º Simpósio Internacional Sobre Caprinos e Ovinos de Corte**. 2009, João Pessoa. Palestra.

VILELA, V. L.R. et al. Ensaio preliminares para validação do método FAMACHA em condições de Semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Patos-PB, Vol.17, Supl. 1, pág.154-157, 2008.

2. MARCADORES FENOTÍPICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE CAPRINOS  
COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS ENDOPARASITOSES  
GASTRINTESTINAIS

Trabalho submetido a revista:  
VETERINARY PARASITOLOGY  
Página eletrônica: <http://ees.elsevier.com/vetpar/>  
ISSN: 0304-4017

## MARCADORES FENOTÍPICOS PARA CARACTERIZAÇÃO DE CAPRINOS COM DIFERENTES NÍVEIS DE RESISTÊNCIA ÀS ENDOPARASITOSE GASTRINTESTINAIS

**RESUMO:** O objetivo deste estudo foi avaliar e caracterizar caprinos com diferentes níveis de resistência a nematoides gastrintestinais. Durante 93 dias, 60 caprinos F2, originados do cruzamento de animais ½ Saanen e ½ Anglo-nubiano, foram mantidos em área naturalmente contaminada por nematoides gastrintestinais. Semanalmente, fezes e sangue foram coletadas para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e coproculturas e para determinação do volume globular, número de eosinófilos e proteína plasmática total, respectivamente. No mesmo dia, os animais foram pesados e submetidos à avaliação de escore corporal e classificados quanto ao grau de anemia utilizando o método FAMACHA. Com base nos valores médios de OPG, os doze animais com a maiores médias (grupo susceptível) e os doze animais com a menores médias de OPG (grupo resistente) foram selecionados, abatidos e necropsiados para contagem e identificação dos parasitos. Os animais resistentes apresentaram contagens inferiores de OPG ( $P < 0,0001$ ) em relação a grupo susceptível. O grupo resistente obteve maior média de volume globular (26,48%) e proteína plasmática total (6,24 g/dl) do que os animais susceptíveis (24,04% e 5,82g/dl, respectivamente). A média de eosinófilos foi semelhante nos dois grupos. O grupo resistente apresentou maior média de peso em comparação ao grupo susceptível (23,17 kg e 19,17 kg, respectivamente), sendo que os animais desse grupo também obtiveram melhores índices de condição corporal. Quanto ao FAMACHA, animais do grupo resistente obtiveram maior percentual na classe 2 (20%) do que os animais do grupo susceptíveis (5,26%), e apenas este grupo apresentou animais com FAMACHA 4 (4,21%). *Haemonchus* sp. foi o gênero predominante nas coproculturas, seguido de *Trichostrongylus* sp. e *Oesophagostomum* sp. O número de nematoides no abomaso foi 4,7 vezes maior no grupo susceptível do que no grupo resistente. As espécies identificadas foram *H. contortus* no abomaso e *Trichostrongylus colubriformis* no intestino delgado. Pode-se concluir que o OPG, volume globular e proteína plasmática total foram marcadores fenotípicos úteis para identificar animais resistentes e susceptíveis às infecções por nematoides gastrintestinais.

Palavras-chave: Caprinos, FAMACHA, nematoides, OPG, resistência, volume globular.

## 2.1 INTRODUÇÃO

O rebanho caprino mundial ocupa a quarta posição, com aproximadamente 890 milhões de cabeças, ficando atrás apenas de bovinos, ovinos e suínos. Um dos fatores principais para essa colocação foi o crescimento do rebanho nas últimas décadas, que comparativamente ao bovino, cresceu cinco vezes mais. Este crescimento ocorreu principalmente em países em desenvolvimento que multiplicaram seus rebanhos, em detrimento de países desenvolvidos que tiveram seus rebanhos estabilizados ou reduzidos (FAO, 2008). O Brasil está entre os dez maiores rebanhos de caprinos do mundo, sendo a Índia a detentora do primeiro lugar, com rebanho superior a 100 milhões de cabeças (FAO, 2008) e o Brasil com 9.355 milhões de animais, estando 91,1% concentrado na região Nordeste (IBGE, 2008).

Como a atividade está concentrada principalmente em pequenas propriedades e por se tratar de umas das principais fontes de proteína para a população de baixa renda, a caprinocultura tem grande importância socioeconômica no Brasil. Entretanto, é uma atividade que precisa de investimentos em capacitação e tecnologias para que esta se desenvolva e se estabeleça com uma produção crescente e uniforme (AHID et al., 2007).

Dentre os vários entraves encontrados neste tipo de exploração, os problemas sanitários podem ser citados como principais causadores de perdas na produção, com destaque para as endoparasitoses gastrintestinais que constituem um dos desafios para a produção de caprinos, especialmente nas regiões tropicais (VIEIRA, 2005).

Essa enfermidade afeta diretamente o retorno econômico na exploração de pequenos ruminantes, onde o impacto sobre a produção é consequência do atraso no crescimento dos animais, perda de peso, redução no consumo de alimentos, queda na produção de leite, baixa fertilidade e até mortalidade nas categorias mais susceptíveis. Os efeitos das helmintoses no rebanho se manifestam de várias maneiras, podendo variar de acordo com as espécies presentes, a intensidade de infecção e a categoria animal, além de ser altamente influenciada pelo estado fisiológico e nutricional do hospedeiro (VIEIRA, 2008).

Na atualidade, observa-se intensa realização de estudos que buscam alternativas de controle, como avaliação da utilização de fitoterápicos ou a ação de substâncias isoladas de plantas, além de estudos com homeopatia e fungos nematófagos

(VIEIRA, 2008). Além disso, a necessidade de tornar os sistemas de produção mais sustentáveis e de gerar produtos de origem animal livres de resíduos químicos têm estimulado a busca de métodos alternativos para o controle sanitário dos pequenos ruminantes (BENAVIDES, 2008).

Dentre as mais recentes estratégias de controle das endoparasitoses gastrintestinais destacam-se o estudo dos mecanismos imunológicos da resistência, a identificação de genes que influenciam a resistência adquirida ou inata a parasitos (ZAROS, 2006; ZAROS et al., 2007; BRICARELLO et al., 2008) e a criação de raças ou de indivíduos de uma mesma raça mais resistentes (GASBARRE et al., 2001; SONSTEGARD; GASBARRE, 2001; MATIKA et al., 2003). Desse modo, para selecionar as raças ou os animais que melhor respondem às endoparasitoses gastrintestinais, são utilizados marcadores fenotípicos como contagem de ovos por grama de fezes (OPG), volume globular, proteína plasmática total e contagem de eosinófilos, que monitoram a resposta do hospedeiro ao desafio parasitário, possibilitando caracterizá-lo como resistente ou susceptível (ZAROS et al., 2009; BENVENUTI et al., 2010).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivos:

- 1- Avaliar a utilização de marcadores fenotípicos para caracterização de caprinos mestiços  $\frac{1}{2}$  Saanen x  $\frac{1}{2}$  Anglo-nubiano resistentes e susceptíveis às endoparasitoses gastrintestinais;
- 2- Quantificar e identificar os nematoides gastrintestinais encontrados nos dois grupos de animais avaliados;
- 3- Correlacionar os parâmetros fenotípicos avaliados.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO E PERÍODO DE EXECUÇÃO DO EXPERIMENTO

O experimento foi realizado na Fazenda Experimental Santa Rita, da Embrapa Caprinos e Ovinos, localizada no município de Sobral, Ceará, a uma latitude de 3°42'59.01" S e longitude de 40°23'21.57". A região apresenta clima megatérmico, seco, com precipitação média de 798 mm no período chuvoso, que se concentra nos meses de janeiro a junho, o que equivale a 92,55% do total médio anual. A média da umidade relativa do ar é de 69% e as temperaturas anuais em torno de 35°C, 28°C e 22°C a máxima, média e mínima, respectivamente (NEVES, 2010).

O período experimental foi realizado entre os dias 30 de novembro 2009 a 04 de março de 2010. Durante este período foram coletadas amostras de fezes e sangue dos animais experimentais, realizada pesagem corporal, determinado os graus de anemia pelo método FAMACHA, escore da condição corporal, realizados exames parasitológicos (OPG e coproculturas) e dos exames hematológicos (volume globular, eosinófilos e proteína plasmática total).

As análises parasitológicas e hematológicas foram realizadas no Laboratório de Parasitologia da Embrapa Caprinos e Ovinos. A contagem dos parasitos foi realizada no Laboratório de Química da Unidade Especializada em Ciências Agrárias-UFRN e a identificação das espécies dos parasitos presentes foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Aquática do Departamento de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte- UFRN.

### 2.2.2 ANIMAIS EXPERIMENTAIS E SISTEMA DE MANEJO

A partir do cruzamento de quatro machos da raça Anglo-nubiano com fêmeas da raça Saanen, foi gerada uma população F1 de animais ½ sangue Anglo-nubiano e ½ sangue Saanen, de ambos os sexos. Estes animais F1 não aparentados foram acasalados entre si para gerar a população de animais F2 (BENVENUTI, 2011). Destes, 60 animais



F2 de ambos os sexos, pertencentes ao quarto lote de parição e com idade variando entre quatro e cinco meses, foram utilizados nesse estudo.

Esses animais foram inicialmente vermifugados, em dias alternados, com anti-helmínticos de quatro grupos químicos diferentes: Closantel (10mg/kg); Ivermectina (0,2mg/kg); Levamisol (7,5mg/kg) e Moxidectin (0,2mg/kg), com o objetivo de eliminar as infecções pré-existentes.

Após a vermifugação e confirmação através da contagem de ovos nas fezes (OPG) que os animais estavam livres de infecção, estes foram alocados na área experimental, constituída por pastagem cultivada e irrigada de capim-tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia), naturalmente contaminada por larvas de trichostrongilídeos. Nesse período, a contagem de OPG foi monitorada, e quando esta apresentou-se positiva (OPG  $\neq$  0, na terceira semana após a vermifugação), deu-se início ao experimento.

Durante o período experimental, os animais receberam diariamente 250g de concentrado/cabeça, composto por 61% de milho, 37,6% de farelo de soja, 0,7% de calcário e 0,7% de fosfato bicálcico, água e sal mineral *ad libitum*. Os animais foram submetidos ao manejo sanitário usual da Embrapa Caprinos e Ovinos.

### 2.2.3 ATIVIDADES EXPERIMENTAIS

Semanalmente, por um período de 93 dias, foram coletadas amostras de fezes para realização de exames parasitológicos, correspondentes a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e coprocultura; e amostras de sangue para exames hematológicos, correspondentes à análise do volume globular, proteína plasmática total e contagem de eosinófilos dos 60 animais experimentais. No mesmo dia, estes foram pesados, avaliados quanto ao escore de condição corporal e diagnosticado o grau de anemia através do exame da mucosa ocular com base no cartão FAMACHA.

Quando o OPG médio do rebanho atingiu 800 ovos/g de fezes foram realizadas coletas de sangue e fezes durante três dias consecutivos, encerrando a primeira fase do período experimental (primeiro desafio - 44º dia). Neste mesmo dia, os animais foram vermifugados com os mesmos quatro anti-helmínticos acima citados e a contagem de OPG foi acompanhada até que esses valores estivessem zerados. Em seguida, os

animais foram submetidos a um segundo desafio natural, seguindo o mesmo parâmetro de OPG, diferindo apenas pelo fato de que, quando os caprinos atingiram novamente a média de 800 ovos/g de fezes, estes não foram vermifugados (MCEWAN, 1994) (FIGURA 1).

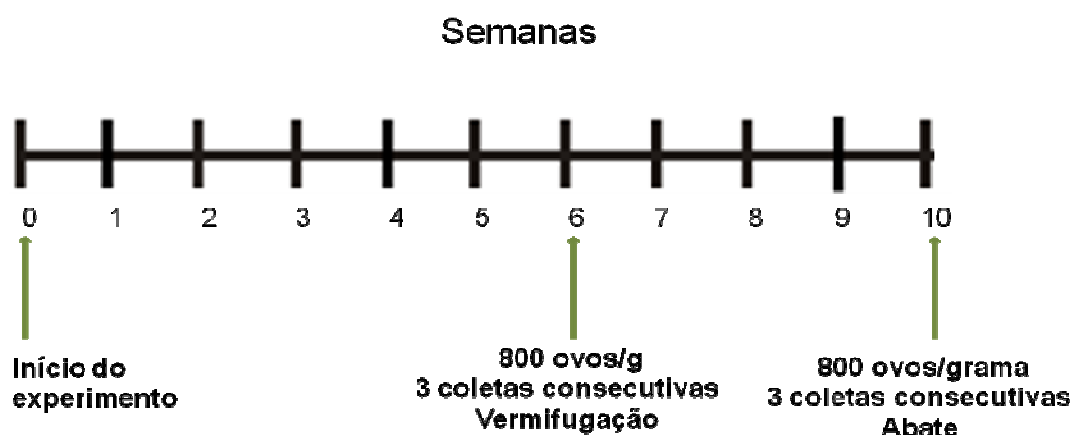


FIGURA 1 - Esquema experimental demonstrando início do experimento (OPG=0), vermifugação e abate com base na média de OPG do rebanho.

