

**UNIVERSIDADE PARA O DESENVOLVIMENTO DO ESTADO E DA REGIÃO
DO PANTANAL (UNIDERP)**

FABIANO DE OLIVEIRA FRAZILIO

**PERFIL DAS PROTEÍNAS SÉRICAS E DA CONTAGEM
LEUCOCITÁRIA EM OVINOS COM INFECÇÃO HELMÍNTICA
NATURALMENTE ADQUIRIDA.**

CAMPO GRANDE-MS

2005

FABIANO DE OLIVEIRA FRAZILIO

**PERFIL DAS PROTEÍNAS SÉRICAS E DA CONTAGEM
LEUCOCITÁRIA EM OVINOS COM INFECÇÃO HELMÍNTICA
NATURALMENTE ADQUIRIDA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em nível de Mestrado Profissionalizante em Produção e Gestão Agroindustrial da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Produção e Gestão Agroindustrial.

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Cláudio Roberto Madruga.

Prof. Dr^a. Iandara Schettert Silva.

Prof. Dr. Olímpio Crisóstomo Ribeiro.

CAMPO GRANDE-MS

2005

FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidato: **Fabiano de Oliveira Frazílio**

Dissertação defendida e aprovada em 29 de junho de 2005 pela Banca Examinadora:

Prof. Doutor **Cláudio Roberto Madruga (Orientador)**

Prof. Doutor **Fernando Paiva (UFMS)**

Prof. Doutor **Edison Rubens Arrabal Arias (UNIDERP)**

Prof. Doutor **Francisco de Assis Rolim Pereira**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Produção e Gestão Agroindustrial

Profa. Doutora **Lúcia Salsa Corrêa**
Pró-Reitora de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIDERP

Dedico o presente trabalho aos meus pais, irmão, esposa e amigos, como também ao meu orientador Prof. Dr. Cláudio Roberto Madruga que se propôs em me ajudar desde o primeiro instante.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por ter transmitido-me saúde e sabedoria para vencer os obstáculos.

A meus pais exemplos de minha vida.

As minhas esposa e filha, pela preocupação, cuidado e carinho.

Ao professor Cláudio Roberto Madruga, pela paciência, atenção dedicada e ensinamentos transmitidos.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vi
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
2.1 PRINCIPAIS HELMINTOS PARASITAS DE OVINOS.....	11
2.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS INFESTAÇÕES PARASITÁRIAS	13
2.3. IMUNIDADE MEDIADA POR CÉLULAS	16
2.3.1. Macrófagos.....	16
2.3.2. Eosinófilos	17
2.3.3. Linfócitos	18
2.4. IMUNIDADE HUMORAL CONTRA HELMINTOS.....	21
2.5. PROTEÍNAS SÉRICAS	22
2.5.1. As principais proteínas	25
2.5.2. Fatores que influenciam a concentração das proteínas séricas	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4. RESULTADOS	33
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÕES	40
REFERÊNCIAS	41

RESUMO

Quarenta ovinos adultos de diversas raças criadas em um sistema de criação de baixa tecnologia no município de Campo Grandes, Mato Grosso do Sul, foram divididos em quatro grupos. No grupo I (até 100 ovos por grama de fezes, OPG), grupo II (200 a 700 OPG), grupo III (700 a 1.700 OPG) e grupo IV (mais de 1.700 OPG). Por meio de eletroforese foi verificada redução significativa de proteínas séricas totais, albumina, gamaglobulinas no grupo IV. Entre as células do sangue, os linfócitos também apresentaram uma diminuição significativa no grupo IV. Esses resultados indicam que os ovinos com infestações acima de 1.700 OPG apresentaram alteração significativa nos parâmetros observados. Entretanto, a determinação de grupos de ovinos com infestações de helmintos que não alteram os parâmetros estudados, sugere a possibilidade de seleção de animais resistentes nesse sistema de criação, o que poderia resultar em um importante retorno econômico.

