

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

JOSIANE BATISTA MENDES DE SOUZA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NO CONTROLE DA
VERMINOSE GASTRINTESTINAL EM CORDEIROS**

(Effects of protein supplementation on the control of gastrointestinal parasites in lambs)

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2015

JOSIANE BATISTA MENDES DE SOUZA

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NO CONTROLE DA
VERMINOSE GASTRINTESTINAL EM CORDEIROS**

(Effects of protein supplementation on the control of gastrointestinal parasites in lambs)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde, Tecnologia e Produção Animal, da Escola de Ciências Agrárias e Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Profa. Dra. Cristina Santos Sotomaior

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS

2015

TERMO DE APROVAÇÃO
(Responsabilidade da Secretaria do PPGCA)

(Entregue pela secretaria)

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	vii
FORMATO DA DISSERTAÇÃO.....	viii
RESUMO GERAL.....	ix
ABSTRACT.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xv
CAPÍTULO 1	
1 INTRODUÇÃO.....	1
CAPÍTULO 2	
2 REVISÃO DA LITERATURA – Suplementação proteica como ferramenta de controle da verminose gastrintestinal em ovinos.....	4
2.1 INFECÇÕES POR <i>Haemonchus contortus</i>	4
2.2 RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA	5
2.3 MANEJO INTEGRADO DE PARASITOS (MIP).....	7
2.4 SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA.....	9
CAPÍTULO 3	
3 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA RESISTÊNCIA E RESILIÊNCIA DE CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS POR PARASITOS GASTRINTESTINAIS.....	13
Resumo.....	13
Abstract.....	14
3.1 INTRODUÇÃO.....	15
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.2.1 Dietas Experimentais.....	19
3.2.2 Análises Produtivas	20
3.2.3 Análises Parasitológicas.....	21
3.2.4 Análises Hematológicas e Imunológicas.....	21
3.2.5 Análises Bioquímicas.....	22

3.2.6 Análises Estatísticas	22
3.3 RESULTADOS.....	23
3.3.1 Parâmetros produtivos.....	23
3.3.2 Parâmetros parasitológicos	25
3.3.3 Parâmetros hematológicos e imunológicos.....	28
3.3.4 Parâmetros bioquímicos.....	31
3.4 DISCUSSÃO.....	34
3.5 CONCLUSÃO.....	40
CAPÍTULO 4	
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	42
5 REFERÊNCIAS.....	43

Ao “Mestre dos Mestres” que lhe ensine que
nas falhas e lágrimas se esculpe a sabedoria.

Augusto Cury.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por mais uma oportunidade em minha vida.

A todos (Ligia, Maria, Dhéri, Rebeca, Carol, Cido, Alceu, Marcelo, Prof. Segui, Prof. André, Prof. Saulo e tantos outros) que de forma direta e indireta, contribuíram para confecção desse projeto. Meu muito obrigado!!!!!!

Em especial a minha orientadora Cristina Sotomaior, pelo incentivo, paciência, e sua imensa dedicação.

Aos meus familiares, pela ausência e abdicação de momentos juntos.

A minha filhinha Maria Carla que eu amo tanto, que participou involuntariamente dessa pesquisa durante minha gestação.

E ao meu marido pela ajuda e compreensão.

FORMATO DA DISSERTAÇÃO

A presente dissertação é composta por capítulos.

O capítulo 1 apresenta uma introdução geral e os objetivos de estudo desta dissertação.

O capítulo 2 trata da revisão de literatura.

O capítulo 3 é o experimento, redigido em formato de artigo, a ser publicado em periódico científico a ser definido.

O capítulo 4 finaliza esta dissertação com conclusões gerais deste trabalho e com sugestões para estudos futuros.

As referências de todos os capítulos se encontram em lista única ao final da dissertação.

RESUMO GERAL

A produção de ovinos no Brasil é uma atividade em crescimento, sendo a verminose gastrointestinal um dos principais problemas sanitários que atingem a produção. O *Haemonchus contortus* é o principal parasito e, em função do uso excessivo de tratamentos anti-helmínticos, a sustentabilidade dos sistemas de produção de ovinos está ameaçada pela resistência anti-helmíntica. Buscam-se, portanto, alternativas ao tratamento químico. Sabe-se que a nutrição desempenha um papel decisivo na imunidade dos ovinos e que pode ser ferramenta no controle da verminose. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a suplementação proteica como estratégia no controle da verminose gastrointestinal, por meio do fornecimento de diferentes níveis proteicos na dieta de cordeiros. Para isso, foram avaliados 60 cordeiros mestiços das raças Ile de France e Texel da Fazenda Experimental Gralha Azul da PUCPR, divididos em três grupos de 20 animais, que receberam concentrado, na proporção de 3% do peso vivo, com valores de Baixa Proteína (BP – 8,5%), Média Proteína (MP – 15%) e Alta Proteína (AP – 25%). Durante o experimento, com duração de 98 dias, foram realizadas análises quinzenais (D0 a D98) de parâmetros produtivos (peso, medidas corporais e avaliação da condição corporal), parasitológicos (contagem de ovos de parasitos nas fezes – opg, classificação pelo método FAMACHA e contagem de parasitos no abomaso) e hematológicos/imunológicos (hematócrito – Ht, contagem de eosinófilos sanguíneos, contagem de mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso) e bioquímicos (proteína total, albumina, globulinas e ureia). Não houve diferença ($p > 0,05$) no peso médio dos grupos BP, MP e AP, iniciando em D0 com 22,0 kg, 21,4 kg e 21,1 kg, e finalizando em D98 com 46,4 kg, 48,3 kg, 48,2 kg, respectivamente. O ganho médio diário de peso (GMD) foi de 250 g para o grupo BP e de 270 g para os grupos MP e AP, sem diferença estatística ($p > 0,05$). Nas avaliações da condição corporal e dos valores médios de medidas corporais também não houve diferenças entre os grupos ($p > 0,05$). Nos valores de opg, houve diferença entre a média dos diferentes grupos. No D98, o grupo BP apresentou média de 6.765 opg, maior ($p < 0,05$) que a média de 1.617,5 opg do grupo MP e semelhante ($p > 0,05$) ao grupo AP, com média de 3.435 opg. Observou-se, também, aumento significativo na média de opg do grupo BP ao longo do experimento, sendo que a média no D98 (6.765 opg) foi superior ($p < 0,05$) à média no D0 (1.075 opg). As médias dos grupos MP e AP permaneceram constantes. Quanto aos valores de Ht, houve redução ($p < 0,05$) na média somente do grupo BP, entre D0 e D98. No D98, a média de 30,7% do grupo BP foi inferior ($p < 0,05$) ao MP (33,9%) e semelhante ($p > 0,05$) ao AP (33,4%). A contagem de parasitos no abomaso não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos. A proteína total apresentou diferença ($p < 0,05$) entre os grupos nas avaliações D0, D28, D56, D70 e D84, sendo que as médias do grupo BP foram sempre menores que as médias dos grupos MP e AP. A média de albumina do grupo BP no D98 (2,10 g/dL) foi inferior ($p < 0,05$) à média no D0 (2,52 g/dL). Quanto às globulinas, observaram-se variações ao longo do experimento nos três grupos, sendo que as médias no D98 para BP e AP foram maiores ($p < 0,05$) que as médias no D0. Para os valores de eosinófilo sanguíneo e FAMACHA não houve diferenças entre os grupos ($p > 0,05$), nem nas médias de cada grupo ao longo do experimento. Os valores da contagem de mastócitos e eosinófilos na

mucosa do abomaso não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos. Concluiu-se que os cordeiros suplementados com o concentrado de 15% de proteína apresentaram maior resistência e resiliência aos parasitos gastrintestinais.

Palavras-chave: Ovinos. Verminose gastrintestinal. Resistência. Resiliência. Suplementação proteica.

ABSTRACT

Sheep production is a growing activity in Brazil and the main problem is the worm control. *Haemonchus contortus*, the primary gastrointestinal parasite for sheep, is resistant to all conventional anthelmintics, thus causing losses to the sheep industry. Several measures to decrease the usage of anthelmintics are currently under evaluation. Nutrition plays a decisive role in the immunity of sheep and can be an important factor for the control of nematode parasites. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of protein supplementation as a strategy for gastrointestinal nematode control by incorporating different protein levels in the diet of lambs. In total, 60 weaned Ile de France and Texel crossbred lambs of Gralha Azul Experimental Farm were divided into three groups according to the level of protein supplements in their diets: a low protein group (LP; 8.5%), a moderate protein group (MP; 15%), and a high protein group (HP; 25%). Supplementation was based on 3% of the body weight of lambs and was continued for 98 days. Evaluations were conducted biweekly from day 0 (D0) to day 98 (D98) and included productive parameters [weight, daily weight gain (DWG), body measurements, body condition], parasite-related parameters [egg counts per gram of feces (epg), FAMACHA scores, worm burden], hematological/immunological parameters [hematocrit (Ht), blood eosinophil count, mast cell and eosinophil counts in the abomasal mucosa], and biochemical parameters (total proteins, albumin, globulins and urea). There were no significant differences ($p > 0.05$) in the average weight among the LP, MP and HP groups, which was 22.0, 21.4, and 21.1 kg, respectively, on D0 and 46.4, 48.3, and 48.2 kg, respectively, on D98. DWG was 250 g in the BP group and 270 g in the MP and AP groups, with no significant differences among groups ($p > 0.05$). The body condition and average body measurement values were comparable among groups ($p > 0.05$). On D98, the LP group showed an average of 6,765 epg, which was significantly higher ($p < 0.05$) than the average of 1,617.5 epg in the MP group and insignificantly higher than the average of 3,435 epg in the HP group ($p > 0.05$). Furthermore, the average epg showed a significant increase from 1,075 on D0 to 6,765 on D98 in the LP group ($p < 0.05$), while that in the MP and HP groups remained constant throughout the study. Ht values significantly decreased ($p < 0.05$) from D0 to D98 only in the BP group and showed a significant difference between the LP group (30.7%) and the MP group (33.9%; $p < 0.05$), but not between the LP group and the HP group (33.4%; $p > 0.05$), on D98. The parasite count in the abomasum did not differ ($p > 0.05$) among groups. The total protein levels showed significant differences ($p < 0.05$) among groups on D0, D28, D56, D70, and D84, and the average values in the LP group were always lower than those in the HP and MP groups. The average albumin level on D98 (2.10 g/dL) was lower than that on D0 (2.52 g/dL) in the LP group ($p < 0.05$). Globulin levels fluctuated in all three groups throughout the experiment, with higher average values on D98 than on D0 in the LP and HP groups ($p < 0.05$). Blood eosinophil counts, FAMACHA scores, and mast cell and eosinophil counts in the abomasal mucosa showed no differences among groups ($p > 0.05$). These results suggest that supplementation of diets with a 15% protein concentration increases the resistance and resilience of lambs to gastrointestinal parasites.

Keywords: Sheep. Worm control. Resistance. Resilience. Protein supplementation.

LISTA DE ABREVIATURAS

AP	Alta proteína
BP	Baixa proteína
CC	Condição corporal
GMD	Ganho médio diário de peso
MIP	Manejo integrado de parasitos
MP	Média proteína
OPG	Ovos por grama de fezes
PB	Proteína bruta
PM	Proteína metabolizável
PV	Peso vivo

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Composição do concentrado para cordeiros segundo suplementação com baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP).....	19
Tabela 2. Valores dos níveis nutricionais do concentrado para cordeiros, segundo suplementação com baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP).....	20
Tabela 3. Média e desvio padrão do peso vivo (kg) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 a D98).....	23
Tabela 4. Média e desvio padrão do ganho médio diário (GMD) de peso (g/dia) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo o intervalo de avaliação (D0 – D14 a D84 – D98 e D0 – D98).....	24
Tabela 5. Média e desvio padrão das medidas morfométricas de altura de cernelha, comprimento, circunferência abdominal e circunferência torácica de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	25
Tabela 6. Média da contagem de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	26
Tabela 7. Média e desvio padrão dos valores de hematócrito (%) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	29

Tabela 8.	Média e desvio padrão dos valores séricos de proteína total (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	31
Tabela 9.	Média e desvio padrão dos valores séricos de albumina (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	32
Tabela 10.	Média e desvio padrão dos valores séricos de globulina (d/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	33
Tabela 11.	Média e desvio padrão dos valores séricos de ureia (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	33

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Média da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	27
Figura 2. Média do número de <i>Haemonchus contortus</i> recuperados do abomaso de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP).....	28
Figura 3. Média dos valores de eosinófilos sanguíneos (eosinófilos/mm ³) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98).....	30
Figura 4. Média do número de mastócitos e eosinófilos (número médio de células/lâmina) na mucosa do abomaso de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP).....	30

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura está expandindo sua participação no agronegócio paranaense e brasileiro, consolidando-se como uma atividade econômica rentável. No Brasil, o efetivo de ovinos registrado em 2013 foi de 17.290.519 cabeças (FAO, 2015), sendo que a região Nordeste tem 56,5% da produção brasileira, enquanto que o Sul tem 24,6% (IBGE, 2013). O Estado do Paraná destaca-se por possuir um rebanho estimado de 640,9 mil cabeças, crescimento de 4,2% em relação a 2010 (IBGE, 2013), representando a espécie de animais de fazenda com os maiores índices de crescimento no Estado, devido ao aumento da demanda de seus produtos e da utilização de novas tecnologias.

Uma das maiores restrições ao aumento da produtividade na criação de ovinos em todo o mundo são as questões sanitárias, principalmente as relativas às infecções por nematódeos gastrintestinais (Thamsborg et al., 1998; Fitzpatrick, 2013). É comum aos pequenos ruminantes criados a campo a presença de diferentes espécies de helmintos gastrintestinais (Kaplan et al., 2004), sendo *Haemonchus contortus* o parasito gastrintestinal mais importante para a produção de ovinos, devido sua alta patogenicidade (O'Connor et al., 2006). Apesar do desenvolvimento do *H. contortus* ser favorecido em regiões tropicais e subtropicais (Strain e Stear, 2001; Torres-Acosta et al., 2012), há relatos de sua prevalência em várias regiões do mundo (Taylor et al., 2010). Entre as perdas produtivas, destaca-se a redução na qualidade de carne e lã, diminuição do crescimento e da fertilidade dos rebanhos e aumento nas taxas de mortalidade (Torres-Acosta e Hoste, 2008; Miller et al., 2011; Kahn e Woodgate, 2012).

Visando o controle dos parasitos gastrintestinais, os anti-helmínticos passaram a ser utilizados de forma indiscriminada. O uso frequente destes medicamentos, associado a uma troca contínua de princípios ativos, foi responsável por uma seleção de parasitos resistentes. Atualmente, a resistência parasitária é um problema mundial para as criações de pequenos ruminantes (Kaplan, 2004; Thomaz-Soccol et al., 2004;

Papadopoulos, 2008; Torres-Acosta et al., 2012; Falzon et al., 2014). Uma vez presente a resistência anti-helmíntica, o controle dos nematódeos por meio de antiparasitários se torna o principal desafio em sistemas de produção de ruminantes a pasto (Kaplan and Vidyashankar, 2012).

Com o surgimento da resistência parasitária, buscam-se novas estratégias de controle para os parasitos gastrintestinais. Estas estratégias associam técnicas de manejo que visam redução do uso de anti-helmínticos. O Manejo Integrado de Parasitos (MIP) engloba diversas alternativas não químicas, que estão em evidência atualmente. O MIP associa diferentes ferramentas para controle dos parasitos, como o tratamento seletivo dos animais, seleção de animais geneticamente resistentes, práticas de manejo dos pastos e dos animais (Bath e Van Wyk, 2009; Hoste e Torres-Acosta, 2011).

Uma ferramenta importante para reduzir o uso de anti-helmíntico, que pode ser utilizada no MIP, é investir em nutrição. Segundo Houdijk (2012), há muito tempo se conhecia, ou pelo menos suspeitava-se, que a melhora na nutrição do hospedeiro influenciava nos parasitos gastrintestinais. Atualmente, o estado nutricional é considerado uma ferramenta que pode ajudar a controlar as infecções de parasitos gastrintestinais em ovinos e reduzir o uso e a dependência de anti-helmíntico (Torres-Acosta et al., 2012). Segundo Coop e Kyriazakis (2001), animais que recebem uma dieta de alta qualidade podem apresentar maior capacidade para suportar as consequências adversas do parasitismo.

Dados de vários estudos, segundo Houdijk (2012), evidenciam que a resistência dos hospedeiro aos parasitos gastrintestinais é mais sensível à escassez de proteína do que de energia. O parasitismo aumenta as necessidades de proteína metabolizável (PM) para a manutenção, proveniente do reparo de danos aos tecidos induzidos pelos parasitos (Coop e Kyriazakis, 1999), mas também para a produção dos componentes proteicos da resposta imunológica envolvidos na regulação do estabelecimento do parasito, sua fecundidade e sobrevivência (Coop e Holmes, 1996; Balic et al., 2000). Portanto, espera-se maior resistência aos parasitos a partir da suplementação de alimentos proteicos (Coop e Kyriazakis, 2001; Eady et al., 2003; Hoste et al., 2005). Em

ovinos, estudos sugerem que a alimentação com elevados teores de proteínas aumenta a resiliência e/ou resistência dos animais parasitados (Kahn et al., 2000; Kahn et al., 2003; Aynalem-Haile et al., 2004; Bricarello et al., 2005; Hoste et al., 2005; Knox et al., 2006; Torres-Acosta et al., 2012).