Ao final do segundo desafio, com base nos valores médios de OPG de todo período experimental, os 12 animais com as menores médias foram caracterizados como resistentes e os 12 animais com as maiores médias de OPG foram caracterizados como susceptíveis às endoparasitoses gastrintestinais. Em seguida, estes foram abatidos e necropsiados para recuperação do conteúdo do abomaso e intestino delgado, para posterior contagem dos nematoides presentes e identificação das espécies.

#### 2.2.4 ANÁLISES PARASITOLÓGICAS

##### Contagem de OPG e coprocultura

Amostras fecais foram colhidas a cada sete dias, de todos os animais, individualmente, diretamente da ampola retal para a realização da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), segundo a técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificada por Ueno e Gonçalves (1998).

A técnica consistiu em macerar dois gramas de fezes em backer de 100 mL, completando-se o volume final para 60 mL com solução hipersaturada de açúcar (2L de água para 1 kg de açúcar). Em seguida, o material foi peneirado em tamís de 80 malhas por polegadas, obtendo conteúdo homogeneizado que foi colocado em câmaras de McMaster com duas áreas de 0,15 mL cada e realizada a contagem dos ovos em microscópio óptico (em objetiva de 10). O total de ovos encontrados nas duas áreas foi multiplicado por 100, em função da proporção de fezes examinada, onde cada área de contagem da câmara corresponde à centésima parte de um grama de fezes.

Para a realização das coproculturas utilizaram-se as fezes que excederam da coleta para os exames de OPG. Estas foram realizadas segundo a metodologia de Roberts e O'Sullivan (1950), onde um pool de fezes foi macerado e colocado em frascos de vidro de 200 mL devidamente identificado, utilizando aproximadamente 50% da sua capacidade. Em seguida o material foi umedecido e o frasco parcialmente fechado para que houvesse aeração do cultivo, simulando assim, o ambiente em que o parasito vive em seu estágio de vida livre, favorecendo/estimulando o desenvolvimento até o estágio infectante (L3).

Após sete dias, tempo estimado para o desenvolvimento das larvas, o frasco foi completamente preenchido com água corrente até a borda e tampado com uma placa de Petri, invertendo-se rapidamente, fazendo com que todo o líquido presente no frasco fosse despejado na placa. Após quatro horas o material contido na placa foi colhido com uma pipeta e uma gota da amostra (aproximadamente 0,1 mL) foi colocada em lâmina para a contagem das larvas. Adicionou-se lugol para provocar a paralisação das larvas. A identificação das larvas infectantes baseou-se nas características morfológicas descritas por Keith (1953).

#### 2.2.5 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS

Semanalmente, amostras individuais de sangue foram coletadas através da veia jugular dos animais em tubos vacutainer de 5 mL com EDTA. Estas foram utilizadas para determinação do volume globular, proteína plasmática total e contagem de eosinófilos.

## Volume Globular

O volume globular foi mensurado através do método do micro-hematócrito. Os tubos capilares foram preenchidos com amostras de sangue e submetidos à centrífuga para micro-hematócrito durante dez minutos, a uma velocidade de 15.000 Xg. Em seguida foi realizada a leitura com o auxílio do cartão de micro-hematócrito (JAIN, 1993).

## Contagem de Eosinófilos

Os eosinófilos foram quantificados em câmara de Neubauer, sob microscopia óptica utilizando objetiva de 10 x, após terem sido corados com solução de Carpentier (DAWKINS et al., 1989). As contagens foram expressas em número de eosinófilos por microlitro de sangue.

## Proteína Plasmática Total

Para avaliação da proteína plasmática total, o plasma de cada tubo de micro-hematócrito (utilizado para o volume globular) foi observado em refratômetro manual, seguindo a metodologia descrita por Wolf et al., 1962.

## 2.2.6 AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO CORPORAL E PESAGEM DOS ANIMAIS

Para avaliação da condição corporal utilizou-se uma escala numérica de 1 a 5, baseando-se na palpação da região lombar dos animais experimentais (FIGURA 2), mimetizando-se um movimento de pinças com aplicação de pressão constante.



FIGURA 2: Local para avaliação da condição corporal e formas de palpção da região lombar em caprinos. (Fonte: MACHADO et al., 2008)

Os critérios baseados na palpção da região lombar adotados para as escalas dos escores podem ser visualizados na Tabela 1.

Tabela 1: Escala de escore de condição corporal segundo características de deposição de gordura do animal.

Escore de condição corporal	Característica do animal
Escore 1	Magreza severa, cobertura muscular de no máximo dois terços da apófise transversa, facilidade para palpar e localizar as apófises articulares
Escore 2	Cavidades dos espaços entre as apófises transversas são palpáveis sem pressão e a pele determina uma linha côncava entre os pontos da apófise
Escore 3	Espaço do ângulo vertebral está preenchido, a pele determina uma linha reta entre os pontos das apófises, mas as apófises espinhais são bem detectáveis
Escore 4	Apófises dificilmente são detectadas, a pele determina uma linha convexa entre as pontas da apófise, os músculos do dorso formam uma zona plana
Escore 5	Marca da linha do dorso é pronunciada e os músculos estão arredondados de cada lado

(MACHADO et al., 2008)

O peso dos animais foi determinado em balança com capacidade de 200 Kg, e a partir destes dados foi calculado o ganho de peso dos animais.

### 2.2.7 DIANÓSTICO DE ANEMIA PELO MÉTODO FAMACHA

Os níveis de anemia pelo método FAMACHA foram determinados pela observação da conjuntiva dos animais, comparando as diferentes tonalidades com o cartão guia desenvolvido para utilização no campo, variando de vermelho-robusto até o quase branco, representados pelos números de 1 a 5. Os animais foram examinados sob luz natural e todo o procedimento foi realizado seguindo metodologia de Van Wyk et al. (1997).

### 2.2.8 NECRÓPSIA PARA RECUPERAÇÃO DOS PARASITOS

Com base nas médias de OPG dos 60 animais monitorados durante todo o experimento, estes foram caracterizados em dois grupos: resistente (aquele com as menores médias de OPG, n=12) e susceptível (aquele com as maiores médias de OPG, n=12) e foram abatidos de acordo com o Regulamento Técnico de Métodos de Insensibilização para o Abate Humanitário de Animais (IN Nº 3 - MAPA, 2000) e necropsiados para a recuperação dos nematoides presentes.

Durante a necropsia o trato gastrointestinal foi removido, sendo o abomaso e intestino delgado separados por ligaduras duplas e em seguida abertos com auxílio de enterótomos para proceder a lavagem e posterior filtragem do conteúdo em tamis de 180 malhas por polegadas para o conteúdo do abomaso e 230 malhas por polegadas para o conteúdo do intestino delgado. Um total de 20% dos conteúdos do abomaso e intestino delgado foi conservado em solução de Railliet (5% formol, 2% ácido acético e 93% solução fisiológica) para posterior contagem e identificação das espécies presentes (UENO; GONÇALVES, 1998).

### 2.2.9 CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DOS NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS

Para a contagem dos nematoides gastrintestinais, o conteúdo coletado durante a necropsia foi colocado em placa de Petri e adicionado água. Utilizando um microscópio

estereoscópio, os parasitos presentes no material foram capturados, contados e conservados em solução AFA (299 ml álcool PA, 90 ml formol a 40%, 15 mL ácido acético e 596 mL água destilada) para posterior identificação das espécies presentes.

Para isso, uma amostragem 100 parasitos/animal/órgão foi fixada em lâminas com goma de Hoyer (50 mL de água destilada; 30g de goma arábica; 200g de hidrato de chloral; 20 mL de glicerol) e posteriormente mensurados em microscópio óptico com auxílio de ocular micrométrica acoplada. Em todos os exemplares foram obtidas medidas do comprimento corporal, comprimentos dos espículos e ganchos espiculares nos machos e comprimento do ovojetor e classificação do apêndice vulvar (botão, linguiforme ou liso) nas fêmeas (UENO; GONÇALVES, 1998; URQUHART et al., 1998)

#### 2.2.10 CORRELAÇÃO ENTRE VOLUME GLOBULAR E DIAGNÓSTICO DE DE ANEMIA PELO MÉTODO FAMACHA

Para as análises de correlação entre VG e FAMACHA, foram considerados os valores de  $VG \leq 18\%$ ,  $VG \leq 19\%$ ,  $VG \leq 22\%$ ,  $VG \leq 24\%$  e  $VG \leq 27\%$  e FAMACHA 3, 4 e 5 como ponto de corte, tendo como base os resultados encontrados na literatura (VATTA et al., 2001; BURKE et al., 2007; MAHIEU et al., 2007; NEVES et al., 2012; BENVENUTI, 2011).

Os resultados de FAMACHA 1 ou 2 foram considerados negativos. Animais com FAMACHA 3, 4 ou 5 e VG abaixo dos pontos de corte foram considerados verdadeiro positivos; FAMACHA 1 ou 2 e VG acima do ponto de corte como verdadeiro negativos; FAMACHA 3, 4 ou 5 e VG acima do ponto de corte como falso positivos e FAMACHA 1 ou 2 e VG abaixo do ponto de corte como falso negativos. Foram calculados sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo e valor preditivo positivo de acordo com a metodologia de VATTA et al., (2001)

## 2.2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva (média, mediana, máximo, mínimo e desvio padrão) seguindo-se análise inferencial, utilizando-se o programa R versão 2.13.1 (R Development Core Team, 2011). A normalidade dos dados foi testada através do teste de Shapiro Will, sendo que os dados de contagens de OPG e do número de eosinófilos que não atenderam aos pressupostos de normalidade, foram transformados utilizando o  $\log_{10}(x + 1)$ , a fim de se estabilizar a variância.

Para identificar a existência de diferença significativa entre o grupo de caprinos resistentes e susceptíveis quanto às variáveis estudadas, foi aplicado o “Teste t de Student” (MAGALHÃES et al., 2005), considerando 1% como nível de significância.

Para correlacionar os parâmetros fenotípicos quantitativos (volume globular, proteína plasmática total, contagem de eosinófilos, OPG e peso) foi utilizada a correlação de Pearson considerando 1% como nível de significância.

Sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo e valor preditivo positivo do método FAMACHA foram calculados com base na metodologia de Vatta et al.,(2001). Foi utilizado o teste exato de Fisher para mensurar o grau de associação (dependência) entre o volume globular e o FAMACHA (PAULINO; SINGER, 2006). De acordo com Vatta *et al.*(2001), foi aplicada uma equação com o intuito de maximizar a sensibilidade e a especificidade do método FAMACHA. Esta foi calculada considerando-se = (sensibilidade + especificidade) / 2.



## 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 2.3.1 AVALIAÇÃO DAS FONTES DE VARIAÇÃO

As fontes de variação do experimento foram o sexo dos animais e os desafios (períodos entre as vermifugações), já que todos estiveram sob as mesmas condições durante a fase experimental. Estas foram testadas sobre as variáveis fenotípicas volume globular, proteína plasmática total, contagem de eosinófilos, contagem de ovos por grama de fezes e peso (Tabela 2).

Tabela 2: Efeito da variação do sexo dos animais e dos desafios (períodos entre as vermifugações) sobre as variáveis fenotípicas contagem de ovos por grama de fezes (OPG), volume globular (VG), proteína plasmática total (PPT), eosinófilos (EOS) e peso corporal dos caprinos F2

Variável	Sexo ( <i>Valor-p</i> )	Desafios ( <i>Valor-p</i> )
OPG	0,2935	1,0000
VG	0,5031	0,9980
PPT	0,8933	1,0000
EOS	0,8838	1,0000
PESO	0,0143	1,0000

Como o *valor-p* em relação ao sexo apresentados na tabela acima foram maiores que o nível de significância considerado de 0,01, não houve influencia do sexo dos animais, exceto na variável peso, que se apresentou nos limites de confiabilidade do teste ( $p= 0,0143$ ), como era esperado. Com relação aos desafios, ou seja, os dois períodos compreendidos entre as vermifugações, não foi verificada influência sobre as variáveis estudadas (*valor-p* maior que o nível de significância de 0,01).

### 2.3.2 CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS

Ao iniciar o experimento todos os animais apresentaram contagem de ovos nas fezes igual a zero, ou seja, todos estavam livres de infecções parasitárias, sendo que,

durante o período experimental, observou-se que a contagem de ovos nas fezes por grama (OPG) média dos animais classificados como resistentes, foi de 763 ovos/g, inferior a contagem de ovos nas fezes média dos animais classificados como susceptíveis, que foi de 3631 ovos/g ( $P < 0,01$ ). Ao comparar os valores médios da OPG dos animais susceptíveis com os dos resistentes, pôde-se observar um aumento de OPG de 4,7 vezes nos animais susceptíveis ( $P < 0,01$ ).