Palavras-chave: ovinos; helmintos, eletroforese: proteínas séricas, leucócitos.

ABSTRACT

Forty adult ovine from different breeds raised in a system of low technology in Campo Grande municipality, Mato Grosso do Sul state, were divided in four groups. The group I (until 100 eggs per gram of faeces), group II (200 until 700 EPG), (group III 700 to 1700 EPG) and group IV (over 1700 EPG). Using electrophoresis was verified a significant reduction of total proteins, albumin and gamma globulins in the group IV. The blood lymphocytes also showed a significant decrease in this group. These results suggested that helminthic infestations with more than 1700 OPG cause imunodepression. However, the groups with lower infestations did not showed alterations in the studied parameters. There fore that there is possibility to select resistant animals for helminthic infestations in this husbandry system, which could result in important economical income.

Key-words: ovine; helminths; electrophoresis; seric proteins; leukocytes.

1. INTRODUÇÃO

Não se sabe ao certo como e onde surgiram as primeiras civilizações, contudo, a domesticação de animais foi fundamental para a sua prosperidade. Dentre estes animais, os ovinos merecem destaque por figurarem entre os primeiros a serem domesticados pelo homem, vindo talvez somente depois do cão. Acredita-se que a domesticação dos ovinos tenha tido seu início na Ásia Central, pois existem indícios históricos de sua criação por pastores hebreus que antecedem a história escrita (VIEIRA, 1967).

Os estudos já realizados sugerem que os ovinos domésticos tenham tido sua origem a partir do Muflon, originário da Europa e Ásia, ou do Urial Asiático. Ambos se tratam de ovinos selvagens que têm chifres, cauda curta e corpo coberto mais por pêlos do que por lã, o que sugere um processo de seleção antigo até se chegar no ovino doméstico (*Ovis Áries*) (VIEIRA, 1967).

Despertando o interesse de muitos produtores, a ovinocultura vem crescendo muito e conquistando muitos mercados. Entretanto, um dos problemas verificados na maior parte das criações é a falta de atenção dos criadores quanto aos cuidados específicos com a espécie criada. Os ovinos apresentam características reprodutivas, alimentares e de manejo, diferentes de outras espécies, e por isso o criador deve estar ciente de todos os cuidados e as características da criação antes de iniciá-la (SANTOS, 1985).

A ovinocultura só recentemente começou a se desenvolver como atividade profissional. Em Mato Grosso do Sul, ela está em plena expansão, melhorando a qualidade do rebanho, principalmente, com adoção de práticas como

cruzamentos de animais de pura origem (PO) e inseminação artificial (IA). O Estado conta, hoje, com um rebanho de quase 600 mil animais, que são comercializados, sobretudo, com São Paulo, Paraná, Minas Gerais e Goiás (OZAKI, 2005).

A criação de ovinos tem se revelado uma segunda alternativa econômica para os pecuaristas, pois a atividade em forma de consórcio boi/ovelha não é somente viável, como indicada para diminuir custos. Esse sistema evita também as helmintoses, que são a maior causa de mortalidade entre os ovinos, pois o boi alimenta-se da pastagem contaminada com ovos de helmintos que são patogênicos para os ovinos, sem que isso afete a sua saúde, diminuindo assim o custo com profilaxia e tratamento. Nas grandes fazendas de fronteira, do Rio Grande do Sul, já existem cerca de 20 mil a 30 mil ovelhas consorciadas, essa possibilidade tem despertado o interesse de pecuaristas (AMARANTE, 1995).

Outro atrativo é o tempo entre o nascimento e o abate do cordeiro, em torno de 80 dias, cujo peso pode variar de 9 kg a 12 kg (cordeiro mamão), há 120 dias, para um animal mais pesado, que ficou confinado, comparando-se à idade de abate de bovinos, que fica em torno de dois anos (OZAKI, 2005).