Apesar da demonstração dos efeitos da nutrição sobre a resposta imunológica dos ovinos aos parasitos gastrintestinais, segundo Athanasiadou (2012), as interações moleculares entre nutrição e imunidade não são ainda totalmente conhecidas. O entendimento de tais interações é de importância estratégica para definir medidas sustentáveis para o controle de parasitos em ruminantes. Tal conhecimento é ainda de extrema importância para identificar novos biomarcadores, caracterizar e combinar a genética dos hospedeiros com o ambiente nutricional adequado, e investigar os efeitos epigenéticos de nutrição na resistência do parasito.

Portanto, o objetivo deste projeto é avaliar os efeitos da suplementação proteica em cordeiros naturalmente infectados por parasitos gastrintestinais, por meio de parâmetros parasitológicos, produtivos, imunológicos, hematológicos e bioquímicos. A hipótese é que cordeiros alimentados com maiores níveis de proteína irão apresentar maior resistência e resiliência aos parasitos gastrintestinais, com menor grau de infecção parasitária, melhor resposta imunológica e melhor desempenho produtivo.

CAPÍTULO 2

2 REVISÃO DA LITERATURA – Suplementação proteica como ferramenta de controle da verminose gastrointestinal em ovinos

2.1 INFECÇÕES POR *Haemonchus contortus*

As parasitoses gastrintestinais são um fator limitante para a produção de pequenos ruminantes em diversas regiões do mundo. O nematódeo hematófago *Haemonchus contortus* destaca-se como parasito de maior importância devido sua alta prevalência e patogenicidade (O'Connor et al., 2006; Amarante, 2009).

H. contortus é um parasito do filo dos Nematelminthes, pertencente à classe Nematoda, ordem Strongylida, superfamília Trichostrongyloidea, família Trichostrongylidae, subfamília Haemonchinae, gênero *Haemonchus*, espécie *H. contortus* (Anderson, 2000). Os níveis de infecção do *H. contortus* são bem maiores que outros parasitas como *Teladorsagia circumcincta* e *Trichostrongylus colubriformis*, podendo variar de acordo com inúmeros fatores, dentre eles: categoria animal, clima, lotação e manejo de pastagem (Bambou et al., 2011).

H. contortus tem um ciclo evolutivo direto; as fêmeas são prolíferas e produzem de 5.000 a 10.000 ovos por dia, sendo que a ovipostura acontece por 5 a 14 meses (Urquhart et al., 2003). A eclosão dos ovos em L1 ocorre no pasto, que se desenvolve para L2. Ambos os estágios se alimentam de bactérias presentes nas fezes. A L2 se desenvolve, realizando uma muda para L3, larva infectante, a qual não se alimenta e retém a cutícula da L2 como uma bainha de proteção (Urquhart et al., 2003). De uma forma geral, é possível o desenvolvimento dos estádios não parasitários de *H. contortus* entre 10 a 40°C, embora temperaturas entre 26 e 36°C sejam consideradas ótimas, quando acompanhadas de alta umidade (O'Connor et al., 2006). A larva L3 sofre menos influências do meio do que os outros estádios não parasitários de *H. contortus*. A presença de cutícula e a sua capacidade de migração para microclimas mais adequados para sua manutenção e sobrevivência podem ser o motivo desta

maior resistência à dessecação no ambiente (O' Connor et al., 2006). A sobrevivência desta larva pode variar de 1 a 18 meses, dependendo das condições climáticas da região em que se encontra (Torres-Acosta e Hoste, 2008). Climas tropicais são excelentes para a sobrevivência da L3 nas pastagens; porém, a larva é sensível a períodos prolongados de seca e a altas temperaturas ou frio extremo, como em condições de neve (O'Connor et al., 2006).

Após a ingestão, as larvas sofrem duas mudas, em íntima aposição às glândulas gástricas. Antes da muda final, desenvolvem a lanceta perfurante, que lhes permite obter sangue diretamente dos vasos da mucosa (Urquhart et al., 2003; Taylor et al., 2010). A fêmea do parasito possui 18-30 mm de comprimento e o macho 10-20 mm. As fêmeas são reconhecidas pelos ovários e úteros brancos enrolando-se em espiral em volta do intestino cheio de sangue. O macho possui a coloração vermelha e pode ser ainda distinguido pelo bom desenvolvimento da bursa copulatória (Urquhart et al., 2003).

A alta patogenicidade do *H. contortus* em pequenos ruminantes se deve ao fato do mesmo ser um parasito hematófago. Um parasito adulto pode sugar em média 0,05 a 0,08 mL de sangue/dia de seu hospedeiro. Com isso, reduz o ferro e os valores de hematócrito (Taylor et al., 2010). O parasitismo gastrintestinal tem sido considerado como um grande desafio para a saúde e para o bem-estar dos animais. Os sinais clínicos são caracterizados por inapetência, diarreia, anemia, hipoproteïnemia (edema submandibular), perda de peso e apatia e, em casos graves, a morte (Foreyt, 2005; Athanasiadou et al., 2008; Taylor et al., 2010).

2.2 RESISTÊNCIA ANTI-HELMÍNTICA

Uma vez que o principal problema dos pequenos ruminantes são os parasitos gastrintestinais, produtores rurais passaram a utilizar anti-helmínticos de forma excessiva em busca de benefícios para saúde e maximização da produtividade dos animais (Kaplan e Vidyashankar, 2012). Com o objetivo de controlar os prejuízos impostos pela verminose gastrintestinal eram instituídos tratamentos que, muitas

vezes, eram realizados a intervalos mensais e quinzenais, ou até mesmo semanais (Sotomaior et al., 2009). O problema é que quanto maior o número de tratamentos com anti-helmínticos, mais rápido o desenvolvimento da resistência parasitária, pois os genes dos parasitos resistentes à droga são selecionados a cada tratamento (Sangster, 1999; Hoste e Torres-Acosta, 2011). Após o tratamento do hospedeiro, apenas os parasitos que não sofreram ação do princípio ativo utilizado sobrevivem e se reproduzem, disseminando os genes de resistência para a próxima geração (Sangster, 1999).

Há relatos de resistência anti-helmíntica datados desde 1950, para *H. contortus* em ovinos (Kaplan, 2004). Ao longo dos anos, o uso excessivo de anti-helmíntico resultou no surgimento de cepas de helmintos resistentes aos vários princípios ativos de drogas (Kaplan, 2004; Papadopoulos, 2008; Torres-Acosta et al., 2012; Rose et al., 2015). Apesar de existirem inúmeras opções no mercado, até meados dos anos 2000, os princípios ativos dos anti-helmínticos estavam divididos em quatro grandes famílias, de acordo com o mecanismo de ação, que são: benzimidazóis, imidazotiazóis e lactonas macrocíclicas (amplo espectro) e salicilanídeos (curto espectro) (Lanusse e Prichard, 1993).

No Brasil, há relatos de resistência parasitária a todos os grupos de amplo e curto espectro de anti-helmínticos e casos de múltipla resistência foram publicados nas diferentes regiões do país (Soccol et al. 1996; Echevarria et al., 1996; Vieira e Cavalcante, 1999; Thomaz-Soccol et al., 2004; Rosalinski-Moraes et al., 2007; Melo et al., 2009; Almeida et al., 2010; Cruz et al., 2010; Veríssimo et al., 2012).

E, mesmo com o desenvolvimento do monepantel (Hosking et al., 2010), nova classe de anti-helmíntico derivado de amino-acetonitrilo (AADS), o problema da resistência parasitária está distante de uma solução. Estudos recentes mostram que, mesmo sendo um princípio ativo novo, há resistência do *Trichostrongylus colubriformis*, da *Teladorsagia circumcincta* (Scott et al., 2013) e do *H. contortus* (Van den Brom et al., 2015) ao monepantel.

2.3 MANEJO INTEGRADO DE PARASITOS (MIP)

Diante da necessidade urgente de minimizar a utilização de anti-helmínticos, associando meios não-químicos para controlar a infecção parasitária e conservar a eficácia dos anti-helmínticos existentes (Athanasiadou et al., 2008), desenvolveu-se o conceito de Manejo Integrado de Parasitos (MIP) (Bath e Van Wyk, 2009; Hoste e Torres-Acosta et al., 2011). O MIP engloba formas de redução da verminose gastrointestinal tanto pela redução da ingestão de larvas pelos hospedeiros quanto pelos fatores intrínsecos do mesmo, com métodos para redução da carga parasitária no hospedeiro (Torres-Acosta et al., 2012).

Entre as várias ferramentas do MIP, destaca-se a seleção de animais geneticamente resistentes aos parasitos gastrintestinais. Os nematódeos são distribuídos de forma desigual entre os indivíduos de um mesmo rebanho. A existência de uma capacidade fenotípica de animais resistirem a infecções por parasitos gastrintestinais é amplamente conhecida (Good et al., 2006; Sotomaior et al., 2007). Esta capacidade é controlada geneticamente (Stear e Murray, 1994; Bishop e Morris, 2007), o que torna possível a ideia de seleção genética de animais resistentes a infecções por *H. contortus*.

Segundo Albers e Gray (1987), consideram-se animais como resistentes aqueles capazes de eliminar cargas parasitárias a que são expostos. Os resilientes são animais que, mesmo parasitados, conseguem manter índices de produção satisfatórios. Estudos demonstraram que a resistência genética do hospedeiro a nematódeos gastrintestinais é herdável e os índices de herdabilidade variam de 0,3 a 0,5 (Barger, 1989). Em longo prazo, o processo de seleção genética pode produzir animais resistentes e resilientes à infecção parasitária (Albers e Gray, 1987; Rosalinski-Moraes et al., 2011; Kahn e Woodgate, 2012).

Outra ferramenta importante do MIP é o tratamento seletivo de ovinos, ou seja, tratar somente os animais que necessitam, o que permite a constante manutenção de uma população refúgio no rebanho (Kenyon et al., 2009). População refúgio é a porção da população de parasitos que não é exposta à droga quando ocorre o tratamento anti-

helmíntico e, portanto, mantém genes de susceptibilidade à droga anti-helmíntica utilizada (Van Wyk, 2001). Esta população é constituída tanto pelos parasitos que se encontram no trato gastrintestinal dos hospedeiros que não foram tratados, quanto pelos estágios de vida livre (Van Wyk, 2001; Kenyon et al., 2009). Desta forma, o vermífugo passará a ser utilizado somente quando necessário. Neste caso, orienta-se a deixar alguns animais do rebanho sem tratamento (van Wyk et al., 2006). Geralmente, os parasitos são distribuídos de forma desigual em uma população, com poucos animais infectados com relativamente grande carga parasitária, sendo possível direcionar o tratamento para estes animais que mais necessitam, ou que mais vão se beneficiar do tratamento, ou seja, realizar um tratamento seletivo ("*Targeted Selective Treatment*") (Kenyon et al., 2009). O desafio de implementar o tratamento seletivo é saber identificar, no momento correto, apenas os animais que necessitam de tratamento (Van Wyk et al., 2006), por meio de fatores patofisiológicos, parasitológicos ou índices de produção (Torres-Acosta e Hoste, 2008; Kenyon et al., 2009).

O método FAMACHA[®] pode ser utilizado como auxiliar no emprego do tratamento seletivo, em situações em que há alta prevalência de *H. contortus*, visando à exposição mínima dos helmintos aos medicamentos e diminuindo, assim, a pressão de seleção sobre estes (Van Wyk e Bath, 2002). Este método foi desenvolvido na África do Sul, por um grupo de pesquisadores, com o objetivo de se tornar uma ferramenta para a identificação e tratamento seletivo de ovinos parasitados por *H. contortus* (Van Wyk, 2001). O método se baseia na avaliação da mucosa conjuntiva ocular comparada com um cartão padrão. Neste, estão presentes cinco categorias de cores que variam de 1 (vermelho brilhante) a 5 (pálida, quase branca). Cada uma das cinco categorias representa um intervalo de valores de hematócrito. Aos animais classificados como 4 e 5, o tratamento anti-helmíntico sempre é recomendado e, em alguns casos o 3 (Bath et al., 2001; Van Wyk e Bath, 2002). O método FAMACHA[®] foi validado e é utilizado com sucesso na redução do uso de anti-helmínticos em várias propriedades ao redor do mundo, onde *H. contortus* é o parasito prevalente (Malan et al., 2001, Kaplan et al., 2004, Mahieu et al., 2007, Burke et al., 2007; Di Loria et al., 2009; Kenyon et al., 2009; Scheuerle et al., 2010; Sotomaior et al., 2012). No, Brasil, os primeiros ensaios de

validação do método em propriedades comerciais ocorreram no sul do país, realizados por Sotomaior et al. (2003) e Molento et al. (2004). A partir de então, o método tem sido utilizado em diferentes regiões (Depner et al., 2007; Abrão et al. 2010; Vilela et al., 2008; Cavele et al., 2009; Molento et al. 2009; Oliveira et al., 2011, Sotomaior et al., 2012; Maia et al., 2014).

Dentro do contexto do MIP, Athanasiadou et al. (2008) destacam a importância da complementariedade e das interações entre as diferentes opções de controle, uma vez que se torna evidente que o futuro controle parasitário será alcançado com o uso combinado de estratégias. Portanto, dentro deste contexto, a suplementação nutricional torna-se importante para o controle das infecções por nematóides gastrintestinais, reduzindo a dependência dos anti-helmínticos nos tratamentos (Torres-Acosta et al., 2012). Segundo Khan et al. (2012), as duas ferramentas não-químicas mais importantes no controle das parasitoses são a seleção de animais geneticamente resistentes e a suplementação nutricional.

2.4 SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA

Infecções parasitárias podem resultar em perdas gastroentéricas substanciais de proteína endógena, na forma de sangue total, plasma, células epiteliais descamadas e muco (Knox et al., 2006). Além disto, a infecção pode prejudicar a absorção de nutrientes e também a retenção de minerais necessários ao crescimento e desenvolvimento dos animais, especialmente animais jovens. Segundo Sykes e Greer (2003), há evidências de que o metabolismo de fósforo, cálcio, cobre e magnésio são negativamente afetados pelas infecções parasitárias. Estima-se que cordeiros em crescimento e ovelhas no peri-parto tenham aumento de cerca de 25% nas necessidades de proteína metabolizável (PM) quando expostos à infecções parasitárias (Kyriazakis and Houdijk, 2006). Sendo assim, a utilização de dietas com níveis adequados de nutrientes apresenta-se como uma maneira bastante efetiva de se diminuir a susceptibilidade dos animais aos nematódeos (Coop e Kyriazakis, 1999; Bricarello et al., 2005).

Atualmente, segundo Houdijk (2012), reconhece-se que a resistência do hospedeiro aos parasitos gastrintestinais é mais sensível à deficiência ou escassez de proteína do que de energia. Portanto, a suplementação proteica traz mais benefícios para o controle da verminose gastrintestinal do que a suplementação energética, ainda que se deva considerar que a suplementação energética pode resultar indiretamente em aumento da proteína metabolizada, em função da síntese microbiana (AFRC, 1993).

Apesar de se saber que as infecções parasitárias aumentam as necessidades de proteína metabolizável, em função da necessidade de reparo de danos aos tecidos induzidos pelos parasitos (Coop e Kyriazakis, 1999), não se compreende totalmente como a suplementação de proteína afeta a resistência do hospedeiro aos parasitos. Vários trabalhos com pequenos ruminantes e roedores mostram que o aumento da resistência do hospedeiro aos parasitos, devido à melhora nutricional, correlaciona-se com a resposta imunológica (Athanasidou e Houdijk, 2010; Houdijk, 2012). Sabe-se, também, que em épocas de escassez de nutrientes, muitas funções do organismo são penalizadas. Coop e Kyriazakis (1999) sugeriram que a expressão da imunidade poderia ser mais penalizada que as funções produtivas, uma vez que os recursos escassos seriam priorizados para o crescimento e reprodução.

Portanto, a suplementação de proteína poderia aumentar a resistência do hospedeiro aos parasitos gastrintestinais por permitir a produção dos componentes proteicos da resposta imunológica que são responsáveis pelo estabelecimento, fecundidade e sobrevivência dos parasitos gastrintestinais no hospedeiro (Coop e Holmes, 1996; Balic et al., 2000; Houdijk, 2012).

