

PESQUISA DE MARCADORES PARASITOLÓGICOS E HEMATOLÓGICOS DE RESISTÊNCIA AO PARASITISMO GASTRINTESTINAL EM CORDEIROS

Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt
Rosangela Locatelli-Dittrich
Vanete Thomaz-Soccol
Fernanda Rosalinski Moraes

SCHMIDT¹, E.M.S.; LOCATELLI-DITTRICH², R.; THOMAZ-SOCCOL³, V.; MORAES⁴, F.R.

Pesquisa de marcadores parasitológicos e hematológicos de resistência ao parasitismo gastrointestinal em cordeiros. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 4(1): p. 55 - 64, 2001.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi o de identificar marcadores parasitológicos e hematológicos que reflitam a habilidade de ovinos jovens em resistir ao desafio dos nematóides para uma possível seleção de animais resistentes à verminose gastrointestinal. Foi estudado um rebanho de 26 cordeiros. Os animais foram avaliados por um período de oito meses, através de colheitas quinzenais de fezes e de sangue. O marcador parasitológico utilizado foi a quantidade de ovos por grama de fezes (opg) e os marcadores hematológicos utilizados foram: contagem de eosinófilos, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas totais. A metodologia empregada para a seleção de cordeiros resistentes ou susceptíveis ao parasitismo foi a análise de cluster. Verificou-se que, para os cordeiros, antes de completarem sete meses de idade, a realização de um programa de seleção não é viável, pois há uma grande variação na resposta imunológica destes animais para os parâmetros estudados. Foi possível selecionar os cordeiros utilizando-se a associação do opg com a contagem de eosinófilos e a série vermelha sanguínea de quatro picos de parasitismo. Foram selecionados nove cordeiros (36,0% do rebanho) susceptíveis, 3 (12,0% do rebanho) intermediário, onze (44,0% do rebanho) resistentes ao parasitismo gastrointestinal e dois cordeiros não puderam ser selecionados (8,0% do rebanho).

PALAVRAS-CHAVE: nematóides, contagem de eosinófilos, hematologia, cordeiros

STUDY OF PARASITOLOGICAL AND HAEMATOLOGICAL MARKERS OF RESISTANCE TO NEMATODE PARASITES IN LAMBS

SCHMIDT, E.M.S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; MORAES, F.R.

Study of parasitological and haematological markers of resistance to nematode parasites in lambs. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 4(1): p. 55 - 64, 2001.

ABSTRACT: The purpose of this work was to identify parasitological and haematological markers that reflect the ability of young sheep to resist to nematode parasites challenge and the possibility to select resistant animals. A sheep flock with 26 lambs was evaluated for a period of eight months. The parasitological marker used was the faecal egg counts (feg) and the haematological markers were: eosinophil counts, packed cell volume (PCV), haemoglobin, red blood cell counts (Rbc) and plasmatic protein. The methodology chosed to select resistant and susceptible animals was the Cluster Analysis. Four different hypotheses were made to select the lambs. A programm to select lambs was not possible until the lambs reached seven months old because there was a great individual variation of the immunological response of these animals.

¹ Médica Veterinária, Mestre, Laboratório de Análises Clínicas, Professora Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias – Universidade Federal do Paraná. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê. CEP 80035-050 - Curitiba - PR - Brasil bethschmidt@uol.com.br

² Médica Veterinária, Mestre, Professora Dept. de Medicina Veterinária – UFPR.

³ Médica Veterinária, Doutora, Professora Dept. Patologia Básica – UFPR.

⁴ Médica Veterinária, Mestranda, Curso de Pós-Graduação Ciências Veterinárias – UFPR.

Despite this variation, it was possible to select the lambs with the association between fec, eosinophil counts, PCV, haemoglobin and Rbc of four different periods. There were considered nine susceptible lambs, three intermediate and 11 resistant lambs to gastrointestinal nematodes. It was not possible to select two animals.

KEY WORDS: nematode, eosinophil counts, haematology, lambs

INVESTIGACIÓN DE MARCADORES PARASITOLÓGICOS Y HEMATOLÓGICOS DE RESISTENCIA AL PARASITISMO GASTROINTESTINAL EN CORDEROS

SCHMIDT, E.M.S.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; MORAES, F.R.

Investigación de marcadores parasitológicos y hematológicos de resistencia al parasitismo gastrointestinal en corderos. *Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR*, 4(2): p.55 - 64, 2001.