Dos produtos oriundos da ovinocultura a carne vem se destacando por ser hoje muito explorada e apreciada por grande parte da população, atingindo altos preços nos mercados nacionais e internacionais. A lã, que passou por momentos difíceis com a entrada dos produtos sintéticos, já mostra sinais de recuperação e aumento de produção. Contudo, o leite de ovelha ainda não tem uma produção muito expressiva no Brasil, mas em outros países, como a Itália, se mostra como um excelente produto para a confecção de queijos finos, como o queijo Gorgonzola Italiano. Além destes produtos derivados da ovinocultura aproveita-se ainda o couro, o pêlo, os chifres, os intestinos e praticamente todo o animal (SANTOS, 1985).

Além das vantagens advindas da qualidade dos produtos dos ovinos, a ovinocultura ainda se apresenta como uma alternativa viável para o homem do campo, principalmente para o pequeno produtor, uma vez que os animais, devido a sua docilidade, porte pequeno e excelente conversão alimentar, não demandam muita mão-de-obra para sua manutenção. Apresentando-se, desta forma, como

uma opção viável e barata para o produtor (AMARANTE, 1995).

O rápido crescimento populacional no planeta vem exigindo uma demanda cada vez maior de proteína animal. Portanto, há uma necessidade constante de inserção de novas tecnologias para inovação dos meios de produção, de maneira a não permitir uma defasagem entre produção e consumo de alimentos. As tecnologias introduzidas nos sistemas de produção animal, que incrementam o potencial genético, que melhoram as condições nutricionais e de controle sanitário, aumentam a produtividade de maneira significativa (BARRAGRY, 1994).

No Brasil, tem ocorrido um crescimento na exploração intensiva de ovinos, e devido a este fato, tornaram-se relevantes para a produtividade dos rebanhos, os aspectos sanitários. Na ovinocultura um dos maiores problemas sanitários é as helmintoses gastrintestinais, já que são muito freqüentes e influenciam diretamente na capacidade produtiva dos rebanhos (AMARANTE, 1995).

Os helmintos gastrintestinais *Haemonchus contortus*, *Ostertagia sp* e *Trichostrongylus sp* são os de maior relevância para ovinos. O ciclo de vida destes parasitas é direto, os ovos são liberados com as fezes e desenvolve-se rapidamente em larvas infectantes (PINHEIRO 1983; VANIMISSETTI *et al.*, 2004).

Os sintomas clínicos relacionados ao parasitismo intestinal por helmintos são anorexia, anemia, baixo ganho de peso, desenvolvimento deficiente e eficiência reprodutiva baixa. A soma desses fatores acarreta inúmeras perdas produtivas e econômicas, que estão relacionadas à baixa produtividade, devido aos custos com tratamento, profilaxia e morte dos animais (HARRISON *et al.*, 2002; PINHEIRO, 1983).

As infestações por helmintos comprometem o sistema imune e inúmeros fatores foram propostos como causas de imunodepressão. Entre esses a competição antigênica, estimulação de células supressoras não específicas, competição com superfície de macrófagos, modificação do tráfego de linfócitos através dos tecidos parasitados, produção de fatores inibidores da resposta imunológica pelos parasitas e ativação de linfócitos policlonais (MEEUSEN, 2003).

Aparentemente, os parasitas induziriam uma imunossupressão em seu hospedeiro para poder permanecer livre dos ataques do sistema imune. As conseqüências da imunodepressão associada a parasitas incluem aumento da susceptibilidade a outros organismos, eficácia de vacinação reduzida, assim como diminuição da resposta imunológica contra parasitas homólogos (SILVA *et al.*, 2002).