A manipulação nutricional, principalmente proteica, melhora a imunidade inata, bem como o grau de expressão da imunidade (Coop e Kyriazakis, 1999; Knox et al., 2006). Tanto a imunidade inata quanto a imunidade adaptativa (também denominada adquirida) protegem o hospedeiro de infecções por *H. contortus*. A resposta imunológica inata às larvas de parasitos gastrintestinais envolve fatores de iniciação que direcionam a resposta imune adaptativa e é menos claramente entendida (McNeilly et al., 2009). A migração de eosinófilos, mastócitos e outros granulócitos para o local da

infecção durante a resposta imune secundária auxilia na polarização de células T para uma resposta Th-2 (Perrigoue et al., 2008). Portanto, a imunidade adquirida aos parasitos gastrintestinais em ovinos tem sido bem definida como uma resposta clássica Th-2 com níveis elevados de anticorpos IgG, IgA e IgE, mastocitose e eosinofilia no local da infecção (Lacroux et al., 2006). Ao contrário do modelo murino, onde os camundongos suscetíveis têm uma resposta inadequada Th-1 aos parasitos gastrintestinais (Else et al., 1993), ovinos susceptíveis são capazes de montar um tipo apropriado de resposta imunológica (Shakya et al., 2009). Nos ovinos, a susceptibilidade parece resultar de um nível reduzido e retardado na resposta imunológica (Rowe et al., 2009 e Bowdridge et al., 2013), o que facilita o estabelecimento do parasita adulto. A diferença entre a resistência e susceptibilidade aos parasitos em ovinos, portanto, está na magnitude da resposta imune ao desafio das larvas durante a infecção.

De maneira geral, a suplementação proteica está associada com a redução do número de ovos por grama de fezes e com aumento da imunidade, com a produção de anticorpos IgA, reduzindo a sobrevivência ou fecundidade dos nematódeos gastrintestinais (Strain e Stear, 2001; Kyriazakis e Houdijk, 2006), estando correlacionada positivamente à produção de anticorpos e de eosinófilos (Datta et al., 1998; Bricarello et al., 2005).

Em ovinos, há evidências que a alimentação com teores de proteínas elevados aumenta tanto a resistência quanto a resiliência dos animais parasitados (Coop e Kyriazakis, 2001; Strain e Stear, 2001; Eady et al., 2003; Kahn et al., 2000, 2003; Aynalem-Haile et al., 2004; Bricarello et al., 2005; Knox et al., 2006; Houdijk, 2008; Houdijk, 2012; Torres-Acosta e Hoste, 2012).

Vários critérios fenotípicos podem ser utilizados para identificação dos animais em resistentes, resilientes ou susceptíveis. A contagem de ovos por grama de fezes (OPG), por ser um critério relacionado ao número de parasitos (Roberts e Swan, 1981), é um dos mais utilizados para a definição de resistência (Albers e Gray, 1987; Bricarello et al., 2005; Louvandini et al., 2006; Good et al., 2006; Kelly et al., 2013), além da própria contagem dos parasitos (Barger et al., 1985; Louvandini et al., 2006).

Outros parâmetros relacionados à capacidade do hospedeiro em controlar a infecção parasitária, também podem ser utilizados, como o número de células na mucosa intestinal (mastócitos e eosinófilos), quantidade de larvas L4 e L5, quantidade de parasitos machos e fêmeas, assim como o seu tamanho (Barger et al., 1985; Louvandini et al., 2006). Outras características do perfil imunológico, como contagem de eosinófilos sanguíneos e níveis de anticorpos, principalmente IgA e IgE também podem indicar a resistência (Strain e Stear, 2001; Kyriazakis e Houdijk, 2006; Rosalinski-Moraes et al., 2011).

Por outro lado, critérios fenotípicos, indicativos da habilidade do hospedeiro em suportar os efeitos patogênicos da infecção, podem ser considerados como indicativos de resiliência do animal. Entre estes critérios, destacam-se os valores de hematócrito (Bricarello et al., 2005; Kelly et al., 2013), concentração de albumina (Louvandini et al., 2006) e proteína plasmática total (Bricarello et al., 2005), método FAMACHA[®] (Van Wyk e Bath, 2002; Sotomaior et al., 2007; Riley e Van Wyk, 2009) e taxa de crescimento ou ganho de peso (Wallace et al., 1999; Bricarello et al., 2005; Kelly et al., 2013).

A suplementação alimentar atuaria minimizando as perdas produtivas, quando a demanda metabólica do hospedeiro está voltada para o controle da infecção (Knox et al., (2006).

Pesquisas sugerem que os benefícios da suplementação sobre os efeitos da infecção parasitária são mais pronunciadas em genótipos suscetíveis em comparação com os resistentes (Coop e Kyriazakis, 1999; Louie et al., 2007; Torres-Acosta e Hoste, 2008).

CAPÍTULO 3

3 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO PROTEICA NA RESISTÊNCIA E RESILIÊNCIA DE CORDEIROS NATURALMENTE INFECTADOS POR PARASITOS GASTRINTESTINAIS (*Effects of protein supplementation on resistance and resilience of lambs naturally infected with gastrointestinal parasites*)

RESUMO

A produção de ovinos no Brasil é uma atividade em crescimento, sendo a verminose gastrointestinal um dos principais problemas sanitários que atingem a produção. O *Haemonchus contortus* é o principal parasito e, em função do uso excessivo de tratamentos anti-helmínticos, a sustentabilidade dos sistemas de produção de ovinos está ameaçada pela resistência anti-helmíntica. Buscam-se, portanto, alternativas ao tratamento químico. Sabe-se que a nutrição desempenha um papel decisivo na imunidade dos ovinos e que pode ser ferramenta no controle da verminose. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a suplementação proteica como estratégia no controle da verminose gastrointestinal, por meio do fornecimento de diferentes níveis proteicos na dieta de cordeiros. Para isso, foram avaliados 60 cordeiros mestiços das raças Ile de France e Texel da Fazenda Experimental Gralha Azul da PUCPR, divididos em três grupos de 20 animais, que receberam concentrado, na proporção de 3% do peso vivo, com valores de Baixa Proteína (BP – 8,5%), Média Proteína (MP – 15%) e Alta Proteína (AP – 25%). Durante o experimento, com duração de 98 dias, foram realizadas análises quinzenais (D0 a D98) de parâmetros produtivos (peso, medidas corporais e avaliação da condição corporal), parasitológicos (contagem de ovos de parasitos nas fezes – opg, classificação pelo método FAMACHA e contagem de parasitos no abomaso) e hematológicos/imunológicos (hematócrito – Ht, contagem de eosinófilos sanguíneos, contagem de mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso) e bioquímicos (proteína total, albumina, globulinas e ureia). Não houve diferença ($p > 0,05$) no peso médio dos grupos BP, MP e AP, iniciando em D0 com 22,0 kg, 21,4 kg e 21,1 kg, e finalizando em D98 com 46,4 kg, 48,3 kg, 48,2 kg, respectivamente. O ganho médio diário de peso (GMD) foi de 250 g para o grupo BP e de 270 g para os grupos MP e AP, sem diferença estatística ($p > 0,05$). Nas avaliações da condição corporal e dos valores médios de medidas corporais também não houve diferenças entre os grupos ($p > 0,05$). Nos valores de opg, houve diferença entre a média dos diferentes grupos. No D98, o grupo BP apresentou média de 6.765 opg, maior ($p < 0,05$) que a média de 1.617,5 opg do grupo MP e semelhante ($p > 0,05$) ao grupo AP, com média de 3.435 opg. Observou-se, também, aumento significativo na média de opg do grupo BP ao longo do experimento, sendo que a média no D98 (6.765 opg) foi superior ($p < 0,05$) à média no D0 (1.075 opg). As médias dos grupos MP e AP permaneceram constantes. Quanto aos valores de Ht, houve redução ($p < 0,05$) na média somente do grupo BP, entre D0 e D98. No D98, a média de 30,7% do grupo BP foi inferior ($p <$

0,05) ao MP (33,9%) e semelhante ($p > 0,05$) ao AP (33,4%). A contagem de parasitos no abomaso não diferiu ($p > 0,05$) entre os grupos. A proteína total apresentou diferença ($p < 0,05$) entre os grupos nas avaliações D0, D28, D56, D70 e D84, sendo que as médias do grupo BP foram sempre menores que as médias dos grupos MP e AP. A média de albumina do grupo BP no D98 (2,10 g/dL) foi inferior ($p < 0,05$) à média no D0 (2,52 g/dL). Quanto às globulinas, observaram-se variações ao longo do experimento nos três grupos, sendo que as médias no D98 para BP e AP foram maiores ($p < 0,05$) que as médias no D0. Para os valores de eosinófilo sanguíneo e FAMACHA não houve diferenças entre os grupos ($p > 0,05$), nem nas médias de cada grupo ao longo do experimento. Os valores da contagem de mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso não diferiram ($p > 0,05$) entre os grupos. Concluiu-se que os cordeiros suplementados com o concentrado de 15% de proteína apresentaram maior resistência e resiliência aos parasitos gastrintestinais.

Palavras-chave: Ovinos. Verminose gastrintestinal. Resistência. Resiliência. Suplementação proteica.

ABSTRACT

Sheep production is a growing activity in Brazil and the main problem is the worm control. *Haemonchus contortus*, the primary gastrointestinal parasite for sheep, is resistant to all conventional anthelmintics, thus causing losses to the sheep industry. Several measures to decrease the usage of anthelmintics are currently under evaluation. Nutrition plays a decisive role in the immunity of sheep and can be an important factor for the control of nematode parasites. The objective of this study was to evaluate the effectiveness of protein supplementation as a strategy for gastrointestinal nematode control by incorporating different protein levels in the diet of lambs. In total, 60 weaned Ile de France and Texel crossbred lambs of Gralha Azul Experimental Farm were divided into three groups according to the level of protein supplements in their diets: a low protein group (LP; 8.5%), a moderate protein group (MP; 15%), and a high protein group (HP; 25%). Supplementation was based on 3% of the body weight of lambs and was continued for 98 days. Evaluations were conducted biweekly from day 0 (D0) to day 98 (D98) and included productive parameters [weight, daily weight gain (DWG), body measurements, body condition], parasite-related parameters [egg counts per gram of feces (epg), FAMACHA scores, worm burden], hematological/immunological parameters [hematocrit (Ht), blood eosinophil count, mast cell and eosinophil counts in the abomasal mucosa], and biochemical parameters (total proteins, albumin, globulins and urea). There were no significant differences ($p > 0.05$) in the average weight among the LP, MP and HP groups, which was 22.0, 21.4, and 21.1 kg, respectively, on D0 and 46.4, 48.3, and 48.2 kg, respectively, on D98. DWG was 250 g in the BP group and 270 g in the MP and AP groups, with no significant differences among groups ($p > 0.05$). The body condition and average body measurement values were comparable among groups ($p > 0.05$). On D98, the LP group showed an average of 6,765 epg, which was significantly higher ($p < 0.05$) than the average of 1,617.5 epg in the MP group and insignificantly higher than the average of 3,435 epg in the HP

group ($p > 0.05$). Furthermore, the average epg showed a significant increase from 1,075 on D0 to 6,765 on D98 in the LP group ($p < 0.05$), while that in the MP and HP groups remained constant throughout the study. Ht values significantly decreased ($p < 0.05$) from D0 to D98 only in the BP group and showed a significant difference between the LP group (30.7%) and the MP group (33.9%; $p < 0.05$), but not between the LP group and the HP group (33.4%; $p > 0.05$), on D98. The parasite count in the abomasum did not differ ($p > 0.05$) among groups. The total protein levels showed significant differences ($p < 0.05$) among groups on D0, D28, D56, D70, and D84, and the average values in the LP group were always lower than those in the HP and MP groups. The average albumin level on D98 (2.10 g/dL) was lower than that on D0 (2.52 g/dL) in the LP group ($p < 0.05$). Globulin levels fluctuated in all three groups throughout the experiment, with higher average values on D98 than on D0 in the LP and HP groups ($p < 0.05$). Blood eosinophil counts, FAMACHA scores, and mast cell and eosinophil counts in the abomasal mucosa showed no differences among groups ($p > 0.05$). These results suggest that supplementation of diets with a 15% protein concentration increases the resistance and resilience of lambs to gastrointestinal parasites.

Keywords: Sheep. Worm control. Resistance. Resilience. Protein supplementation.

3.1 INTRODUÇÃO

A produção de ovinos é uma atividade econômica explorada em todos os continentes e representa um papel importante na economia de muitos países. Os sistemas de criação desenvolvem-se em áreas que apresentam as mais diversas características climáticas (Torres-Acosta e Hoste, 2008).

Entretanto, a expansão da indústria da ovinocultura vem sendo dificultada pela ineficiência em controlar infecções por parasitos gastrintestinais e pelo desenvolvimento da resistência anti-helmíntica (Kaplan, 2004; Kenyon et al., 2009). A resistência anti-helmíntica é um problema mundial, sendo relatada em todos os países que produzem ovinos comercialmente (Maciel et al., 1996; Waghorn et al., 2006; Papadopoulos, 2008; Torres-Acosta et al., 2012; Rose et al., 2015). No Brasil, também há relatos em todas as regiões produtoras: Nordeste (Melo et al., 2009), Sul (Thomaz-Soccol et al., 2004; Rosalinski-Moraes et al., 2007) e Sudeste (Cruz et al., 2010; Almeida et al., 2010; Veríssimo et al., 2012). Há relatos de resistência de

Trichostrongylus colubriformis, *Teladorsagia circumcincta* (Scott et al., 2013) e *H. contortus* (Van den Brom et al., 2015) inclusive ao monepantel, mais recente princípio ativo lançado no comércio (Hosking et al., 2010).

Portanto, a maneira pela qual os parasitos gastrintestinais são controlados deve ser mudada. Neste novo enfoque, desenvolveu-se o conceito de Manejo Integrado de Parasitos (MIP), que utiliza várias ferramentas de controle, deixando de lado o uso exclusivo do tratamento químico (Athanasiadou et al., 2000; Hoste e Torres-Acosta, 2011). O MIP engloba formas de redução da verminose gastrintestinal tanto pela redução da ingestão de larvas pelos hospedeiros quanto pelos fatores intrínsecos do mesmo, com métodos para redução da carga parasitária no hospedeiro (Torres-Acosta et al., 2012).

Entre as várias ferramentas do MIP, destaca-se a nutrição/alimentação, pois o status nutricional do hospedeiro é considerado importante fator que influencia a relação parasito-hospedeiro e a patogenia das infecções parasitárias (Coop e Kyriazakis, 1999; Sahoo et al., 2011). De maneira geral, animais adequadamente nutridos apresentam melhores condições orgânicas e um sistema imunológico mais efetivo (Coop e Kyriazakis, 1999; Bricarello et al., 2005; Torres-Acosta et al., 2012). Quando os animais estão infectados, além dos prejuízos normalmente provocados pelo parasitismo, como redução no apetite e síndrome da má digestão/absorção, há uma reorientação no metabolismo de nutrientes dos hospedeiros infectados, a fim de manter a homeostase do organismo (Roy et al., 2003). Além disso, distúrbios causados pelo metabolismo proteico são normalmente mais pronunciados do que os que afetam o balanço energético (Coop e Kyriazakis, 2001; Houdijk, 2012). Esta combinação de processos patofisiológicos resultam em baixo crescimento do animal, produção de lã e leite (Knox et al., 2006) e, conseqüentemente, maior susceptibilidade à verminose e outras enfermidades (Coop e Kyriazakis, 1999; Bricarello et al., 2005).

Desta forma, o manejo nutricional pode representar uma opção para melhorar a resposta do hospedeiro contra parasitos (Knox et al., 2006), através de uma melhora na imunidade inata, bem como o grau de expressão da imunidade (Coop e Kyriazakis, 1999). A utilização de dietas com níveis adequados de nutrientes, principalmente de

proteína, apresenta-se como uma maneira bastante efetiva de diminuir a susceptibilidade dos animais aos nematódeos, notadamente daqueles de maior exigência nutricional (Coop e Kyriazakis, 1999; Bricarello et al., 2005).

Apesar da demonstração dos efeitos da nutrição sobre a resposta imunológica dos ovinos aos parasitas gastrintestinais em nível fenotípico, segundo Athanasiadou (2012), as interações moleculares entre nutrição e imunidade são desconhecidas. O entendimento de tais interações é de importância estratégica para definir medidas sustentáveis para o controle de parasitos em ruminantes.

O objetivo deste projeto é avaliar os efeitos de diferentes níveis de suplementação proteica na resistência e resiliência de cordeiros naturalmente infectados por parasitos gastrintestinais, por meio de parâmetros parasitológicos, produtivos, imunológicos e bioquímicos. A hipótese é que o aumento da ingestão de proteína resulte em aumento da resistência e resiliência dos ovinos avaliados.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado durante o período julho de 2013 a fevereiro de 2014, no setor de Ovinocultura da Fazenda Experimental Gralha Azul (FEGA) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), localizada no Município de Fazenda Rio Grande, Paraná. Este projeto tem aprovação do Comitê de Ética no Uso Animal (CEUA) da PUCPR, sob no. 801.

Foram utilizados 60 cordeiros, machos e fêmeas, mestiços das raças Texel e Ile de France, nascidos entre os meses de maio a setembro de 2013. No experimento os cordeiros foram avaliados do desmame, que ocorreu aos dois meses de idade, até os cinco meses de idade. Devido aos nascimentos não terem sido concentrados numa única época, os animais foram divididos em dois lotes. No lote 1, foram utilizados 31 animais nascidos nos meses de maio a junho e, no lote 2, foram 29 animais nascidos entre os meses de julho a setembro. Após 10 dias de idade, os cordeiros, juntamente com suas mães, permaneciam durante o dia soltos em piquetes de pasto de inverno (aveia e azevém) e pasto nativo. Ao final da tarde eram recolhidos ao aprisco, onde

tinham concentrado à vontade no creep-feeding. Todos os animais eram pesados semanalmente, desde o nascimento. Ao atingirem 20 kg e pelo menos 45 dias, foram desmamados e vacinados contra clostridioses (Sintoxan T®).