O grupo resistente também apresentou maiores valores médios de volume globular, proteína plasmática total e peso corporal ( $P < 0,01$ ). Os valores médios destas variáveis, bem como OPG e eosinófilos podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3: Média ( $\pm$ desvio padrão) de OPG, volume globular (VG), proteína plasmática total (PPT), eosinófilos (EOS) e peso dos caprinos F2 resistentes e susceptíveis a endoparasitoses gastrintestinais.

Características fenotípicas	Grupo resistente	Grupo susceptível	Valor-p
OPG (ovos /grama)	763,00 ( $\pm$ 359,8)	3631,00 ( $\pm$ 1543,00)	0,0000005
VG (%)	26,48 ( $\pm$ 1,25)	24,04 ( $\pm$ 1,56)	0,00019
PPT (g/dl)	6,24 ( $\pm$ 0,21)	5,82 ( $\pm$ 0,40)	0,003
EOS (células/ $\mu$ l de sangue)	669,60 ( $\pm$ 273,89)	769,40 ( $\pm$ 275,82)	0,6032
PESO (kg)	23,17 ( $\pm$ 3,42)	19,87 ( $\pm$ 3,89)	0,0186

As maiores médias de OPG foram observadas na sexta semana do experimento, tanto no grupo resistente (1.491 ovos/g) como no grupo susceptível (1.450 ovos/g). Foi neste período que os animais foram vermifugados e após confirmação que a média de OPG apresentou-se nula no rebanho, os animais foram realocados em mesma área de pastagem anterior a vermifugação, sendo assim, submetidos a um novo desafio. Após este fase, na sétima semana de coleta, o OPG apresentou-se nulo. Duas semanas após o segundo desafio, o OPG de todos os animais aumentou acentuadamente, principalmente no grupo susceptível. Os animais foram abatidos na décima semana do experimento, quando o OPG médio do grupo resistente foi de 500 ovos/g e do grupo susceptível de 2.166 ovos/g. O acompanhamento da contagem de OPG permitiu inferir que após segunda vermifugação (segundo desafio) o grupo resistente apresentou uma melhor resposta a infecção por nematoides gastrintestinais quando comparado ao grupo

susceptível, já que a média da contagem de ovos por grama no grupo susceptível foi 4,33 vezes mais elevada ao final do período experimental (décima semana).

De acordo com os resultados do presente estudo, pôde-se observar que as contagens seriadas de OPG permitiram identificar animais resistentes e susceptíveis a nematoides gastrintestinais. Em vários outros estudos, a contagem de OPG também se mostrou marcador fenotípico eficiente para a identificação de animais resistentes (MILLER et al., 2006; ZAROS et al., 2009; BENVENUTI, 2011; NEVES et al., 2012). Costa et al, (2000) utilizaram a contagem de OPG para avaliar a resistência a nematóides gastrintestinais em caprinos das raças Anglo-nubiano, Bhju e Canindé, e verificaram que esta é uma ferramenta útil para identificar não somente animais mais resistentes, como também raças mais resistentes.

Basseto et al., (2009) pesquisando a contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose, observaram que os animais do grupo resistente apresentaram média geral de 885 ovos/g e os animais do grupo susceptível media geral de 3.640 ovos/g. O valor médio na contagem de OPG do grupo susceptível foi de 4,1 vezes maior que o valor da contagem de OPG do grupo resistente, tendo portanto semelhança com o presente trabalho.

Benvenuti et al., (2010) em pesquisa realizada com caprinos oriundos do mesmo cruzamento aqui apresentado (animais F2, oriundos de animais  $\frac{1}{2}$  Anglo-nubiano e  $\frac{1}{2}$  Saanen), utilizando os três lotes anteriores, demonstraram que o grupo resistente apresentou média geral de 555 ovos/g e o grupo susceptível de 1.656 ovos/g. Ao comparar os valores médios de OPG dos animais susceptíveis com os dos resistentes, observou um aumento de 5,5 vezes maior nos animais susceptíveis. Também foi constatado, como no estudo atual, que houve um aumento da infecção por nematóides gastrintestinais ao longo do experimento em ambos os grupos.

Neves et al. (2012) caracterizaram fenotipicamente ovinos mestiços Santa Inês naturalmente infectados por *H. contortus* e observaram que durante o período experimental, o OPG médio dos animais classificados como resistentes, foi de 455,90 ovos/g, inferior ao OPG médio dos animais classificados como susceptíveis, que foi de 4.239,20 ovos/g. No estado da Bahia, Cavele et al. (2011) em estudos utilizando caprinos Anglo-nubiano e seus cruzamentos, também constataram diferença na

contagem de OPG entre um grupo com potencial para resistência (OPG médio de 1.064,1) e um grupo com potencial para susceptibilidade (OPG médio de 2.985,2).

Em relação aos parâmetros hematológicos avaliados, foi observado que os animais caracterizados como resistentes apresentaram maiores médias de volume globular (26,48% e 24,04%) e proteína plasmática total (6,24 g/dl e 5,82 g/dl) em relação ao grupo susceptível ( $P < 0,01$ ). Quanto à contagem de eosinófilos, não foi observada diferença significativa entre os dois grupos ( $P > 0,01$ ).

Os animais do grupo resistente apresentaram volume globular mínimo de 24,20% e máximo de 28,40% e o grupo susceptível mínimo de 21,10% e máximo de 26,20%. Ao decorrer do experimento, com o aumento de OPG, o volume globular decresceu em ambos os grupos, sendo mais acentuado no grupo susceptível. Esta diferença também foi detectada por Sotomaior et al. (2007) ao acompanhar caprinos na região Sul do Brasil, em que a média do volume globular foi de 29,7% no grupo resistente e de 22,8% no grupo susceptível.

Diversos estudos realizados com caprinos vêm mostrando que os principais efeitos do parasitismo por nematoides gastrintestinais, em especial por *H. contortus*, foram a diminuição do VG, do número de hemácias, da concentração da hemoglobina e de proteínas plasmáticas (Bisset et al., 1996). Dados encontrados por Bezerra et al. (2008) corroboram com os resultados do presente trabalho ao verificar o perfil hematológico de 143 cabras leiteiras clinicamente sadias criadas no Cariri paraibano, que apresentaram volume globular em torno de  $27\% \pm 3$ . Faria Júnior et al. (2002) também verificaram que, sob condições de infecção natural, houve impacto do OPG sobre os parâmetros clínicos e hematológicos. Para isso foram utilizados 30 animais divididos em três grupos de acordo com o OPG (grupo I = até 500; grupo II = de 501 a 2.000 e grupo III OPG superior a 2.000) e cujos valores de volume globular médio foram: 23,77% no grupo I, 23,03% no grupo II e 18,33% no grupo III, observando assim uma associação entre altos níveis de infecção e o volume globular.

Em cabras Saanen, naturalmente infectadas por nematoides gastrintestinais e com OPG acima de 3000 ovos/g, Souza et al. (2006) encontraram valores de VG de 22%. Estes autores classificaram esta infecção como leve quando os animais apresentaram OPG entre 501 e 1500 ovos/g, moderada quando o OPG foi de 1501 a 3000 ovos/g e pesada, quando este foi maior que 3000 ovos/g. Silva (2008) em trabalho realizado com caprinos no estado da Paraíba, constatou que durante o experimento

houve decréscimo do volume globular, sendo inversamente proporcional à carga parasitária, variando de 18% a 33% com média de 27,8%. Zaros et al. (2009) em estudos realizados no estado do Ceará utilizando ovinos da raça Somalis observaram que a porcentagem de volume globular foi maior no grupo resistente (27,2%) do que no grupo susceptível (22,5%). No mesmo estado, Neves et al. (2012) também observou diferença significativa neste parâmetro entre o grupo resistente e susceptível em um rebanho de ovinos mestiços Santa Inês.

Com relação aos níveis de proteína plasmática total, este apresentou comportamento semelhante ao volume globular ao longo das semanas de coleta. As médias de proteína plasmática total foram de 6,24 g/dL e 5,82 g/dL nos grupos resistente e susceptível, respectivamente, mostrando que este parâmetro pode ser eficaz para selecionar animais com maiores níveis de resistência. Resultado semelhante (6,1 g/dL para o grupo resistente e 5,3 g/dL para o grupo susceptível) foi constatado por Zaros et al. (2009) ao estudar o desempenho de ovinos Somalis resistentes e susceptíveis a nematódeos gastrintestinais. Bricarello et al (2002) também observou diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) na concentração de proteínas séricas entre ovinos Corriedale e Crioula, com e sem infecção por nematoides gastrintestinais, sendo que os valores diminuíram gradativamente a partir do início (6,0 a 7,5 g/dL) até seis semanas pós-infecção (4,98 a 5,14 g/dL), respectivamente.

Em estudo realizado em cabras lactantes mantidas sob sistema semi-intensivo, no município de Jaboticabal, estado de São Paulo, foram encontrados valores de proteína sérica total de  $8,24 \pm 0,6$  g/dL em cabras lactantes da raça Saanen e de  $7,41 \pm 1,0$  g/dL em cabras Anglo-nubiano ( $P < 0,05$ ) (Simplicio et al., 2009). Em outro estudo realizado com 22 caprinos mestiços, de dois a quatro anos de idade e mantidos em condições semi intensivas no Rio Grande de Norte, os valores de proteína total plasmática foram de  $7,0$  g/dL  $\pm 5,86$  (Santarosa et al., 2005).

Nas infecções por *H. contortus* e *T. colubriformis* há diminuição da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes, acarretando uma menor quantidade de proteína plasmática total (Cardia et al., 2011). Por esse motivo, em animais com maiores níveis de infecção, como é o caso do grupo susceptível, os níveis de proteína plasmática total são baixos. Esta informação corrobora com os achados por Cavele (2009), no estado da Bahia, que com o objetivo de fazer associação de técnicas na estimativa da parasitose gastrintestinal de caprinos mestiços Anglo-nubiano, observou animais com potencial

para resistência e susceptibilidade as infecções gastrintestinais. Neste trabalho observou-se diferença significativa em relação a proteína plasmática total no grupo resistente (6,91 g/dL) e no grupo susceptível (6,18 g/dL). Porém, em estudos realizados por Navarro et al. (2009) não foi observada diferença significativa em relação a proteína plasmática total em ovinos das raças Santa Inês e Dorper frente às infecções por nematoides gastrintestinais no estado do Ceará. No mesmo estado, Benvenuti (2011) caracterizou fenotipicamente caprinos mestiços do mesmo grupo genético deste estudo, e ao observar animais resistentes e susceptíveis a verminose gastrintestinal verificou haver semelhança entre os grupos em relação a proteína plasmática total, diferindo dos achados do presente trabalho.

Em relação a contagem de eosinófilos, não foi observada diferença entre os grupos resistente (669,6 células/ $\mu$ l de sangue) e susceptível (769,4 células/ $\mu$ l de sangue), respectivamente. O número de eosinófilos mínimo no grupo resistente foi 307,5 células/ $\mu$ l e no grupo susceptível foi 370 células/ $\mu$ l, por outro lado, o máximo foi 1280 células/ $\mu$ l para o grupo resistente e 1208 células/ $\mu$ l para o grupo susceptível. Resultado semelhante foi demonstrado por Benvenuti (2011) em experimento realizado com caprinos mestiços, em que os valores médios de eosinófilos sanguíneos não diferiram ( $P>0,05$ ) entre os grupos ao longo das semanas experimentais.

Em ovinos infectados por nematoides gastrintestinais foi observado um aumento de leucócitos, especialmente eosinófilos, no sangue periférico e mucosa abomasal (Balic et al., 2002), e esta alteração foi acompanhada da diminuição das contagens de OPG em ovinos e caprinos experimentalmente infectado por *H. contortus* (Buddle et al., 1992). Em estudo realizada por Basseto et al. (2009) embora sem diferença significativa, o autor enfatiza que ovelhas do grupo resistente apresentaram maior média de eosinófilos do que ovelhas do grupo susceptível, o que indica participação dessas células na defesa dos animais contra os parasitos.

