UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

GLAUCO DENTE GURTNER

**“Repercussão do tratamento contra verminose gastrointestinal sobre
o quadro eritrocitário e leucograma de ovinos com anemia
verminótica”**

Pirassununga

2018

GLAUCO DENTE GURTLE

**Repercussão do tratamento contra verminose gastrointestinal sobre
o quadro eritrocitário e leucograma de ovinos com anemia
verminótica**

Versão corrigida

Dissertação apresentada ao Programa
de Pós Graduação em Biociência
Animal da Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Mestre em
Ciências.

Departamento: Medicina Veterinária

Área de concentração: Clínica Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior

Pirassununga

2018

Ficha catalográfica elaborada pelo
Serviço de Biblioteca e Informação, FZEA/USP,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G552r Gurtler, Glauco Dente
Repercussão do tratamento contra verminose
gastrointestinal sobre o quadro eritrocitário e
leucograma de ovinos com anemia verminótica / Glauco
Dente Gurtler ; orientador Eduardo Harry Birgel
Junior. -- Pirassununga, 2018.
46 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação
em Biociência Animal) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

1. anemia. 2. hemograma. 3. ovinos. 4.
recuperação. 5. verminose. I. Birgel Junior, Eduardo
Harry, orient. II. Título.

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: GURTNER, GLAUCO DENTE

Título: Repercussão do tratamento contra verminose gastrointestinal sobre o quadro eritrocitário e leucograma de ovinos com anemia verminótica.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data: 14/09/2018

Banca Examinadora:

Prof. Dr. José Carlos Guillard Pacheco

Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - USP

Assinatura: _____

Prof^a. Dr^a. Ligia Garcia Mesquita

Instituição: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP

Assinatura: _____

Prof. Dr. Pedro Kastein Faria da Cunha Bianchi

Instituição: Centro Universitário Anhanguera – Unidade Leme

Assinatura: _____

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Repercussão do tratamento contra verminose gastrointestinal sobre o quadro eritrocitário, leucograma e perfil bioquímico de ovinos com anemia verminótica", protocolada sob o CEUA nº 3558211016, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Eduardo Harry Bingel Junior - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo - FZEA/USP (CEUA/FZEA) na reunião de 16/11/2016.

We certify that the proposal "IMPACT OF TREATMENT FOR GASTROINTESTINAL WORMS ON THE ERYTHROCYTE, LEUKOCYTE AND BIOCHEMICAL PROFILE OF SHEEP WORM INFECTION WITH ANEMIA", utilizing 36 Ovinos (36 females), protocol number CEUA 3558211016, under the responsibility of Prof. Dr. Eduardo Harry Bingel Junior - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11,794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was approved by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Animal Science and Food Engineering - (São Paulo University) (CEUA/FZEA) in the meeting of 11/16/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de 02/2015 a 08/2017

Área: **Medicina Veterinária**

Origem: **Animais de proprietários**

Espécie: **Ovinos**

sexo: **Fêmeas**

Idade: **24 a 36 meses**

N. **36**

Linagem: **Dorper**

Peso: **50 a 60 kg**

Resumo: Na região sudeste do Brasil, considera [1] se o *Haemonchus contortus* como o nematódeo de maior importância para os pequenos ruminantes, sua ação hematófaga se assemelha ao processo anêmico crônico. Caso o processo de espoliação se prolongue e resulte em perdas continuadas de sangue, poderá ocorrer depleção das reservas de ferro a um grau extremo. O objetivo deste projeto é avaliar a repercussão do tratamento contra verminose gastrointestinal sobre o quadro eritrocitário, leucograma e perfil bioquímico de ovinos com anemia verminótica. Serão utilizados 36 animais, com mais de 24 meses de vida, triados por exame clínico, hemograma e contagem de ovos. Serão alocados em 03 grupos experimentais (01, 02 e 03), de acordo com o grau de anemia existente. O grupo 01 será tratado com antiparasitários (Monepantel: 2,5 mg/kg de peso vivo, em dose única, por via oral e Albendazole: 20 mg/kg de peso vivo, em intervalos de 15 dias, por via oral). No grupo 02, além dos antiparasitários, será aplicado Flunixin Meglumine (2,0 mg/kg de peso vivo, durante três dias, por via intramuscular) e Enrofloxacin (2,5 mg/kg de peso vivo, durante cinco dias, por via intramuscular), no grupo 03, além dos antiparasitários, será aplicado Ferro Dextrano (10,0 mg/kg de peso vivo, em intervalos de 03 dias, totalizando 04 aplicações, por via intramuscular). Os animais serão acompanhados por 60 dias, para avaliação hematológica, perfil bioquímico e coproparasitológica nos seguintes momentos: antes do tratamento, 14, 38, 78, 108, 138, 168, 438 e 608 dia.

Local do experimento: **São Paulo, Leme - SP**

Prossununga, 25 de novembro de 2016

Prof. Dr. Daniele dos Santos Martins
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Prof. Dr. Cristiane Gonçalves Tite
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da
Universidade de São Paulo - FZEA/USP

Dedico este trabalho...

*À minha esposa, **Tamiris**, quem abdicou, em diversas situações, da minha presença, assumindo integralmente todas as dificuldades da vida cotidiana, para que este projeto fosse finalizado. Companheira de todas as horas e momentos.
Obrigado por todo carinho e dedicação.*

*Aos meus filhos, **Pietro e Maria Izabel**, que souberam, em sua ingenuidade, dar-me todo apoio necessário, principalmente, nos momentos de maior precisão. Cada abraço, cada afago e cada olhar impulsionam-me a buscar sempre o melhor!*

Não é o que temos na vida, mas quem nós temos em nossas vidas que importa.. (Autor Desconhecido)

Dedico este trabalho...

*À minha mãe, **Loreny**, por me apoiar mesmo sabendo que talvez eu não estivesse certo, por me ensinar a ser uma pessoa melhor e por estar presente ao meu lado, para que nunca desistisse.*

*A eles, **Tadeu e Luciene**, por se fazer presente, por afagar-me em seus braços nos momentos de prantos, por acreditar em mim e alegrar-se com cada boa notícia.*

*Aos meus sogros, **Aparecido e Mafalda**, por todo apoio, carinho e dedicação.*

*Aos meus queridos avôs, **Domingos, Maria Izabel, César e Pérola**, por todo o amor dedicado a mim. Mesmo que fosse possível falar a língua dos anjos, sem o amor de vocês, eu nada seria.*

*À minha irmã, **Betina**, por se preocupar comigo, pelo seu companheirismo sem limites, pelo seu amor e, também, por sua amizade.*

*Aos meus cunhados, **Ana Carolina, Felipe, Tatiana e Willian**, por tê-los em minha vida, compartilhando alegrias!*

*Às minhas afilhadas, **Ana Laura e Maria Clara**, para que esta vitória lhes sirva como exemplo de superação. Acreditem em suas capacidades, sigam em frente e cuidem bem do principal alicerce, a família!*

*Aos meus sobrinhos, **Camila, João Vitor e Vitória**, por gostar de estar ao lado de vocês, pois me passam força e alegria.*

Aos meus tios e tias, primos e primas, amigos e amigas... Obrigado por tudo sempre!

Dedico este trabalho...

À Profa. Dra. Alice Maria Melville Paiva Della Libera, minha primeira orientadora, por saber entender cada olhar e acreditar em meu potencial!

Ao Prof. Dr. Eduardo Harry Birgel Junior, meu orientador, por acolher-me novamente nesta casa, ao abrir as portas do seu laboratório, por guiar-me em caminhos já vividos e por aconselhar-me nas horas, em que mais precisei.

Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim. (Chico Xavier)

Agradecimentos

Gostaria de deixar registrada, aqui, a minha eterna gratidão a todos àqueles que, direta ou indiretamente, auxiliaram-me nas etapas de planejamento, execução e conclusão desse trabalho.

Este resultado é fruto de trabalho árduo, que só pôde ser colhido, porque cada um, ao seu modo, deixou sua parcela de contribuição! E isso, eu nunca vou me esquecer...

Há todos, o meu MUITO OBRIGADO!

Obrigado, aos meus professores e colegas de graduação e pós-graduação;

*Obrigado, aos colegas de trabalho, **Márcio, Murilo e Pedro**;*

*Obrigado às bolsistas de capacitação, **Jennifer e Marina**;*

*Obrigado, aos bolsistas de iniciação científica, **Carlos Júnior e Vivian**;*

*Obrigado, às bolsistas de pré-iniciação e aos estagiários, **Cátia e José Cláudio**;*

*Obrigado a **Beatriz**, pelo o apoio incondicional, por cada “puxão de orelha” e por cada “Criatura”;*

*Obrigado aos Residentes, **Davi, Mariluci, Priscila, Renan, Vinicius e Wekisley**, por me auxiliar na execução do experimento!*

*E, finalmente, mas não menos importante, obrigado à Dra. **Melina Marie Yasuoka**, você fez a diferença nos momentos decisivos deste trabalho, nunca vou me esquecer da ajuda e disposição! Conte sempre comigo!*

*“De tudo ficaram três coisas...
A certeza de que estamos começando...
A certeza de que é preciso continuar...
A certeza de que podemos ser interrompidos antes de terminar...
Façamos da interrupção um caminho novo...
Da queda, um passo de dança...
Do medo, uma escada...
Do sonho, uma ponte...
Da procura, um encontro!”*

Fernando Sabino

RESUMO

GURTLE, G. D. **Repercussão do tratamento contra verminose gastrointestinal sobre o quadro eritrocitário e leucogramade ovinos com anemia verminótica.**

Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

Este projeto teve o objetivo de avaliar, sobre as variáveis que compõe o eritrograma e leucograma, os impactos da administração de anti-inflamatório e antibiótico, concomitante ao uso de antiparasitários, e a influência exercida pela suplementação de ferro dextrano, sobre a resposta medular de ovinos com anemia verminótica. Foram utilizadas 45 ovelhas, com mais de 24 meses de vida, naturalmente infectadas. Os animais foram triados por exame clínico, coproparasitológico e hemograma. Após a seleção, foram alocados em 03 subgrupos experimentais. O grupo 01 recebeu apenas tratamento com antiparasitários (controle); ao grupo 02, além dos antiparasitários, foi aplicada uma associação de antibióticos e anti-inflamatórios; e o grupo 03, além dos antiparasitários, recebeu suplementação com Ferro Dextrano. Os resultados obtidos para VCM e HCM indicam que houve diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$), sugerindo que a suplementação de ferro contribuiu para melhora da resposta medular. O predomínio da ocorrência de anemia do tipo normocítico e normocrômico indica que os animais foram capazes de manter a homeostase no metabolismo de ferro. Sobre as variáveis que representam o leucograma, foi possível observar que houve variação significativa entre os tempos analisados ($p < 0.05$), indicativo de evolução no processo de recuperação. Evidenciou-se normoleucocitemia, com existência de linfopenia e eosinopenia, além da ocorrência de neutrofilia com desvio à esquerda. Também, foi observada a inversão do padrão leucocitário, que passou de predominantemente linfocitário para neutrofílico, enquanto os animais permaneciam sob quadro de anemia intensa. Pela contagem de plaquetas, evidenciou-se diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$), principalmente, no início do processo de avaliação, período de maior infestação parasitária.