No lote 1, todos os animais foram tratados com anti-helmíntico (monepantel 2,5 mg/kg) no desmame. No Lote 2, não houve tratamento com anti-helmíntico no desmame. Ao longo do experimento, para ambos os lotes, estabeleceu-se o critério de tratar um animal (monepantel 2,5 mg/kg) sempre que o exame coproparasitológico deste animal fosse superior a 10.000 opg de strongilídeos, independente do grupo e período do experimento.

Após o desmame, houve um período de adaptação de uma semana antes do início do experimento. Nesse período, todos os animais foram mantidos confinados nas baias experimentais, recebendo concentrado com 15% de PB, além de feno de gramíneas e água à vontade.

No início do experimento, denominado dia 0 (D0), os animais foram divididos em três grupos, com diferentes níveis de suplementação proteica: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP). Os grupos foram homogeneamente formados, a fim de que tivessem a mesma proporção de machos e fêmeas, assim como peso inicial e opg inicial semelhante entre os grupos.

Durante todo o experimento, os animais permaneceram todos juntos, em piquetes de pasto nativo, durante o dia, sendo recolhidos no final da tarde em baias coletivas. Eram três baias coletivas, uma para cada grupo experimental (BP, MP e AP). Os grupos eram identificados por diferentes colorações marcadas na lã, para facilitar no momento de recolher os animais e colocá-los nas respectivas baias.

A cada 14 dias, durante 98 dias, os animais foram avaliados para a colheita de amostras e realização de análises produtivas, parasitológicas, hematológicas, imunológicas e bioquímicas. Os dias de avaliações foram denominados de D0 a D98. As avaliações e colheitas de amostras aconteceram sempre no mesmo horário, às 08:30h da manhã, com os animais em jejum.

No final das avaliações (D98), os machos (n = 30) foram abatidos para colheita de amostras da mucosa do abomaso para contagem de parasitos, mastócitos e eosinófilos.

3.2.1 Dietas Experimentais

As dietas foram calculadas de acordo com as recomendações do *Nutrient Requirements of Sheep* (NRC, 1985). A proteína no concentrado dos cordeiros era fornecida com três diferentes níveis de suplementação: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP). No cálculo do teor de proteína, considerou-se o grupo MP como o nível de proteína necessário para atender as exigências proteicas de cordeiros em terminação (NRC, 1985). As dietas foram calculadas (tabela 1) para serem compostas pelos mesmos ingredientes e serem isoenergéticas, com valores de NDT de 77%, variando apenas os valores de proteína bruta (PB) de 8,5%, 15% e 25%, respectivamente, para as dietas de BP, MP e AP (tabela 2). O concentrado era fornecido duas vezes ao dia em cochos coletivos, no início da manhã, antes dos animais serem soltos no pasto, e no fim da tarde quando os animais eram recolhidos. Fornecia-se o concentrado, segundo cada grupo, na quantidade de 3,0% do peso vivo médio dos animais. A cada semana, eram feitos cálculos para ajuste da quantidade de concentrado de acordo com peso médio de cada grupo. Nas baias, os animais tinham feno e água à vontade.

Tabela1 – Composição do concentrado para cordeiros segundo suplementação com baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP)

Ingredientes	BP	MP	AP
Milho em grão moído	90,05%	75,05%	48,85%
Farelo de Trigo	6,00%	3,00%	1,50%
Farelo de soja	0,80%	18,80%	46,20%
Gordura vegetal	0,20%	0,45%	1,20%
Calcário	1,75%	1,50%	1,05%
Sal	0,50%	0,50%	0,50%
Premix mineral	0,70%	0,70%	0,70%
Total	100%	100%	100%

Tabela 2 – Valores dos níveis nutricionais analisados do concentrado para cordeiros, segundo suplementação com baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP)

Níveis Nutricionais	BP	MP	AP
Umidade %	12,11	11,68	11,00
Proteína %	8,58	14,99	24,98
NDT %	77,02	77,00	76,99
Gordura Bruta%	3,92	3,73	3,75
Matéria Mineral%	3,97	4,52	5,40
Fibra Bruta%	2,54	3,01	3,93
FDA %	3,82	4,37	5,44
Cálcio %	0,69	0,69	0,70
Fósforo total %	0,32	0,36	0,45
Sódio %	0,20	0,20	0,21

Obs.: NDT – Nutrientes digestíveis totais; FDA – Fibra detergente ácida; FDN – Fibra detergente neutra.

3.2.2 Análises Produtivas

As análises produtivas consistiram no acompanhamento do ganho médio diário (GMD) de peso, avaliação da condição corporal (CC) e medidas morfométricas: altura de cernelha, comprimento, circunferência abdominal e circunferência torácica. O GMD foi calculado considerando-se a diferença de peso vivo (PV) entre duas avaliações, dividida pelo intervalo de dias entre as avaliações. A avaliação do PV foi feita em balança manual. Para a determinação da CC, com o animal em estação, foi realizada a palpação da região lombar dos animais, conforme Moraes et al. (2005). A condição corporal, categorizada de 1 a 5, determina se o ovino está magro (condição 1) ou gordo (condição 5), auxiliando na avaliação clínica dos animais. As medidas morfométricas, expressas em centímetros, foram feitas com os animais em estação, utilizando fita métrica, conforme Santana et al. (2001). As medidas de perímetro torácico foram obtidas na parte posterior das espáduas, junto às axilas, pela circunferência externa da cavidade do tórax e do perímetro abdominal, pela circunferência total do abdômen, logo após a última costela. O comprimento do corpo foi dado pela distância entre a parte cranial e a tuberosidade maior do úmero e a tuberosidade isquiática. A altura do anterior (altura da cernelha) foi calculada pela medida do ponto mais alto da região inter-escapular até o chão.

3.2.3 Análises Parasitológicas

Para as análises parasitológicas, os animais foram contidos manualmente e avaliados quanto ao método FAMACHA[®]. A avaliação do método FAMACHA[®] foi feita conforme Van Wyk e Bath (2002), através da comparação da mucosa conjuntiva com a cartela do método. Houve também colheitas de fezes, individualmente, com sacos plásticos, diretamente da ampola retal. As amostras de fezes foram utilizadas para a realização dos exames parasitológicos: contagem de ovos por grama de fezes (opg), segundo o método de Gordon e Whitlock (1939), sensível para 50 opg; e cultura e identificação de larvas, segundo Roberts e O'Sullivan (1950). Os machos, em cada um dos grupos, ao final do experimento, foram abatidos e foi realizada a contagem dos parasitos presentes no abomaso, segundo Ueno e Gonçalves (1994).

3.2.4 Análises Hematológicas e Imunológicas

Para as análises hematológicas e imunológicas, foi realizada a colheita de sangue. O sangue foi colhido na veia jugular externa, em tubos de vacutainer de 2mL contendo EDTA com anticoagulante. Essas amostras foram utilizadas para realização do hematócrito e contagem dos eosinófilos.

A técnica de determinação do volume globular ou hematócrito foi feita pelo método do microhematócrito, segundo Jain (1986). A técnica de contagem de eosinófilos sanguíneos foi feita pelo método direto, segundo LIMA et al. (1985), utilizando a câmara de contagem Neubauer.

Também foram avaliados o número de mastócitos e eosinófilos na mucosa do abomaso. Esta análise foi realizada conforme Bricarello et al. (2005), com tecido colhido do abomaso dos cordeiros machos abatidos (10 machos em cada um dos grupos). Depois, os fragmentos foram preparados segundo técnicas rotineiras de histologia e corados com hematoxilina-eosina e azul de toluidina para posterior análise microscópica. A contagem das células ocorreu em cinco campos em cada lâmina e o resultado foi dado pelo número médio de células contadas nos cinco campos avaliados.

3.2.5 Análises Bioquímicas

As colheitas de amostras de sangue também foram feitas em tubos sem anticoagulante e centrifugado por oito minutos para obtenção do soro. Com o soro foram analisadas as concentrações de proteína total, albumina, globulina e ureia. As amostras foram analisadas por método colorimétrico em analisador bioquímico Bio 2000 (Marca Bioplus) e com utilização de kits comerciais (Labtest e Laborclin). A proteína total foi analisada através do reativo de biureto azul, o valor sérico de albumina através do reativo de verde bromocresol, e o de globulina foi obtido pela subtração dos valores de proteína total e albumina. A análise dos níveis séricos de ureia foi realizada com o reagente enzimático da Laborclin color - Enzimática Colorimétrica.

3.2.6 Análises Estatísticas

As comparações entre os dados parasitológicos, hematológicos, imunológicos, bioquímicos e produtivos dos animais, entre os três grupos de suplementação proteica, foram realizadas pela análise de variância (ANOVA), seguido do teste de Tukey, com nível de significância de 5%, utilizando o software statgraphics 4,1. As variáveis OPG e eosinófilos, para as análises estatísticas, foram transformadas em $\log_{10}(x+1)$.

No caso de cordeiros que tiveram o OPG maior que 10.000 e foram tratados com o anti-helmíntico monepantel, a contagem de OPG diminuiu para quase zero. Na análise estatística, para que não houvesse interferência na média do grupo, para as demais análises destes cordeiros, considerou-se o resultado da contagem de OPG do dia da análise, somado à contagem de OPG do dia da utilização do anti-helmíntico.

Nas análises de contagem de parasitos no abomaso e contagem de mastócitos e eosinófilos no abomaso, não foram considerados os valores do animais que haviam recebido tratamento com monepantel.

3. 3 RESULTADOS

3.3.1 Parâmetros produtivos

Na análise dos dados produtivos, observa-se que os animais iniciaram o experimento (D0) com uma média de PV de 22,0 kg no grupo BP, 21,43 kg no MP e 21,13 kg no AP e terminaram (D98) com 46,36 kg, 48,34 kg e 48,17 kg, respectivamente nos grupos BP, MP e AP, sem diferença significativa entre os grupos ($p > 0,05$) (tabela 3). Ao longo do tempo, houve um aumento progressivo ($p < 0,05$) da média de peso nos três grupos. Porém, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) de ganho de peso entre os grupos em nenhuma das avaliações, exceto no período D70 – D84. A média do GMD variou de 150 g/dia a 320 g/dia (tabela 4).

Tabela 3 - Média e desvio padrão do peso vivo (kg) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 a D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0	22,0 ± 3,5 ^{aA}	21,4 ± 3,6 ^{aA}	21,1 ± 3,2 ^{aA}
D14	24,6 ± 3,6 ^{aAB}	25,3 ± 3,9 ^{aAB}	24,8 ± 2,9 ^{aAB}
D28	28,1 ± 4,4 ^{aBC}	29,5 ± 3,9 ^{aBC}	28,5 ± 3,5 ^{aBC}
D42	31,5 ± 5,4 ^{aCD}	33,6 ± 4,7 ^{aCD}	32,5 ± 4,2 ^{aCD}
D56	36,0 ± 6,0 ^{aDE}	37,9 ± 5,1 ^{aDE}	36,6 ± 4,8 ^{aDE}
D70	39,0 ± 6,6 ^{aEF}	41,9 ± 6,4 ^{aEF}	41,0 ± 5,6 ^{aE}
D84	42,8 ± 7,8 ^{aFG}	45,0 ± 7,2 ^{aFG}	46,1 ± 6,1 ^{aG}
D98	46,4 ± 7,7 ^{aG}	48,3 ± 7,7 ^{aG}	48,2 ± 6,2 ^{aG}

Letras minúsculas iguais na linha não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Tabela 4 - Média e desvio padrão do ganho médio diário (GMD) de peso (g/dia), de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo o intervalo de avaliação (D0 – D14 a D84 – D98 e D0 – D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0 – D14	184,6 ± 111,9 ^{aA}	277,3 ± 221,6 ^{aA}	260,6 ± 114,8 ^{aAB}
D14 – D28	246,1 ± 102,7 ^{aAB}	294,6 ± 113,6 ^{aA}	268,7 ± 127,2 ^{aAB}
D28 – D42	243,9 ± 139,8 ^{aAB}	294,4 ± 91,5 ^{aA}	278,7 ± 159,4 ^{aAB}
D42 – D56	320,5 ± 103,8 ^{aB}	301,4 ± 140,7 ^{aA}	293,2 ± 131,1 ^{aB}
D56 – D70	217,5 ± 105,1 ^{aAB}	289,0 ± 178,0 ^{aA}	314,0 ± 115,6 ^{aB}
D70 – D84	274,2 ± 126,5 ^{abAB}	230,0 ± 130,7 ^{aA}	367,1 ± 124,8 ^{bB}
D84 – D98	258,7 ± 134,8 ^{aAB}	242,7 ± 143,3 ^{aA}	149,0 ± 239,5 ^{aA}
D0 – D98	250,4 ± 51,6 ^{aAB}	276,5 ± 71,1 ^{aA}	278,9 ± 53,6 ^{aAB}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Nas avaliações das medidas morfométricas, observou-se que os grupos de BP, MP e AP (tabela 5), tiveram um aumento progressivo em todas as medidas, acompanhando o aumento do peso (tabela 3). Houve aumento ($p < 0,05$) das variáveis entre o D0 e D98 em todos os grupos. Porém, não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre as médias dos diferentes grupos, em nenhuma das avaliações, em nenhum dos parâmetros. A CC teve a média inicial de 2,7 ($\pm 0,4$) e final de 2,9 ($\pm 0,3$) para o grupo BP, 2,6 ($\pm 0,4$) inicial e 3,0 ($\pm 0,4$) final para MP e, para AP, de 2,7 ($\pm 0,5$) inicial e 3,0 ($\pm 0,3$) final, sem diferença entre os grupos e ao longo do tempo ($p > 0,05$).

Tabela 5 – Média e desvio padrão das medidas morfométricas de altura de cernelha, comprimento, circunferência abdominal e circunferência torácica de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

	Altura Cernelha			Circunferência Torácica		
	BP (n=20)	MP (n=20)	AP (n=20)	BP (n=20)	MP (n=20)	AP (n=20)
D0	55,3 ± 3,4 ^{aA}	54,9 ± 3,5 ^{aA}	53,6 ± 2,3 ^{aA}	66,2 ± 4,3 ^{aA}	67,9 ± 5,0 ^{aA}	66,0 ± 6,8 ^{aA}
D14	57,6 ± 2,2 ^{aAB}	57,1 ± 2,6 ^{aAB}	56,5 ± 1,7 ^{aB}	68,9 ± 5,3 ^{aAB}	69,6 ± 4,4 ^{aA}	67,0 ± 6,3 ^{aA}
D28	59,8 ± 2,6 ^{aBC}	59,8 ± 2,8 ^{aBC}	59,4 ± 2,1 ^{aC}	71,0 ± 4,7 ^{aABC}	72,7 ± 4,9 ^{aAB}	71,0 ± 3,9 ^{aAB}
D42	61,5 ± 2,2 ^{aCD}	62,3 ± 2,5 ^{aCD}	61,7 ± 2,2 ^{aCD}	72,7 ± 5,6 ^{aBCD}	75,4 ± 4,8 ^{aBC}	74,3 ± 5,1 ^{aBC}
D56	63,0 ± 2,5 ^{aD}	63,7 ± 2,8 ^{aDE}	63,8 ± 3,2 ^{aD}	75,8 ± 5,3 ^{aCDE}	77,2 ± 5,5 ^{aBC}	78,0 ± 5,7 ^{aCD}
D70	63,6 ± 2,4 ^{aDE}	64,9 ± 2,5 ^{aDE}	64,0 ± 2,4 ^{aD}	77,1 ± 5,4 ^{aDE}	80,4 ± 6,0 ^{aCD}	77,8 ± 6,3 ^{aC}
D84	65,5 ± 2,6 ^{aEF}	66,4 ± 2,7 ^{aEF}	67,0 ± 3,5 ^{aE}	80,6 ± 5,1 ^{aEF}	83,7 ± 7,3 ^{aD}	84,0 ± 6,8 ^{aDE}
D98	67,2 ± 2,8 ^{aF}	67,8 ± 3,1 ^{aF}	67,9 ± 2,3 ^{aE}	83,5 ± 7,0 ^{aF}	85,6 ± 6,2 ^{aD}	84,8 ± 7,4 ^{aE}

	Comprimento			Circunferência Abdominal		
	BP (n=20)	MP (n=20)	AP (n=20)	BP (n=20)	MP (n=20)	AP (n=20)
D0	56,3 ± 3,0 ^{aA}	55,1 ± 2,4 ^{aA}	54,6 ± 3,8 ^{aA}	73,7 ± 5,1 ^{aA}	73,3 ± 5,5 ^{aA}	74,1 ± 6,0 ^{aA}
D14	59,6 ± 3,5 ^{aA}	60,0 ± 3,0 ^{aB}	59,8 ± 4,2 ^{aB}	76,5 ± 6,6 ^{aAB}	78,0 ± 6,4 ^{aAB}	77,1 ± 5,0 ^{aAB}
D28	63,6 ± 4,1 ^{aB}	63,5 ± 4,0 ^{aBC}	63,3 ± 2,6 ^{aBC}	82,1 ± 6,3 ^{aBC}	83,0 ± 5,8 ^{aBC}	81,8 ± 5,0 ^{aBC}
D42	64,6 ± 4,8 ^{aB}	66,4 ± 3,9 ^{aCD}	65,5 ± 3,2 ^{aCD}	84,7 ± 8,1 ^{aC}	86,3 ± 6,6 ^{aCD}	85,3 ± 6,1 ^{aC}
D56	67,0 ± 4,4 ^{aBC}	68,5 ± 3,8 ^{aDE}	67,9 ± 4,7 ^{aDE}	88,2 ± 7,6 ^{aCD}	88,0 ± 8,6 ^{aCDE}	88,6 ± 6,8 ^{aCD}
D70	69,7 ± 3,5 ^{aCD}	71,2 ± 3,6 ^{aEF}	71,4 ± 3,2 ^{aDF}	88,6 ± 9,2 ^{aCD}	90,5 ± 9,8 ^{aCDE}	88,0 ± 10,4 ^{aCD}
D84	71,7 ± 3,9 ^{aD}	74,0 ± 5,0 ^{aFG}	72,1 ± 3,3 ^{aFG}	92,6 ± 9,4 ^{aD}	93,2 ± 11,2 ^{aDE}	96,6 ± 9,2 ^{aE}
D98	73,0 ± 4,0 ^{aD}	75,4 ± 3,5 ^{aG}	75,7 ± 4,0 ^{aG}	93,6 ± 9,8 ^{aD}	95,9 ± 10,0 ^{aE}	95,0 ± 10,3 ^{aDE}

Letras minúsculas iguais na linha não diferem estatisticamente ($p > 0,05$) e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

3.3.2 Parâmetros parasitológicos

Nos exames coproparasitológicos foram encontrados ovos de strongilídeos, *Strongiloides*, *Trichuris*, *Moniezia* e oocistos de *Eimeria*. Para a comparação entre os grupos, foram considerados somente os ovos de strongilídeos. Nestes resultados de contagem de opg de strongilídeos serão apresentados também os dados de cada lote

(lote 1 e lote 2) individualmente (tabela 6), além dos valores médios dos dois lotes (figura 1).