RESUMEN: El propósito de este trabajo fue identificar los marcadores parasitológicos y hematológicos que reflejan la habilidad de oveja de resistir al desafío de los parásitos nematodos, para una posible selección de animales resistentes. Se estudió un rebaño de 26 corderos, que fueron evaluados por un período de ocho meses, por medio de colectas de quincenales de heces y sangre. Se empleó la cuenta de huevos por grama (chg) como marcador parasitológico, y como marcadores hematológicos fueron empleados la cuenta de eosinófilos, el hematocrito, la hemoglobina, la cuenta total de células rojas y las proteínas plasmáticas totales. El método escogido para seleccionar animales resistentes y susceptibles fue el análisis estadístico de *cluster*. Se constató que, para los corderos, antes de completaren siete meses de edad, no se puede realizar un programa de selección, pues existe una gran variación en la respuesta inmunológica de los animales, para los parámetros estudiados. Fue posible seleccionar los corderos empleándose la asociación del chg a la cuenta de eosinófilos y a la serie roja de cuatro períodos de parasitismo. Fueron seleccionados nueve corderos susceptibles (36% del rebaño), tres intermediarios (12,0% del rebaño) y once resistentes al parasitismo gastrointestinal (44% del rebaño). Dos animales (8,0% del rebaño) no pudieron ser seleccionados.

PALABRAS-CLAVE: nematodos, cuenta de eosinófilos, hematología, corderos

Introdução

Nas regiões onde a ovinocultura representa um papel essencial na economia, os parasitos gastrintestinais são uma das principais causas de perdas na produtividade dos ovinos. No Estado do Paraná, onde os ovinos são criados em pequenas áreas e com superlotação de pastagens, os parasitos da família *Trichostrongylidae* representam um dos maiores entraves na produção em ovinos (MORAES *et al.*, 1998). Para evitar prejuízos com o parasitismo, passou-se a utilizar esquemas de desverminação que acarretaram no aparecimento da resistência dos parasitos aos princípios ativos dos vermífugos (SOTOMAIOR, 1997; SOUZA, 1997). Para controlar esta situação buscaram-se alternativas, além do controle quimioterápico, como a identificação de marcadores de maior ou menor resistência aos parasitos (DAWKINS *et al.*, 1989; BUDDLE *et al.*, 1992; STEAR, 1995; SOTOMAIOR, 1997).

Com base nestes fatos o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de identificar marcadores parasitológicos (opg) e hematológicos (contagem de eosinófilos sanguíneos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT)) que pudessem refletir a habilidade do hospedeiro em resistir ao desafio dos nematóides para uma possível seleção de animais resistentes à verminose gastrointestinal, definindo o período ideal para esta seleção e estabelecer a partir de que idade se inicia a resposta imunológica dos animais jovens.

Materiais e Métodos

Para o presente experimento foram utilizados 26 cordeiros mestiços pertencentes ao rebanho do Quartel General da 5ª Região Militar em Curitiba. Estes animais foram desverminados em 6 de outubro de 1998 (desmame), com moxidectin® 200

© Cydectin, Cyanamid Química do Brasil Ltda.

mg/kg, objetivando-se o acompanhamento dos animais em condições semelhantes de parasitose, apesar do número baixo de ovos por grama de fezes.

Os cordeiros permaneceram constantemente em pastagem de capim nativo, submetidos à infecção natural. A duração do experimento foi de oito meses (outubro de 1998 a 25 de maio de 1999), com acompanhamento quinzenal dos animais até março de 1999. A partir de abril de 1999 o acompanhamento foi mensal.

Foram realizados exames coproparasitológicos de todos os cordeiros. As colheitas de fezes foram realizadas individualmente, da ampola retal, com sacos plásticos, totalizando 15 colheitas. O número de ovos por grama de fezes (opg) foi determinado segundo o método de GORDON & WHITLOCK (1939), sensível para 100 opg. O segundo método utilizado foi o de WILLIS & MOLLAY (HOFFMANN, 1987). Para o cálculo do opg, as amostras negativas no exame quantitativo, mas positivas no qualitativo, foram consideradas como positivas e atribuiu-se o valor de 100 opg (URHQUART *et al.*, 1998). As culturas de larvas foram realizadas a partir de um "pool" de amostras de fezes de todas as colheitas, segundo o método de ROBERTS & O'SULLIVAN (1950). Para a identificação das larvas foram utilizadas chaves de KEITH (1953), UENO & GONÇALVES (1989).

As colheitas de sangue foram feitas em intervalos de quatorze dias no período de 6 de outubro de 1998 até março de 1999. A partir de abril de 1999

as colheitas foram mensais, totalizando 15. As colheitas de sangue foram realizadas através de venopunção da jugular externa, em tubos contendo o EDTA. Os exames hematológicos foram realizados (hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e proteínas plasmáticas) utilizando-se técnicas de rotina segundo JAIN (1986). A contagem de eosinófilos foi realizada pelo método direto, segundo LIMA *et al.* (1985).

Para a seleção dos animais em resistentes e susceptíveis, considerando todos os parâmetros avaliados, foi utilizada a análise estatística de cluster, uma vez que permite trabalhar com muitos parâmetros ao mesmo tempo. Nesta análise, as unidades foram representadas pelos cordeiros e os caracteres (opg, hematócrito, concentração de hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem de eosinófilos e proteínas plasmáticas totais) foram submetidos a um processo de análise de agrupamento com base na similaridade ou na distância onde os resultados são dispostos graficamente em um diagrama em árvore, ou dendograma, com uma escala para se observar os níveis de agrupamento. Foram utilizadas ligações completas e a distância euclidiana.