Palavra chave: anemia; hemograma; ovinos; recuperação; verminose

ABSTRACT

GURTLE, G. D. Impact of treatment for gastrointestinal worms on the erythrocyte and leukocyte profile of sheep worm infection with anemia. M.Sc. Dissertation— Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2018.

The purpose of this project was to evaluate the impact of anti-inflammatory and antibiotic administration on the erythrogram and leukogram variables, concomitant with antiparasitic use, and the influence exerted by iron dextran supplementation on the spinal response of sheep with verminous anemia. Forty-five sheep, more than 24 months old, naturally infected, were used. The animals were screened by clinical, coproparasitological and hemogram. After the selection, they were allocated in 03 experimental subgroups. Group 01 received only antiparasitic treatment (control); to group 02, besides the antiparasites, an association of antibiotics and anti-inflammatories was applied; and Group 03, in addition to the antiparasitics, received supplementation with Iron Dextran. The results obtained for VCM and HCM indicate that there was a statistical difference between the groups ($p < 0.05$), suggesting that the iron supplementation contributed to the improvement of the spinal response. The predominance of anemia of the normocytic and normochromic type indicates that the animals were able to maintain the homeostasis in iron metabolism. Regarding the variables that represent the leukogram, it was possible to observe that there was a significant variation between the times analyzed ($p < 0.05$), indicative of evolution in the recovery process. There was evidence of normoleukocytopenia, with lymphopenia and eosinopenia, besides the occurrence of neutrophilia with deviation to the left. In addition, the inversion of the leukocyte pattern, which changed from predominantly lymphocytic to neutrophilic, was observed, while the animals remained under severe anemia. The platelets count showed a statistically significant difference between the groups ($p < 0.05$), mainly at the beginning of the evaluation process, the period of greatest parasitic infestation.

Keyword: anemia; blood count; recovery; sheep; worm infection

LISTA DE FIGURAS

Figura 01 - Colheita de amostras e delineamento experimental.....	13
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01 -	Número de hemácias de ovinos durante o experimento.....	16
Gráfico 02 -	Concentração de hemoglobina de ovinos durante o experimento.....	17
Gráfico 03 -	Hematócrito de ovinos durante o experimento.....	18
Gráfico 04 -	Volume Corpuscular Médio (VCM) de ovinos durante o experimento..	19
Gráfico 05 -	Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) de ovinos durante o experimento.....	20
Gráfico 06 -	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de ovinos durante o experimento.....	21
Gráfico 07 -	RedCellDistributionWidth (RDW) de ovinos durante o experimento...	22
Gráfico 08 -	Contagem de reticulócitos de ovinos durante o experimento.....	23
Gráfico 09 -	Leucócitos totais de ovinos durante o experimento.....	24
Gráfico 10 -	Neutrófilos totais de ovinos durante o experimento.....	25
Gráfico 11 -	Neutrófilos bastonetes de ovinos durante o experimento.....	26
Gráfico 12 -	Neutrófilos segmentados de ovinos durante o experimento.....	27
Gráfico 13 -	Linfócitos de ovinos durante o experimento.....	28
Gráfico 14 -	Monócitos de ovinos durante o experimento.....	29
Gráfico 15 -	Eosinófilos de ovinos durante o experimento.....	30
Gráfico 16 -	Basófilos de ovinos durante o experimento.....	31
Gráfico 17 -	Plaquetas de ovinos durante o experimento.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 -	Número de hemácias de ovinos durante o experimento.....	15
Tabela 02 -	Concentração de hemoglobina de ovinos durante o experimento.....	17
Tabela03 -	Hematócrito de ovinos durante o experimento.....	18
Tabela 04 -	Volume Corpuscular Médio (VCM) de ovinos durante o experimento...	19
Tabela 05 -	Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) de ovinos durante o experimento.....	20
Tabela 06 -	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de ovinos durante o experimento.....	21
Tabela 07 -	Red Cell Distribution Width (RDW) de ovinos durante o experimento...	22
Tabela 08 -	Contagem de reticulócitos de ovinos durante o experimento.....	23
Tabela 09 -	Leucócitos totais de ovinos durante o experimento.....	24
Tabela 10 -	Neutrófilos totais de ovinos durante o experimento.....	25
Tabela 11 -	Neutrófilos bastonetes de ovinos durante o experimento.....	26
Tabela 12 -	Neutrófilos segmentados de ovinos durante o experimento.....	27
Tabela 13 -	Linfócitos de ovinos durante o experimento.....	28
Tabela 14 -	Monócitos de ovinos durante o experimento.....	29
Tabela 15 -	Eosinófilos de ovinos durante o experimento.....	30
Tabela 16 -	Basófilos de ovinos durante o experimento.....	31
Tabela 17 -	Plaquetas de ovinos durante o experimento.....	32

LISTA DE SIGLAS

CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
ECC	Escore de condição corporal
EDTA	Etileno diamino tetra-acético
HCM	Hemoglobina corpuscular média
NDT	Nutrientes digestíveis totais
OPG	Ovos por grama de fezes
PB	Proteína bruta
RDW	Redcelldistributionwidth
RNA	Ácido ribonucléico
SAS	Statisticalanalysis system
VCM	Volume corpuscular médio

LISTA DE SÍMBOLOS

$\frac{1}{2}$	Meio (metade)
μL	Microlitro
%	Porcentagem
CO_2	Gás carbônico
cv.	Cultivar
dl	Decilitro
fl	Fentolitro
g	Grama
g/dl	Grama por decilitro
kg	Kilograma
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm	Milímetro
O_2	Oxigênio
pg	Picograma
spp	Espécie

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	01
2 JUSTIFICATIVA.....	04
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	05
3.1 Eritrograma.....	05
3.2 Leucograma.....	08
4 OBJETIVOS.....	10
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
5.1 Animais utilizados.....	11
5.2 Triagem e constituição dos grupos experimentais.....	11
5.3 Colheita de sangue.....	13
5.4 Avaliação do hemograma.....	13
5.5 Análise estatística.....	14
6 RESULTADOS.....	15
6.1 Avaliação do quadro eritrocitário.....	15
6.2 Avaliação do leucograma.....	24
6.3 Avaliação da contagem de plaquetas.....	32
7 DISCUSSÃO.....	33
8 CONCLUSÃO.....	39
REFERÊNCIAS.....	40
ANEXO.....	46

1 INTRODUÇÃO

Os nematódeos *Trichostrongylus colubriformis*, *Strongyloides* spp., *Cooperia curticei*, *Oesophagostomum columbianum* e *Haemonchus contortus* são aqueles de maior importância para os pequenos ruminantes no sudeste do Brasil, com destaque para este último em decorrência das condições climáticas características (AMARANTE et al., 1997; AMARANTE et al., 2003; LOPES et al., 1997; VIEIRA BRESSAN et al., 1995).

A habilidade de tolerar as parasitoses gastrintestinais ainda não foi completamente elucidada. Porém, sabe-se que é uma característica multifatorial, com componentes genéticos, imunológicos, fisiológicos e nutricionais, os quais variam entre as raças e também entre indivíduos, determinando três biotipos distintos: resistente, resiliente e suscetível às infecções por helmintos gastrintestinais (AMARANTE et al., 2003).

Frente às diferenças, Albers e colaboradores (1987) definiram resistência como habilidade do animal em suprimir o estabelecimento e, subsequente, desenvolvimento da infecção, resiliência como aquela onde, apesar da existência da infecção, o nível de produção sofre poucas perdas e suscetibilidade como aquela situação, em que o animal perece frente ao processo infeccioso.

A vasta literatura sobre anemia descreve associação entre verminose por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes e a ocorrência de anemia macrocítica, anemia normocítica e normocrômica ou hipocrômicas (ABBOTT et al., 1984; ABBOTT et al., 1988a; FARIA JUNIOR et al., 2002; GARCIA et al., 1983).

A classificação dos tipos de anemias em literatura são discrepantes e são justificadas como inerentes à fase de evolução do processo anêmico por Benesi (1985). A macrocitose, evidenciada pela grande quantidade de células jovens e imaturas com maior volume corpuscular médio, advém da estimulação da medula óssea mediante a condição anêmica provocada pela grave perda de sangue em processos agudos. A cronificação do processo leva à hiperplasia medular compensatória, em que o tecido mielóide libera eritrócitos maduros, sendo evidenciado por normocitose e normocromia. A espoliação sanguínea prolongada e determinada pelo endoparasita resulta em

continuada perda de sangue, redução das reservas de ferro e como consequência o aparecimento de anemia hipocrômica e finalmente microcítica.

A hematofagia do *Haemonchus contortus* é parecida com o processo de anemia crônica, com estimativa de ingestão de 0,05 ml de sangue por cada nematódeo por dia de parasitismo. Essa depleção das reservas de ferro em graus extremos podem estar relacionada à quantidade de parasitas (carga parasitária), fatores individuais de favorecimento ou inibição da absorção de ferro, e também ao tipo de criação envolvido. É sabido que em sistemas de produção semi-extensivo, onde os animais têm acesso à pasto, as necessidades desse elemento podem ser supridas por ingestão de terra (RUAS; BERNE, 2001).

A repercussão do estado de anemia e verminose gastrintestinal sobre o leucograma demonstra normoleucocitemia com existência de linfopenia e eosinopenia. Aqueles animais com hematócrito menor do que 15 %, evidencia-se a ocorrência de neutrofilia sem desvio a esquerda. O aumento da intensidade do processo anêmico leva à linfopenia absoluta por causa de inversão no padrão leucocitário, alternando de majoritariamente linfocitário para neutrofílico (BIRGEL, 2013).

Gallagher (1963), em um único estudo na década de 60, relata aumento do número relativo de neutrófilos associado à diminuição do número relativo de linfócitos, porém sem alterações no número total de leucócitos, em estudo sobre verminose gastrintestinal experimental por *Trichostrongylus colubriformis*. No entanto, esse autor não observou inversão do padrão de leucócitos, sendo permanentemente linfocitário.