A resistência aos parasitos gastrintestinais está fortemente associada à resposta imune do hospedeiro, apesar desta se desenvolver de maneira lenta e incompleta para várias espécies de nematoides gastrintestinais (VANDAMME; ELLIS, 2004). A primeira linha de defesa, a imunidade inata, envolve os mastócitos e os eosinófilos. Os eosinófilos desempenham papel nas infecções por nematoides gastrintestinais, principalmente pela produção de enzimas tóxicas à cutícula dos helmintos (SOUZA et al., 2006). Zaros et al. (2009) em estudo realizado com ovinos da raça Somalis não

observaram diferenças quanto à contagem de eosinófilos, fato também verificado pelos mesmos autores, no ano anterior, quando estudaram os níveis de eosinófilos sanguíneos de ovinos Somalis, Dorper e Santa Inês infectados por nematódeos gastrintestinais. Neves et al. (2012) em trabalho realizado com ovinos mestiços no Estado do Ceará também constatou que as médias de contagem de eosinófilos não diferiram ( $P>0,05$ ) entre o grupo resistente (1.161,5 células/mm<sup>3</sup>) e susceptível (1.134,7 células/mm<sup>3</sup>).

Com relação aos parâmetros produtivos, o grupo resistente apresentou maior média de peso corporal em relação ao grupo susceptível (23,17 kg e 19,17 kg, respectivamente;  $p=0,0186$ ). O peso mínimo e máximo para o grupo resistente foi de 18,09 kg e 29,12 kg, respectivamente. Para os animais do grupo susceptível este valor variou entre 12,38 kg e 24,73 kg.

Através do acompanhamento semanal foi possível calcular o ganho de peso dos animais, e este pode ser utilizado como parâmetro para avaliar o seu estado nutricional. Através do estado nutricional dos animais foi possível identificar ovinos e caprinos quanto a resistência às endoparasitoses gastrintestinais, principalmente em relação a infecções causadas por *H. contortus*, que provoca anemia severa devido seu hábito hematófago, e conseqüentemente perda de peso acentuada (KENYON et al., 2009).

Benvenuti (2011) demonstrou que não houve diferença significativa no peso de caprinos resistentes e susceptíveis ao longo das semanas de infecção. O valor médio de peso corporal no grupo resistente foi de 23,08 kg e no grupo susceptível foi de 23,81 kg. Estes dados corroboram com as pesquisas realizadas por Zaros et al. (2009) e Neves et al. (2012) utilizando ovinos no estado do Ceará. A distribuição dos animais quanto ao escore da condição corporal pode ser visualizada na FIGURA 3.

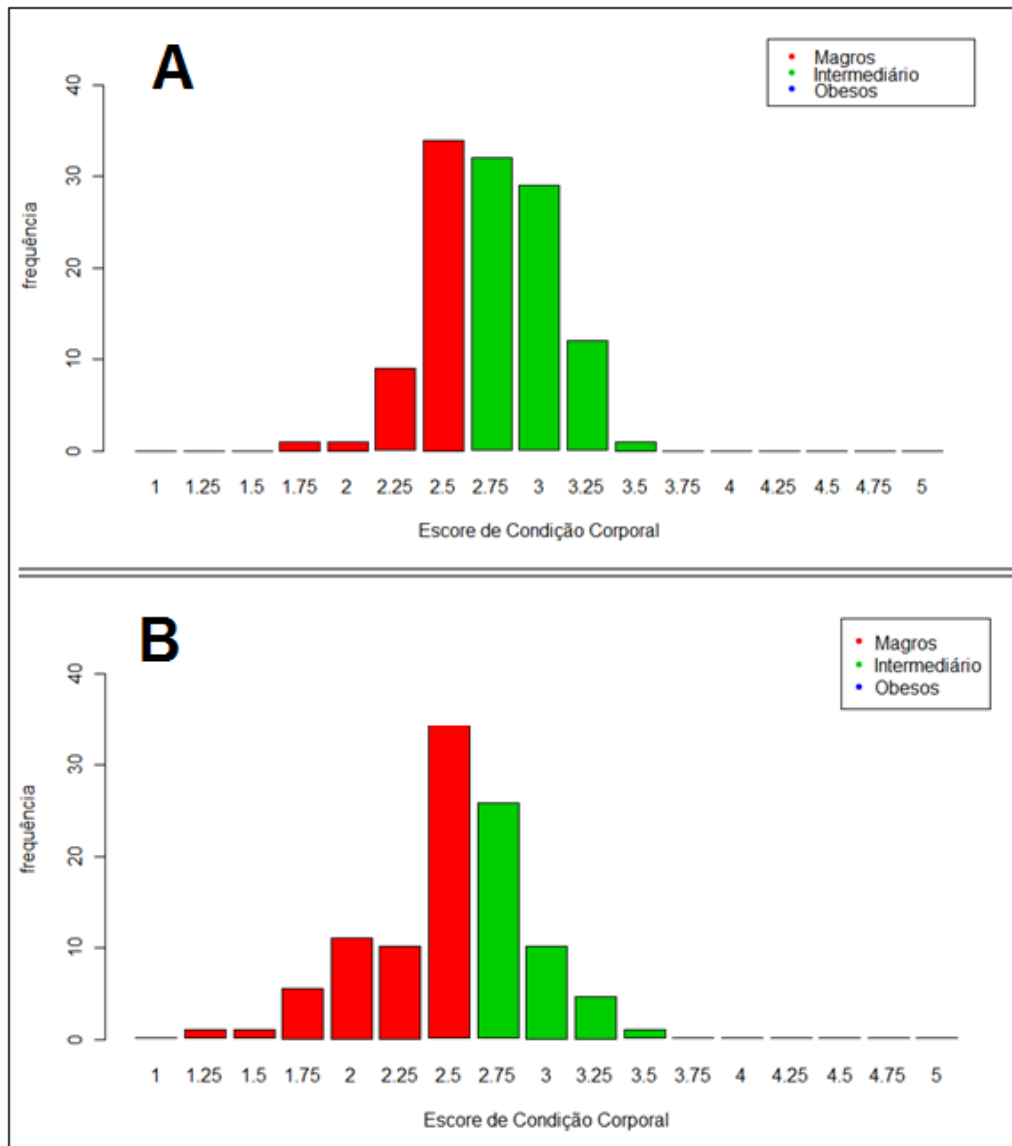


FIGURA 3: Distribuição de condição corporal dos caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B).

De acordo com a figura acima, pôde-se observar que os animais do grupo resistente apresentaram melhor escore de condição corporal do que o grupo susceptível. No grupo resistente os animais apresentaram escore de condição corporal em sua maioria igual e acima de 2,5, enquanto que no grupo susceptível este índice se concentrou abaixo igual e abaixo de 2,75.

A utilização do escore de condição corporal pode ser útil na indicação indireta de infecção parasitária, se associado a outros parâmetros, embora seja um critério de natureza subjetiva. Assim, é necessário ter alguns cuidados já que em caprinos o acúmulo de tecido adiposo ocorre em locais diferentes quando comparados a ovinos e



bovinos, sendo que a deposição de gordura ocorre também no abdômen, com baixa deposição de gordura subcutânea (RIBEIRO, 1998).

Em estudo realizado no Nordeste brasileiro utilizando caprinos resistentes e susceptíveis as endoparasitoses gastrintestinais, foi constatado que as variáveis peso e escore da condição corporal não apresentaram diferença ( $P>0,05$ ) entre os dois grupos, sendo essas variáveis não indicadas para caracterização de animais resistentes e susceptíveis à verminose gastrintestinal (Benvenuti, 2011).

Com relação à categorização dos animais quanto ao FAMACHA, pôde-se observar diferenças entre os grupos (FIGURA 4).

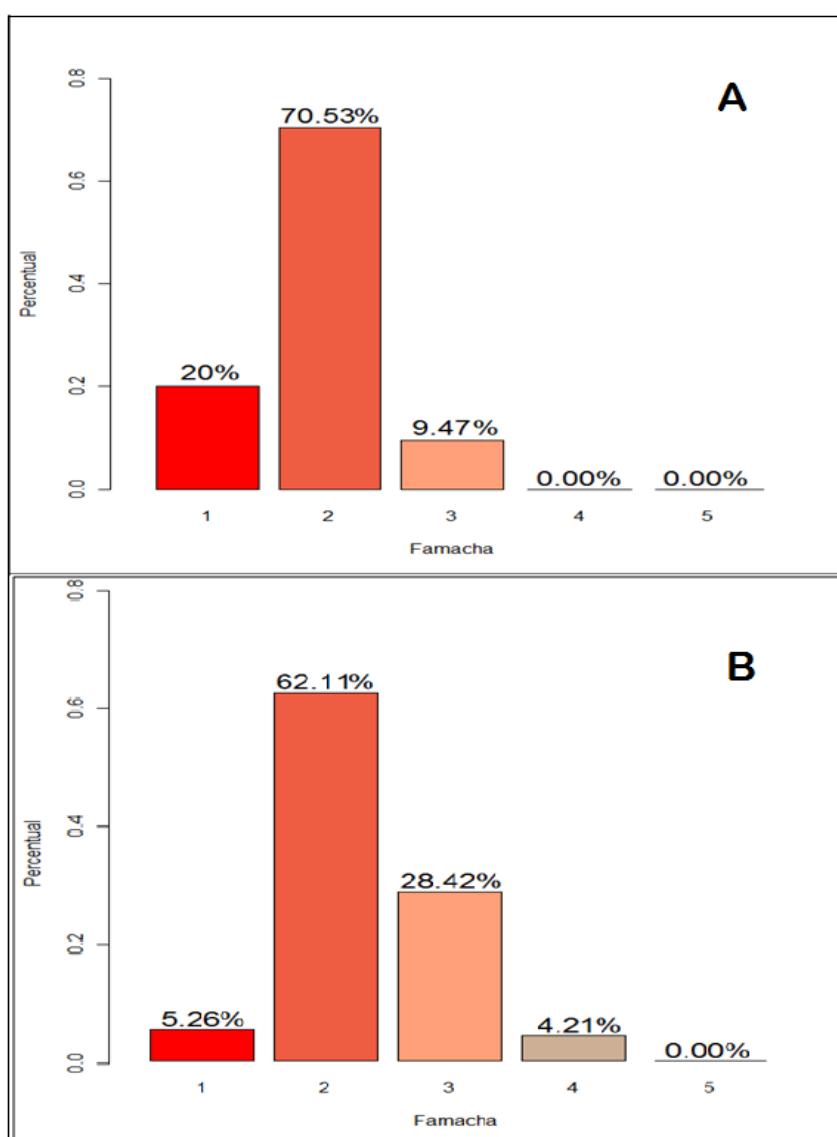


FIGURA 4: Porcentagem de caprinos em cada classe do FAMACHA dos grupos resistente (A) e susceptível (B).

Observou-se que o grupo resistente apresentou maior porcentagem de animais na classe 1 do FAMACHA (20%) do que os animais do grupo susceptível (5,26%). Nos dois grupos a maior concentração de animais foi na classe 2 (70,53% os resistentes e 62,11% os susceptíveis), e a proporção de animais avaliados com FAMACHA 3 foi maior no grupo susceptível (28,42%) do que no grupo resistente (9,47%). Apenas o grupo susceptível apresentou animais com FAMACHA 4 (4,21%). Nenhum animal apresentou FAMACHA 5. Apesar da maioria dos animais de ambos os grupos ser classificada como FAMACHA 2, é importante salientar que o grupo resistente apresentou maior número de animais na classe 1 e menor número na classe 3 em relação ao grupo susceptível.

Sotomaior et al. (2007) em pesquisa realizada comparando o FAMACHA entre caprinos e ovinos em diferentes propriedades constataram que na propriedade de ovinos houve uma predominância de animais classificados como 1 (média de 81%) e nenhuma classificação como 4, indicando que os animais estavam em boas condições sanitárias, com baixos índices de verminose. Na propriedade de caprinos, a predominância foi de animais com FAMACHA 2, havendo em média 14,87% de classificações como 3 e 3,33% como 4. Em nenhuma avaliação, durante todo período experimental, foram encontrados animais classificados com FAMACHA 5.

Solano (2008) em experimento para validação do método FAMACHA em caprinos da raça Moxotó no Semi-Árido paraibano, observou que a maioria dos animais que apresentou mucosa de classe 3, encontrava-se com o OPG igual a 500 ovos/g, e o volume globular em média de 32,10%, demonstrando assim, não ser necessário tratamento, pois os valores de OPG e do volume globular estavam dentro do esperado para esta espécie.

Benvenuti (2011) em estudo realizado com caprinos mestiços resistentes e susceptíveis no estado do Ceará, observou que durante todo o experimento nenhum animal apresentou FAMACHA 4 ou 5. Em ambos os grupos houve semelhança quanto ao FAMACHA. A autora acredita que este evento deve ter ocorrido devido os animais terem sido mantidos em mesma área de pastejo e por receberem suplementação protéica e energética.

### 2.3.3 CORRELAÇÕES ENTRE OS PARÂMETROS FENOTÍPICOS

A correlação entre os parâmetros fenotípicos auxiliam na seleção de animais mais resistentes as infecções gastrintestinais causadas por nematoides. Os coeficientes de correlação avaliados referentes aos dados de todo o rebanho (n=60) podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4: Coeficientes de correlação entre as variáveis utilizadas para caracterização fenotípica de caprinos F2 (n=60): volume globular (VG), Proteína plasmática total (PPT), contagem de ovos por grama de fezes (OPG), eosinófilos (EOS) e peso.