Resultados e Discussão

Nas culturas de larvas observou-se que os gêneros *Trichostrongylus sp.* e *Haemonchus sp.* associados representam 82,0% das infecções parasitárias (Tab. 1).

Tabela 1 - Porcentagem de larvas de parasitos encontradas nas culturas realizadas em todas as colheitas de fezes dos 26 cordeiros

Parasitos	Percentual (%)
<i>Trichostrongylus sp.</i>	43
<i>Haemonchus sp.</i>	39
<i>Oesophagostomum sp.</i>	09
<i>Cooperia sp.</i>	04
<i>Nematodirus sp.</i>	03
<i>Ostertagia sp.</i>	02
Total	100

Ovos de tipo estrongiliforme foram observados nas 15 colheitas realizadas. Ao analisar todos os exames de fezes, observou-se que o número de ovos de tipo estrongiliformes por grama de fezes variou de 0 a 27.900 opg (Tab.2).

A primeira infecção parasitária foi observada nas colheitas de 17/11/98 e 01/12/98 (prima-

vera). Neste pico de parasitismo, alguns cordeiros apresentaram sinais clínicos de anemia. Para evitar a perda desses animais, o rebanho dos cordeiros foi desverminado, com 10mg de closantel e 05mg de oxfendazole por kg de peso vivo.

Na 13ª e 14ª colheitas, que ocorreram no outono, os cordeiros apresentaram um pico de pa-

rasitismo, com média de 3073,91 e 3104,34 opg, respectivamente.

Na análise dos valores médios do hematócrito e da concentração de hemoglobina do rebanho, observou-se que há uma queda desses valores nas colheitas que correspondem aos quatro picos de parasitismo (colheitas 4/5, 9/10, 13 e 14). Nas colheitas 10, 13 e 14, os valores médios do hematócrito estavam abaixo dos valores de referência para a espécie ovina. A diminuição dos valores do hematócrito e da concentração de hemoglobina indica uma condição anêmica, reflexo direto do aumento do parasitismo.

As contagens totais de eritrócitos foram mensais. Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) dos valores médios das contagens totais de eritrócitos das colheitas do segundo, terceiro e quarto picos de parasitismo. Os valores médios de proteínas plasmáticas totais encontrados, com exceção da colheita 11, foram inferiores ao limite mínimo dos valores de referência para os ovinos

(JAIN, 1986), sugerindo a ação dos parasitos.

Na análise dos resultados médios das contagens de eosinófilos, verificou-se que há grande variação nesses valores em todas as colheitas. Observou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as colheitas 7 e 8, 12 e 13, 14 e 15. A partir da 10ª colheita, a média da contagem de eosinófilos apresentou um aumento progressivo. Entre as colheitas 12 e 13, observou-se diferença significativa ($p < 0,05$), com a diminuição do valor médio da contagem de eosinófilos na colheita 13, considerada como o terceiro pico de parasitismo. Verificou-se um novo aumento da média da contagem de eosinófilos na colheita 14, que correspondeu ao quarto pico de infecção parasitária. Esta observação demonstra o provável início da resposta imune dos cordeiros. Para a seleção dos animais em resistentes e sensíveis ao parasitismo foram propostas quatro hipóteses, a partir das análises de agrupamento realizadas com os dados obtidos.

Tabela 2 - Valores médios de ovos de helmintos por grama de fezes, de hematócrito (Ht), de hemoglobina (Hb), da contagem total de eritrócitos (RBC), de proteína plasmática total (ppt), e de eosinófilos das colheitas de fezes dos 26 cordeiros.

Colheita	Data	Média opg	Média Ht (%)	Média Hb (g/dl)	Média RBC ($\times 10^6/\text{dl}$)	Média PPT (g/dl)	Média EOS ($/\text{mm}^3$)
1	06/10/98	884,78 ^b	33,46 ^b	10,78 ^b	11,51 ^b	5,43 ^b	52,52 ^b
2	23/10/98	161,53 ^b	34,30 ^b	11,78 ^b	-	5,33 ^b	84,25 ^b
3	03/11/98	622,72 ^b	31,88 ^b	11,69 ^b	11,09 ^b	5,66 ^b	74,99 ^b
4	17/11/98	2447,82 ^a	28,69 ^a	9,35 ^a	-	5,23 ^a	68,74 ^b
5	01/12/98	2130,76 ^a	28,92 ^b	10,35 ^b	10,68 ^b	5,26 ^a	58,53 ^b
6	15/12/98	372,72 ^b	29,96 ^b	9,95 ^b	-	5,36 ^b	59,49 ^b
7	29/12/98	565,21 ^b	29,11 ^b	9,94 ^b	-	5,47 ^b	112,86 ^b
8	12/01/99	1085,71 ^b	30,15 ^b	10,50 ^b	11,47 ^b	5,80 ^b	174,87 ^a
9	26/01/99	2965,21 ^a	28,07 ^a	9,83 ^b	-	5,60 ^b	93,14 ^b
10	09/02/99	3145,45 ^a	26,84 ^a	8,45 ^a	7,88 ^a	5,55 ^b	122,95 ^b
11	23/02/99	518,00 ^a	28,96 ^b	9,93 ^b	-	6,05 ^b	166,82 ^b
12	09/03/99	46,15 ^b	28,34 ^a	10,39 ^b	9,05 ^b	5,99 ^b	185,09 ^a
13	06/04/99	3073,91 ^a	25,23 ^a	8,43 ^a	7,90 ^a	5,21 ^a	101,43 ^b
14	04/05/99	3104,34 ^a	23,69 ^a	8,18 ^a	7,06 ^a	5,21 ^a	215,74 ^a
15	25/05/99	247,82 ^b	29,15 ^b	9,93 ^b	8,23 ^b	5,86 ^b	194,49 ^b