Os mecanismos de imunidade do hospedeiro frente ao parasitismo por *Haemonchus contortus* ainda não estão totalmente esclarecidos, mas segundo Amarante et al. (2003) os linfócitos Th2 CD4+ estão envolvidos nessa resposta imune aos nematódeos.

Diversos autores, por meio da centese de abomaso, verificaram a ativação e proliferação linfócitos agindo na mucosa afetada, com correlação inversa entre a contagem de linfócitos T nessa mucosa abomasal e a fecundidade, tamanho e sobrevivência da fêmea adulta de *Haemonchus contortus* no trato gastrointestinal do hospedeiro. Supõe-se que a migração desses linfócitos para a mucosa abomasal é

evidenciado por sua redução na circulação (ROWE et al., 2008; SCHALLIG, 2000; VEER et al., 2007).

2 JUSTIFICATIVA

Este estudo se fez necessário, por ainda não estar claro quais seriam os impactos decorrentes do processo inflamatório, causado pela contínua espoliação do *Haemonchus contortus* na mucosa abomasal, além de possíveis interferências, ocasionadas por infecções bacterianas secundárias locais, sobre o eritrograma e leucograma. E qual seria a influência exercida pelo ferro sobre a resposta medular de animais com anemia verminótica.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ERITROGRAMA

Segundo Feldman et al (2000), anemia é a diminuição da quantidade de eritrócitos, de hemoglobina e do volume globular até valores abaixo do fisiológico para qualquer espécie animal. Este autor também explica que as causas são perda sanguínea, destruição eritrocitária e diminuição da eritropoiese, e hipóxia dos tecidos por redução no suprimento de oxigênio.

O nematódeo *Haemonchus contortus* é considerado causa de anemia em pequenos ruminantes por causa de sua ação hematófaga, que pode chegar a 0,05 mL de espoliação sanguínea. Infestações crônicas com menor carga parasitária geram anemia, anorexia, ausência de diarreia, baixo ganho de peso e emagrecimento progressivo enquanto ingestão de grandes quantidades de larvas do nematódeo pode levar a hemoncosse hiperaguda em cordeiros com morte súbita em até 7 dias (BLOOD et al., 1988; GARCIA; D'ANGELINO, 1985; RUAS; BERNE, 2001)

As manifestações sintomáticas da anemia variam e são dependentes da etiologia e patogênese do processo, da intensidade da anemia, das alterações do volume total de sangue circulante e do manejo desses animais. A depressão medular diminui a atividade eritropoiética que agrava o quadro clínico dos animais por hipóxia tecidual e suas manifestações sintomáticas, com maior frequência de mucosas pálidas. Cerca de um quarto das cabras acometidas por helmintose gastrintestinal intensa (ou seja, mais de 2.000 ovos por grama de fezes) apresentam mucosas pálidas, e um pequeno número (3,33%) apresentam edemas submandibulares (BENESI, 1985; GARCIA & D'ANGELINO, 1985; FARIA JUNIOR et al., 2002).

Na tentativa de controlar a hipóxia tecidual, o organismo do hospedeiro recorre a mecanismos compensatórios em órgãos como pulmões, coração e medula óssea. A taquipnéia é a principal adaptação respiratória em decorrência do aumento da concentração de gás carbônico (CO₂) na circulação, além de respiração superficializada, dispnéia e redução da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio (O₂), permitindo sua maior liberação tecidual (BENESI, 1985; BIRGEL, 2013).

Pode ocorrer taquicardia quando a concentração de hemoglobina decai abaixo de 50% do valor de referência e então as compensações cardíacas determinam aumento de rendimento, maior velocidade de circulação e menor extração de O₂ em cada circulação, gerando extremidades frias e sopros cardíacos sistólicos. Para favorecer órgãos vitais, cérebro, miocárdio e músculos esqueléticos, ocorrem adaptações vasculares para diminuição do tempo de circulação e o aumento da perfusão seletiva, através do desvio do sangue de áreas não vitais, como diminuição da circulação cutânea e renal (BENESI, 1985; BIRGEL, 2013).

A elevação na produção de eritrócitos é o objetivo das adaptações eritropoiéticas do organismo hospedeiro, no qual a eritropoiese é estimulada pela eritropoietina produzida como resposta à hipóxia tecidual. Pesquisas revelaram rápido aumento de eritropoietina plasmática em ovinos adultos jovens em três a oito dias após sangria, com presença de reticulócitos circulantes até 1,5 dia depois (BENESI, 1985; VENG-PEDERSEN et al., 2002).

A diminuição do volume total de sangue após perda de sangue por hemorragia e/ou hemólise intensa, é compensado rapidamente por aumento do volume plasmático e restauração de volemia normal. Porém, no exame do hemograma, observa-se intensa diminuição dos valores hematológicos (contagem de hemácias, dosagem de hemoglobina e hematócrito). A determinação do prognóstico do caso por meio do exame do aspecto das hemácias, em esfregaços sanguíneos corados pela técnica de Rosenfeld, é extremamente válido para determinar se a anemia é degenerativa ou regenerativa, dada a presença de sinais de policromasia (eritroblastos, células basófilas, ponteados basofílicos, corpúsculos de Howell-Jolly e anéis de Cabot) que permitem avaliar a resposta da eritropoiese aos estímulos (BIRGEL, 2013; GARCIA; D'ANGELINO, 1985).

A condição anêmica estimula a medula óssea a liberar grande quantidade de células jovens e imaturas, os reticulócitos, que possuem maior volume corpuscular médio, determinando macrocitose. A normocitose e normocromia é retomada quando o tecido mielóide retorna a liberar eritrócitos maduros após essa hiperplasia medular compensatória provocada pela anemia. Os reticulócitos, que são células de maior diâmetro e retículo corado no citoplasma, não são encontrados na circulação periférica de ovinos sadios. Sua contagem permite avaliar as reações do tecido eritróide durante

anemia, sua evolução e a eficácia da terapia. Nas hemorragias agudas e em menor amplitude nas crônicas, a eritroregeneração é intensa, sendo persistente em anemias hemolíticas. A partir do terceiro dia de espoliação sanguínea é possível observar a presença de reticulócitos (BENESI, 1985; BIRGEL, 2013; MEYER; HARWEY, 1998).

Os tipos de anemia mais freqüentes diagnosticadas nos pequenos ruminantes decorrem da depleção das reservas de ferro devido às perdas intensas e continuadas de sangue por espoliação parasitária e conseqüentemente aparecimento de hipocromia e microcitose. Essas anemias podem ser diferenciadas em pelo menos duas formas: anemias microcíticas ferroprivas, onde além das características hematimétricas, observa-se uma significativa diminuição nas concentrações plasmáticas de ferro; e anemias microcíticas não ferroprivas, em que a sideremia encontra-se dentro da variação fisiológica (BIRGEL, 2013).

As anemias não ferroprivas são caracterizadas como hemoglobinopatias primárias e estão relacionadas à herança genética de fatores que codificarão a formação de hemoglobinas anormais ou com ações fisiológicas deficientes. A condição anêmica associada ao estado de subnutrição determina déficit proteico que impede a formação da hemoglobina por não haver condições de síntese da globulina. Existem diferentes tipos de hemoglobinas em caprinos e ovinos porém ainda não foi elucidada a influência desses tipos nas condições de saúde desses animais (BENESI, 1985). Um estudo verificou que a infestação de ovinos da raça Awassi com 500 larvas de *Haemonchus contortus* por kg de peso vivo provocava anemia a partir do décimo primeiro dia pós-infecção com redução do hematócrito inicial de 29,5% para 15,5%, no vigésimo dia após infestação (AL-QUAIZY et al., 1987).

Também foram relatadas a ocorrência de anemia macrocítica ou de anemia normocítica e normocrômica em ovinos infectados por *Haemonchus contortus*. Em caprinos, estudos verificaram que a maioria dos casos eram de anemia macrocítica (72%) e normocrômica (78 %), seguido pelos tipos normocítico (23%) e hipocrômica (18 %) (ABBOTT et al., 1984; ABBOTT et al, 1988; FARIA JUNIOR et al., 2002; GARCIA et al., 1983).

O estudo de Faria Junior e colaboradores (2002) desenvolvido em 90 caprinos adultos naturalmente infectados, observou-se que hospedeiros acometidos por intensa

helminthose gastrointestinal (mais de 2.000 OPG), apresentaram importantes alterações no seu eritrograma, como a aparecimento de anemia normocítica e normocrômica. Os teores de hemoglobina foram significativamente menores nos animais com mais de 500 OPG.

Aproximadamente 80% do ferro no organismo é destinada à função eritrocítica, sendo o restante encontrado em mioglobina (3%), locais de estoque, ferritina e hemossiderina (15%), e até 1% na constituição de algumas enzimas (catalases, citocromos e peroxidases) (HAYS; SWENSON, 1996).

O aumento na resposta eritropoiética em monogástricos está diretamente relacionada com a suplementação oral diária de ferro ou altas doses intermitentes, que aumenta a biodisponibilidade desse mineral. A suplementação semanal de ferro oral em indivíduos anêmicos aumenta a resposta medular com verificação de elevação dos níveis de hemoglobina e volume corpuscular médio (VCM). Também foi evidenciado que a injeção de ferro dextrano melhora a resposta reticulocitária em cordeiros anêmicos, porque a quantidade de ferro disponível para o eritrócito imaturo é diretamente dependente da concentração do ferro sérico, cujo nível é aumentado por suplementação (ASHMEAD, 2001; HURTADO et al., 1999; ROCHA et al., 2007).

3.2 LEUCOGRAMA

Leucocitose por neutrofilia, com desvio à esquerda, linfopenia, eosinopenia e monocitose são parâmetros que permitem determinar a ocorrência do leucograma de estresse. Esta condição aumenta os níveis séricos de cortisol, o qual atua na medula óssea, promovendo a liberação de neutrófilos e monócitos do compartimento de estocagem, causando, portanto, elevação do número de leucócitos circulantes. Já aqueles presentes na circulação sanguínea, sob a mesma ação, diminuem a expressão de moléculas de adesão de superfície, o que reduz sua ligação com células endoteliais e contribui para um aumento numérico no compartimento circulante. O cortisol reduz eosinófilos e linfócitos sanguíneos, por inibir sua síntese, na medula óssea, e/ou favorecer a migração destas células para outros tecidos, como baço e linfonodos (FELDMAN, et al., 2000).

A eosinofilia é sugerida como forma de resistência do hospedeiro às infecções por nematóides gastrintestinais. Pequenos ruminantes hospedeiros desses parasitas com maiores contagens de eosinófilos séricos, apresentaram diminuição nas contagens de ovos de *Hemonchus contortus* (DORCHIES et al., 1997).