Portanto, o presente estudo se propõe a investigar as alterações das proteínas séricas e os valores absolutos da contagem de leucócitos e linfócitos, de ovinos criados sob sistemas de produção característicos do Estado de Mato Grosso do Sul.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. PRINCIPAIS HELMINTOS PARASITAS DE OVINOS

A elevada prevalência, associada à grande patogenicidade, faz do *Haemonchus contortus*, a principal espécie de endoparasita de ovinos no Brasil. Este nematóide do abomaso, hematófago pode ser responsável por enormes perdas em ovinos, especialmente em regiões tropicais (AMARANTE, 1995; BARBOSA; OLIVEIRA e SIQUEIRA, 1989).

O ciclo evolutivo é direto. A eclosão larval ocorre no pasto, o desenvolvimento da larva infectante (L3) ocorre em um período curto, de até cinco dias. Após a ingestão, a larva no rúmen perde sua cápsula para sofrerem mudas. Quando adultos, move-se livremente na superfície da mucosa. O período pré-patente é de duas a três semanas (AMARANTE *et al.*, 1997; VANIMISSETTI *et al.*, 2004).

A patogenia da hemoncose é essencialmente uma anemia hemorrágica aguda, caracterizada por uma diminuição do volume globular e perda contínua de ferro e proteína através do trato gastrintestinal. Os animais apresentam graus variáveis de edema, dos quais a forma submandibular e a ascite são as mais comuns. Letargia, fezes de coloração escura e queda de lã são também observadas. Em casos hiperagudos os animais morrem subitamente de gastrite hemorrágica (AMARANTE *et al.*, 1997).

Como o desenvolvimento da larva de *H. contortus* é ótimo em temperaturas relativamente altas, a hemoncose é basicamente uma doença de ovinos de clima tropical. A umidade alta, também é um fator importante, pelo menos no microclima das fezes e do capim, para o desenvolvimento e a sobrevivência da larva. A frequência e a gravidade dos surtos dependem do regime de chuvas que ocorre numa determinada região (MACEDO *et al.*, 1986; VANIMISSETTI *et al.*, 2004).

Em seguida, em ordem de importância, tem-se o *Trichostrongylus colubriformis*. Os adultos são pequenos e capiliformes, em geral com menos de 7 mm de comprimento. O ciclo evolutivo é direto e, em condições ótimas, o desenvolvimento larval até o estágio infectante ocorre em uma a duas semanas, sendo que este possui alta capacidade para sobreviver em condições adversas, sejam de frio extremo ou de dessecação (AMARANTE *et al.*, 1992; LARSEN *et al.*, 1994).

Após a ingestão, as larvas infectantes de terceiro estágio penetram entre as glândulas epiteliais da mucosa, com formação de túneis sob o epitélio, mas acima da lâmina própria. Quando os túneis subepiteliais contendo os parasitas em desenvolvimento se rompem, há liberação dos mesmos por cerca de 5 dias. Essa espécie de parasito provoca hemorragias e edemas consideráveis, que resulta em perdas de proteínas plasmáticas na luz intestinal (YACOB *et al.*, 2004).

Em infestações maciças ocorre diarreia, o que, juntamente com a perda de proteínas plasmáticas na luz intestinal, leva à perda de peso. Em níveis mais baixos de infecção, a inapetência e baixos índices de crescimento, acompanhados às vezes por fezes amolecidas constituem a sintomatologia mais evidente, sendo esta, difícil de diferenciar de má nutrição (YACOB *et al.*, 2004).

O *Oesophagostomum columbianum* é outra espécie merecedora de destaque devido a sua grande patogenicidade. A enfermidade aguda é causada pelas larvas histotróficas do parasita que se localizam no intestino delgado e grosso onde causam a formação de nódulos (AMARANTE *et al.*, 1997).

As infestações, na maioria das vezes, são mistas sendo ainda comum o parasitismo dos ovinos por espécies de *Cooperia* spp. e *Strongyloides papillosus*

(AMARANTE, 1995; BARBOSA; OLIVEIRA e SIQUEIRA, 1989).