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$)

a) Hipótese 1

A análise de cluster foi realizada tendo como dados de base os resultados de exame de fezes (opg) e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) de duas colheitas correspondentes ao primeiro pico de infec-

ção parasitária (17/11/98 e 01/12/98). Neste período a média de idade dos cordeiros era de cinco meses. O dendograma foi construído com o método ascendente hierárquico a linhas completas. Neste tipo de construção o rebanho dos cordeiros foi separado em três grupos A, B e C. Os animais de número 28 e 34 formaram um grupo

separado nesta análise porque apresentaram valores discrepantes de opg (9350 e 9400, respectivamente). Grupo A (C15, C25, C16, C13, C12,

C6, C36, C14, C10, C33, C21, C19, C5, C17, C22 e C3), grupo B (C37, C39, C24, C18) e grupo C (C11, C38, C4 e C1) (Tab.3; Fig. 1).

Tabela 3 - Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no primeiro pico de infecção parasitária (17/11/98 e 01/12/98)

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm ³	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 ⁶ /mm ³	PPT (g/dl)
A	571,87 ^a	54,58	31,56 ^a	10,97 ^a	11,74 ^a	5,59 ^a
B	3475,00 ^b	87,49	25,75 ^b	8,24 ^b	9,04 ^b	4,92 ^b
C	3875,00 ^b	73,43	27,00 ^b	8,93 ^b	10,35 ^c	5,10 ^b

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

b) Hipótese 2

Para a construção deste dendograma foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) referentes as colheitas de fezes e de sangue do segundo pico de parasitismo (26/01/99 e

09/02/99), quando a média de idade dos cordeiros era de sete meses. O agrupamento obtido separou o rebanho em três grupos (A, B e C). Grupo A (C39, C33, C37, C36, C38, C15, C14, C12, C11, C22, C10, C16, C13, C5, C4, C17 e C3), grupo B (C18 e C6) e grupo C (C34, C21, C28, C25, C19, C24 e C1) (Tab.4; Fig. 2).

Tabela 4 - Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no segundo pico de infecção parasitária (26/01/99 e 09/02/99)

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm ³	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 ⁶ /mm ³	PPT (g/dl)
A	2179,41 ^a	104,59	27,97	9,43	8,00	5,66 ^a
B	4950,00 ^b	285,93	26,75	8,82	7,90	6,00 ^a
C	5342,85 ^b	65,17	27,14	8,66	7,94	5,30 ^b

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos

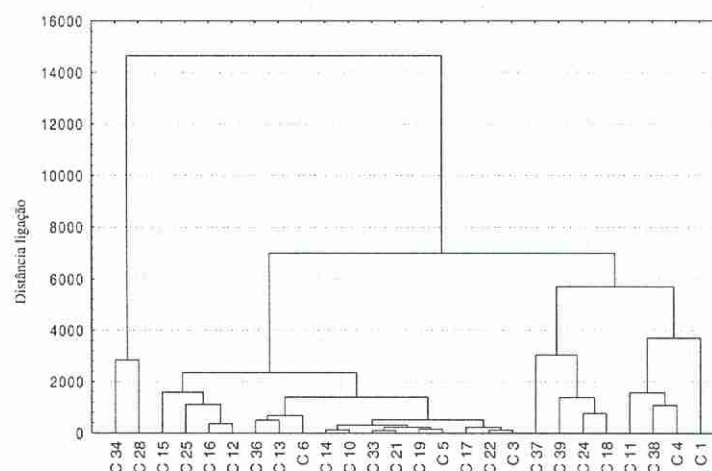


Figura 1 - Dendograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando a distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais das colheitas de 17/11/98 e 01/12/98 dos cordeiros