Tabela 6 - Média da contagem de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG), de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

Lote 1			
	BP (n=20)	MP (n=20)	AP (n=20)
D0	120,0 ± 262,7 ^{aA}	190,0 ± 337,3 ^{aA}	72,7 ± 108,1 ^{aA}
D14	50,0 ± 66,7 ^{aA}	55,0 ± 55,0 ^{aA}	45,4 ± 52,2 ^{aA}
D28	75,0 ± 67,7 ^{aA}	130,0 ± 137,8 ^{aA}	86,4 ± 77,7 ^{aA}
D42	475,0 ± 250,8 ^{aAB}	685,0 ± 1055,4 ^{aAB}	410,0 ± 558,7 ^{aAB}
D56	785,0 ± 632,5 ^{aAB}	745,0 ± 561,5 ^{aAB}	413,6 ± 503,0 ^{aAB}
D70	1500,0 ± 949,8 ^{aBC}	685,5 ± 515,9 ^{aAB}	786,4 ± 945,0 ^{aAB}
D84	1585,0 ± 1290,8 ^{aBC}	1455,0 ± 1628,3 ^{aB}	1168,2 ± 1529,1 ^{aB}
D98	2310,0 ± 2107,2 ^{aC}	1035,0 ± 831,1 ^{aAB}	1009,1 ± 1100,2 ^{aAB}
Lote 2			
	BP (n=20)	MP (n=20)	AP (n=20)
D0	2030,0 ± 1970,1 ^{aA}	910,0 ± 953,3 ^{aA}	2638,9 ± 2883,1 ^{aA}
D14	4320,0 ± 5334,4 ^{aAB}	1820,0 ± 2402,7 ^{aA}	3355,6 ± 3942,1 ^{aA}
D28	7275,0 ± 4999,5 ^{aAB}	3765,0 ± 3555,0 ^{aA}	5177,8 ± 4859,0 ^{aA}
D42	7765,0 ± 5084,1 ^{bAB}	2805,0 ± 3050,2 ^{aA}	4844,4 ± 4775,7 ^{abA}
D56	8795,0 ± 5444,4 ^{bAB}	3320,0 ± 2864,9 ^{aA}	7566,7 ± 4819,1 ^{abA}
D70	9185,0 ± 6007,1 ^{bAB}	2631,2 ± 2956,4 ^{aA}	5868,7 ± 6327,5 ^{abA}
D84	9411,1 ± 6840,9 ^{bAB}	2050,0 ± 3053,8 ^{aA}	6037,5 ± 6336,5 ^{abA}
D98	11220,0 ± 9210,3 ^{bB}	2200,0 ± 3619,5 ^{aA}	6400,0 ± 6211,2 ^{abA}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística (p < 0,05).

No início do experimento (D0), os valores médios de opg dos três grupos (BP, MP e AP) eram estatisticamente semelhantes (p > 0,05), tanto para o lote1 quanto para o lote 2, quanto para os valores médios dos lotes (tabela 6). Ao longo do tempo, houve aumento significativo (p < 0,05) da média de opg somente no grupo BP (lotes 1 e 2 e

média), sendo que os grupos MP e AP terminaram o experimento (D98), com valores de opg estaticamente semelhantes ao D0 (tabela 6 e figura 1). Na comparação entre os grupos, observa-se que, no lote 1, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). Porém, no lote 2 e na média dos lotes, observa-se que a partir do D42, o grupo BP apresenta valores significativamente mais elevados que o MP. Ao final (D98), o MP possui a menor média de opg, diferente significativamente do BP (figura 1) e semelhante à média do AP.

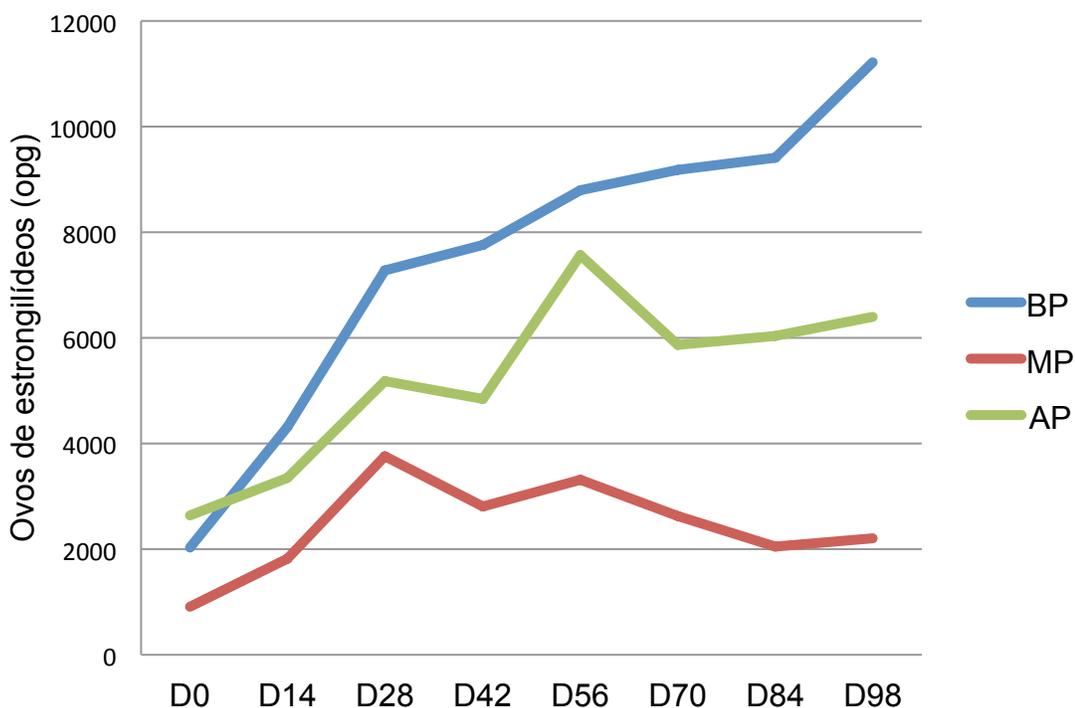


Figura 1 – Média da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

No resultado das culturas de larvas, independente do grupo avaliado, foram recuperadas, em média, 74,9% a 90% de larvas de *Haemonchus* spp., 3% a 20,4% de larvas de *Trichostrongylus* spp. e 0% a 9,8% de larvas de *Oesophagostomum*.

Quanto ao uso de anti-helmíntico, no Lote 1 nenhum animal foi tratado após o início do experimento. No lote 2, houve a necessidade do uso do anti-helmíntico em animais com a contagem de ovos superior a 10.000 opg. Dos 29 animais do lote 2, 10 utilizaram Monepantel, sendo 6 de BP, 3 de AP e 1 de MP.

Em todas as avaliações do método FAMACHA[®], somente em duas avaliações houve a classificação de animais FAMACHA[®] 2 (F2). Nas demais, os animais sempre foram classificados como F1. Não houve, portanto, diferença significativa ($p > 0,05$) entre os grupos, nem ao longo do experimento.

Na recuperação de parasitos do abomaso, foram encontrados somente indivíduos da espécie *Haemonchus contortus*. As médias de cada um dos grupos (figura 2), não diferiram ($p > 0,05$), sendo que no grupo BP, os valores mínimos e máximos foram de 320 e 7600 parasitos; no grupo AP, variaram entre 40 e 2360 e, no grupo MP, entre 91 e 2850 parasitos.

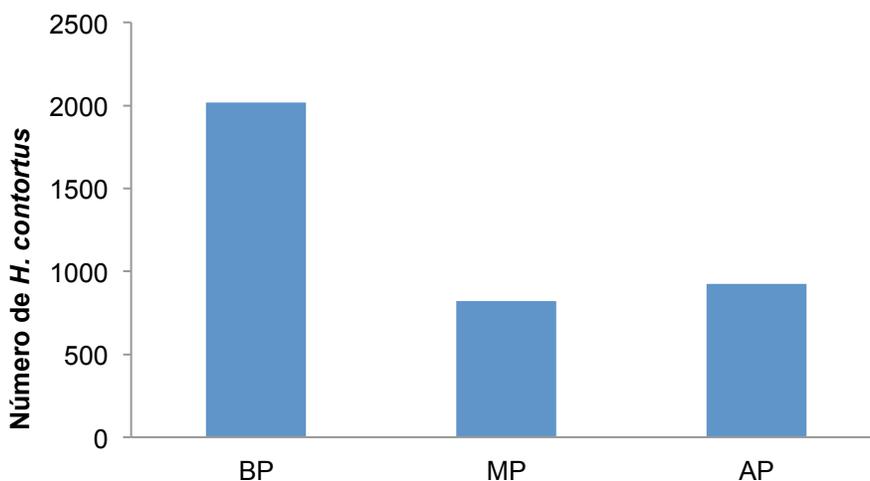


Figura 2 – Média do número de *Haemonchus contortus* recuperados do abomaso de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP)

3.3.3 Parâmetros hematológicos e imunológicos

Observa-se na tabela 7, um decréscimo progressivo dos valores médios de Ht nas avaliações do grupo de BP havendo, entre o D0 e D98, diferença significativa ($p <$

0,05). Nos grupos MP e AP, não houve queda significativa dos valores de Ht ao longo do experimento. Na comparação entre os grupos, observa-se diferença significativa na média do Ht ($p < 0,05$) a partir do D56, com os valores do grupo BP sempre inferiores ao grupo MP.

Tabela 7 – Média e desvio padrão dos valores de hematócrito (%) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0	36,0 ± 4,0 ^{aB}	35,1 ± 4,0 ^{aA}	34,5 ± 5,3 ^{aA}
D14	33,1 ± 4,6 ^{aAB}	34,0 ± 2,8 ^{aA}	33,3 ± 4,3 ^{aA}
D28	31,8 ± 5,0 ^{aA}	33,9 ± 2,8 ^{aA}	33,5 ± 4,5 ^{aA}
D42	30,8 ± 4,3 ^{aA}	32,8 ± 2,4 ^{aA}	32,6 ± 3,8 ^{aA}
D56	30,3 ± 3,9 ^{aA}	33,8 ± 2,4 ^{bA}	32,5 ± 3,5 ^{abA}
D70	29,8 ± 3,6 ^{aA}	33,7 ± 8,0 ^{bA}	33,0 ± 3,8 ^{bA}
D84	29,6 ± 3,6 ^{aA}	33,9 ± 2,8 ^{bA}	32,6 ± 4,5 ^{bA}
D98	30,7 ± 4,5 ^{aA}	33,9 ± 2,5 ^{bA}	33,4 ± 3,9 ^{abA}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Quanto aos valores da contagem de eosinófilos sanguíneos, observa-se que não houve diferença significativa ao longo das avaliações e nem entre os grupos ($p > 0,05$). Os valores médios variaram de $400,0 \pm 371,7$ eosinófilos/mm³ a $1622,5 \pm 4552,5$ eosinófilos/mm³.

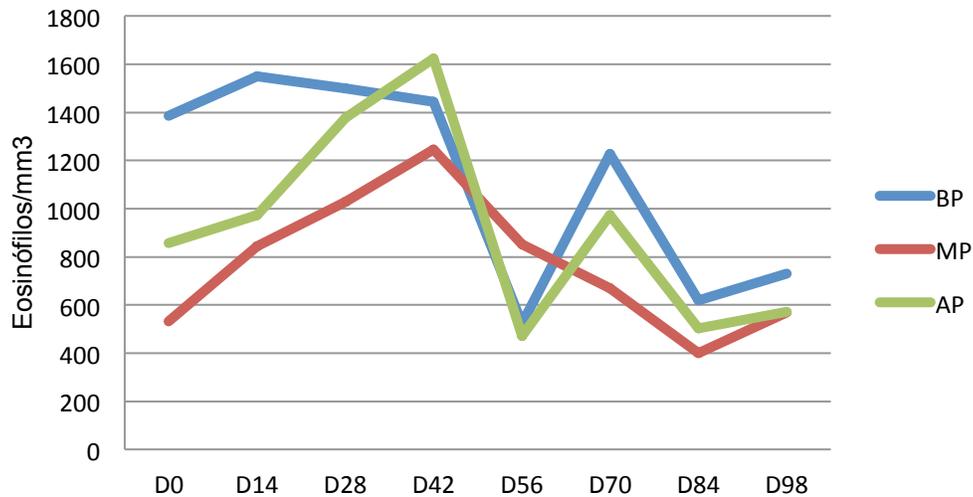


Figura 3 - Média da contagem de eosinófilos sanguíneos (eosinófilos/mm³) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

Na contagem de eosinófilos e mastócitos na mucosa do abomaso dos cordeiros abatidos, observa-se uma média superior no número de eosinófilos no grupo MP, porém sem diferença estatística ($p > 0,05$) em relação aos demais grupos. Os mastócitos também não apresentaram diferença entre os grupos ($p > 0,05$).

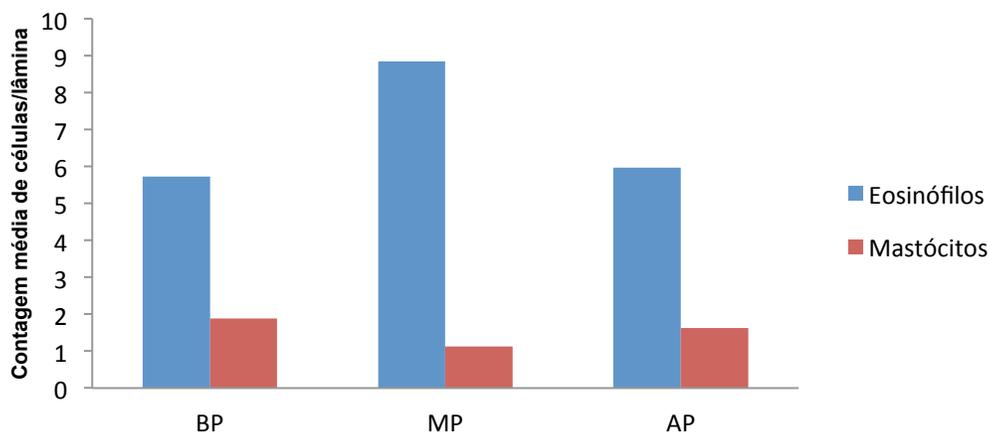


Figura 4 – Média do número de mastócitos e eosinófilos (número médio de células/lâmina) na mucosa do abomaso de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP)

3.3.4 Parâmetros bioquímicos

Os resultados da concentração sérica de proteína total são apresentados na tabela 8. Ao longo das avaliações, somente o grupo AP apresentou aumento significativo ($p < 0,05$). Na comparação entre os grupos, observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) no grupo de MP nas avaliação D0 e D42, com valores mais altos em relação aos grupos BP e AP.