A maioria dos nematódeos apresentam duas fases distintas no seu desenvolvimento: (1) uma fase de vida parasitaria que ocorre no hospedeiro e que se inicia com a ingestão da larva infectante e se completa com o parasita adulto eliminando ovos nas fezes e (2) uma fase de vida livre que ocorre na pastagem e vai de ovo ate a larva infectante (AMARANTE *et al.*, 1992; LARSEN *et al.*, 1994).

2.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS DAS INFESTAÇÕES PARASITÁRIAS

O sistema imune emprega diferentes estratégias de defesa. Algumas são de amplo espectro. Geralmente a imunidade inata e outras específicas estão freqüentemente associadas à imunidade adquirida. A primeira constitui uma barreira inicial às infestações parasitárias, enquanto que a segunda é uma barreira para controlar agentes patogênicos que superaram a primeira. O sistema imune também adapta a resposta às características do agente infeccioso, pois alguns se localizam intracelularmente e outros extracelularmente (KAHN *et al.*, 2000; TIZARD, 2000).

Os parasitas multicelulares, como os helmintos, em virtude de sua estrutura mais complexa, e de seu metabolismo, induzem o hospedeiro a produzir uma resposta imunológica complexa. Essa complexidade ainda é maior quando ocorrem infestações parasitárias múltiplas por distintos parasitos cujo controle requer uma resposta imune específica (TIZARD, 2000).

A maioria dos antígenos relevantes dos helmintos consiste em subprodutos metabólicos, enzimas ou outros produtos secretórios que são variáveis de acordo com o estágio de desenvolvimento do parasito e requerem uma resposta imune com especificidade distinta (ORTONA *et al.*, 2002).

A resposta imune a esses organismos patogênicos é expressa por uma eosinofilia e a produção do anticorpo reagínico (IgE). Ambas dependem dos linfócitos T. Além disto, foi constatado que certos helmintos potencializam a

resposta imunológica a outros antígenos, talvez através de subprodutos metabólicos comuns que atuam como adjuvantes inespecíficos (PREMIER *et al.*, 2004; HOUDIJK *et al.*, 2001).

Os helmintos causam infestações que podem causar sintomatologia aguda com mortalidade ou uma doença suave ou subclínica, que provoca morbidade. Isso está relacionado a fatores genéticos, de manejos, nutricionais ou ambientais. Além disso, a imunidade pode ser influenciada pela própria infestação parasitária de outros helmintos. Por exemplo, a presença de parasitas adultos no intestino pode retardar o desenvolvimento posterior dos estágios larvais da mesma espécie dentro dos tecidos. Exemplos disso, cordeiros podem adquirir uma resistência ao *Echinococcus granulosus* de forma que uma infestação com um grande número de ovos, não resulta no desenvolvimento de uma carga maciça de parasitas. A dose original de ovos pode estimular uma rejeição das doses subsequentes (TIZARD, 2000; KAHN *et al.*, 2000).

A competição entre os helmintos por habitats mútuos e nutrientes no trato intestinal determinará a quantidade, localização e composição da população de helmintos de um animal (HARRISON *et al.*, 2002).

Os fatores relacionados ao hospedeiro que influenciam as cargas de helmintos incluem idade, sexo e base genética do hospedeiro. A relação da idade e sexo com a carga parasitária de helmintos parece ser determinada por hormônios. Nos animais cujo ciclo sexual é sazonal, os parasitas tendem a sincronizar o seu ciclo reprodutivo com os dos seus hospedeiros. Por exemplo, as ovelhas mostram uma elevação primaveril nos ovos de nematóides fecais que coincide com o parto e início da lactação. Este fenômeno está associado a um aumento nos níveis circulantes de prolactina, ocasionando uma queda temporária da imunidade (GRUNER; BOUIX E BRUNEL, 2004; HOODA *et al.*, 1999).