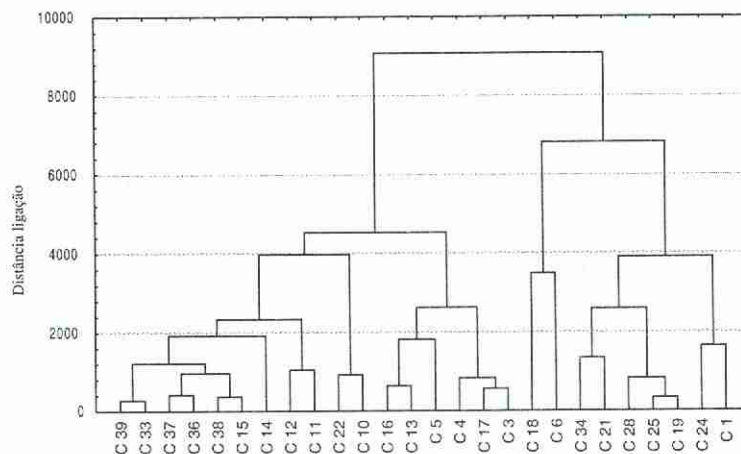


Figura 2 - Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados dados de opg, contagem de eosinófilos, da série vermelha do sangue e das proteínas plasmáticas totais referentes as colheitas de 26/01/99 e 09/02/99, dos cordeiros.

c) Hipótese 3

Para a construção desta hipótese foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) referentes a uma única colheita de fezes e de sangue que corresponde ao terceiro pico de infecção parasitária em 6/04/99. Este pico ocorreu no outono quando a média de idade dos cordeiros era de dez meses. O cordeiro de número 33 foi excluído do experimento. O agrupamento obtido com os parâmetros supracitados separou os animais em três grupos (A, B e C). Grupo A (C22, C10, C5, C28, C34, C4, C21, C19, C38, C36, C14, C39, C6 e C3), grupo B (C17, C24, C11, C15, C12, C18, C25 e C1) e grupo C (C37, C16 e C13) (Tab.5; Fig.3).

d) Hipótese 4

Para a construção desta hipótese, foram utilizados os valores de opg e dos parâmetros sanguíneos (contagem de eosinófilos, Ht, Hb, RBC e PPT) com dados referentes a uma única colheita correspondente ao quarto pico de infecção parasitária (04/05/99), quando a média de idade dos cordeiros era de onze meses. Os cordeiros de número 01 e 19 não foram incluídos nesta análise porque apresentaram valores discrepantes de opg (27900 e 17100, respectivamente). Neste dendrograma, o agrupamento obtido separou o rebanho dos cordeiros em três grupos A, B e C. Grupo A (C12, C39, C22, C11, C10, C5, C21, C17, C14 e C3), grupo B (C28, C25, C16, C38, C6, C36, C34, C15 e C4) e grupo C (C37, C18, C24 e C13) (Tab.6; Fig.4).

Tabela 5 - Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb), contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no terceiro pico de infecção parasitária (06/04/99)

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos /mm ³	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 ⁶ /mm ³	PPT (g/dl)
A	1335,70 ^a	110,26	23,00 ^a	7,04 ^a	8,80	5,33
B	4637,50 ^b	112,88	24,50 ^a	8,08 ^a	7,45	5,20
C	7900,00 ^c	63,53	27,92 ^c	9,53 ^c	8,53	5,56

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

Tabela 6 - Valores médios de opg, contagem de eosinófilos, hematócrito (Ht), concentração de hemoglobina (Hb) e contagem total de eritrócitos (RBC) e proteínas plasmáticas totais (PPT) dos grupos dos cordeiros no quarto pico de infecção parasitária (04/05/99)

Grupos	opg	Contagem de eosinófilos/mm ³	Ht (%)	Hb (g/dl)	RBC x10 ⁶ /mm ³	PPT (g/dl)
A	620,00 ^a	210,62	27,60 ^a	9,32 ^a	8,10 ^a	5,86 ^a
B	3622,22 ^b	224,99	23,88 ^b	8,33 ^b	7,33 ^a	5,35 ^b
C	8475,00 ^c	305,46	22,75 ^b	7,44 ^b	6,53 ^b	5,05 ^b

Letras diferentes indicam diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre os grupos.

Na análise das quatro hipóteses construídas sempre se observa a formação de três grupos de animais (A, B e C), com uma oscilação entre os animais que constituem os grupos. Quando se analisa a média de ovos de helmintos excretada, verifica-se que o grupo A oscila de 571,87 opg na primeira hipótese, 2179,41 opg na segunda hipótese, 1335,70 opg na terceira e 620 opg na quarta hipótese.

O grupo B oscila entre 3475 opg (hipótese 1), 4950 opg (hipótese 2), 4637,0 (hipótese3) e 3622,22 (hipótese 4). O grupo C apresentou em todas as hipóteses opg elevado, com as médias variando entre 3875 opg (hipótese 1), 5342,85 opg (hipótese 2), 7900 opg (hipótese 3) a 8475 opg (hipótese 4). Desta forma, o grupo A foi classificado como animais resistentes, o grupo B como animais intermediários e o grupo C como animais susceptíveis ao parasitismo. DAWKINS *et al.* (1989) realizaram infecções experimentais por *Trichostrongylus colubriformis* em cordeiros e encontraram diferença altamente significativa ($p < 0,001$) para os valores de opg entre os animais considerados resistentes e

susceptíveis ao parasitismo.