Tabela 8 – Média e desvio padrão dos valores séricos de proteína total (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis proteicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0	5,3 ± 1,2 ^{aA}	5,7 ± 0,4 ^{bA}	5,3 ± 0,4 ^{aA}
D14	5,3 ± 0,7 ^{aA}	5,7 ± 0,5 ^{aA}	5,4 ± 0,6 ^{aAB}
D28	5,5 ± 0,6 ^{aA}	5,8 ± 0,4 ^{aA}	5,7 ± 0,5 ^{aAB}
D42	5,3 ± 0,5 ^{aA}	5,8 ± 0,5 ^{bA}	5,7 ± 0,6 ^{abAB}
D56	5,4 ± 0,7 ^{aA}	5,8 ± 0,6 ^{aA}	5,7 ± 0,6 ^{aAB}
D70	5,5 ± 0,6 ^{aA}	5,8 ± 0,3 ^{aA}	5,8 ± 0,5 ^{aAB}
D84	5,6 ± 0,6 ^{aA}	5,9 ± 0,4 ^{aA}	5,9 ± 0,7 ^{aAB}
D98	5,6 ± 0,6 ^{aA}	6,0 ± 0,4 ^{aA}	5,8 ± 0,5 ^{aB}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Quanto aos resultados da concentração sérica de albumina (tabela 9), houve redução significativa ($p < 0,05$) no grupo BP, ao longo do tempo. As médias do grupo BP, a partir do D28, foram mais baixas ($p < 0,05$) que o grupo MP e AP, sendo que no D70 e D98, foram inferiores ao MP e semelhantes ao AP.

Tabela 9 – Média e desvio padrão dos valores séricos de albumina (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis protéicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0	2,5 ± 0,7 ^{aB}	2,6 ± 0,4 ^{aA}	2,5 ± 0,4 ^{aA}
D14	2,3 ± 0,4 ^{aAB}	2,5 ± 0,5 ^{aA}	2,6 ± 0,6 ^{aA}
D28	2,2 ± 0,4 ^{aAB}	2,5 ± 0,3 ^{bA}	2,5 ± 0,4 ^{bA}
D42	2,1 ± 0,3 ^{aA}	2,5 ± 0,3 ^{bA}	2,5 ± 0,3 ^{bA}
D56	2,0 ± 0,3 ^{aA}	2,5 ± 0,5 ^{bA}	2,4 ± 0,5 ^{bA}
D70	2,2 ± 0,5 ^{aAB}	2,6 ± 0,5 ^{bA}	2,6 ± 0,5 ^{abA}
D84	2,0 ± 0,3 ^{aA}	2,5 ± 0,3 ^{bA}	2,5 ± 0,3 ^{bA}
D98	2,1 ± 0,4 ^{aA}	2,5 ± 0,3 ^{bA}	2,3 ± 0,4 ^{abA}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Os resultados da concentração sérica de globulinas (tabela 10), mostram que somente no D14 houve diferença ($p < 0,05$) entre os grupos. Ao longo do tempo, houve aumento significativo ($p < 0,05$) das médias do grupo de BP e AP.

Os valores médios de concentração sérica de ureia (tabela 11) apresentaram aumentos significativos ao longo do tempo para os grupos AP e MP, enquanto que, para o grupo BP, houve redução ($p < 0,05$). Na comparação entre os grupos, somente no D0 houve semelhança entre os valores, sendo que a partir da D14, todos os valores do grupo BP foram significativamente inferiores aos da MP, sendo este também inferior aos da AP ($p < 0,05$).

Tabela 10 – Média e desvio padrão dos valores séricos de globulinas (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis protéicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0	2,8 ± 0,8 ^{aA}	3,1 ± 0,4 ^{aA}	2,8 ± 0,4 ^{aA}
D14	3,0 ± 0,5 ^{abAB}	3,3 ± 0,5 ^{bA}	2,8 ± 0,6 ^{aA}
D28	3,3 ± 0,4 ^{aAB}	3,2 ± 0,4 ^{aA}	3,2 ± 0,5 ^{aAB}
D42	3,2 ± 0,5 ^{aAB}	3,2 ± 0,6 ^{aA}	3,2 ± 0,6 ^{aAB}
D56	3,5 ± 0,7 ^{aB}	3,3 ± 0,8 ^{aA}	3,3 ± 0,8 ^{aAB}
D70	3,3 ± 0,7 ^{aAB}	3,2 ± 0,7 ^{aA}	3,3 ± 0,4 ^{aAB}
D84	3,6 ± 0,5 ^{aB}	3,4 ± 0,4 ^{aA}	3,4 ± 0,6 ^{aB}
D98	3,5 ± 0,5 ^{aB}	3,4 ± 0,6 ^{aA}	3,5 ± 0,7 ^{aB}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

Tabela 11 – Média e desvio padrão dos valores séricos de ureia (g/dL) de cordeiros mantidos em dietas de diferentes níveis protéicos: baixa proteína (BP), média proteína (MP) e alta proteína (AP), segundo a data de avaliação (D0 – D98)

	BP (n=20)	MP (n= 20)	AP (n= 20)
D0	31,2 ± 12,2 ^{aB}	35,9 ± 8,9 ^{aAB}	38,6 ± 9,8 ^{aA}
D14	19,7 ± 13,2 ^{aA}	35,4 ± 10,3 ^{bA}	54,5 ± 17,6 ^{cB}
D28	16,4 ± 7,6 ^{aA}	37,9 ± 9,4 ^{bABC}	56,7 ± 10,4 ^{cBC}
D42	17,6 ± 6,7 ^{aA}	41,6 ± 12,4 ^{bABC}	66,2 ± 11,5 ^{cCD}
D56	18,3 ± 6,6 ^{aA}	45,3 ± 9,1 ^{bBC}	67,0 ± 6,4 ^{cCD}
D70	21,8 ± 6,5 ^{aA}	46,2 ± 13,1 ^{bC}	68,3 ± 10,0 ^{cD}
D84	23,2 ± 8,6 ^{aAB}	44,8 ± 7,8 ^{bABC}	58,4 ± 8,4 ^{cBCD}
D98	22,2 ± 7,7 ^{aA}	45,2 ± 8,0 ^{bBC}	64,3 ± 10,6 ^{cBCD}

Letras minúsculas diferentes na linha e letras maiúsculas diferentes na coluna indicam diferença estatística ($p < 0,05$).

3.4 DISCUSSÃO

No presente experimento, foi possível observar que a suplementação proteica influenciou a resistência e resiliência dos cordeiros. Vários estudos mostram que a utilização da suplementação proteica em ovinos infectados com parasitos gastrintestinais aumenta a resistência e a resiliência aos efeitos da infecção (Coop e Kyriazakis, 1999; Strain e Stear, 2001; Knox et al., 2003; Bricarello et al., 2005; Louvandini et al., 2006; Khan et al., 2012). Os cordeiros do grupo MP, suplementados com concentrado de 15% de PB, apresentaram melhores resultados em relação aos parâmetros estudados que os grupos BP e AP.

Os diferentes níveis de proteína foram elaborados para o fornecimento no concentrado, porém os cordeiros tinham acesso ao pasto e ao feno, sem condições de avaliação do consumo destes volumosos. Conseqüentemente, não é possível afirmar a real quantidade de proteína ingerida em cada grupo. Quanto ao consumo do concentrado, exceto pelos primeiros dias no grupo BP, não havia sobra de concentrado no cocho. Além disto, o fato do fornecimento ser para o grupo de animais, e não individualmente, também não permite afirmar se todos os cordeiros tiveram o mesmo nível de ingestão de proteína. O que é possível afirmar é que havia espaço no cocho para todos os animais, sendo que todos tinham a mesma possibilidade de ingestão de concentrado. Da mesma forma, o acesso ao volumoso era o mesmo para todos os animais. Sendo assim, pode-se estimar que as diferenças de proteína no concentrado dos grupos BP, MP e AP permitiram uma ingestão diferenciada de proteína entre os grupos.

Não existe um valor definido da quantidade de proteína necessária para haver aumento da resistência e resiliência. Segundo Datta et al. (1999), uma dieta com alto teor de proteína (170g/dia de proteína bruta) fornecida a animais infectados com *H. contortus* seria suficiente para aumentar a resiliência à infecção. Rocha et al. (2011), ao trabalharem com dietas de 0,8 (baixa proteína) e 1,3 (alta proteína) vezes a necessidade de PM, não encontraram diferenças entre os grupos. Os autores propuseram que o grupo de baixa proteína poderia ter tido uma ingestão maior de PM que o inicialmente esperado, sendo que a quantidade de proteína oferecida aos

animais pode não ter gerado níveis baixos de proteínas, tendo os níveis de exigências nutricionais sido superestimados. Em ruminantes, torna-se mais difícil estimar a quantidade e qualidade da proteína ingerida, pois sabe-se que a proteína na dieta é em parte degradada no rúmen e seu componente nitrogenado será reutilizado pelos microrganismos para a síntese de proteína microbiana (NRC, 1985). A utilização da proteína microbiana fornecerá aminoácidos que serão absorvidos e utilizados para a síntese proteica. Estima-se que cerca de 40-80% da proteína que chega ao intestino delgado é de origem microbiana (Silva, 1979; Owens e Berger, 1983). Houdijk (2012) discute que a qualidade proteica (composição dos aminoácidos) também teria influência no desenvolvimento da resistência e resiliência dos ovinos aos parasitos. Segundo o autor, a proteína microbiana teria uma composição de aminoácidos que é menos compatível com a composição dos componentes proteicos da resposta imunológica.

Na análise dos dados produtivos, observou-se que os animais suplementados com 3% do peso vivo apresentaram uma média de GMD entre 250g e 279g, entre os três grupos, mesmo com os animais infectados, sem diferenças entre os grupos. Bricarelo et al. (2005), também com ingestão de 3% do peso vivo e com concentrados com 75g e 129g de PM, encontraram GMD de 180g e 270g, respectivamente, porém com os grupos de alto teor de PM com ganhos de peso significativamente superiores. Dantas et al. (2008), trabalhando com animais com peso entre 15 e 30 kg, porém suplementados com 1 a 1,5 % do peso vivo e concentrado com 27,8% PB, apresentaram GMD de 148 e 192g.

Schichowski et al. (2010), avaliando cordeiros desmamados em diferentes idades (6 e 13 semanas) e com ou sem infecção experimental de 5000 larvas de *H. contortus*, observaram que a infecção não influenciou o GMP, que variou de 276g a 325g (dieta com 19,5% de PB). Da mesma forma que neste experimento, mesmo com os animais infectados, o GMD foi alto. Isto poderia ser explicado pelo fato de que, segundo Coop e Kyriazakis (1999), quando os nutrientes disponíveis são escassos, a prioridade orgânica seria garantir a manutenção da proteína corporal, o que garantiria a sobrevivência do indivíduo em curto prazo. Ações como o crescimento e a reprodução, que garantiria a sobrevivência da espécie em longo-prazo, seriam a segunda

prioridade. Sendo assim, a resposta imune do animal compete pelo uso dos nutrientes da dieta com outras prioridades orgânicas. Isto explicaria o fato do grupo BP ter apresentado médias de GMD, aumento de medidas corporais e escores de condição corporal semelhantes aos grupos MP e AP durante todo o experimento, porém com resultados de contagem de OPG significativamente mais altos.

Ainda na análise do grupo BP, dos 10 animais do lote 2 que necessitaram ser tratados com monepantel, 6 (60%) eram do BP. Os tratamentos ocorreram entre o D2 e D5. Em geral, após o tratamento, o OPG dos animais baixava para próximo de zero. Ainda que nas análises da contagem de OPG, os valores anteriores ao tratamento tenham sido mantidos para a análise estatística, para o controle ponderal isto não seria possível. Portanto, se não houvesse o uso do princípio ativo, poder-se-ia questionar se o ganho de peso do grupo BP teria diminuído devido ao grau de infecção apresentada.

Por outro lado, o grupo AP, apesar da maior ingestão de proteína, não apresentou desempenho superior aos demais grupos. Também nos parâmetros parasitológicos, hematológicos e imunológicos, não houve diferenças em relação aos grupos MP e BP. Parte dos teores de proteína do concentrado pode não ter sido utilizada pelo organismo, sendo o excesso excretado na forma de ureia, como pode ser observado na tabela 11. A ureia é uma molécula que se difunde facilmente nos tecidos do organismo, constituindo a principal forma de eliminação do nitrogênio metabólico em ruminantes. Em casos de deficiência energética e excesso de proteínas degradáveis, a taxa de produção de amônia supera a sua utilização pelos microrganismos ruminais; dessa forma, observa-se aumento em sua concentração no rúmen, com consequente incremento na excreção de ureia, crescente gasto energético para síntese de ureia, havendo, assim, perda do valor biológico das proteínas (Huntington e Archibeque, 1999). Como observado nessa pesquisa, notou-se que a dieta com níveis de proteína superior as necessidades dos animais, ao invés de trazer benefícios é parcialmente excretada. Numa visão econômica é um gasto desnecessário, não havendo aumento de resistência nem de resiliência e, em alguns casos, tornando-se semelhante aos resultados do grupo BP, talvez devido aos efeitos adversos do excesso de amônia (Provenza, 2006) e a necessidade de energia para eliminar o excesso de N (Van Soest, 1994).

Na análise do parâmetro OPG, considerado um dos mais importantes para definir resistência dos animais aos parasitos gastrintestinais (Albers e Gray, 1987; Good et al., 2006; Kelly et al., 2013), observa-se que houve diferença entre os grupos, indicando que a suplementação proteica aumentou a resistência dos cordeiros. O grupo BP teve aumento significativo ao longo do experimento, o que não aconteceu com os grupos MP e AP. Ao final do experimento, o grupo BP apresentou OPG significativamente maior que o grupo MP, e semelhante ao grupo AP. Bricarello et al. (2005), trabalhando com cordeiros das raças Santa Inês e Ile de France, submetidos a infecção experimental por *H. contortus* e submetidos a dietas com moderado (PM 75g/kg MS) e alto (129g PM/kg MS) nível de suplementação proteica, observaram aumento da resistência à infecção por *H. contortus*, baseado na contagem de OPG e no número de parasitos, somente nos cordeiros Santa Inês suplementados. Louvandini et al. (2006) também encontraram menores valores de OPG em cordeiros suplementados com concentrados de alto teor proteico (19% PB) em relação ao baixo teor proteico (11% PB).

Outro fator a ser destacado são as diferenças observadas na contagem de OPG dos lotes 1 e 2 (tabela 6). Quando o nível de infecção era baixo (lote 1), não foram observadas diferenças entre os grupos BP, MP e AP, ainda que o grupo BP tivesse apresentado um aumento significativo do OPG no D98 em relação ao D0. Louvandini et al. (2006) também observaram que a suplementação proteica somente apresentou diferenças entre os grupos com alto e baixo teor de PB, quando o OPG estava mais alto. Isto pode ser explicado pelo fato de que o parasitismo aumenta as necessidades de proteína metabolizável para a manutenção, proveniente do reparo de danos aos tecidos induzidos pelos parasitos (Coop e Kyriazakis, 1999). Portanto, quando os níveis de infecção são baixos, a suplementação proteica não traz benefícios, uma vez que não há uma demanda aumentada.

Outro parâmetro indicativo de resistência seria o número de parasitos no abomaso. Neste caso, não houve diferença significativa entre os grupos. Outros autores também não encontraram relação entre o nível de suplementação proteica e o número de parasitos (Bricarello et al., 2005; Rocha et al., 2011). Coop e Holmes (1996) observaram que a proteína não interfere com o parasita já estabelecido. Sabe-se que a

principal linha de defesa contra infecções por parasitos gastrintestinais atua contra o desenvolvimento das larvas infectantes e não contra os parasitos adultos (Balic et al., 2000). Neste experimento, cordeiros do lote 2 já estavam infectados antes de receber as dietas experimentais, ou seja, alguns parasitos já podiam estar estabelecidos quando a dieta experimental foi dada. Outra explicação seria o fato de alguns dos animais terem sido tratados com monepantel por apresentarem valores superiores a 10000 opg. Os dados destes animais não foram considerados na análise estatística. Porém, caso não tivessem sido tratados e fossem incluídos nos resultados, os valores poderiam ser diferentes.

Quanto à resiliência, neste experimento foi possível observar que o grupo MP apresentou resultados superiores em parâmetros que indicam resiliência. Como a resiliência é baseada na habilidade do animal em suportar as consequências patogênicas da infecção, os parâmetros avaliados que indicariam a resiliência seriam os valores de Ht, classificação de FAMACHA, albumina e ganho de peso (Wallace et al., 1999).

Nos valores de Ht, o grupo de BP teve um decréscimo significativo entre as avaliações de D0 e D98 (tabela 7). Ao final do experimento, o grupo MP apresentou médias de Ht superior ao grupo BP, indicando que a suplementação proteica auxiliou no aumento de resiliência. Porém, todos os grupos apresentaram valores dentro da normalidade, com valores referência entre 24% a 50% segundo Jain (1986).