<b>Parâmetros correlacionados</b>	<b><math>\rho</math></b>	<b>P &lt;</b>
VG x PESO	0,444	0,02
VG x PPT	0,677	0,0003
OPG x EOS	0,023	0,91
PPT x EOS	0,178	0,40
PPT x PESO	0,489	0,01
EOS x PESO	0,034	0,87
VG x OPG	- 0,751	0,00
VG x EOS	- 0,038	0,86
OPG x PESO	- 0,244	0,24
OPG x PPT	- 0,383	0,06

VG= volume globular; PPT= proteína plasmática total; EOS= eosinófilos sanguíneos ,  $\rho$ = correlação, P=significância

Correlações positivas e significativas foram encontradas entre VG e peso, VG e PPT, PPT e peso. Correlações inversamente proporcionais significativas foram observadas entre VG e OPG, e OPG e PPT.

Resultados semelhantes foram observados por Costa et al. (2000) ao avaliar a resistência de diferentes raças de caprinos, que correlacionaram OPG e VG ( $r = -0,63$ ), corroborando com os resultados encontrados neste estudo. De um modo geral, os autores relataram a existência de correlação negativa entre os valores de OPG e VG em

pequenos ruminantes. Em ovelhas infectadas por nematóides gastrintestinais constatou-se correlação negativa entre OPG e VG  $r = -0,49$  (Mattos *et al.*, 2005).

Vanimisetti *et al.* (2004) avaliando ovelhas mestiças de diferentes idades após o período de desmame, encontrou correlações positivas ( $P < 0,01$ ) entre o peso corporal e o VG ( $r = 0,26$ ) e negativas entre o OPG e VG ( $r = -0,65$ ), após infectar os animais com cerca de 10.000 larvas de *H. contortus*.

Cavele (2009) utilizando-se do coeficiente de correlação de Pearson demonstrou correlação negativa significativa entre os valores do VG e OPG (caprinos:  $r = -0,36$ ; ovinos:  $r = -0,44$ ), PPT e OPG (caprinos:  $r = -0,40$ ), e correlação positiva entre VG e PPT (ovinos:  $r = 0,26$ ). Experimento realizado por Neves *et al.* (2009) com ovinos demonstrou correlações positivas entre: VG x PPT ( $r = 0,37$ ), FAM x OPG ( $r = 0,32$ ) e correlações negativas entre: VG x FAM ( $r = -0,44$ ), VG x OPG ( $r = -0,50$ ), PPT x FAM ( $r = -0,23$ ), PPT x OPG ( $r = -0,52$ ) e Peso x OPG ( $r = -0,16$ ).

Amarante *et al.* (2007) verificou relação inversa entre o número de células inflamatórias no intestino delgado (mastócitos, eosinófilos e leucócitos globulares) e os valores de OPG. Da mesma forma, Dawkins *et al.* (1989) e Stear *et al.* (2002) relataram que o número de eosinófilos no sangue foi maior em cordeiros com menor OPG. Estes resultados não estão de acordo com a pesquisa atual, em que a correlação entre OPG e o número de eosinófilos foi positiva (0,023), porém os resultados não são significativos ( $p > 0,01$ ).

A classificação quanto ao grau de anemia utilizando o método FAMACHA foi associado com o volume globular dos caprinos resistentes e susceptíveis as endoparasitoses gastrintestinais (Tabela 5). Avaliando o método FAMACHA para identificar corretamente animais que necessitariam ou não de tratamento, o valor de corte no VG usado para indicar um quadro de anemia, tem uma importante influência nos resultados esperados. Para avaliar os resultados obtidos neste estudo foram utilizados cinco valores de corte de VG:  $\leq 18$ ,  $\leq 19$ ,  $\leq 22$ ,  $\leq 24$  e  $\leq 27$ . Os três primeiros valores foram escolhidos por estarem no intervalo entre 18% e 22% que classificaria o animal como FAMACHA 3 (BATH *et al.*, 2001). Os demais valores foram escolhidos baseados em pesquisa realizada por Burke *et al.*, (2007) e Neves (2010).

Tabela 5: Frequência (porcentagem) de falsos negativos e positivos, verdadeiros negativos e positivos considerando os caprinos das categorias FAMACHA 3, 4 e 5 anêmicos e Volume globular  $\leq 18\%$ ,  $\leq 19\%$ ,  $\leq 22\%$ ,  $\leq 24\%$  e  $\leq 27\%$  positivo para anemia.

RESISTENTE			SUSCEPTÍVEL		
Famacha	(VG $\leq 18\%$ )	(VG $> 18\%$ )	Famacha	(VG $\leq 18\%$ )	(VG $> 18\%$ )
Positivo (3, 4 e 5)	0 (0%)	9 (100%)	Positivo (3,4 e 5)	3 (9,67%)	28 (90,33%)
Negativo (1 e 2)	0 (0%)	86 (100%)	Negativo (1 e 2)	0 (0%)	64 (100%)
Famacha	(VG $\leq 19\%$ )	(VG $> 19\%$ )	Famacha	(VG $\leq 19\%$ )	(VG $> 19\%$ )
Positivo (3, 4 e 5)	0 (0%)	9 (100%)	Positivo (3, 4 e 5)	10 (32,25%)	21 (67,75%)
Negativo (1 e 2)	0 (0%)	86 (100%)	Negativo (1 e 2)	2 (3,12%)	62 (96,88%)
Famacha	(VG $\leq 22\%$ )	(VG $> 22\%$ )	Famacha	(VG $\leq 22\%$ )	(VG $> 22\%$ )
Positivo (3, 4 e 5)	1 (11,11%)	8 (88,89%)	Positivo (3, 4 e 5)	19 (57,57%)	14 (42,43%)
Negativo (1 e 2)	4 (4,65%)	82 (95,35%)	Negativo (1 e 2)	22 (36,06%)	39 (63,94%)
Famacha	(VG $\leq 24\%$ )	(VG $> 24\%$ )	Famacha	(VG $\leq 24\%$ )	(VG $> 24\%$ )
Positivo (3, 4 e 5)	1 (12,5%)	7 (87,5%)	Positivo (3, 4 e 5)	22 (73,34%)	8 (26,66%)
Negativo (1 e 2)	15 (17,24%)	72 (82,76%)	Negativo (1 e 2)	33(53,22%)	29 (46,78%)
Famacha	(VG $\leq 27\%$ )	(VG $> 27\%$ )	Famacha	(VG $\leq 27\%$ )	(VG $> 27\%$ )
Positivo (3, 4 e 5)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	Positivo (3, 4 e 5)	26 (86,67%)	4 (13,33%)
Negativo (1 e 2)	60 (68,96%)	27 (31,04%)	Negativo (1 e 2)	56 (88,89%)	7 (11,11%)

Comparando-se os valores entre VG e FAMACHA, verifica-se que 100% dos animais, tanto no grupo resistente como no grupo susceptível, foi verdadeiro negativo para o  $VG \leq 18\%$ , revelando FAMACHA negativo e ausência de anemia, enquanto 100% e 90,33% (nos grupos resistente e susceptível, respectivamente) foram falsos positivos, isto é FAMACHA positivo e anemia ausente. O mesmo resultado foi obtido para o  $VG \leq 19\%$  no grupo resistente, diferindo no grupo susceptível que foi de 96,88% para verdadeiro negativo e 67,75% para falso positivo. Para os demais pontos de corte de VG as porcentagens foram diminuindo, sendo mais acentuado no grupo susceptível. De acordo com os achados neste estudo pôde-se observar que o ponto de corte ideal para caprinos é quando o VG está abaixo de 19%, em que um maior número de animais é diagnosticado corretamente como anêmico em relação ao FAMACHA.

Na tabela 6 é possível visualizar a eficácia do método FAMACHA em caprinos nos diferentes pontos de corte de VG analisados.

Tabela 6: Eficácia do diagnóstico de anemia pelo método FAMACHA nos caprinos F2 resistentes e susceptíveis a nematoides gastrintestinais em relação ao VG ( $\leq 18\%$ ,  $\leq 19\%$ ,  $\leq 22\%$ ,  $\leq 24\%$  e  $\leq 27\%$ ) e FAMACHA 3, 4 e 5 positivos para o quadro de anemia.

<b>Grupo Resistente</b>	<b>Ponto de corte do volume globular (VG)</b>				
	$\leq 18\%$	$\leq 19\%$	$\leq 22\%$	$\leq 24\%$	$\leq 27\%$
Sensibilidade <sup>a</sup>	*	*	20,00	6,25	7,69
Especificidade <sup>b</sup>	90,53	90,53	91,11	91,14	90,00
(a + b) / 2	42,26	42,26	55,55	48,69	48,84
Valor Preditivo Negativo <sup>c</sup>	100,00	100,00	95,35	82,76	31,03
Valor Preditivo Positivo <sup>d</sup>	0,00	0,00	11,11	12,50	62,50
<b>Grupo Susceptível</b>	$\leq 18\%$	$\leq 19\%$	$\leq 22\%$	$\leq 24\%$	$\leq 27\%$
Sensibilidade <sup>a</sup>	100,00	83,33	46,34	40,00	31,71
Especificidade <sup>b</sup>	69,57	74,70	73,58	78,38	63,64
(a + b) / 2	84,78	79,01	59,96	59,19	47,67
Valor Preditivo Negativo <sup>c</sup>	100,00	96,88	63,93	46,77	11,11
Valor Preditivo Positivo <sup>d</sup>	9,58	32,26	57,58	73,33	86,67

\*Dados com propriedades matemáticas indeterminadas (divisão por zero).

<sup>a</sup>Sensibilidade = (verdadeiro positivo / (verdadeiro positivo + falso negativo)) x 100.

<sup>b</sup>Especificidade = (verdadeiro negativo / (verdadeiro negativo + falso positivo)) x 100.

<sup>c</sup>Valor Preditivo Negativo = (verdadeiro negativo / (verdadeiro negativo + falso negativo)) x 100.

<sup>d</sup>Valor Preditivo Positivo = (verdadeiro positivo / (verdadeiro positivo + falso positivo)) x 100.

Smith (1995) define sensibilidade como sendo a proporção de indivíduos doentes com o teste positivo. No teste FAMACHA seria a proporção de animais anêmicos corretamente identificados como anêmicos. Especificidade é definida como a proporção de animais não anêmicos que receberam teste negativo. Valor preditivo negativo é a probabilidade de um animal não ser anêmico quando o resultado do teste é negativo para anemia e o contrário para o valor preditivo positivo.

Não foi possível calcular a sensibilidade e especificidade quando o VG foi  $\leq 18\%$  e  $\leq 19\%$  no grupo resistente porque os valores de verdadeiro positivo e falso negativo foram nulos. A maior sensibilidade do grupo resistente foi quando o VG  $\leq 22\%$ , mesmo sendo ainda um valor muito baixo (20%). Já no grupo susceptível a maior sensibilidade foi quando o VG  $\leq 18\%$ , quando atingiu 100%. Em relação a especificidade foi maior no

grupo resistente quando o VG foi  $\leq 24\%$ , quando foi de 91,14 %, porém sendo muito próxima dos outros pontos de corte de VG. Para o grupo susceptível a especificidade também foi maior quando o VG foi  $\leq 24\%$ .

O melhor ponto de corte de VG para o presente estudo seria  $\leq 22\%$  para o grupo resistente que apresentou baixa sensibilidade (20,0%) e alta especificidade (91,11%), resultando numa maior média (55,55%) em relação aos outros valores de VG. Para o grupo susceptível o melhor ponto de corte foi  $VG \leq 18\%$ , em que a sensibilidade foi de 100% e a especificidade de 69,57%, resultando numa média de 84,78%, valor considerado elevado. Vatta et al. (2001) também enfatizam que para maximizar a sensibilidade e a especificidade do método FAMACHA em pequenos ruminantes, é necessário escolher o ponto de corte de VG quando a média de sensibilidade e especificidade atingir maior valor.

Em relação à acurácia do FAMACHA em ovinos e caprinos, Kaplan et al. (2004), Burke et al. (2007) e Mahieu et al. (2007) demonstraram uma alta especificidade e baixa sensibilidade, o que também foi observado no presente estudo com caprinos F2. Tanto no grupo resistente como no grupo susceptível, o valor preditivo positivo foi baixo, e o valor preditivo negativo foi alto, mostrando que os animais não tinham anemia com resultado negativo no método FAMACHA, concordando com achados por Cavele (2009) e Benvenuti (2011).

Na África do Sul, Vatta et al. (2001) conduziram um estudo com caprinos criados em sistema extensivo durante os anos 1998/1999 e 1999/2000, no qual mostraram uma sensibilidade do método FAMACHA de 76 e 85%, respectivamente, constando que o método pode ser usado para identificar corretamente 76 e 85%, dos animais que necessitam de tratamento anti-helmíntico. Contudo, a especificidade foi baixa (52-55%), mostrando que alguns animais que não requeriam tratamento poderiam ser tratados.