Ao analisar o comportamento individual dos animais nas diferentes hipóteses, é possível observar que os animais C1, C18, C24 e C37 sempre integraram o grupo susceptível. Os animais C13, C16, C25, C28 e C34 também integraram este grupo após duas infecções maciças, com valores elevados de opg. Os animais C11, C19 e C38 oscilaram entre os grupos resistente e susceptível (grupo intermediário). Os cordeiros C3, C5, C10, C14 e C22 foram totalmente resistentes ao parasitismo gastrointestinal. Os animais C4, C12, C17, C21, C36 e C39 poderiam integrar o grupo de animais resistentes, uma vez que na maioria das hipóteses, estes animais integraram este grupo. Dois cordeiros (C6 e C15) foram classificados como grupo indefinido. Foram selecionados nove cordeiros como susceptíveis, o que representa 36,0% do rebanho, três cordeiros intermediários, o que representa 12,0% do rebanho, onze cordeiros resistentes, representando 44,0% do rebanho e dois cordeiros indefinidos, representando 8,0% do rebanho.

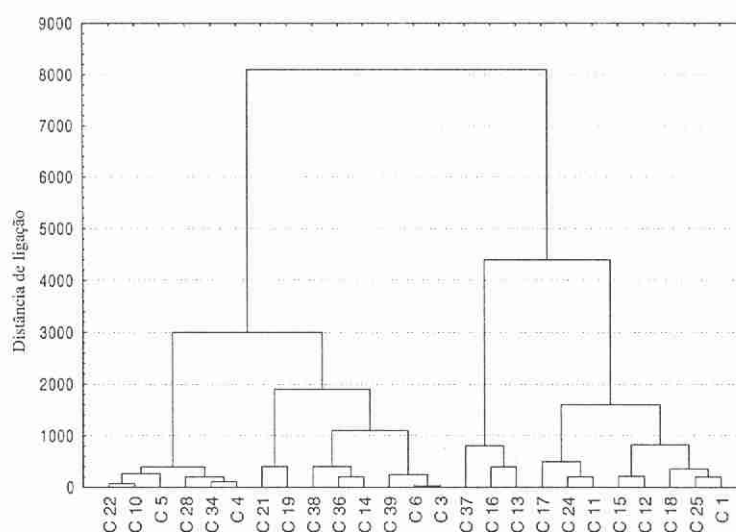


Figura 3 - Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados os dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais de 25 cordeiros em 06/04/99

Observou-se uma grande variação individual na contagem de eosinófilos. Porém, em nenhum dos picos de infecção parasitária deste estudo, foi observada diferença significativa na contagem de eosinófilos entre os cordeiros considerados susceptíveis e resistentes ao parasitismo. Verificou-se o início das respostas imunológicas após o pico de infecção parasitária do verão (segundo pico), quando os animais tinham em média sete meses de idade e quando todos os

cordeiros tiveram contato com parasitos, apesar de haver grande variação individual. A mesma observação foi feita quando os animais tinham nove e onze meses de idade. Estes resultados corroboram com vários autores que observaram que antes dos dez meses de idade, os cordeiros não são capazes de produzir uma resposta imune efetiva contra *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis* MANTON *et al.* (1962); URQUHART *et al.* (1966).

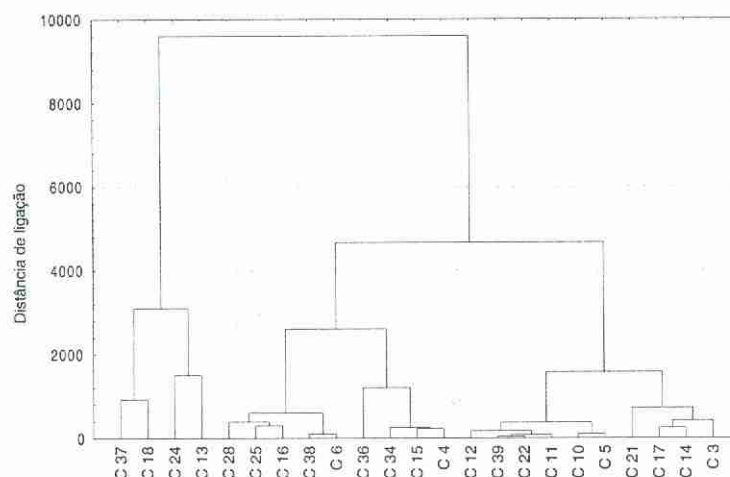


Figura 4 - Dendrograma construído segundo método ascendente hierárquico, utilizando distância euclidiana a linhas completas. Foram utilizados dados de opg, contagem de eosinófilos, série vermelha do sangue e proteínas plasmáticas totais de 23 cordeiros em 04/05/99.