Nas avaliações de FAMACHA, os valores obtidos não diferiram estatisticamente entre os grupos, e nem refletiram o aumento do OPG durante o experimento. O mesmo foi evidenciado por Molento et al. (2004), mesmo com contagem elevada de OPG, acima de 1500 em vários animais, não foram observados sinais de anemia, como a palidez de mucosa ocular. Este fato sugere a grande capacidade de alguns animais poderem suportar altas cargas parasitárias, sem apresentarem sinais clínicos. Neste experimento, a suplementação proteica em todos os grupos promoveu aumento da resiliência, sendo que nenhum animal apresentou sinais clínicos de verminose, mesmo com níveis altos de infecção.

Geralmente, a melhora na resistência está associada com melhora na resiliência, com base no pressuposto de que os efeitos patológicos no hospedeiro são

diretamente provocadas por parasitos e, portanto, relacionada com a carga parasitária. No entanto, segundo Torres-Acosta e Hoste (2008), em algumas circunstâncias, os dois conceitos de resistência e resiliência parecem ser dissociados. Neste experimento, os níveis de proteína, mesmo do grupo BP foram suficientes para evitar os sinais clínicos da verminose. Estudos realizados por Aynalem-Haile et al. (2004) e Bricarello et al. (2005) em cordeiros infectados com *H. contortus* demonstraram que aqueles que recebem dietas com alto teor de proteína mostraram efeitos fisiopatológicos e sinais clínicos menos severos que animais com baixa suplementação proteica.

Quanto à avaliação de parâmetros imunológicos, da mesma forma que Bricarello et al. (2005), nenhuma diferença entre os grupos BP, MP e AP foi observada no número de células inflamatórias na mucosa do abomaso, o que está em contraste com outros estudos que mostraram um aumento associado do número de mastócitos, leucócitos e eosinófilos, quando há aumento da proteína na dieta (Israfi et al., 1996; Houdijk et al., 2000, 2003).

Levanta-se a hipótese, novamente, de que se não tivesse sido utilizado o monepantel nos animais com valores superiores a 10000 opg, a contagem de eosinófilos e mastócitos apresentaria diferenças.

Quanto aos eosinófilos sanguíneos, não houve diferenças entre os grupos, nem ao longo do experimento. A variação na contagem do número dos eosinófilos durante a infecção é importante, por indicar como o animal está reagindo imunologicamente frente às parasitoses. O esperado é uma relação inversa entre eosinófilos e OPG (Buddle et al., 1992). As avaliações dos cordeiros começaram aos 2 meses de idade e terminaram por volta dos 5 meses. Segundo Strain e Stear (2001), cordeiros com 6 meses estariam suficientemente preparadas para desenvolver uma resposta imunológica completa (Strain e Stear, 2001). Entretanto, as médias da contagem de eosinófilos sanguíneos dos três grupos estão acima de valores médios encontrados por Martins et al. (2012) e Birgel (2013).

As respostas imunes podem não serem eficazes na fase de crescimento devido os nutrientes serem divididos entre várias funções fisiológicas dos corderos, de acordo com o número de prioridades que diferem entre as fases de aquisição e expressão da imunidade (Coop e Kyriazakis, 1999). Em animais em crescimento que entram em

contato com parasitos pela primeira vez, seria esperado que a priorização dos recursos, quando escassos, fossem para a aquisição de imunidade, caso contrário os animais poderiam morrer (Kyriazakis e Houdijk, 2006). Portanto, a suplementação de proteína na fase de aquisição de imunidade, não contribuiria para o aumento de resistência aos parasitas (Houdijk et al., 2001; Sykes e Kyriazakis, 2007). Porém, uma vez a imunidade adquirida, crescimento e reprodução serão priorizados, para garantir a preservação do material genético do hospedeiro (Coop e Kyriazakis, 1999).

As concentrações séricas de proteínas totais (tabela 8) indicaram que somente o grupo AP apresentou aumento de proteína total ao final do experimento. Os menores valores de albumina, com redução ao longo do experimento, encontrados para o grupo BP, é sugestivo de perda proteica, o que ocorre pelo hábito hematófago do *H. contortus* (O'Connor et al., 2006). Isto também indicaria que o grupo BP apresentou menor resiliência que o grupo MP, por apresentar diminuição dos valores de albumina, ainda que os resultados estivessem dentro do valor de referência de Kaneko (1997) que é de 2,40 a 3,00 g/dL.

Da mesma forma, os valores aumentados de globulinas para o grupo BP e AP podem ser reflexo de níveis de infecções mais altos encontrados nestes dois grupos, ao final do experimento. Os valores de todos os grupos estavam do intervalo de 3,50 a 5,70 g/dL, dos valores de referência (Kaneko, 1997).

3.5 CONCLUSÃO

O presente experimento permite concluir que os cordeiros suplementados com concentrado contendo 15% de PB, com ingestão de 3% do PV, apresentaram mais resistência aos parasitos gastrintestinais e maior resiliência aos efeitos destes parasitos. Isto pode ser concluído a partir dos menores valores de OPG, menor número de animais tratados com anti-helmíntico e maiores valores de hematócrito e albumina em relação ao grupo BP.

Não se recomenda a suplementação de concentrado com níveis de 25% de PB, pois não houve diferença quanto ao desempenho dos animais, avaliado pelos

parâmetros produtivos, nem indicativos de maior resistência e resiliência que o grupo MP.

A suplementação de concentrado com níveis de 8,5% de PB, apesar de permitir ganho de peso equivalente aos demais grupos, apresentou resultados de contagem de OPG, número de animais tratados com anti-helmínticos, níveis de albumina e valores de hematócrito indicativos de menor resistência e resiliência que o grupo MP, não sendo também recomendada a sua utilização.

CAPÍTULO 4

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A atual busca por estratégias que diminuam o uso de tratamentos químicos pode encontrar na suplementação proteica uma ferramenta importante, como observado na maior proporção de animais tratados com anti-helmínticos no grupo de BP, em relação aos grupos com MP e AP.

Os resultados deste projeto, porém, indicam que não necessariamente os valores mais altos de suplementação são os melhores. O grupo de AP, não apresentou respostas satisfatórias, sendo que a adição de proteína na dieta além das exigências acabaram por ser excretadas na forma de ureia e poderiam acarretar em prejuízo econômico ao produtor.

Sob o ponto de vista essencialmente de ganho de peso, o grupo de BP mostrou maior viabilidade econômica, por apresentar o mesmo GMD que os demais grupos, mesmo com alto grau de infecção. Porém, deve-se levar em conta a necessidade de tratamento dos animais deste grupo, além dos resultados inferiores em parâmetros que indicam resiliência, como Ht e albumina.

Etapas futuras são necessárias para um melhor entendimento de como a suplementação proteica efetivamente melhora a resistência e resiliência dos animais. Análises imunológicas de quantificação de anticorpos IgA e IgE, por exemplo, podem ser importantes neste entendimento.

REFERÊNCIAS

Abrão DC, Abrão S, Viana CHC, Valle CR. Utilização do método Famacha no diagnóstico clínico individual de haemoncose em ovinos no Sudoeste do Estado de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010; 19:70-72.

AFRC, 1993. Energy and Protein Requirements of Ruminants. An Advisory Manual Prepared by the AFRC Technical Committee on Responses to Nutrients. CAB International, Wallingford, UK.

Albers GAA, Gray GD. Breeding for worm resistance: A perspective. *International Journal for Parasitology*. 1987; 17:559-566.

Almeida FA, Garcia KCOD, Torgerson PR, Amarante AFT. Multiple resistance to anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. *Parasitology International*. 2010; 59:622-625.

Amarante AFT. Nematoides gastrintestinais em ovinos. In: Cavalcante ACR, editor. Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2009; p. 19-61.

Anderson RC. Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission. 2nd ed. Oxford: CABI Publishing; 2000.

Athanasiadou S, Houdijk J, Kyriazakis I. Exploiting synergisms and interactions in the nutritional approaches to parasite control in sheep production systems. *Small Ruminant Research*. 2008; 76:2–11.

Athanasiadou S, Houdijk JGM. Nutrition and immunity in animal disease: lessons from parasitic gastroenteritis. In: Watson, R.R., et al. (Ed.), Dietary Components and Immune Function, Humana Press, Springer, 2010. pp. 63–74.

Athanasiadou S, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. *International Journal for Parasitology*. 2000; 30:1025-1033.

Athanasiadou S. Nutritional deficiencies and parasitic disease: Lessons and advancements from rodent models. *Veterinary Parasitology*. 2012; 189:97–103.

Aynalem-Haile, Anindo DO, Tembely S, Mukasa-Mugerwa E, Markos Tibbo, Alemu Yami, Baker RL, Rege JEO. Effects of dietary protein supplementation and infection with gastrointestinal nematode parasites on some nutritional and metabolic parameters in Ethiopian Menz and Horro sheep. *Livestock Production Science*. 2004; 91:183-195.

Balic AVM, Bowles ENT, Meeusen. Cellular profiles in the abomasal mucosa and lymph node during primary infection with *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 2000; 75:109-120.

Bambou JC, Archimède H, Arquet R, Mahieu M, Alexandre G, González GE, Mandonnet N. Effect of dietary supplementation on resistance to experimental infection with *Haemonchus contortus* in Creole kids. *Veterinary Parasitology*. 2011; 178:279-285.

Barger IA, Le Jambre LF, Georgi JR, Davies HI. Regulation of *Haemonchus contortus* populations in sheep exposed to continuous infection. *International Journal for Parasitology*. 1985; 15:529–533.

Barger IA. Genetic resistance of hosts and its influence on epidemiology. *Veterinary Parasitology*. 1989; 32:21-35.

Bath GF, Hansen JW, Krecek RC, Van Wyk JA, Vatta AF. Sustainable approaches for managing haemonchosis in sheep and goats. FAO (Technical Cooperation Project No TCP/SAF/8821A), FAO, 89p. Rome, 2001.

Bath GF, Van Wyk JA. The Five Point Check© for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. *Small Ruminant Research*. 2009; 86:6-13.

Berchielli TT, Pires VP, Oliveira SG de, *Nutrição de Ruminantes*. 2nd ed. Jaboticabal:Funep. 2011; 616.

Birgel DB. Estudo da anemia em ovinos decorrente à verminose gastrintestinal. Tese. FMVZ (USP). 2013; 118p.

Bishop SC, Morris CA. Genetic of disease resistance in sheep and goats. *Small Ruminants Research*. 2007; 70:48–59.

Bowdridge S, Mackinnon K, McCann J, Zajac A, Notter D. Hair-type sheep generate an accelerated and longer-lived humoral immune response to *Haemonchus contortus* infection. *Veterinary Parasitology*. 2013; 196:172-178.

Bricarello PA, Amarante AFT, Rocha RA, Cabral Filho SL, Huntley JF, Houdijk JGM, Abdalla AL, Gennari AM. Influence of dietary protein supply on resistance to experimental infections with *Haemonchus contortus* in Ile de France and Santa Ines lambs. *Veterinary Parasitology*. 2005; 134:99-109.

Buddle BM, Jowett G, Green RS, Douch PGC, Risdon PL. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. *International Journal for Parasitology*. 1992; 22:955-960.

Burke JM, Kaplan RM, Miller JE, Terrill TH, Getz WR, Mobini S, Valencia E, Williams MJ, Williamson LH, Vatta AF. Accuracy of the FAMACHA system for on-farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States. *Veterinary Parasitology*. 2007; 147:89-95.

Cavele A, Almeida MAO, Barreto MA, Lima MM, Machado EAA, Peixoto MSR, Silva MN, Madruga CR, Ayres MCC. Estudo comparativo do sistema famacha entre caprinos e ovinos sob o mesmo manejo produtivo no sertão baiano. *Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1*, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria.

Coop RL, Holmes PH. Nutrition and parasite interaction. *International Journal for Parasitology*. 1996; 26:951–962.

Coop RL, Kyriazakis I. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends in Parasitology*. 2001; 17:325–330.

Coop RL, Kyriazakis I. Nutrition-parasite interaction. *Veterinary Parasitology*. 1999; 84:187-204.

Cruz DG, Rocha LO, Arruda SS, Palieraqui JGB, Cordeiro RC, Junior ES, Molento MB, Santos CP. Anthelmintic efficacy and management practices in sheep farms from the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2010; 170:340-343.

Dantas AF, Filho JMP, Silva MA, Santos EM, Sousa BB, César MF. Características da carcaça de ovinos Santa Inês terminados em pastejo e submetidos a diferentes níveis de suplementação. *Ciência e Agrotecnologia*. 2008; 32:1280-1286.

Datta FU, Nolan JV, Rowe JB, Gray GD, Crook BJ. Long-term effects of short-term provision of protein-enriched diets on resistance to nematode infection, and live-weight gain and wool growth in sheep. *International Journal for Parasitology*. 1999; 29:479-488.

Datta FU, Nolan JV, Rowe JB, Gray GD. Protein supplementation improves the performance of parasite sheep fed a straw-based diet. *International Journal for Parasitology*. 1998; 28:1269-1278.

Depner R, Gavião AA, Cecim M, Rocha R, Molento MB. Desempenho de cordeiros naturalmente infectados com parasitas gastrintestinais utilizando o tratamento seletivo com o método Famacha e o tratamento preventivo. *Archives of Veterinary Science*. 2007; 11:32-37.

Di Loria A, Veneziano V, Piantedosi D, Rinaldi L, Cortese L, Mezzino L, Cringoli G, Ciaramella P. Evaluation of the FAMACHA system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. *Veterinary Parasitology*. 2009; 161:53-59.

Eady SJ, Woolaston RR, Barger IA. Comparison of genetic and nongenetic strategies for control of gastrointestinal nematodes of sheep. *Livestock Production Science*. 2003; 81:11-23.

Echevarria FA, Borba MFS, Pinheiro AC, Waller PJ, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. *Veterinary Parasitology*. 1996; 62:1999-2006.

Else KJ, Entwistle GM, Grecis RK. Correlations between worm burden and markers of Th1 and Th2 cell subset induction in an inbred strain of mouse infected with *Trichuris muris*. *Parasite Immunology*. 1993; 15: 595–600.

Falzon LC, O'Neill TJ, Menzies PI, Peregrine AS, Jones-Bitton A, vanLeeuwen J, Mederos A. A systematic review and meta-analysis of factors associated with anthelmintic resistance in sheep. *Preventive Veterinary Medicine*. 2014; 117:388-402.

FAO- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013. FAOSTAT-Agriculture [citado em 23 de Março 2015]. Disponível em: www.fao.org

Fitzpatrick JL. Global food security: The impact of veterinary parasites and parasitologists. *Veterinary Parasitology*. 2013; 195:233-248.

Foreyt WJ. *Parasitologia veterinária: manual de referência*. 5 ed. São Paulo:Roca. 2005; 240p.

Good B, Hanrahan JP, Crowley BA, Mulcahy G. Texel sheep are more resistant to natural nematode challenge than Suffolk sheep based on fecal egg count and nematode burden. *Veterinary Parasitology*. 2006; 136:317-327.

Gordon HMcl, Whitlock HV. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*, 1939;12: 50

Hosking BC, Kaminsky R, Sager H, Rolfe PF, Seewald W. A pooled analysis of the efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative against gastrointestinal nematodes of sheep. *Parasitology Research*. 2010; 106:529-532.

Hoste H, Torres-Acosta JF, Paolini V, Aguilar-Caballero A, Etter E, Lefrileux Y, Chartier C, Broqua C. Interactions between nutrition and gastrointestinal infections with parasitic nematodes in goats. *Small Ruminant Research*. 2005; 60:141-151.

Hoste H, Torres-Acosta JFJ. Non chemical control of helminths in ruminants: Adapting solutions for changing worms in a changing world. *Veterinary Parasitology*. 2011; 180:144-154.

Houdijk JGM, Athanasiadou S. Direct and indirect effects of host nutrition on ruminant gastrointestinal nematodes. In: Mannelje L, Ramírez Avilés L, Sandoval Castro CA, KuVera J.C. (Eds.), VI International Symposium on the Nutrition of Herbivores. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Mexico, pp. 2003; 213–236.

Houdijk JGM, Jessop NS, Kyriazakis I. Nutrient partitioning between reproductive and immune functions in animals. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2001; 60:515–525.

Houdijk JGM, Kyriazakis I, Jackson F, Huntley JF, Coop RL. Can an increased intake of metabolisable protein affect the periparturient relaxation in immunity against *Teladorsagia circumcincta* in sheep? *Veterinary Parasitology*. 2000; 91:43–62.

Houdijk JGM, Kyriazakis I, Jackson F, Huntley JF, Coop RL. Is the allocation of metabolizable protein prioritised to milk production rather than to immune functions in *Teladorsagia circumcincta* infected lactating ewes? *International Journal for Parasitology*. 2003; 33:327–338.

Houdijk JGM. Differential effects of protein and energy scarcity on resistance to nematode parasites. *Small Ruminant Research*. 2012; 103:41-49.

Houdijk JGM. Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. *Parasite Immunology*. 2008; 30:113–121.

Huntington GB, Archibeque SL. Practical aspects of urea e ammonia metabolism in ruminants. In: AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1999. Carolina do North: Proceedings... Carolina do North: North Carolina State University, 1999.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2015. [citado em 23 de Março 2015]. Disponível em: www.ibge.gov.br

Israf DA, Coop RL, Stevenson LM, Jones DG, Jackson F, Jackson E, Mackellar A, Huntley JF. Dietary protein influences upon immunity to *Nematodirus battus* infection in lambs. *Veterinary Parasitology*. 1996; 61:273–286.