4 OBJETIVO

Este projeto teve o objetivo de avaliar, sobre as variáveis que compõe o eritrograma e leucograma, os impactos da administração de anti-inflamatório e antibiótico, concomitante ao uso de antiparasitários, e a influência exercida pela suplementação de ferro dextrano, sobre a resposta medular de ovinos com anemia verminótica.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS UTILIZADOS

Para a realização desta pesquisa, foram selecionadas 45 ovelhas mestiças, $\frac{1}{2}$ sangue (Dorper e Santa Inês), adultas, portanto, com mais 24 meses de vida, pesando, em média, entre 60 e 90 Kg de peso vivo, com escore de condição corporal (ECC) variável entre 2 e 4 (escala 1 a 5), em período de transição, oriundas de uma propriedade (Sítio Paraíso – Leme/SP), com histórico de problemas com verminose gastrointestinal, causada principalmente por *Haemonchus spp.*

Pela manhã, os animais eram submetidos a regime de pastejo, em piquetes de *Cynodon spp.* cv. tifton 85, com taxa de lotação média, variando entre 40 a 50 ovelhas adultas por hectare, e, ao final da tarde, reunidas em local coberto, onde recebiam cana de açúcar *in natura* picada (alimento volumoso) e concentrado, contendo grão de milho moído, farelo de soja e suplemento mineral, com 17% de Proteína Bruta (PB) e 76 % de Nutrientes Digestíveis Totais (NDT), valores determinados através de análises bromatológicas, além de água à vontade.

Eventualmente, quando disponível na propriedade, havia fornecimento de polpa cítrica úmida despectinada como substituto parcial do milho, constituinte energético na dieta dos animais.

5.2 TRIAGEM E CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

A seleção dos animais foi feita através de inspeção direta da mucosa ocular, cuja coloração era classificada baseando-se no método FAMACHA® (escala 1 a 5), determinação do hematócrito, a fim de diagnosticar a existência de anemia; exame coproparasitológico, cuja técnica foi realizada conforme descrito por Ueno et. al., (1998), caracterizando a ocorrência de verminose gastrointestinal, decorrente às infecções por parasitas da superfamília Trichostrongyloidea e, coprocultura, realizada no Instituto Biológico, pela qual se confirmou maior porcentagem de parasitas do gênero *Haemonchus spp* (Anexo A).

As anemias foram classificadas, de acordo com a sua intensidade avaliada por diminuições do hematócrito (BENESI, 1985), em: leve, quando as diminuições fossem de até 1/3 dos valores mínimos normais de hematócrito para a espécie, ou seja, entre 21 e 25 %; moderada, quando as reduções fossem de 1/3 a 1/2 dos valores mínimos normais, sendo assim entre 16% e 20%; e intensa, quando as diminuições fossem maiores que a 1/2 dos valores mínimos normais, ou seja, igual ou inferior a 15%.

Para a constituição de 03 grupos experimentais, contendo 15 animais cada, foram escolhidos, apenas, aqueles diagnosticados com grau 4 ou 5 pelo método FAMACHA® e anemia intensa, decorrente de infestação parasitária por *Haemonchus spp.*

Ao grupo 1 (G1), tido como controle, foi utilizado apenas antiparasitários; ao grupo 2 (G2), além dos antiparasitários, associou-se aplicação de anti-inflamatório e antibiótico, cuja finalidade era diminuir a interferência da inflamação local e de possíveis infecções bacterianas secundárias na avaliação da resposta hematológica; ao passo que, no grupo 3 (G3), além dos antiparasitários, foi administrada, também, suplementação injetável de ferro dextrano, como forma de acelerar a velocidade da recuperação do quadro anêmico.

Assim, o G1 foi tratado com Monepantel (2,5 mg/kg de peso vivo, em dose única, por via oral) e Albendazole (20 mg/kg de peso vivo, em intervalos de 15 dias; a fim de se evitar possíveis re-infestações); o G2, além dos antiparasitários, recebeu Flunixin Meglumine (2,0 mg/kg de peso vivo, durante três dias consecutivos, por via intramuscular) e Enrofloxacin (2,5 mg/kg de peso vivo, durante cinco dias consecutivos, por via intramuscular) e o G3, além dos antiparasitários, recebeu suplementação de Ferro Dextrano (10,0 mg/kg de peso vivo, em intervalos de 03 dias, totalizando 04 aplicações, por via intramuscular).

Os animais selecionados foram acompanhados durante 60 dias, para avaliação hematológica. Este período foi dividido nos seguintes momentos: dia do tratamento (D0), 2º (D1), 4º (D3), 8º (D7), 11º (D10), 16º (D15), 31º (D30), 46º (D45) e 61º (D60) dia; conforme pode ser observado na Figura 01.

Figura 01 – Colheita de amostras e delineamento experimental

Fonte: Própria autoria (2018).

5.3 COLHEITA DE SANGUE

A obtenção das amostras de sangue ocorreu por punção da veia jugular externa, utilizando agulha descartável 25x8 mm e tubos plásticos para coleta de sangue á vácuo (Sistema Vacutainer®), contendo 7,2 mg de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), como anticoagulante, e em seguida encaminhados para determinação do hemograma.

5.4 AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA

Para a determinação do hemograma, do número total de leucócitos e contagem de plaquetas utilizou-se um analisador automático da marca Mindray, modelo BC-2800 Vet. Também, foram produzidos dois esfregaços sanguíneos, sendo um, confeccionado com corante de Rosenfeld, e outro, com azul de cresil brilhante (Laborclin®), segundo a técnica proposta por Fernandez et. al., 2000.

Pelo primeiro esfregaço, foi possível avaliar os aspectos morfológicos das hemácias, bem como a ocorrência de sinais de policromasia (eritroblastos, células basófilas, ponteados basófilos, corpúsculos de Howell-Jolly e anéis de Cabot). Além disso,

realizou - se a contagem diferencial de leucócitos, classificando-os em neutrófilos com núcleo em bastonete, neutrófilos com núcleo segmentado, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos.

A contagem manual de reticulócitos foi realizada no segundo esfregaço, contracorado com corante de Rosenfeld e analisado em microscópio óptico, em aumento de 1000X, contando-se 1000 hemácias e, dentre essas, aquelas que apresentavam fragmentos de RNA corados. O resultado foi expresso em número de reticulócitos absolutos (reticulócitos/ μ L) (FERNANDEZ; GRINDEM, 2000).

5.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram analisados utilizando o programa estatístico Statistical Analysis System (SAS, 1995), com prévia verificação da normalidade dos resíduos pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). As variáveis que não atenderam às premissas estatísticas foram submetidas à transformação. Os dados originais ou transformados, foram submetidos à Análise de Variância, quando considerada significativa e, assim, realizado o teste de médias (Tukey) pelo PROC GLM (SAMPAIO, 1998), com nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Nas tabelas de resultados apresentadas a seguir foram indicadas por letras maiúsculas a diferença entre os tempos e em letras minúsculas a diferença entre os grupos.

6 RESULTADOS

Os resultados obtidos nesta pesquisa foram registrados, avaliados e ilustrados conforme gráficos e tabelas a seguir.

6.1 AVALIAÇÃO DO QUADRO ERITROCITÁRIO

Nas tabelas e gráficos abaixo (1 a 8), foram representadas as médias e erros padrão do número de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, índices hematimétricos absolutos, Red Cell Distribution Width (RDW) e contagem de reticulócitos de cada grupo experimental, nos diferentes momentos analisados.

Tabela 1 – Número de hemácias de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Hemácias (x 10 ⁶ /μl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	3,73 ± 0,26 ^A	4,20 ± 0,36 ^A	4,52 ± 0,34 ^A	5,62 ± 0,38 ^B	6,04 ± 0,32 ^{BC}	7,09 ± 0,30 ^{BCD}	9,77 ± 0,45 ^{CDE}	10,11 ± 0,45 ^{DE}	10,87 ± 0,45 ^E
G2	4,03 ± 0,51 ^A	4,40 ± 0,54 ^A	4,81 ± 0,51 ^A	5,61 ± 0,47 ^B	5,93 ± 0,42 ^{BC}	6,76 ± 0,38 ^{BCD}	9,97 ± 0,40 ^{CD}	10,10 ± 0,49 ^{CD}	10,16 ± 0,78 ^D
G3	3,20 ± 0,27 ^A	3,42 ± 0,23 ^A	3,76 ± 0,20 ^A	4,55 ± 0,18 ^B	5,47 ± 0,20 ^{BC}	6,39 ± 0,23 ^{CD}	8,81 ± 0,38 ^{DE}	8,88 ± 0,33 ^{DE}	9,82 ± 0,45 ^E

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 1 – Número de hemácias de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 2 – Concentração de hemoglobina de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Hemoglobina (g/dl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	3,96 ± 0,27 ^A	4,46 ± 0,44 ^A	4,74 ± 0,44 ^A	6,09 ± 0,52 ^B	6,39 ± 0,40 ^{BC}	7,86 ± 0,40 ^{BCD}	10,12 ± 0,61 ^{CD}	10,39 ± 0,57 ^{CD}	11,24 ± 0,54 ^D
G2	4,50 ± 0,60 ^A	4,95 ± 0,70 ^A	5,24 ± 0,67 ^A	6,10 ± 0,57 ^B	6,54 ± 0,54 ^{BC}	7,68 ± 0,53 ^{BCD}	10,51 ± 0,43 ^{CD}	10,60 ± 0,44 ^{CD}	10,65 ± 0,76 ^D
G3	4,01 ± 0,22 ^A	4,33 ± 0,18 ^A	4,86 ± 0,10 ^A	6,05 ± 0,17 ^B	7,27 ± 0,22 ^{BC}	8,05 ± 0,25 ^{CD}	10,45 ± 0,43 ^{DE}	10,27 ± 0,43 ^E	11,33 ± 0,60 ^E

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 2 – Concentração de hemoglobina de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 3 – Hematócrito de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Hematócrito (%)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	13,20 ± 0,82 ^A	14,90 ± 1,37 ^A	15,45 ± 1,28 ^A	19,94 ± 1,67 ^B	20,44 ± 1,24 ^{BCa}	24,00 ± 1,30 ^{BC}	31,07 ± 1,80 ^{CD}	31,41 ± 1,65 ^{CD}	32,72 ± 1,47 ^D
G2	14,64 ± 1,92 ^A	15,90 ± 2,06 ^A	16,98 ± 2,06 ^A	19,65 ± 1,72 ^B	20,74 ± 1,65 ^{BCa}	23,74 ± 1,56 ^{BCD}	31,89 ± 1,21 ^{CD}	32,17 ± 1,22 ^{CD}	31,72 ± 2,02 ^D
G3	13,67 ± 0,68 ^A	14,55 ± 0,50 ^A	16,11 ± 0,34 ^A	19,23 ± 0,53 ^B	22,19 ± 0,73 ^{BCb}	25,17 ± 0,80 ^{CD}	31,51 ± 1,30 ^{DE}	30,66 ± 1,19 ^E	33,09 ± 1,66 ^E

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 3 – Hematócrito de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Pela avaliação dos resultados para número de hemácias, hemoglobina e hematócrito, não foi evidenciada diferença estatística entre os grupos ($p>0.05$, indicado por letra maiúscula ao lado do valor), no entanto foi possível observar que houve variação significativa entre os tempos do mesmo grupo ($p<0.05$, indicado pela letra minúscula ao lado do valor), indicativo de evolução do processo de recuperação dos animais, para as variáveis em questão.