SOTOMAIOR (1997), AMARANTE *et al.* (1999) investigaram a relação do parasitismo com a contagem de eosinófilos em cordeiros que tinham entre quatro e cinco meses de idade, não encontrando diferença estatística significativa entre os grupos de animais classificados como resistentes ou susceptíveis. PERNTHANER *et al.* (1995), também não encontraram correlação significativa entre a contagem de eosinófilos e as alterações do opg, em cordeiros selecionados geneticamente, submetidos à infecção artificial acompanhados semanalmente. Para estes autores, não há consistência na relação entre a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes e os eosinófilos, sugerindo que os eosinófilos sanguíneos podem não ter uma ação direta em mediar a resistência aos parasitos. No entanto, já foi citado que a competência imunológica do ovino começa a se desenvolver entre o sexto e nono mês de idade, não sendo conveniente submeter animais jovens a grandes desafios larvários, já que isto poderia levar o sistema imunitário a um fenômeno de esgotamen-

to (KELLY, 1973 apud NARI & CARDOZO, 1987).

DAWKINS *et al.* (1989), encontraram diferença significativa ($p < 0,05$) para a contagem de eosinófilos entre animais resistentes e susceptíveis ao parasitismo, submetidos à infecção experimental por *Trichostrongylus colubriformis* com aumento contínuo da contagem de eosinófilos até os sete meses de idade. No experimento conduzido neste trabalho foram utilizados indivíduos de um mesmo rebanho e com idades próximas, onde foi possível observar grande variabilidade na resposta eosinofílica destes animais em relação ao opg. Assim, esta variabilidade pode estar relacionada com a idade dos cordeiros no que diz respeito ao estabelecimento da resposta imune ou devido à influência de fatores como o uso de antihelmínticos, desafios larvais e o ambiente. Todos estes fatores já foram citados por BUDDLE *et al.* (1992) que sugerem que as comparações só podem ser feitas entre indivíduos de um mesmo grupo em períodos específicos.

Os valores das concentrações de proteínas

plasmáticas totais dos cordeiros, em todos os picos de infecção parasitária, estiveram sempre abaixo dos valores de referência da espécie ovina, tanto para os animais considerados susceptíveis como para os animais resistentes. Tal fato pode ser atribuído a diversas causas. A concentração de proteínas plasmáticas totais é baixa nos animais recém-nascidos, geralmente valores inferiores a cinco g/dl. O nível da concentração de proteínas plasmáticas totais aumenta gradualmente até alcançar a variação normal de seis a oito g/dl, a partir dos seis meses de idade. Além disto, os parasitos dos gêneros *Haemonchus sp.*, *Trichostrongylus sp.* e *Ostertagia sp.*, promovem a hipoproteinemia nutricional, causada pela diminuição do consumo de alimentos e água pelos animais. Estes parasitos também provocam a perda de proteínas juntamente com as hemorragias do trato gastrointestinal (JAIN, 1993).

O hematócrito mostrou-se um bom indicador do parasitismo para os animais jovens. Este parâmetro apresentou correlação negativa com a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes no primeiro, terceiro e quarto picos de parasitismo dos cordeiros. BAHIRATHAN *et al.* (1996) encontraram valores elevados de opg e baixos valores de hematócrito, que variavam entre 10 a 12%, em cordeiros com três meses de idade. Estes autores relatam óbito de alguns animais que apresentavam sinais clínicos de anemia. AMARANTE *et al.* (1999) também observaram baixos valores de hematócrito em cordeiros da raça Rambouillet parasitados. WOOLASTON (1996) sugere que o hematócrito é um parâmetro útil para a seleção de animais resistentes, particularmente quando o parasito sob investigação é o *Haemonchus contortus*. Para este autor, o hematócrito parece ser tão útil quanto a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes (opg), pois está altamente correlacionado com o opg quando há desafio por *Haemonchus contortus*. Contudo, parece não ser tão útil quando a infecção é causada por *Trichostrongylus sp.* ou *Ostertagia circumcincta* (WOOLASTON *et al.*, 1996).

Após a análise de cada cordeiro nos quatro picos de parasitismo, foi possível realizar a seleção, onde verificou-se que 44% do rebanho mostrou-se resistente ao parasitismo. No entanto, estes resultados foram encontrados após a análise de quatro picos de parasitismo. Verificou-se que após o pico de parasitismo do verão, quando todos os cordeiros tiveram contato com os parasitos, os ani-

mais apresentaram um comportamento mais regular frente aos desafios larvários.