Em estudo na Itália, DI Loria et al. (2009) avaliaram 137 ovinos adultos e baseados no FAMACHA, consideraram como anêmicos, dois grupos de animais: os que apresentavam graus 4 e 5 (Grupo 4-5) e graus 3,4, e 5 (Grupo 3-4-5), observando alta frequência de grau 2 (53,2%) e 3 (40,2%), enquanto o grau 5 foi detectado apenas três vezes (0,4%). Relataram ainda que a especificidade, sensibilidade e os valores preditivos negativo e positivo, entre FAMACHA e VG, foram de 60%, 66%, 92% e 21% para o Grupo 3-4-5 e de 98%, 9%, 87% e 38% para o Grupo 4-5.

Nos Estados Unidos, na validação do método FAMACHA em 857 ovinos e 537 caprinos de 39 rebanhos, foi detectada correlações negativas significativas entre o VG e o grau FAMACHA e entre o VG e o OPG em ambas as espécies ( $P < 0,01$ ). Além disso, esses mesmos autores notaram, que 62% e 89% da recomendação de vermifugação foram corretas para os ovinos com grau FAMACHA 3,4 e 5 ou 4 e 5, respectivamente, quando o VG foi igual ou menor que 19% , sendo considerado com anemia. Contudo, para os caprinos, estes percentuais foram de 43% e 71% quando se usaram estes mesmos critérios (KAPLAN et al., 2004).

Quando os custos de um resultado incorreto (falso negativo) são elevados, o critério do valor de corte do VG mais alto é usualmente preferido, porém isto pode resultar num aumento tanto de falso positivos como de falso negativos. Porém, no que concerne ao tratamento de acordo com o FAMACHA, não tratar um falso negativo pode significar a morte do animal (KAPLAN et al., 2004).

### 2.3.4 COPROCULTURA

O gênero *Haemonchus* sp. foi prevalente nas coproculturas (80%), seguido por *Trichostrongylus* sp. (19%) e *Oesophagostomum* sp. (1%) (Figura 5).

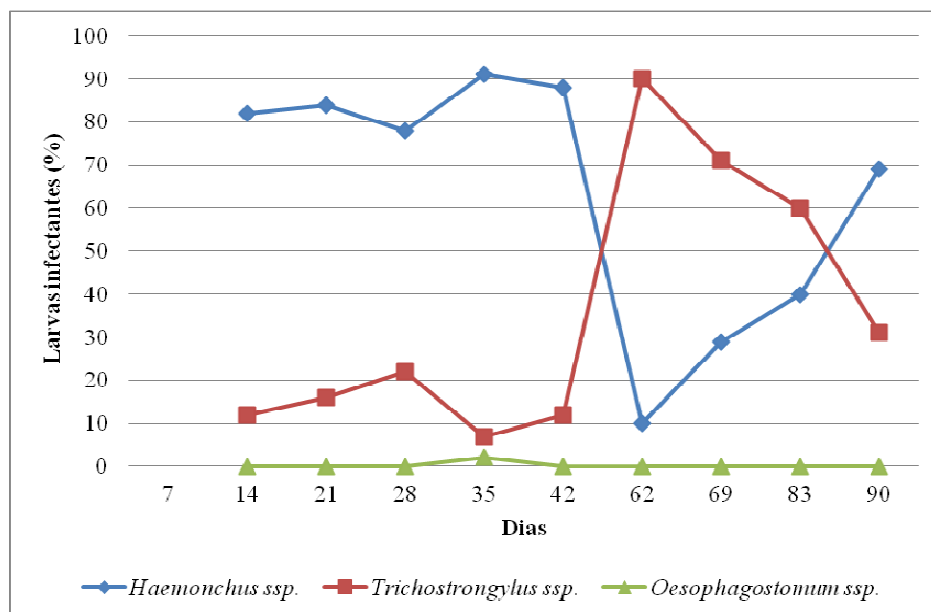


FIGURA 5: Porcentagem de larvas infectantes de nematoides gastrintestinais observadas nas coproculturas de caprinos F2.



Até o 42º dia de infecção, o gênero *Haemonchus* foi predominante. Entretanto, seguindo a vermifugação, que ocorreu nesse mesmo dia, a porcentagem de *Haemonchus* decresceu acentuadamente, ocorrendo a predominância do gênero *Trichostrongylus* por aproximadamente 40 dias. Acredita-se que a reprodução acelerada em relação aos demais gêneros, fez que com a eliminação de larvas do gênero *Haemonchus* aumentasse rapidamente, em aproximadamente 20 dias após a vermifugação, se tornando novamente predominante no final do período experimental. Foi constatada a presença do gênero *Oesophagostomum* apenas na coprocultura referente ao 35º do período experimental.

Foram estabelecidas duas hipóteses com relação a predominância do *T. colubriformis* após segunda vermifugação, se estendendo por um período de 40 dias. A primeira hipótese refere-se à hipobiose ou desenvolvimento larval inibido, artifício usado pelos parasitos para evitar condições climáticas adversas às suas progênes e permanecer sexualmente imaturos até que haja boas condições para seu desenvolvimento, porém não há nenhuma pesquisa que relate a ocorrência deste fenômeno na região em que a o presente estudo foi realizado. A segunda hipótese refere-se à resistência do *T. colubriformis* aos anti-helmínticos utilizados neste estudo, contrariando a achado por Almeida et al (2010), que concluíram que o parasito *T. colubriformis* se mostrou susceptível ao closantel, levamisol, moxidectina e ivermectina.

Em contraste ao que foi obtido nesse estudo, Brito et al., (2009) em pesquisa realizada com caprinos na microrregião do Alto Mearim e Grajaú, estado do Maranhão, observou a presença dos gêneros *Haemonchus* (35,41%), *Trichostrongylus* (27,29%), *Cooperia* (23,61%), *Oesophagostomum* (8,93%) e *Strongyloides* (4,75%). Já Benvenuti (2011) em estudo realizado com caprinos mestiços oriundos do mesmo cruzamento da pesquisa atual, constatou a presença dos gêneros *Trichostrongylus* sp. (54,8%), *Haemonchus* sp. (43%) e *Oesophagostomum* sp. (2,2%).

Ahid et al. (2008) ao acompanhar caprinos e ovinos procedentes de 32 e 11 propriedades criadoras, respectivamente, realizou coprocultura e observou larvas (L3) dos gêneros *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* e *Strongyloides* nas duas espécies hospedeiras avaliadas. Das larvas L3 resgatadas nas coproculturas de caprinos e ovinos, 62,3% eram de *Strongyloides* sp. e 37,7% de Trichostrongilídeos.

Deste último, 16,9% eram larvas L3 de *Haemonchus* sp., 12% de *Trichostrongylus* sp. e 8,8% de *Oesophagostomum* sp.

Barbosa et al. (2011) em estudo realizado na região metropolitana de Recife, acompanhou 4 propriedades rurais que exploravam caprinos e ovinos. Os cultivos de larvas de nematoides gastrintestinais revelaram larvas infectantes (L3) do gênero *Haemonchus*, *Oesophagostomum* e *Trichostrongylus*, com maior número de animais positivos para infecção por *Haemonchus* sp. tanto em caprinos como ovinos.

Basseto et al. (2009) investigando o grau de contaminação em piquetes pastejados por ovelhas resistentes ou susceptíveis a endoparasitoses gastrintestinais, observou que o grupo resistente apresentou, em média, 98% *Haemonchus* sp., 0,4% *Trichostrongylus* sp. e 1,6% *Oesophagostomum* sp.; e o grupo susceptível, 84,5% *Haemonchus* sp., 15,1% *Trichostrongylus* sp. e 0,5% *Oesophagostomum* sp.

### 2.3.5 CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO DOS NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS

O número dos gêneros de nematoides presentes no abomaso e intestino delgado dos animais experimentais (n=12 resistentes; n=12 susceptíveis) podem ser visualizadas na Tabela 7.

Tabela 7: Média (mínimo-máximo) da contagem de nematoides gastrintestinais em caprinos mestiços dos grupos resistente e susceptível.

<b>Grupo</b>	<b><i>Haemonchus</i> sp.</b>	<b><i>Trichostrongylus</i> sp.</b>
Resistente	340 <sup>a</sup> (1-933)	137 <sup>a</sup> (42-320)
Susceptível	804 <sup>b</sup> (149-1822)	171 <sup>a</sup> (73-387)

Letras diferentes na mesma coluna indicam haver diferença significativa (P<0,05)

O grupo susceptível apresentou maior número de *Haemonchus* sp. em relação ao grupo resistente (P<0,05), mostrando-se proporcional aos dados de OPG. Porém, não houve diferença significativa (p>0,05) entre o número de nematoides do gênero *Trichostrongylus* sp. entre os grupos de animais avaliados.

Pesquisa realizada por Silva et al. (2008) no estado da Paraíba utilizando caprinos sem raça definida, recuperaram nematoides do abomaso e verificaram a presença de 2.590 parasitos adultos no abomaso, sendo 2.309 *H. contortus*, que correspondeu a uma prevalência de 89,16%, versus 281 exemplares de *Trichostrongylus axei*, correspondendo a 10,84 %. Estes dados corroboram com achados por Zaros et al. (2009) em estudo realizado com ovinos ½ sangue Somalis com diferentes níveis de resistência e Neves et al. (2012) em pesquisa utilizando ovinos mestiços.

No abomaso todos os nematoides identificados foram da espécie *H. contortus* e o no intestino delgado a única espécie presente foi *T. colubriformis* em ambos os grupos. As medidas das características morfológicas utilizadas para a identificação das espécies podem ser visualizadas na Tabela 8.

Tabela 8: Comprimento total médio do nematoides ( $\mu\text{m}$ ), dos espículo (menor e maior -  $\mu\text{m}$ ) e ganchos espiculares (menor e maior -  $\mu\text{m}$ -) e de ovojetor das fêmeas ( $\mu\text{m}$ ) recuperados dos animais dos grupos resistente e susceptível.

Espécies	Grupo resistente				
	Macho	Fêmea	Espículo	Gancho espicular	Ovojetor
<i>H. contortus</i>	11298	14595	411 e 435	21 e 37	470
<i>T. colubriformis</i>	5418	6953	147 e 158	-	469,37
	Grupo susceptível				
	Macho	Fêmea	Espículo	Gancho espicular	Ovojetor
<i>H. contortus</i>	9150	11960	410 e 411	35 e 36	463
<i>T. colubriformis</i>	5390	5400	180 e 180,5	-	380

Ahid et al. (2008) em experimento realizado no estado do Rio Grande do Norte ao identificar nematóides de caprinos observaram 50,5% de *H. contortus*, 43,4% de *O. columbianum*, 3,4% de *Trichuris globulosa* e 2,7% (20/733) de *Moniezia expansa*, mostrando dados semelhantes ao achado neste estudo, em relação a prevalência do *H. contortus*.

Também concordando com os resultados do presente estudo, Amarante (2005) cita que dentre os helmintos encontrados, *H. contortus*, *T. colubriformis*, *Strongyloides* sp. e *O. columbianum* estão entre as principais espécies de parasitos gastrintestinais causadores de prejuízos para a produção animal.

Os aspectos morfológicos dos nematoides podem ser visualizados na FIGURA 6.