Tabela 4 – Volume Corpuscular Médio (VCM) de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

VCM (fl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	36,08 ± 1,26 ^{Ba}	35,76 ± 1,30 ^{Ba}	34,37 ± 1,27 ^{ABa}	34,49 ± 1,18 ^{ABa}	33,94 ± 0,98 ^{ABa}	33,39 ± 0,92 ^{ABa}	32,11 ± 0,90 ^{ABa}	31,09 ± 0,67 ^{Aa}	30,15 ± 0,61 ^{Aa}
G2	36,52 ± 1,55 ^{Aa}	36,16 ± 1,52 ^{Aa}	35,01 ± 1,36 ^{Aa}	35,22 ± 1,13 ^{Aa}	35,14 ± 1,17 ^{Aa}	35,22 ± 1,05 ^{Aa}	32,69 ± 0,98 ^{Aa}	32,18 ± 1,00 ^{Aab}	31,78 ± 1,22 ^{Aab}
G3	45,05 ± 2,28 ^{Db}	44,41 ± 2,18 ^{CDb}	44,28 ± 2,03 ^{BCDb}	43,13 ± 1,90 ^{ABCDb}	41,23 ± 1,76 ^{ABCb}	39,96 ± 1,37 ^{ABb}	36,00 ± 0,89 ^{Ab}	34,65 ± 0,77 ^{Ab}	33,69 ± 0,64 ^{Ab}

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 4 – Volume Corpuscular Médio (VCM) de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 5 – Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

HCM (pg)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	10,65 ± 0,30 ^{Aa}	10,51 ± 0,32 ^{Aa}	10,36 ± 0,37 ^{Aa}	10,61 ± 0,35 ^{Aa}	10,52 ± 0,30 ^{Aa}	11,03 ± 0,26 ^{Aa}	10,24 ± 0,24 ^{Aa}	10,19 ± 0,22 ^{Aa}	10,26 ± 0,20 ^{Aa}
G2	11,10 ± 0,37 ^{Aa}	11,05 ± 0,48 ^{Aa}	10,66 ± 0,46 ^{Aa}	10,80 ± 0,36 ^{Aa}	10,98 ± 0,38 ^{Aa}	11,30 ± 0,37 ^{Aa}	10,70 ± 0,33 ^{Aa}	10,50 ± 0,30 ^{Aa}	10,57 ± 0,39 ^{Aab}
G3	13,03 ± 0,58 ^{Ab}	13,03 ± 0,58 ^{Ab}	13,25 ± 0,58 ^{Ab}	13,47 ± 0,61 ^{Ab}	13,44 ± 0,58 ^{Ab}	12,66 ± 0,44 ^{Ab}	11,87 ± 0,28 ^{Ab}	11,53 ± 0,31 ^{Ab}	11,43 ± 0,28 ^{Ab}

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 5 – Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 6 – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de ovinos durante o experimento
– Pirassununga – 2018

CHCM (g/dl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	29,81 ± 0,39 ^A	29,72 ± 0,43 ^{ABC}	30,41 ± 0,40 ^{ABC}	31,79 ± 0,77 ^{AB}	31,23 ± 0,24 ^{CDE}	33,31 ± 0,58 ^{BCD}	32,47 ± 0,24 ^{ED}	32,96 ± 0,28 ^E	34,24 ± 0,37 ^E
G2	30,75 ± 0,79 ^A	30,83 ± 0,56 ^A	30,58 ± 0,60 ^A	30,84 ± 0,23 ^{AB}	31,41 ± 0,23 ^{AB}	32,25 ± 0,28 ^B	32,89 ± 0,18 ^B	32,87 ± 0,20 ^B	33,38 ± 0,36 ^B
G3	29,26 ± 0,39 ^A	29,62 ± 0,42 ^A	30,13 ± 0,26 ^{AB}	31,39 ± 0,23 ^{BC}	32,78 ± 0,42 ^{ABC}	31,95 ± 0,22 ^{CD}	33,11 ± 0,14 ^{DE}	33,40 ± 0,24 ^E	34,08 ± 0,38 ^E

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 6 – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) de ovinos durante o experimento
– Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

A análise dos resultados obtidos para os índices hematimétricos absolutos, durante o período de acompanhamento dos animais, na presente pesquisa, evidenciou diferença estatística, para VCM e HCM, entre o G3 e os demais grupos avaliados ($p < 0.05$). No entanto, para CHCM, não foi observada a mesma variação ($p > 0.05$).

Tabela 7 – Red Cell Distribution Width (RDW) em ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

RDW (%)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	26,88 ± 3,12 ^B	28,74 ± 3,15 ^B	27,87 ± 3,04 ^B	25,49 ± 2,98 ^B	23,67 ± 2,48 ^{ABa}	18,64 ± 0,71 ^{AB}	18,36 ± 0,52 ^{AB}	18,38 ± 0,49 ^A	18,44 ± 0,49 ^{AB}
G2	29,52 ± 4,27 ^A	29,71 ± 4,18 ^A	27,16 ± 4,46 ^A	29,80 ± 4,10 ^A	25,30 ± 3,92 ^{ABa}	23,04 ± 3,23 ^A	18,91 ± 0,55 ^A	18,72 ± 0,41 ^A	18,34 ± 0,36 ^A
G3	34,09 ± 3,55 ^B	34,02 ± 3,57 ^B	34,11 ± 3,65 ^B	34,29 ± 3,36 ^{AB}	28,91 ± 3,50 ^{Ab}	23,51 ± 2,75 ^A	19,86 ± 0,74 ^A	20,77 ± 1,47 ^A	19,15 ± 0,43 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 7 – Red Cell Distribution Width (RDW) em ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Pela avaliação dos resultados obtidos para Red Cell Distribution Width (RDW), que avalia a variação de tamanho entre as células (anisocitose), não foi evidenciado diferença estatística entre os grupos ($p>0.05$), entretanto foi possível observar que houve variação significativa entre os tempos ($p<0.05$).

Tabela 8 – Contagem de reticulócitos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Reticulócitos (/μl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	144191 ± 41810 ^D	60014 ± 11555 ^{CD}	74340 ± 11811 ^{CD}	91755 ± 36248 ^{DE}	38299 ± 7717 ^{ABC}	27501 ± 8582 ^{AB}	11450 ± 1146 ^A	0 ^A	0 ^A
G2	124871 ± 60394 ^B	68731 ± 11929 ^{AB}	92603 ± 19279 ^{AB}	64513 ± 15403 ^{AB}	70451 ± 22606 ^{AB}	20029 ± 6603 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A
G3	71180 ± 9486 ^C	67527 ± 9742 ^C	129220 ± 26761 ^E	42608 ± 6994 ^{BC}	52377 ± 11009 ^{BC}	51499 ± 18258 ^{BC}	0 ^A	0 ^A	0 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 8 – Contagem de reticulócitos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

6.2 AVALIAÇÃO DO LEUCOGRAMA

Nas tabelas e gráficos abaixo (9 a 16), foram representadas as médias e erros padrão do número de Leucócitos Totais, Neutrófilos Totais, Neutrófilos Bastonetes, Neutrófilos Segmentados, Linfócitos, Monócitos, Eosinófilos e Basófilos de cada grupo experimental, nos diferentes momentos analisados.