Para os animais jovens, um único parâmetro não seria útil para um processo de seleção, pois os resultados aqui encontrados apresentaram ampla variação individual, provavelmente devido a imaturidade do sistema imunológico. Contudo, apesar desta variação individual, observou-se que alguns animais apresentaram algum tipo de resposta, considerando-se principalmente a quantidade de ovos de helmintos por grama de fezes como critério de seleção. Assim, com os parâmetros usados neste experimento, o ideal é que se inicie o acompanhamento dos cordeiros após os sete meses de idade, avaliando os animais individualmente. Segundo GRAY (1997) os benefícios da seleção pela resistência surgem dos efeitos da presença de poucos parasitas, o que deveria reduzir o impacto na produção, com menor necessidade de controle químico e diminuição da contaminação do pasto por larvas infectantes.

Agradecimentos

A Nara Schimanski, técnica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFPR, pelo auxílio e apoio em todos os exames laboratoriais. A CAPES, pela concessão da bolsa de estudos durante o ano de 1999.

Referências

- AMARANTE, A.F.T. *et al.* Nematode burdens and cellular responses in the abomasal mucosa and blood of Florida Native, Rambouillet and crossbreed lambs. *Veterinary Parasitology*, 80: 311-324, 1999.
- BAHIRATHAN, M. *et al.* Susceptibility of Suffolk And Gulf Coast Native suckling lambs to naturally acquired strongylate nematode infection. *Veterinary Parasitology*, v. 65, p. 259-268, 1996.
- 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.
- DAWKINS, H.J.S.; WINDON, R.G.; EAGLESON, G.K. Eosinophil responses in sheep selected for high and low responsiveness to *Trichostrongylus colubriformis*. *International Journal for Parasitology*, v. 19, n. 2, p. 199-205, 1989.
- GORDON, H.McL; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*, v.12, p.50, 1939.
- GRAY, G.D. The use of genetically resistant sheep to control nematode parasitism. *Veterinary Parasitology*, 72, p. 345-366, 1997.
- HOFFMANN, R. P. *Diagnóstico de Parasitismo Veterinário*. Porto Alegre: Sulina, 1987, 156p.

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

JAIN, N.C. *Essentials of Veterinary Hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p.19-52.

KEITH, R.K. The differentiation of the infective larval of some common nematode parasites of cattle. *Austr. J. Zool.* v.1, n. 2, p. 223-230, 1953.

LIMA, A.O. *et al. Métodos de laboratório aplicados à clínica: técnica e interpretação*. 6 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1985.

MANTON, V.J.A.; PEACOCK, R.; POYNTER, D. The influence of age on naturally acquired resistance to *Haemonchus contortus* in lambs. *Res. Vet. Sci.*, 3: 308-313, 1962.

MORAES, F.R. *et al.* Estudo epidemiológico da verminose ovina na Região de Ponta Grossa - PR. *Anais do 6.º EVINCI* - Evento de Iniciação Científica da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, p. 427, 1998.

NARI, A.; CARDOZO, H. Nematodos Gastrointestinales. In: *Enfermedades de los lanares - Tomo I. Montevideo*: Editorial Agropecuaria Hemisferio Sur S.R.L., 1987, p.1-51.

PERNTHANER, A. *et al.* The immune responsiveness of Romney sheep selected for resistance or susceptibility to gastrointestinal nematodes: lymphocyte blastogenic activity, eosinophilia and total white blood cell counts. *International Journal for Parasitology*, v. 25, n. 4, p. 523-529, 1995.

ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, P.J. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agriculture Research*, v. 1, p. 99, 1950.

SOTOMAIOR, C. *Estudo de caracteres que possam auxiliar na identificação de ovinos resistentes e susceptíveis as helmintos gastrintestinais*. Curitiba 1997. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

SOUZA, F.P. *Contribuição para o estudo de resistência dos helmintos gastrintestinais de ovinos (Ovis aires) aos anti-helmínticos no Estado do Paraná*. Curitiba 1997. Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

STEAR, M.J. *et al.* The repeatability of faecal egg counts, peripheral eosinophil counts, and plasma pepsinogen concentrations during deliberate infections with *Ostertagia circumcincta*. *International Journal for Parasitology*, v. 25, n. 3, p. 375-380, 1995.

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*, 3ª edição, Japão: Japan International Cooperation Agency, Tokyo, 1989.

URQUHART, G.M.; JARRET, W.F.H.; JENNINGS, F.W. Immunity to *Haemonchus contortus* infection: relationship between age and successful vaccination with irradiated larvae. *Am. J. Vet. Res.*, 27: 1645-1648, 1966.

WOOLASTON, R.R. Increasing resistance by selection. *Aciair Proceedings*, Indonesia, n.74, p.22-25, 1996.

WOOLASTON, R.R. *et al.* The value of circulating eosinophil count as selection criterion for resistance of sheep to *Trichostrongyle* parasites. *International Journal for Veterinary Parasitology*, v. 26, n. 1, p. 123-126, 1996.

Recebido para publicação em 03/11/00.

Received for publication on 03 November 2000.

Recibido para publicación en 03/11/00.

Aceito para publicação em 30/12/00.

Accepted for publication on 30 December 2000.

Acepto para publicación en 30/12/2000.