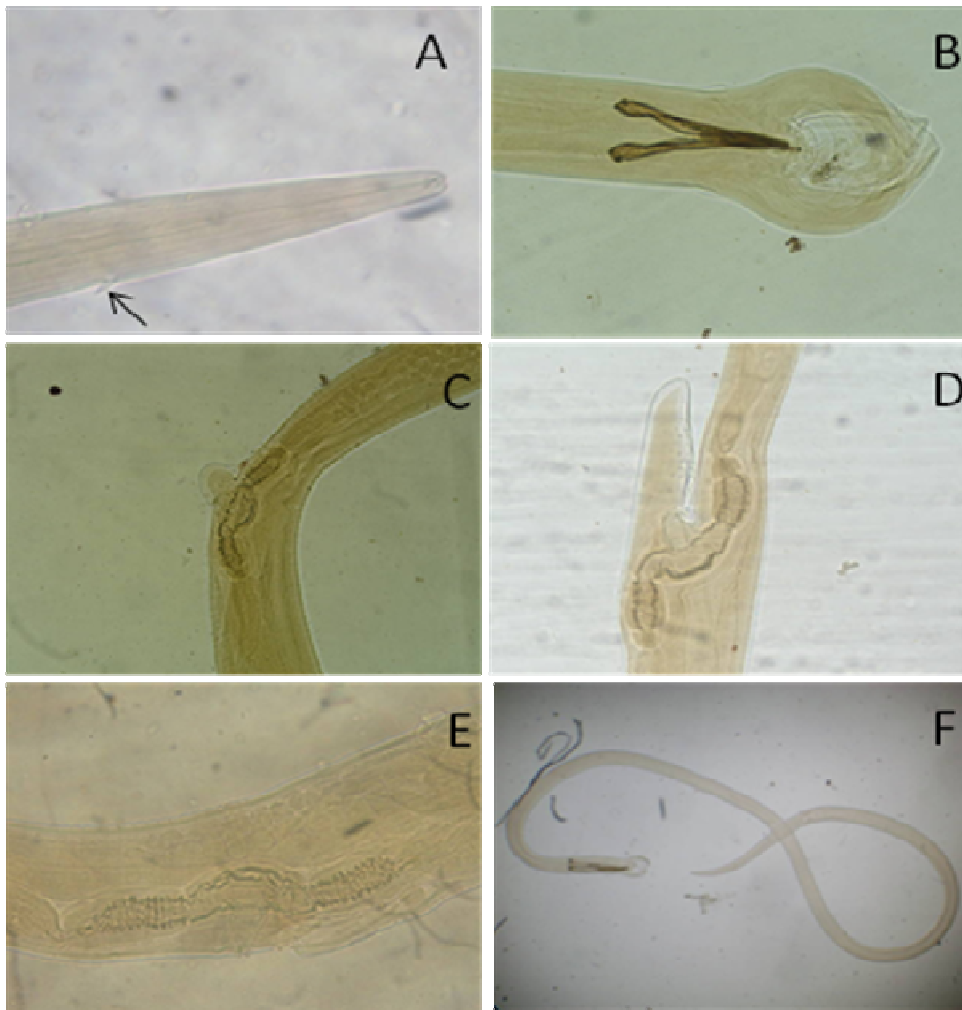


FIGURA 6: Imagens do microscópio óptico (aumento de 100x) dos nematoides gastrintestinais. A) *H. contortus* (região anterior – setas indicam as papilas cervicais). B) Órgão reprodutor masculino de *H. contortus*. C) Fêmea de *H. contortus* com tipo de vulva botão. D) Fêmea de *H. contortus* com tipo de vulva linguiforme. E) Fêmea de *H. contortus* com tipo de vulva lisa. F) *T. colubriformis*.

Na FIGURA 7 pode-se visualizar a distribuição entre machos, fêmeas e imaturos de *H. contortus*.

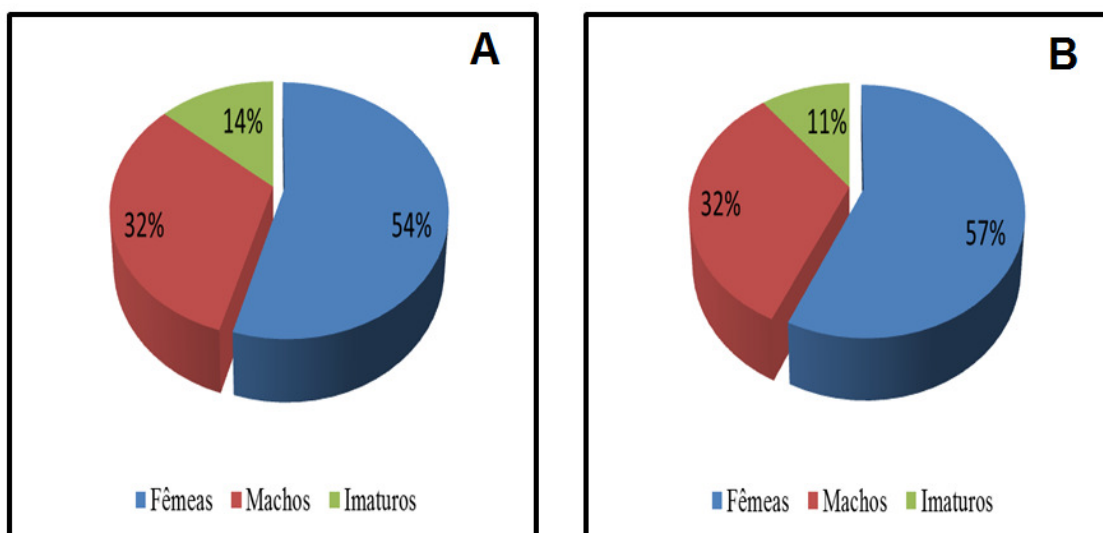


FIGURA 7: Distribuição de acordo com o sexo do parasito encontrado no abomaso (*H. contortus*) de caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B).

Tanto no grupo resistente como no grupo susceptível é possível verificar que o número de fêmeas de *H. contortus* foi maior que o número de machos.

A distribuição de tipo de vulva de *H. contortus* pode ser visualizada na FIGURA 8.

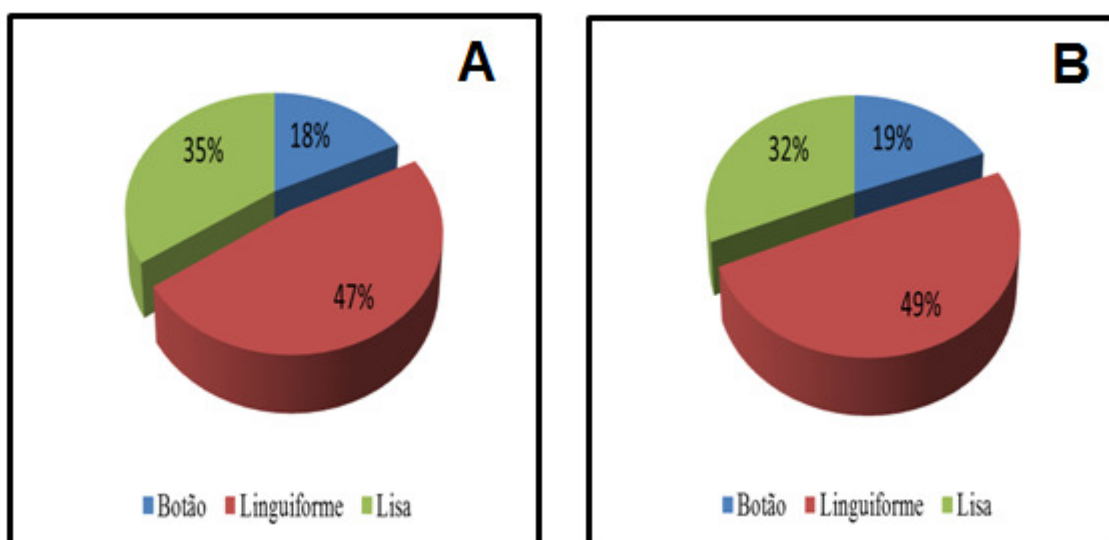


FIGURA 8: Distribuição do tipo de lábio vulvar em fêmeas do parasito *H. contortus* presente no abomaso dos caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B)

O tipo de vulva linguiforme foi o que apresentou maior frequência, seguido pelo tipo liso e botão, em ambos os grupos. Estes resultados diferem dos encontrados por Zaros et al. (2009) ao avaliar nematoides encontrados em ovinos no estado do Ceará, onde a maior frequência foi do tipo liso (51,1% no grupo resistente e 58,8% no grupo susceptível), porém se assemelha aos dados encontrados por Neves et al. (2012), em que 55,47% foi do tipo linguiforme no grupo resistente, diferindo apenas no grupo susceptível que foi a maioria do tipo liso (48,95%).

Na FIGURA 9 é possível visualizar a proporção do sexo dos nematoides encontrados no intestino delgado dos caprinos em ambos os grupos.

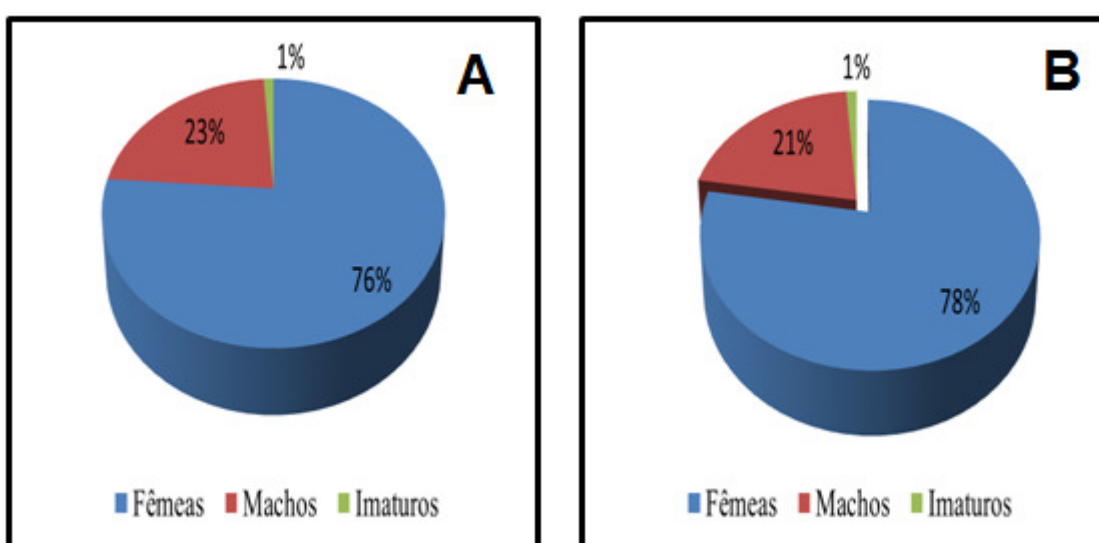


FIGURA 9: Distribuição de acordo com o sexo do parasito *T. colubriformis* encontrados no intestino delgado de caprinos do grupo resistente (A) e do grupo susceptível (B).

Em estudo realizado por Bezerra (2010) no estado do Rio Grande do Norte observou-se que no abomaso os helmintos encontrados foram *H. contortus* (57,23%) e *T. axei* (0,19%). A composição da população de *H. contortus* em caprinos foi 187 machos e 222 fêmeas na época seca, enquanto na época chuvosa foram encontrados 1.305 machos e 1.187 fêmeas. No intestino delgado foram encontradas as seguintes espécies: *T. colubriformis* (40,54%), *S. papillosus* e *M. expansa* (0,15%). Amarante (2005) cita que além do *T. colubriformis* estão presentes no intestino delgado *Strongyloides sp.* e *C. curticiei*. Em casos de infecções maciças, estes parasitos causam enterites severas. A maioria deles se localiza no terço inicial do intestino delgado,

causando principalmente danos como atrofia das vilosidades, espessamento da mucosa e erosão do epitélio.

Basseto et al. (2009) comenta que em parasitismo misto, como é o caso do presente estudo, ocorrendo simultaneamente a ocorrência de duas ou mais espécies de nematoides, os animais apresentam visível perda de peso, anemia e hipoproteinemia, e consequente redução na produtividade.

## 2.4 CONCLUSÃO

Os animais do grupo resistente responderam melhor às endoparasitoses gastrintestinais do que os animais do grupo susceptível, já que estes apresentaram maior número de parasitos, tanto no abomaso (*H. contortus*) quanto no intestino delgado (*T. colubriformis*).

A contagem de OPG, volume globular e proteína plasmática total mostraram-se marcadores fenotípicos eficientes para a caracterização dos animais resistentes e susceptíveis a nematoides gastrintestinais.

O peso corporal e o diagnóstico de anemia pelo método FAMACHA, associados a outros marcadores fenotípicos, como a contagem de OPG e o volume globular, também auxiliaram na discriminação de animais susceptíveis e resistentes.