Tabela 9 – Leucócitos totais de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Leucócitos Totais (μ l)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	9621 $\pm$ 1398 ^A	9943 $\pm$ 925 ^A	9686 $\pm$ 1871 ^A	7343 $\pm$ 8,55 ^A	6300 $\pm$ 549 ^A	6243 $\pm$ 463 ^{Ab}	7900 $\pm$ 638 ^A	9479 $\pm$ 1099 ^A	9864 $\pm$ 1205 ^A
G2	9090 $\pm$ 1413 ^A	9690 $\pm$ 1886 ^A	7220 $\pm$ 910 ^A	6680 $\pm$ 668 ^A	7360 $\pm$ 1008 ^A	7820 $\pm$ 948 ^{Ab}	7570 $\pm$ 420 ^A	7480 $\pm$ 656 ^A	7840 $\pm$ 715 ^A
G3	12373 $\pm$ 1777 ^A	14193 $\pm$ 2167 ^A	9107 $\pm$ 790 ^A	7607 $\pm$ 703 ^A	8213 $\pm$ 793 ^A	8880 $\pm$ 710 ^{Ab}	10593 $\pm$ 1141 ^A	8467 $\pm$ 473 ^A	8027 $\pm$ 463 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 9 – Leucócitos totais de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 10 – Neutrófilos totais de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Neutrófilos Totais (μl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	6281 ± 1373 ^B	6919 ± 953 ^B	7161 ± 1284 ^B	4506 ± 705 ^B	3470 ± 461 ^{Ba}	3624 ± 412 ^{AB}	4351 ± 605 ^A	5281 ± 863 ^{AB}	5449 ± 810 ^{AB}
G2	6375 ± 1434 ^A	6682 ± 1696 ^A	5223 ± 731 ^A	4062 ± 555 ^A	4917 ± 886 ^{Ab}	5218 ± 778 ^A	4469 ± 346 ^A	3986 ± 406 ^A	4257 ± 431 ^A
G3	8678 ± 1832 ^{AB}	10229 ± 1840 ^{AB}	5922 ± 563 ^{AB}	4511 ± 447 ^{AB}	5276 ± 648 ^{Ab}	5735 ± 685 ^{AB}	6360 ± 1132 ^A	4837 ± 484 ^A	3736 ± 417 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 10 – Neutrófilos totais de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 11 – Neutrófilos bastonetes de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Neutrófilos Bastonetes (μL)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	647 $\pm$ 379 ^B	95 $\pm$ 41 ^{Ba}	137 $\pm$ 119 ^B	3 $\pm$ 3 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A
G2	357 $\pm$ 201 ^B	62 $\pm$ 28 ^{Aa}	39 $\pm$ 29 ^A	25 $\pm$ 25 ^A	32 $\pm$ 32 ^A	9 $\pm$ 9 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A
G3	790 $\pm$ 353 ^B	454 $\pm$ 102 ^{ABb}	0 ^A	110 $\pm$ 82 ^A	0 ^A	33 $\pm$ 33 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 11 – Neutrófilos bastonetes de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 12 – Neutrófilos segmentados de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Neutrófilos Segmentados (μL)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	5634 $\pm$ 1130 ^B	6811 $\pm$ 929 ^B	7024 $\pm$ 1297 ^B	4503 $\pm$ 706 ^{AB}	3470 $\pm$ 461 ^{Ba}	3624 $\pm$ 412 ^{AB}	4351 $\pm$ 605 ^A	5281 $\pm$ 863 ^{AB}	5449 $\pm$ 810 ^B
G2	6019 $\pm$ 1434 ^A	6620 $\pm$ 1698 ^A	5184 $\pm$ 734 ^A	4037 $\pm$ 553 ^A	4885 $\pm$ 893 ^{Ab}	5209 $\pm$ 777 ^A	4469 $\pm$ 346 ^A	3986 $\pm$ 406 ^A	4257 $\pm$ 431 ^A
G3	7888 $\pm$ 1834 ^{AB}	9775 $\pm$ 1801 ^{AB}	5922 $\pm$ 563 ^{AB}	4401 $\pm$ 399 ^{AB}	5276 $\pm$ 648 ^{Aab}	5702 $\pm$ 692 ^{AB}	6360 $\pm$ 1132 ^A	4837 $\pm$ 484 ^A	3736 $\pm$ 417 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 12 – Neutrófilos segmentados de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 13 – Linfócitos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Linfócitos (/μl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	3191 ± 380 ^A	2849 ± 320 ^A	2397 ± 678 ^A	2758 ± 473 ^A	2687 ± 238 ^B	2450 ± 204 ^B	2930 ± 221 ^B	3573 ± 386 ^B	3850 ± 502 ^B
G2	2622 ± 244 ^A	2918 ± 330 ^A	1946 ± 383 ^A	2550 ± 322 ^A	2312 ± 319 ^A	2439 ± 298 ^A	2586 ± 332 ^A	2880 ± 350 ^A	3306 ± 492 ^A
G3	3534 ± 452 ^A	3655 ± 562 ^{AB}	2980 ± 430 ^{AB}	2907 ± 341 ^{AB}	2752 ± 244 ^{AB}	2886 ± 257 ^{AB}	3397 ± 227 ^B	2872 ± 160 ^B	3560 ± 210 ^{AB}

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 13 – Linfócitos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 14 – Monócitos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Monócitos (/μl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	57 ± 33 ^A	28 ± 17 ^A	12 ± 12 ^A	29 ± 16 ^A	62 ± 36 ^A	46 ± 20 ^A	97 ± 41 ^A	18 ± 10 ^A	14 ± 9 ^A
G2	43 ± 37 ^A	0 ^A	0 ^A	13 ± 8 ^A	17 ± 10 ^A	41 ± 41 ^A	77 ± 38 ^A	17 ± 9 ^A	44 ± 21 ^A
G3	21 ± 21 ^A	36 ± 18 ^A	32 ± 16 ^A	37 ± 20 ^A	31 ± 14 ^A	11 ± 8 ^A	0 ^A	0 ^A	0 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 14 – Monócitos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 15 – Eosinófilos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Eosinófilos (/ μ l)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	71 $\pm$ 49 ^{ABC}	147 $\pm$ 88 ^{AB}	72 $\pm$ 65 ^A	51 $\pm$ 37 ^C	73 $\pm$ 23 ^C	120 $\pm$ 38 ^B	477 $\pm$ 108 ^C	553 $\pm$ 148 ^{BC}	533 $\pm$ 138 ^C
G2	50 $\pm$ 17 ^{AB}	45 $\pm$ 26 ^A	35 $\pm$ 23 ^{AB}	51 $\pm$ 27 ^B	98 $\pm$ 53 ^B	117 $\pm$ 44 ^B	439 $\pm$ 86 ^B	569 $\pm$ 215 ^B	190 $\pm$ 41 ^B
G3	132 $\pm$ 54 ^A	147 $\pm$ 34 ^A	143 $\pm$ 56 ^A	145 $\pm$ 64 ^{AB}	83 $\pm$ 31 ^B	249 $\pm$ 79 ^B	837 $\pm$ 225 ^B	734 $\pm$ 159 ^B	718 $\pm$ 168 ^B

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 15 – Eosinófilos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

Tabela 16 – Basófilos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Basófilos (/ μ L)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	21 $\pm$ 12 ^A	0 ^A	44 $\pm$ 24 ^A	0 ^A	8 $\pm$ 8 ^A	3 $\pm$ 3 ^A	46 $\pm$ 19 ^{Ab}	53 $\pm$ 23 ^A	19 $\pm$ 19 ^A
G2	0 ^A	45 $\pm$ 24 ^A	16 $\pm$ 16 ^A	4 $\pm$ 4 ^A	16 $\pm$ 13 ^A	4 $\pm$ 4 ^A	0 ^{Aa}	28 $\pm$ 15 ^A	43 $\pm$ 31 ^A
G3	9 $\pm$ 9 ^A	127 $\pm$ 102 ^A	30 $\pm$ 22 ^A	7 $\pm$ 5 ^A	71 $\pm$ 32 ^A	0 ^A	0 ^{Aa}	24 $\pm$ 19 ^A	13 $\pm$ 13 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 16 – Basófilos de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

6.3 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE PLAQUETAS

Na tabela e gráfico abaixo (17), foram representadas as médias e erros padrão do número de Plaquetas de cada grupo experimental, nos diferentes momentos analisados.

Tabela 17 – Plaquetas de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Plaquetas (x10 ³ /μl)	D0	D1	D3	D7	D10	D15	D30	D45	D60
G1	476 ± 64 ^{Ba}	665 ± 71 ^B	698 ± 66 ^{ABab}	1192 ± 265 ^B	700 ± 77 ^{AB}	633 ± 83 ^{Aab}	704 ± 118 ^{AB}	493 ± 73 ^B	458 ± 67 ^B
G2	823 ± 171 ^{Bb}	899 ± 158 ^{AB}	1062 ± 196 ^{ABb}	1193 ± 209 ^A	1104 ± 167 ^{AB}	1069 ± 125 ^{Ab}	852 ± 129 ^A	613 ± 88 ^{AB}	507 ± 62 ^A
G3	596 ± 46 ^{Ab}	690 ± 42 ^A	881 ± 61 ^{ABba}	1175 ± 92 ^{AB}	1100 ± 98 ^A	840 ± 77 ^{ABba}	904 ± 90 ^{AB}	741 ± 87 ^A	591 ± 66 ^A

Fonte: Própria autoria (2018).

Gráfico 17 – Plaquetas de ovinos durante o experimento – Pirassununga – 2018

Fonte: Própria autoria (2018).

7 DISCUSSÃO

Em termos hematológicos médios, para número de hemácias, verificou-se que os animais do G1 foram os primeiros a apresentar resultados dentro do valor de referência da espécie (D10), quando comparados aos outros grupos (D15). No entanto, para concentração de hemoglobina e hematócrito, o G3 se destacou (D15), quanto à normalização destes parâmetros, em relação demais (D30).

A literatura disponível sobre anemia de pequenos ruminantes descreve que em associação à verminose por *Haemonchus contortus*, há ocorrência de anemia macrocítica, anemia normocítica e normocrômica ou hipocrômicas (ABBOTT et al., 1984; ABBOTT et al, 1988; FARIA JUNIOR et al., 2002; GARCIA et al., 1983)

Essas divergências quanto aos tipos de anemias em literatura consultada podem ser explicadas devido à fase de evolução do processo anêmico. Nos processos mais agudos, com grande perda de sangue, a estimulação da medula óssea pela condição anêmica do hospedeiro, provoca grande liberação de células jovens e imaturas com maior volume corpuscular médio, a chamada macrocitose. A cronificação do quadro incorre em hiperplasia medular compensatória, retornando o tecido mielóide a liberar eritrócitos maduros, exibindo finalmente normocitose e normocromia. Nos casos em que o processo de espoliação promovida pelo endoparasita se prolongue e cause perdas continuadas de sangue, poderá ocorrer depleção das reservas de ferro e, finalmente, a anemia tornar-se hipocrômica e, finalmente, microcítica (ABBOTT et al., 1984; ABBOTT et al, 1988; FARIA JUNIOR et al., 2002; GARCIA et al., 1983).

Os resultados dos índices hematimétricos absolutos corroboram com àqueles obtidos por Hurtado e colaboradores (1999), concluindo que a suplementação de ferro em indivíduos anêmicos leva à elevação das taxas de hemoglobina e do volume corpuscular médio (VCM), indicando aumento da resposta medular. Isto ocorre, pois, a quantidade de ferro liberado para o eritrócito imaturo é diretamente dependente da concentração do ferro sérico, cujos níveis são aumentados mediante suplementação (SCHOOL; JOHNSON, 2000).

Apesar da possibilidade da existência de animais com diferentes classificações de anemia, dado a fase de evolução do processo anêmico, os resultados obtidos

indicaram predomínio da ocorrência de anemia do tipo normocítico e normocrômico nas verminoses dos animais analisados.

Esses resultados indicam que a instalação do processo anêmico dos ovinos, relacionados à verminose gastrointestinal, tem evolução que permite a hiperplasia compensatória da medula e a mobilização das reservas de ferro que, mesmo diminuídas, não atinjam depleção a graus extremos, impedindo a evolução negativa para anemia microcítica e hipocrômica. Possivelmente, a diminuição destas reservas esteja relacionada à carga parasitária ou a fatores individuais que inibam a absorção do ferro. Da mesma forma, a não redução extrema pode estar associada ao sistema semi-extensivo de criação de ovinos no Estado de São Paulo, pelo qual os animais têm acesso aos pastos, podendo suprir, parcialmente ou totalmente, suas necessidades de ferro (CARDOSO et al., 2015)

Não é comum no Brasil, a deficiência primária de ferro em ruminantes adultos, pois o solo e as pastagens são ricos neste elemento. Porém em bezerros, essa deficiência primária é considerada importante e, geralmente, associada como causa determinante das anemias. Essa carência de ferro na alimentação está relacionada aos animais lactentes porque o leite é carente desse micronutriente e ocorre, nesta faixa etária, o rápido consumo dos estoques séricos, fundamental para esse período de crescimento (TOKARNIA, 2000)

A hematofagia realizada pelo *Haemonchus contortus* é semelhante processos anêmicos crônicos, sendo estimado que cada parasito deste gênero sugue 0,05 ml de sangue por dia. Como nas perdas crônicas de sangue, o hospedeiro desenvolve anemia lentamente e as reservas corporais de ferro esgotam-se. Existe um balanço negativo de ferro na anemia verminótica porque a capacidade de absorção de ferro é menor do que a quantidade espoliada pelos vermes hematófagos (RUAS; BERNE, 2001).