Jain NC. *Schalm's veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger; 1986.

Kahn LP, Knox MR, Gray GD, Lea JM, Walkden BSW. Enhancing immunity to nematode parasites in single-bearing Merino ewes through nutrition and genetic selection. *Veterinary Parasitology*. 2003; 112:211–225.

Kahn LP, Kyriazakis I, Jackson F, Coop RL. Temporal effects of protein nutrition on the growth and immunity of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. *International Journal for Parasitology*. 2000; 30: 193–205.

Kahn LP, Woodgate, RG. Integrated parasite management: Products for adoption by the Australian sheep industry. *Veterinary Parasitology*. 2012; 186:58-64.

Kaneko JJ, Harvey DW, Bruss WL. *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York: Academic Press. 1997; 932p.

Kaplan RM, Burke JM, Terril TH, Miller JE, Getz WR, Mobini S, Valencia E, Williams MJ, Williamson LH, Larsen M, Vatta AF. Validation of the FAMACHA[®] eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. *Veterinary Parasitology*. 2004; 123:105-120.

Kaplan RM, Vidyashankar AN. An inconvenient truth: Global worming and anthelmintic resistance. *Veterinary Parasitology*. 2012; 186:70-78.

Kaplan RM. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: a status report. *Trends in Parasitology*. 2004; 20:477-481.

Kelly GA, Kahn LP, Walkden BSW. Measurement of phenotypic resilience to gastrointestinal nematodes in Merino sheep and association with resistance and production variables. *Veterinary Parasitology*. 2013; 193:111-117.

Kenyon F, Greer AW, Coles GC, Cringoli G, Papadopoulos E, Cabaret J, Berrag B, Varady, M, Van Wyk JA, Thomas E, Vercruysse J, Jackson F. The role of targeted selective treatments in the development of refugia-based approaches to the control of gastrointestinal nematodes of small ruminants. *Veterinary Parasitology*. 2009; 164:3-11.

Knox DP, Redmond DL, Newlands GF, Skuce PJ, Pettit D, Smith WD. The nature and prospects for gut membrane proteins as vaccine candidates for *Haemonchus contortus* and other ruminant trichostrongyloids. *International Journal for Parasitology*. 2003; 33:1129-1137.

Knox MR, Torres-Acosta JFJ, Aguilar-Caballero AJ. Exploiting the effect of dietary supplementation of small ruminants on resilience and resistance against gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*. 2006; 139:385-393.

Kyriazakis I, Houdijk J. Immunonutrition: nutritional control of parasites. *Small Ruminant Research*. 2006; 62:79-82.

Lacroux C, Nguyen THC, Andreoletti O, Prevot F, Grisez C, Bergeaud J, Gruner L, Brunel J, Francois D, Dorchies P, Jacquiet P. *Haemonchus contortus* (Nematoda: Trichostrongylidae) infection in lambs elicits an unequivocal Th2 immune response. *Veterinary Research*. 2006; 37:607-622.

Lanusse CE, Prichard RK. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. *Veterinary Parasitology*. 1993; 49:123-158.

Leask R, Van Wyk JA, Thompson PN, Bath GF. The effect of application of the FAMACHA© system on selected production parameters in sheep. *Small Ruminant Research*. 2013; 110:1-8.

Louie K, Vlassoff A, Mackay AD. Gastrointestinal nematode parasites of sheep: A dynamic model for their effect on liveweight gain. *International Journal for Parasitology*. 2007; 37:233-241.

Louvandini H, Veloso CFM, Paludo GR, Dell'Porto A, Gennari SM, McManus CM. Influence of protein supplementation on the resistance and resilience on young hair sheep naturally infected with gastrointestinal nematodes during rainy and dry seasons. *Veterinary Parasitology*. 2006; 137:103-111.

Maciel S, Gimenez AM, Gaona C, Waller PJ, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay. *Veterinary Parasitology*. 1996; 62:207-212.

Mahieu M, Arquet R, Kandassamy T, Mandonnet N, Hoste H. Evaluation of targeted drenching using Famacha method in Creole goat: Reduction of anthelmintic use, and

effects on kid production and pasture contamination. *Veterinary Parasitology*. 2007; 146:135-147.

Maia D, Rosalinski-Moraes F, Torres-Acosta JF, Cintra MCR, Sotomaior CS. FAMACHA® system assessment by previously trained sheep and goat farmers in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2014; 209:202-209.

Malan FS, Van Wyk JA, Wessels CD. Clinical evaluation of anaemia in sheep: early trials. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2001; 68:165-174.

Martins MFM, Garcia M, Chate SC, Tavolari FA, Teixeira RBC, Mertens Jr. LR, Silva MM, Scheibel M, Abel LJ. Associação de imunostimulantes com anti-helmíntico na tratamento da verminose em ovinos. *Ciência Rural*. 2012; 42:2229-2234.

McNeilly TN, Devaney E, Matthews JB. *Teladorsagia circumcincta* in the sheep abomasum: defining the role of dendritic cells in T cell regulation and protective immunity. *Parasite Immunology*. 2009; 31: 347-356.

Melo ACFL, Bevilaqua CML, Reis IF. Resistência aos anti-helmínticos benzimidazóis em nematóides gastrintestinais de pequenos ruminantes do semiárido nordestino brasileiro. *Ciência Animal Brasileira*. 2009; 10:294-300.

Miller JE, Burke JM, Terril TH, Kearney MT. A comparison of two integrated approaches of controlling nematode parasites in small ruminants. *Veterinary Parasitology*. 2011; 178:300-310.

Molento MB, Gavião AA, Depner RA, Pires CC. Frequency of treatment and production performance using the FAMACHA method compared with preventive control in ewes. *Veterinary Parasitology*. 2009; 162:314-319.

Molento MB, Tasca C, Gallo A, Ferreira M, Bononi R, Stecca E. Método FAMACHA® como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes (FAMACHA® guide as an individual clinical parameter for *Haemonchus contortus* infection in small ruminants). *Ciência Rural*. 2004; 34:1139-1145.

Moraes JCF, Souza CJH, Jaume CM. O uso da condição corporal visando máxima eficiência produtiva dos ovinos. Comunicado técnico 57. Bagé-RS:Embrapa, 2005.

NRC - National Research Council. Nutrient Requirements of Sheep. Sixth Revised Edition. Washington:National Academy Press. 1985; 99 p.

O'Connor LJ, Walkden-Brown SW, Kahn LP. Ecology of the free-living stages of major trichostrongylid parasites of sheep. *Veterinary Parasitology*. 2006; 142:1-15.

Oliveira MV, Moura M.S, Barbosa FC. Avaliação comparativa do método Famacha, volume globular e OPG em ovinos. *Pubvet*. 2011; 5:1039.

Owens FN, Berger WG. Nitrogen metabolism of ruminant animal: historical perspective, current understanding and future implications. *Journal of Animal Science*. 1983; 57:498-518.

Papadopoulos E. Anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Small Ruminant Research*. 2008; 76:99-103.

Perrigoue JG, Marshall FA, Artis D. 2008. On the hunt for helminths: innate immune cells in the recognition and response to helminth parasites. *Cellular Microbiology*. 2008; 10:1757-1764.

Provenza FD, Villalba JJ, Dziba LE, Atwood SB, Banner RE. Linking herbivore experience, varied diets, and plant biochemical diversity. *Small Ruminant Research*. 2003; 49:257–274.

Riley DG, Van Wyk JA. Genetic parameters for FAMACHA[®] score and related traits for host resistance/resilience and production at differing severities of worm challenge in a Merino flock in South Africa. *Veterinary Parasitology*. 2009; 164:42-52.

Roberts FHS, O'Sullivan PJ. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infecting the gastro-intestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agriculture Research*. 1950; 1:99.

Rocha RA, Bricarello PA, Silva MB, Houdijk JGM, Almeida FA, Cardia DFF, Amarante AFT. Influence of protein supplementation during late pregnancy and lactation on the resistance of Santa Ines and Ile de France ewes to *Haemonchus contortus*. *Veterinary Parasitology*. 2011; 181:229– 238.

Rosalinski-Moraes F, Sotomaior CS, Schimidt EMS, Thomaz-Socool V. Uso de marcadores parasitológicos e imunológicos na seleção de ovelhas resistentes às parasitoses gastrintestinais. *Archives of Veterinary Science*. 2011; 16:7-20.

Rosalinski-Moraes F, Moretto LH, Bresolin WS, Gabrielli I, Kafer L, Zanchet IK, Sonaglio F, Tomaz-Socool V. Resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos da região da associação dos municípios do alto Irani (AMAI), Oeste de Santa Catarina. *Ciência Animal Brasileira*. 2007; 8:559-565.

Rose H, Rinaldi L, Bosco A, Mavrot F, de Waal T, Skuce P, Charlier J, Torgerson PR, Hertzberg H, Hendrickx G, Vercruyse J, Morgan ER. Widespread anthelmintic resistance in European farmed ruminants: a systematic review. *Veterinary Record*. 2015. doi: 10.1136/vr.102982 2015

Rowe A, Gondro C, Emery D, Sangster N. Sequential microarray to identify timing of molecular responses to *Haemonchus contortus* infection in sheep. *Veterinary Parasitology*. 2009; 161:76–87.

Roy NC, Bermingham EN, Sutherland IA, McNabb WC. Nematodes and nutrient partitioning. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 2003; 43:1419–1426.

Sahoo AF, Khan A, Karim SA. A review on nutrition and gastro-intestinal nematode parasitism: interaction and implications in ruminant livestock. *Indian Journal of Small Ruminants*. 2011; 17:1-20.

Sangster NC. Anthelmintic resistance: past, present and future. *International Journal for Parasitology*. 1999; 29:115-124.

Santana AF, Costa GB, Fonseca LS. Correlações entre peso e medidas corporais em ovinos jovens da raça Santa Inês. *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*. 2001; 1:74-77.

Scheuerle M, Mahling M, Muntwyler J, Pfister K. The accuracy of the FAMACHA[®] method in detecting anaemia and haemonchosis in goat flocks in Switzerland under field conditions. *Veterinary Parasitology*. 2010; 170:71-77

Schichowski C, Moors E, Gaulty M. Influence of weaning age and an experimental *Haemonchus contortus* infection on behaviour and growth rates of lambs. *Applied Animal Behaviour Science*. 2010; 125:103-108.

Scott I, Pomroy WE, Kenyon PR, Smith G, Adlington B, Moss A. Lack of efficacy of 1 monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus columbriformis*. *Veterinary Parasitology*. 2013; 198,166–171.

Shakya KP, Miller JE & Horohov DWA. Th2 type of immune response is associated with increased resistance to *Haemonchus contortus* in naturally infected Gulf Coast Native lambs. *Veterinary parasitology*. 2009; 163: 57-66.

Silva JF. Fundamentos de nutrição dos ruminantes. Piracicaba:Editora Livrocere. 1979; 384p.

Socol VT, Sotomaior CS, Souza FP, Castro EA, Pessoa Silva MC, Milczewski V. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná State, Brazil. *Veterinary Record*. 1996; 139:421-422.

Sotomaior CS, De Carli LM, Tangleica L, Kaiber BK, Pohl de Souza F. Identificação de ovinos e caprinos resistentes e susceptíveis a helmintos gastrintestinais. *Revista Acadêmica:Ciências Agrárias e Ambientais*. 2007; 5:397-412.

Sotomaior CS, Milczewski V, Schwartz MG, Moraes FR. Evaluation of FAMACHA System: accuracy of anaemia estimation and use of the method on comercial sheep flocks. In: INTERNATIONAL SEMINAR IN ANIMAL PARASITOLOGY, 5., 2003, Merida. Proceedings... Merida: SENASICA-INIFAP-INFARVET-UADY-FAO-AMPAVE, 2003. p. 61-66.

Sotomaior CS, Rosalinski-Moraes F, Costa ARB, Maia D, Monteiro AL, Van Wyk JA. Sensitivity and specificity of the FAMACHA[®] system in Suffolk sheep and crossbred Boer goats. *Veterinary Parasitology*. 2012; 190:114-119.

Sotomaior CS, Rosalinski-Moraes F, Souza FP, Milczewski V, Pasqualin CA. Parasitoses gastrintestinais dos ovinos e caprinos – Alternativas de controle. Série Informação Técnica, n. 080. Curitiba: Instituto EMATER. 2009; 36 p.

Stear MJ, Murray M. Genetic resistance to parasitic disease: particularly of resistance in ruminants to gastrointestinal nematodes. *Veterinary Parasitology*. 1994; 54:161-176.

Strain SAJ, Stear MJ. The influence of protein supplementation on the immune response to *Haemonchus contortus*. *Parasite Immunology*. 2001; 23: 527-531.

Sykes AR. Host immune responses to nematodes: benefit or cost? Implications for future development of sustainable methods of control. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010; 39:376- 382.

Sykes AR, Greer AW. Effects of parasitism on the nutrient economy of sheep: an overview. *Animal Production Science*. 2003; 43:1393-1398.

Sykes AR, Kyriazakis I. Opportunities to control herbivore nematodes through manipulation of the grazing environment. In: Meng, Q., Ren, L., Cao, Z. (Eds.), *Herbivore Nutrition for the Development of Efficient, Safe and Sustainable Livestock Production*. China Agricultural University Press, Beijing, 2007. pp. 329–353.

Taylor MA, Coop RL, Wall RL. *Parasitologia veterinária*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 742p.

Thamsborg SM, Jorgensen RJ, Ranvig H, Bartlett P, Waller PJ, Nansen P. The performance of grazing sheep in relation to stocking rate and exposure to nematode infections. *Livestock Production Science*. 1998; 53:265-277.

Thomaz-Soccol V, Souza FP, Sotomaior CS, Castro EA, Milczewski V, Mocelin G, Silva MP. Resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 2004; 47:41-47.

Torres-Acosta JFJ, Hoste H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Ruminant Research*. 2008; 77:159-173.

Torres-Acosta JFJ, Mendoza-de-Gives P, Aguillar-Caballero AJ, Cuellar-Ordaz JA. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. *Veterinary Parasitology*. 2012b; 189:89-96.

Torres-Acosta JFJ, Molento M, Mendoza-de-Gives P. Research and implementation of novel approaches for the control of nematode parasites in Latin America and the Caribbean: Is there sufficient incentive for a greater extension effort? *Veterinary Parasitology*. 2012c; 186:132-142.

Torres-Acosta JFJ; Sandoval-Castro CA, Aguillar-Caballero AJ, Cámara-Sarmiento R, Alonso-Díaz MA. Nutritional manipulation of sheep and goats for the control of

gastrointestinal nematodes under hot humid and subhumid tropical conditions. *Small Ruminant Research*. 2012a; 103:28-40.

Ueno H, Gonçalves PC. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 3 ed. Tóquio: Japan International Cooperation Agency. 1994; 166p.

Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. Parasitologia veterinária. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003; 273p.

Van den Brom R, Moll L, Kappert C, Vellema P. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep. *Veterinary Parasitology*. 2015; 209:278:280.

Van Soest PJ. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Ithaca: Cornell University Press. 1994; 488p.

Van Wyk JA, Bath GF, Groeneveld HT, Stenson MO, Malan FS. Extensive testing of the FAMACHA[®] system for accuracy of clinical evaluation of anaemia caused by ovine haemonchosis. In: Proceedings, 5th International Sheep Veterinary Congress, 21-25 January, 2001b, Stellenbosch, South Africa, 15pp.

Van Wyk JA, Bath GF. The FAMACHA[®] system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. *Veterinary Research*. 2002; 33:509-529.

Van Wyk JA, Hoste H, Kaplan RM, Besier RB. Targeted selective treatment for worm management—How do we sell rational programs to farmers? *Veterinary Parasitology*. 2006; 139:336-346.

Van Wyk JA. Refugia- Overlooked as perhaps the most important factor concerning the development of anthelmintic resistance. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*. 2001; 68:55-57.

Veríssimo CJ, Niciura SCM, Alberti ALL, Rodrigues CFC, Barbosa DPC, Cardoso D, Silva GS, Pereira JR, Margatho LFF, Costa RLD, Nardon RF, Ueno TEH, Cursi VCLM, Molento MB. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from Sao Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2012; 187:209-216.

Vieira LS, Cavalcante ACR. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 1999; 19:99-103.

Vilela VLR, Solano GB, Araújo MM, Sousa RVR, Silva WA, Feitosa TF, Athayde ACR. Ensaio preliminares para validação do método famacha[®] em condições de semi-árido paraibano. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2008; 17:154-157.

Waghorn TS, Leathwick DM, Rhodes AP, Lawrence KE, Jackson R, Pomroy WE, Moffat JR. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep farms in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 2006; 54: 271–277.

Wallace DS, Bairden K, Duncan JL, Eckersall JL, Fishwick G, Holmes PH, McKellar QA, Mitchell S, Murray M, Parkins JJ, Stear MJ. The influence of increased feeding on the susceptibility of sheep to infection with *Haemonchus contortus*. *Journal of Animal Science*. 1999; 69:457–463.