## 2.5 REFERÊNCIAS

- AHID, S. M. M. et al. Eficácia anti-helmíntica em rebanho caprino no Estado de alagoas, Brasil. **Acta Veterinária Brasileira**, v.1, n.2, p.56-59, 2007.
- AHID, S.M.M. et al. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da região oeste do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 212-218, 2008.
- ALMEIDA, W.V.F. **Uso de plantas medicinais no controle de helmintos gastrintestinais de caprinos naturalmente infectados**. 2005. 85f. Dissertação (Mestrado em Controle de Parasitismo em Sistemas Agrossilvopastoris) - Centro de Saúde e tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos. 2005.
- ALMEIDA, F.A. et al. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus*. **Parasitology International** , v. 59, p. 622-625, 2010.
- AMARANTE, A. F. T. Controle de verminose ovina. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Brasília, DF, ano 11, n. 34, p. 19-30, 2005.
- AMARANTE, A. F. T.; ROCHA, R.A.; BRICARELLO, P.A. Relationship of intestinal histology with the resistance to *T. colubriformis* infection in three breeds of sheep. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 1, p. 43-48, 2007.
- BALIC, A.; BOWLES, V.M.; MEEUSEN, E.N. Mechanisms of immunity to *Haemonchus contortus* infection in sheep. **Parasite Immunology**, v.24, p.39-46, 2002.
- BARBOSA, A.M.S. et al. Relação entre infecção por helmintos gastrintestinais e teores de proteína sérica total, hematócrito e teste FAMACHA em caprinos e ovinos naturalmente infectados. **Vet. e Zootec.** V.18(4 Supl. 3): 2011.
- BASSETO, C.C. et al. Contaminação da pastagem com larvas infectantes de nematoides gastrintestinais após o pastejo de ovelhas resistentes ou susceptíveis à verminose. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal- SP, v. 18, n. 4, p. 63-68, 2009.
- BATH, G.F. et al. Sustainable approaches for managing haemonchosis in sheep and goats. **Final Report of Food and Agriculture Organization (FAO) Technical Cooperation Project in South Africa**, 2001. 89p.
- BENAVIDES, M.V. **Prós e contra da resistência genética dos ovinos aos helmintos gastrintestinais**. Série documentos 79. Embrapa Pecuária Sul. Bagé – RS, 2008.
- BENVENUTI, C.L. et al. Marcadores fenotípicos para identificação de caprinos mestiços resistentes e susceptíveis à verminose gastrintestinal – terceiro lote de animais F2. In: CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 7., 2010, Mossoró. **Resumos**. Mossoró, 2010.
- BENVENUTI, C.L. **Caracterização fenotípica de caprinos mestiços resistentes e susceptíveis a verminose gastrintestinal no Nordeste do Brasil**. Março de 2011. 100

f. Dissertação. Universidade Estadual Vale do Acaraú, Programa de Mestrado em Zootecnia. Sobral-CE, 2011.

BEZERRA, L. R. et al.. PERFIL HEMATOLÓGICO DE CABRAS CLINICAMENTE SADIAS CRIADAS NO CARIRI PARAIBANO. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. vol.3, p. no.3, 2008.

BEZERRA, A.C.A. **Frequencia e intensidade de infecção por helmintos gastrintestinais em caprinos leiteiros criados em condições semi-extensivas no município de Afonso Bezerra – RN**. 2010. 49 p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal). Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró- RN, 2010.

BISSET, S.A. et al. Nematode burdens and immunological responses following natural challenge in Romney lambs selectively bred for low or high faecal worm egg count. **Veterinary Parasitology**, v. 61, n. 3-4, p. 249-263, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 03 de 17 de janeiro 2000**. Regulamento técnico de métodos de insensibilização para o abate humanitário de animais de açougue. Brasília, DF, 2000. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em: 30 jan. 2010.

BRICARELLO, P. A. et al. Response of Corriedale and Crioula Lanada sheep to artificial primary infection with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Research Communications**, v. 26, n. 6, p. 447-457, 2002.

BRICARELLO, P.A. et al. Immunological responses and cytokine gene expression analysis to *Cooperia punctata* infections in resistant and susceptible Nelore cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 155, p. 95-103. 2008.

BRITO, D. R.B. et al. Parasitos gastrintestinais em caprinos e ovinos da microrregião do Alto Mearim e Grajaú, no estado do Maranhão, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 3, p. 967-974, 2009.

BUDDLE, B.M. et al. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. **International Journal for Parasitology**, v.22, n. 7, p. 955-960, 1992.

BURKE, J.M. et al. Accuracy of the FAMACHA® system for on-farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 147, n. 1-2, 20, p. 89-95, 2007.

CARDIA, D. F. F. et al. Immune response and performance of growing Santa Ines lambs to artificial *Trichostrongylus colubriformis* infections. **Veterinary Parasitology**, v. 182, p. 248-258, 2011.

CAVELE, A. **Variáveis clínica, parasitológica, hematológica e bioquímica de caprinos e ovinos infectados naturalmente por nematoides gastrintestinais sob o mesmo sistema de produção**. 2009. 99 f. Dissertação. Universidade Federal da Bahia, Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos. Salvador – BA, 2009.

CAVELE, A. et al. Associação de técnicas na estimativa da nematodeose gastrointestinal de caprinos Mestiços Anglo Nubiano. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v.12, n.2, p.500-507, 2011.

COSTA, C.A.F.et al. Variability of resistance in goats infected with *Haemonchus contortus* in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 88, p. 153-158, 2000.

DAWKINS, H.J.S., WINDOW, R.G., EAGLESON, G.K. Eosinophil responses in sheep select for high and low responsiveness to *T. colubriformis*. **International Journal for Parasitology**, v.19, p.199-205, 1989.

DI LORIA, A. et al Evaluation of the FAMACHA©system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 161, n. 1-2, 6, p. 53-59, 2009.

FAO - Food and Agriculture Organization. 2008 . Disponível em: <<http://faostat.fao.org>> Acesso em: 25/09/2011.

FARIA JÚNIOR, S.B.et al. Uso da contagem fecal de ovos de nematóides (OPG) para estimar a condição clínica em caprinos. **Ciências Veterinárias nos Trópicos**, Recife, v.5, n.2/3, p.86-92, 2002.

GASBARRE, L.C., LEIGHTON E. A., SONSTEGARD, T. Role of the bovine system and genome in resistance to gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p.51-64. 2001.

GORDON, H. MCL, WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Council Science Industrial Research**, v. 12, p. 50-52. 1939.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pecuária 2008 - Rebanho ovino. disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 31 ago. 2011.

JAIN, N.C. Essentials of veterinary hematology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, Cap. 2. 470p.

KAPLAN, R. et al. Validation of the FAMACHA© eye colour chart for detecting clinical anaemia in sheep and goats on farms in the southern United States. **Veterinary Parasitology**. Amsterdam, v. 123, p. 105-120, 2004.

KEITH, R.K.The differentiation of infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal Zoology**, v. 1, p. 223-235. 1953.

KENYON, F.et al. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. **Veterinary Parasitology**. Nova Zelândia, v.164, p. 3–11, 2009.

- MACHADO, R. et al. **Escore da condição corporal e sua aplicação no manejo reprodutivo de ruminantes**. Circular Técnica 57. Embrapa Pecuária Sudeste. São Carlos- SP. Dezembro de 2008.
- MAGALHÃES, M. N.; LIMA, A. C. P. de. **Noções de probabilidade e estatística**. 6. ed. São Paulo: Editora USP, 2005.
- MAHIEU, M. et al. Evaluation of targeted drenching using FAMACHA© method in Creole goat: Reduction of anthelmintic use, and effects on kid production and pasture contamination. **Veterinary Parasitology**. Amsterdam, v. 146, p. 135-147, 2007.
- MATIKA, O. et al. Resistance to Sabi and Dorper ewes to gastrointestinal nematode infections in Africa semi-arid environment. **Small Ruminant Research**, v.47, p. 95-102, 2003.
- MATOS, M. J. T. et al. Influência do parasitismo por nematódeos sobre o perfil hematológico de caprinos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Rio grande do Sul. v.57, n.1, p.133-135, 2005.
- McEWAN, J.C. Worm FEC - Breeding sheep resistant to roundworm infection: Breeders' Manual. **Ag Research Invermay**, Mosgiel, New Zealand, 1994.
- MELO, A. C. F. L. et al. Nematódeos resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**. v.33, p.339-344, 2003.
- MILLER, J. E. et al. Segregation of natural and experimental gastrointestinal nematode infection in F2 progeny of susceptible Suffolk and resistant Gulf Coast Native sheep and its usefulness in assessment of genetic variation. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 83-89, 2006.
- NAVARRO, A.C. et al. Resposta de ovinos das raças ½ sangue Santa Inês e ½ sangue Dorper frente às infecções por nematódeos gastrintestinais In: 4º Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte. Feira Nacional de Agronegócio da Caprino-Ovinocultura de Corte, 2009. João Pessoa – PB. **Anais...** João Pessoa: 3p. 2009.
- NEVES, M.R.M. et al. Seleção de ovinos da raça Santa Inês resistentes e susceptíveis a *Haemonchus* spp. In: ZOOTECA, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia - SP: ZOOTECA.2009.
- NEVES, M.R.M. **Utilização de marcadores fenotípicos para caracterização de ovinos mestiços Santa Inês naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais**. Sobral, 2010. 87f. Dissertação de mestrado – Mestrado em Zootecnia, Universidade Estadual Vale do Acaraú. Sobral – CE. 2010.
- NEVES, M.R.M. et al. Phenotypic markers to characterize Santa Inês crossbreed sheep naturally infected by gastrointestinal nematodes. No prelo. **Veterinary Parasitology**. Jan 2012.

PAULINO, C. D.; SINGER, J.da M. **Análise de dados categorizados**. São Paulo: E. Blücher, 2006. 629 p.

R Development Core Team (2011). **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, Disponível em <<http://www.R-project.org/>>

RIBEIRO, S.D.A. **Caprinocultura: criação racional de caprinos**. São Paulo: Nobel. 1998. 320p.

ROBERTS, F.H.S., O'SULLIVAN, S.P. Methods for egg counts and larvae cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal Agricultural Research**, v. 1, p. 99-102. 1950.

SANTAROSA, K.T. et al. Valores de referência para o perfil eletroforético de proteínas séricas em cabras. **Archives of veterinary Science**, v. 10, n.3, p.46-48, 2005.

SILVA, C.A.S. et al. Estudo comparativo da carga parasitária e hematócrito em caprinos (*capra hircus* L.) abatidos em matadouro público. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Campina Grande- PB, v.04, 01-06, 2008.

SILVA, H.M. da. **Parasitismo gastrintestinal em diferentes intensidades de pastejo no capim tanzânia, em caprinos**. Abril de 2008. 109 f. Dissertação. Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal, São Paulo, abril de 2008.

SIMPLÍCIO, K. et al. Perfil bioquímico de cabras lactantes das raças Saanen e Anglo-nubiano. **Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria**, 2009.

SMITH, R.D., 1995. **Veterinary Clinical Epidemiology: A Problem-oriented Approach**, 2nd Edition. CRC Press, Boca Raton, FL, 279 p.

SOLANO, G.B. **Ensaio Preliminares para Validação do Método Famacha em Condições de Semi-Árido Paraibano**. Monografia. Universidade Federal de Campina Grande. Medicina Veterinária. Patos-PB, 2008.

SONSTEGARD, T.S., GASBARRE, L.C. Genomic tools to improve parasite resistance. **Veterinary Parasitology**, v.101, p.387-403. 2001.

SOTOMAIOR, C.S. et al. Identificação de ovinos e caprinos resistentes e susceptíveis aos helmintos gastrintestinais. **rev. acad., curitiba**, v. 5, n. 4, p. 397-412, 2007.

SOUZA, C. et al. Estresse parasitário em cabras Saanen: Avaliação hematológica e da atividade oxidativa dos neutrófilos. **Veterinária Notícias**, v. 12, n. 2, p. 17-23, 2006.

STEAR, M. J. et al. Eosinophilia as a marker of resistance to *Teladorsagia circumcincta* in Scottish Blackface lambs. **Parasitology**, v. 124, n. 5, p. 553-560, 2002.

- UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4 ed. Tóquio: Japan International Cooperation Agency, 1998. 143p.
- URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
- VANDAMME, T. F.; ELLIS, K.J. Issues and challenges in developing ruminal drug delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 10, p. 1415-1436, 2004.
- VANIMISETTI, H.B. et al. Inheritance of fecal egg count and packed cell volume and their relationship with production traits in sheep infected with *Haemonchus contortus*. **Journal Animal Science**, v. 82, p. 1602- 1611, 2004.
- VAN WYK, J. A.; MALAN, F. S.; BATH, G. F. Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa – what are the options? In: Workshop of managing anthelmintic resistance in endoparasites, 1997, Sun City, South Africa. **Proceedings...** Sun City. p.51-63, 1997.
- VATTA, A.F. et al. Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa using an eye colour chart developed for sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 99, p.1–14, 2001.
- VIEIRA, L. S. **Endoparasitoses gastrintestinais em caprinos e ovinos**. Sobral: Embrapa Caprinos, 2005. 32p. Embrapa Caprinos. Documentos, 58.
- \_\_\_\_\_. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, v.2, n.2, p.49-56, João Pessoa, 2008.
- WOLF, A. V.; FULLER, J. B.; GOLDMAN, E. J.; MAHONY, T. D. New refractometric methods for determination of total proteins in serum and in urine. **Clinical Chemistry**, Baltimore, v.8, n.158, 1962.
- ZAROS, L.G., 2006. **Descoberta e estudo de genes envolvidos na resposta a endoparasitos gastrintestinais em bovinos**. p. 122. Tese (Doutorado em Ciência Animal e Pastagens) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.
- ZAROS, L.G. et al. Quantification of bovine cytokine expression using real-time RT-PCR methodology. **Genetics and Molecular Biology**, v.30, p.575-579. 2007.
- ZAROS, L.G. et al. Desempenho de ovinos somalis resistentes e susceptíveis a nematódeos gastrintestinais. XIX Congresso Brasileiro de Zootecnia. **Anais....** Águas de Lindóia- SP, 2009.