No entanto, os resultados obtidos pela presente pesquisa, indicam que os animais acompanhados foram capazes de manter a homeostase no metabolismo de ferro, dado a característica normocítica normocrômica da anemia apresentada, possivelmente, por que tinham acesso a piquetes com terra. Ressalta-se que o manejo dos animais ou do ambiente, em que são criados, seja um importante fator a ser considerado, pois, as

criações em terrenos arenosos, deficientes de ferro, ou animais confinados, podem não conseguir debelar a depleção de ferro ocasionada pelos vermes hematófagos.

Associado a isto, alguns fatores individuais, como a expressão de hepcidina, também, estão relacionados à eficiência no aproveitamento do ferro alimentar. Camundongos, com deficiência deste peptídeo, desenvolveram sobrecarga de ferro, especialmente, no fígado, pâncreas e coração. Por outro lado, aqueles, que o superexpressavam, apresentaram anemia microcítica e hipocrômica ao nascimento e morriam rapidamente. Em situações de anemia e hipóxia tecidual, há inibição da expressão de hepcidina, visando maior absorção de ferro, além de exportação ao sistema reticuloendotelial e enterócitos, aumentando sua disponibilidade para eritropoiese (GROTTO et al., 2008).

Em termos médios, os resultados obtidos para RDW apontaram que o G1 se destacou (D15), quanto à normalização deste parâmetro, em relação demais (D30). Pelos esfregaços sanguíneos avaliados, foi observada alta frequência e intensidade de anisocitose, principalmente, no início dos tratamentos, enquanto os animais apresentavam anemia intensa. Porém, a presença de corpúsculos de Howell-Jolly e eritroblastos, achados, esporadicamente, nos esfregaços sanguíneos, não representaram bons indicativos para classificação da anemia em regenerativa ou degenerativa. Em contraponto, a presença de reticulócitos, na circulação periférica, até D30, independente do grupo experimental avaliado, associada à identificação de ponteados e hemácias basofílicas, indicativo de células jovens, foram, dentre os sinais de policromasia, aqueles que apresentaram significado clínico para a classificação da anemia em regenerativa, indicando resposta medular satisfatória (BARGER, 2010; BUSH, 2004).

Na repercussão do estado anêmico/verminose gastrintestinal, sobre as variáveis que representam o leucograma, pelos resultados obtidos, não foi evidenciada diferença estatística, que permitisse diferenciar os grupos avaliados ($p > 0.05$). No entanto foi possível observar que houve variação significativa entre os tempos do mesmo grupo ($p < 0.05$), indicativo de evolução do processo de recuperação dos animais.

Em termos médios, evidenciou-se normoleucocitemia, com existência de linfopenia (G1 e G2) e eosinopenia (G2). Ao passo que, nos primeiros momentos

analisados, ou seja, enquanto os animais permaneciam sob quadro de anemia intensa (D0), pôde ser observada, nos diferentes grupos, a ocorrência de neutrofilia com desvio à esquerda, sugerindo possível ativação da reposta medular.

Verificou-se, também, independente do grupo avaliado, uma intensificação da linfopenia absoluta, durante as avaliações iniciais (D0, D1 e D3), e, consequente, inversão do padrão leucocitário, que passou de predominantemente linfocitário para neutrofílico, observada, principalmente, em D3. Essa inversão permaneceu nítida, enquanto os animais ainda apresentavam anemia intensa.

Encontra-se na literatura, datada da década de 60, uma referência sobre aumento do número relativo de neutrófilos (neutrofilia), associado à diminuição do número relativo de linfócitos (linfopenia), sem alterações no número total de leucócitos (normoleucocitemia), em casos de verminose gastrointestinal experimental causada por *Trichostrongylus colubriformis* (GALLAGHER, 1963). Entretanto, ao analisar os resultados apresentados pelo autor, verificou-se que este não observou tal comportamento celular, ou seja, o quadro leucocitário de animais com tricostrongilíase permanecia linfocitário.

Apesar dos mecanismos de imunidade ao parasitismo por *Haemonchus contortus* ainda não estar completamente elucidados, pesquisas tem demonstrado o envolvimento dos linfócitos Th2 CD4+ na resposta imune às infecções parasitárias por nematódeos (AMARANTE et al., 2003). Estudos realizados com canulação do abomaso evidenciaram a participação de linfócitos agindo diretamente na mucosa afetada (SCHALLIG, 2000), e também, verificaram a ativação e proliferação local dos leucócitos, em especial os linfócitos (VEER et al., 2007), com significativa correlação inversa entre a contagem de linfócitos T na mucosa abomasal e a fecundidade, tamanho e a sobrevivência da fêmea adulta de *Haemonchus contortus* (ROWE et al., 2008). Portanto, baseado nos resultados obtidos pela presente pesquisa, embasados na literatura compulsada, é possível afirmar que a diminuição do número de linfócitos circulantes seria consequência de sua provável migração para a mucosa abomasal, e, consequente, ação local.

Observou-se, também, avaliando os resultados obtidos para o G2, quanto à mensuração de eosinófilos, que estes permaneciam diminuídos (eosinopenia), enquanto

os animais apresentavam anemia intensa, e que o número absoluto de eosinófilos sanguíneos era menor, quanto maior fosse o grau de infestação parasitária do animal.

A literatura consultada relata a ocorrência de eosinofilia na mucosa abomasal e intestinal, como consequência da redução do número de eosinófilos circulantes (eosinopenia), observada em infestações por parasitas gastrointestinais. Da mesma forma, correlacionou-se a ocorrência do aumento do número de eosinófilos circulantes, com baixos valores de OPG nas fezes de ovinos, estando este fenômeno, associado à maior resistência do animal à infestação parasitária (HOHENHAUS et al., 1998).

Quando se compara os resultados obtidos na presente pesquisa, quanto à contagem de neutrófilos, com os de caprinos, obtidos por Birgel (2014), verifica-se que os ovinos com anemia intensa, infectados por vermes hematófagos (*Haemonchus contortus*), apresentaram alta prevalência de neutrofilia (D0), entretanto, em caprinos com verminose gastrointestinal, a neutrofilia era mais evidente no grupo de animais com anemia leve e/ou moderada, sendo que sua intensidade aumentava proporcionalmente, com o agravamento da anemia.

Pela análise dos resultados obtidos, perdurou a dúvida se a resposta hematológica observada (normoleucocitemia/neutrofilia, linfopenia/eosinopenia) seria decorrente propriamente da verminose gastrointestinal ou inerentes ao processo anêmico. Para o esclarecimento de tal questão, os resultados foram comparados, com aqueles apresentados por Birgel (2013), em animais submetidos à perda aguda e crônica de sangue.

A ocorrência de neutrofilia durante os processos anêmicos pôde ser observada no grupo de animais submetidos à sangria aguda por perda sanguínea, de forma transitória, enquanto naqueles submetidos à perda crônica, observou-se leucopenia por neutropenia associado à linfopenia e eosinopenia (BIRGEL, 2013).

Em cordeiros, foram observadas altas contagens, em número absoluto, de leucócitos, neutrófilos e monócitos, com a inversão da relação entre neutrófilos e linfócitos, e redução de eosinófilos, que coincidiram com aumento nas taxas de cortisol (FONTEQUE, 2005). Estas alterações decorrem em estímulo ao desvio de células do compartimento marginal, para o circulante (JAIN, 1993). Mas, mesmo nas infestações graves por vermes hematófagos, nas quais existem de 2.000 a 5.000 *Haemonchus*

contortus, a perda sanguínea diária oscila entre 100 e 250 ml, o que não permite caracterizá-la como aguda (RUAS; BERNE, 2001).

Portanto, de acordo com os resultados desta pesquisa e a literatura pertinente consultada, as alterações no leucograma dos animais hospedeiros com anemia verminótica não se devem apenas à perda crônica de sangue. Isto porque a linfopenia e eosinopenia foram creditadas ao processo anêmico, porém a normoleucocitemia e valores de neutrófilos dentro da normalidade ou aumentados (neutrofilia) não puderam ser associados com as perdas crônicas de sangue.

Pela análise dos resultados obtidos, para contagem de plaquetas, evidenciou-se diferença estatística ($p < 0.05$) entre o G2 e os demais grupos, principalmente, nas fases iniciais de avaliação. Além disso, verificou-se que os resultados foram crescentes até D7, extrapolando, inclusive, os valores de referência para a espécie (trombocitose). Credita-se este fenômeno, à necessidade de ação das mesmas, frente ao processo de contínua perda sanguínea e, conseqüente, bloqueio de pequenas hemorragias causadas pela espoliação local dos vermes hematófagos.

Sob mesma análise, a partir de D10, os resultados, para esta variável, foram decrescentes. A normalização deste parâmetro foi verificada em D10, para o G1, em D15, para o G3 e, finalmente, em D45 para o G2. Evento observado, em consonância com a recuperação do quadro hematológico.

8 CONCLUSÃO

A análise dos resultados obtidos pela presente pesquisa, bem como sua discussão, permitiu concluir que não há interferências significativas, sobre as variáveis que compõem o eritrograma e leucograma, decorrentes do processo inflamatório, causado pela espoliação contínua do *Haemonchus contortus* na mucosa abomasal, e possíveis infecções bacterianas secundárias locais. No entanto, a suplementação de ferro dextrano, em indivíduos com anemia verminótica, contribuiu para elevação das concentrações de hemoglobina e VCM, indicando satisfatória resposta medular e, pela não evolução negativa da tipificação anêmica apresentada (anemia normocítica normocrômica), entende-se que os animais foram capazes de manter a homeostase no metabolismo de ferro.

REFERÊNCIAS¹

ABBOTT, E. M., PARKINS, J.J., HOLMES .P. H. Studies on pathophysiology of cronic ovine haemonchosis in Merino and Scottish lambs. **Parasitology**, v.89, n.3 p.585-596, 1984.

ABBOTT, E. M., PARKINS, J.J., HOLMES . P. H. Influence of dietary protein on the pathophysiology of haemonchosis in lambs given continuous infection. **Research Veterinary Science**, V. 45, n.1, p.41-49, 1988.

ALBERS, G. A. A.; GRAY, G.D.; PIPER, L.R.; BARKER, J. S. F.; LE JAMBRE, L.F.; BARGER, I.A. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young merino sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 17, p. 1355-1363, 1987.

AL-QUAIZY, H.; H, K., AL-ZUBAIDY, A.J., ALTAIF, K. I., MAKKAWI, T. A. The pathogenicity of haemonchosis in sheep and goats in Iraq:. Clinical. Parasitological and haematological findings. **Veterinary Parasitology**, v.24, p.221- 228, 1987.

AMARANTE, A.F.T.; BAGNOLA JUNIOR, J.; AMARANTE, M.R.V.; BARBOSA, M.A. Host specificity of sheep and cattle nematode in São Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.73, p.89-104, 1997.

AMARANTE, A.F.T.; AMARANTE, M.R.V. Breeding sheep for resistance to nematode infections. **Journal of Animal and Veterinary Advances** 2, v. 3, p. 147-161, 2003.

ASHMEAD, H.D. The chemistry of ferrous bisglycinatechelate. **Archives Latinoamerican Nutrition**, v.51 n.1, p.13-21, 2001.

¹ De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT NBR 6023).

BARGER, A. M. Erythrocyte Morphology. In: WEISS, D. J. & WARDROP, K. J. Schalm's **Veterinary Hematology**. 6.ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010. cap.23, p.144-151.

BENESI, F. J. **Diagnóstico e terapia das anemias em caprinos**. In D'ANGELINO, J.L. Manejo, Patologia e Clínica de Caprinos. Sociedade Paulista de Medicina Veterinária- São Paulo, p. 171-191, 1985.

BIRGEL, D. B. Avaliação do quadro eritrocitário e da repercussão do estado anêmico no leucograma de caprinos com verminose gastrointestinal. **Pesq. Vet. Bras.**, Rio de Janeiro , v. 34, n. 3, p. 199-204, Mar. 2014.

BIRGEL, D.B. **Estudo da anemia em ovinos decorrente à verminose gastrointestinal**. 2013. 118 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

BLOOD, D.C., HENDERSON, J.A., RADOSTITIS, O.M. **Clinic. Vet.** 5. Ed. Rio de Janeiro-RJ, Guanabara Koogan, p. 777-778. 1988.

BUSH, B. M. **Interpretação de resultados laboratoriais para clínicos de pequenos animais**. 1.ed. São Paulo: Roca, 2004. 384 p.

CARDOSO, M.V., PINO, F.A., FEDERSONI, I.S.P., LUCCHESI FILHO, A., FELÍCIO, A.L. Caracterização da caprinocultura e ovinocultura no estado de São Paulo. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 82, p. 1-15, 2015.

DORCHIES, P.; BERGHAUD, J.P.; VAN KHANH, N.; MORAND, S. Reduced egg counts in mixed infections with *Oestrus ovis* and *Haemonchus contortus*: influence of eosinophils. **Parasitology Research**, v. 83, p. 727-730, 1997

FARIA JUNIOR, S. P.; SILVA, M.M.; SCHEIBEL, M.; Maria de Fátima MARTINS, M.F.; RABELLO, P.; BERTAGNON, H.G.; GARCIA, M. Uso da contagem fecal de ovos de nematóides para estimar a condição clínica em caprinos. **Ciência Veterinária dos Trópicos**, v.5, n. 2 e 3, p. 86-92, 2002

FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary**. 5ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Williams, 2000. 1344p

FERNANDEZ, F.R.; GRINDEM, C.B. Reticulocyte response. In: FELDMAN, B.F. et al. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap.19. p.110-116.

FONTEQUE, J. H. **Estresse oxidativo e lipoperoxidação devido à anemia induzida por perda aguda de sangue em ovinos**. 2005. 90 f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2005.

GALLAGHER, C.H. Studies on trichostrongylosis of sheep: plasma volume, haemoglobin concentration, and blood cell count. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 14, n. 3, p. 349-363, 1963.

GARCIA, M. D'ANGELINO, J.L. **Parasitoses em Caprinos**. In D'ANGELINO, J.L. Manejo, Patologia e Clínica de Caprinos. Sociedade Paulista de Medicina Veterinária- São Paulo, p. 149-170, 1985.

GARCIA, M.; ORTOLANI, E.L.; BENESI, F.J.; ARAUJO, W.P.; D' ANGELINO, J. L.; ARAUJO, L. M.; BIRGEL, E.H.. Aspectos clínicos da verminose dos caprinos. Ocorrências nos anos de 1982 e 1983 no Hospital Veterinário da FMVZ-USP. In: SEMANA DE MEDICINA VETERINÁRIA DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo, SP,

1983. **Anais...** São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 1983. p.68.

GROTTO, Helena Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo , v. 30, n. 5, p. 390-397, Oct. 2008

HAYS, V.W.; SWENSON, M.J. Minerais. In: DUKES, H.H.; SWENSON, M.J.; REECE, W.O. (Eds.). **Dukes Fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 471p.

HOHENHAUS M.A., JOSEY M.J., DOBSON C. & OUTERIDGE P.M. The eosinophil leucocyte, a phenotypic marker of resistance to nematode parasites, is associated with calm behaviour in sheep. **Immunol. Cell Biol.**, v.76, p.153-158, 1998.

HURTADO, E.K. et al. Early childhood anemia and mild or moderate mental retardation. **American Journal Clinical Nutrition**, p.69, p.115-119, 1999

JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, p. 417, 1993.

LOPES, R.S.; VIEIRA BRESSAN, M.C.R.; KOHAYAGAVA, A. et al. Comparative susceptibility and pathogeny of Nelore and Holstein-Friesian calves to the experimental infection of *Haemonchus placei* (Place, 1893). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.49, n.3, p.279-290, 1997.

MEYER, D.J.; HARWEY, J.W. **Veterinary laboratory medicine. Interpretation and diagnosis**. 2ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1998. 373p

ROCHA, R. X., et. al. Dextran iron in anemic lambs: effects on reticulocytosis and free radical production. **Ciência Rural**, v.37, n.5, p.1344-1348, 2007.

ROWE A.; GONDRO C.; EMERY D.; SANGSTER N. Genomic analyses of *Haemonchus contorts* infection in sheep: Abomasal fistulation and two *Haemonchus* strains do not substantially confound host gene expression in microarrays. **Veterinary Parasitology**, v.154, p.71-81, 2008.

RUAS, J. L.; BERNE, M. E. A.. Nematódeos gastrintestinais de bovinos e ovinos. In RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; MENDEZ, M.D.C.; LEMOS, R.A.A. **Doenças de Ruminantes e Equinos**. Varela Editora e Livraria, 1ª Edição, Vol. 2, p. 89-105, 2001.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de ensino em medicina veterinária e zootecnia, 1998, 221 p.

SCHALLIG, H. D. F. H. Immunological responses of sheep to *Haemonchus contortus*. **Parasitology**, 120, p 63-72, 2000.

SCHMIDL, M.; FORSTNER, V. **Laboratory testing in veterinary medicine diagnosis and clinical monitoring**. Mannheim: Boehringer Mannheim, 1986. 253 p.

SCHOOL, T.O.; JOHNSON, W.G. Folic acid: influence on the outcome of pregnancy. **American Journal Clinical Nutrition**; v.71, p.1295-1303, 2000.

TOKARNIA, C.H.; DOBEREINER, J.; PEIXOTO, P.V. Deficiências minerais em animais de fazenda, principalmente bovinos em regime de campo. **Pesq. Vet. Bras.** Rio de Janeiro, v.20, n.3, p.127-138, Sept. 2000.

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

VEER M.J.; KEMP J.M.; MEEUSEN N.T., The innate defence against nematode parasites. **Parasite Immunology**. 29, 1-9, 2007.

VENG-PEDERSEN. P.; CHAPEL, S.; SCHMIDT, P. R. L.; AL-HINITI, N. H.; COOK, R. T.; WIDNESS, J. A. An integrated pharmacodynamic analysis of erythropoietin, reticulocyte, and hemoglobin responses in acute anemia. **Pharmaceutical Research**, v.19, n.11, p.1630, 2002.

VIEIRA BRESSAN, M.C.R.; GENNARI, J.M.; SANTOS FILHO, J.P.; ROGERO, J. R. Pathophysiological observations on calves concurrently infected with *Cooperia punctata* and *Haemonchus placei*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.47, n.1, p.53-54, 1995.

ANEXO A – Laudo de coprocultura para identificação e quantificação de larvas de nematódeos gastrintestinais de ruminantes

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO
CENTRO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE SANIDADE ANIMAL
LABORATÓRIO DE PARASITOLOGIA ANIMAL

TRIAGEM ANIMAL Nº: 1150/15
LPA-CP 08/2015

INTERESSADO: Eduardo Harry Birgel Junior (FZEA/USP)

PROCEDÊNCIA: Pirassununga/SP

MÉDICO VETERINÁRIO (A) RESPONSÁVEL: Eduardo Harry Birgel Junior CRMV: 5209 SP

NATUREZA DO MATERIAL: fezes (07 amostras)

EXAME REQUISITADO: coprocultura para identificação e quantificação de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ruminantes

ESPÉCIE ANIMAL: ovina

MATERIAL RECEBIDO EM: 25/05/2015

MATERIAL COLETADO EM: 18,19 e 20/2015

DATA DO EXAME: 03/06/2015

RESULTADOS

IDENTIFICAÇÃO DOS ANIMAIS		LARVAS INFECTANTES DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS (%)			
IDENTIFICAÇÃO DOS LOTES	RAÇA	SEXO	DATA DA COLETA	<i>Haemoncus</i> spp	<i>Trichostrongylus</i> spp
Lote de ovinos 1	SRD	F	19/05/2015	97	03
Pool de fezes diarréicas lote 1	SRD	F	19/05/2015	100	----
Lote ovinos 2	SRD	F	19/05/2015	----	100
Lote ovinos 4	SRD	F	20/05/2015	99	01
Lote ovinos 5	SRD	F	20/05/2015	80	20
Lote ovinos baía	SRD	F	20/05/2015	100	----
Pool de fezes lote 1 e 2 (outros)	SRD	F	18/05/2015	100	----

Método utilizado: Roberts & O'Sullivan

São Paulo, 03 de junho de 2015

SUELI MODA DE OLIVEIRA
Médica Veterinária CRMV-SP 2091
Pesquisador Científico
Centro de P & D de Sanidade Animal