Os mecanismos imunes resultantes da resistência genética, seriam a maior produção de imunoglobulinas de superfície das mucosas (IgA), que interferiria na fecundidade do nematódeo, e a maior intensidade das reações de hipersensibilidade do tipo I (GRUNER; BOUIX e BRUNEL, 2004; CARTA e SCALA, 2004; SRÉTER; KASSAI E TAKÁCS, 1994; WINDON, 1996).

O sucesso de qualquer parasita é medido não somente pelos distúrbios que ele impõe no hospedeiro, mas sim pela sua capacidade de se adaptar e se integrar ao hospedeiro. Imunologicamente pode-se considerar um parasita de sucesso se ele se integrar em um hospedeiro de uma forma tal que não seja considerado estranho. Ao contrário das infecções por bactérias e vírus que são de curta duração e agudas. As infestações por helmintos são geralmente crônicas, e determinados parasitas podem persistir em um hospedeiro por um longo período de tempo (AMARANTE *et al.*, 2004).

O sistema imune é relativamente insuficiente no controle dos helmintos parasitas, pois afinal esses parasitos se adaptaram a uma existência parasitaria obrigatória, que envolve necessariamente uma superação ou um escape da resposta imune. Os helmintos, portanto, não são organismos patogênicos mal adaptados, mas parasitas obrigatórios completamente adaptados, cuja sobrevivência depende de certa forma de acomodação com o hospedeiro. Por isso, estes parasitas geralmente provocam uma doença suave ou subclínica, ou seja, provoca morbidade e não mortalidade (AMARANTE *et al.*, 2004; TIZARD, 2000).

A doença somente ocorre, quando os helmintos invadem o hospedeiro ao qual não estão completamente adaptados, ou em um número incomumente grande. Existem animais, a minoria, que podem albergar apenas uma pequena quantidade de parasitas, mas alguns animais albergam muitos. Isto ocorre porque há variação quanto à resistência, devido a fatores genéticos, comportamentais, nutricionais ou ambientais (KASSAI *et al.*, 1990; MEEUSEN e PIEDIAFRA; 2003).

A fase parasitária pode manifestar-se de forma aguda, onde as perdas são apreciáveis. Nas formas subagudas e crônicas ocorre diminuição da produção animal devido há uma menor digestibilidade e absorção do alimento. Porém, são as parasitoses subclínicas, de animais aparentemente saudáveis, que geralmente produzem maiores contaminações das áreas de pastoreio com ovos dos parasitos (SIEVERS *et al.*, 2002).

A ovoposição causa contaminação das pastagens. O grau de contaminação das mesmas depende da susceptibilidade do animal. Vários fatores

contribuem para isso, tais como: a idade dos animais, a imunidade adquirida, o estado fisiológico, o nível nutricional, a época do ano, as condições geoclimáticas, a espécie do parasita e o número de parasitos presentes (SIEVERS *et al.*, 2002).

As infestações por helmintos, raras vezes provocam mortalidade, porém os animais parasitados apresentam baixo ganho de peso e eficiência reprodutiva, o que resulta numa reduzida produtividade (SIEVERS *et al.*, 2002).

As enteropatias que ocorrem nos animais parasitados provocam perdas protéicas por perda de sangue em decorrência do parasitismo intestinal. Isso provocaria no animal, hipoproteinemia com hipogamaglobulinemia. Como conseqüência, haveria baixa conversão alimentar e reduzida resistência do animal frente às outras patologias (LLOYD *et al.*, 2002).

O hospedeiro poderá adquirir resistência por intermédio da chamada co-imunidade, processo em que o animal infestado adquire resistência a outros parasitas quando uma infestação inicial por um parasito não é eliminada. Vários mecanismos imunológicos e geralmente em associação determinam a resistência contra os helmintos (WINDON, 1996).

2.3 IMUNIDADE MEDIADA POR CÉLULAS

2.3.1 Macrófagos

Essas células originadas da medula óssea, no sangue, são os monócitos que totalizam cerca de 5% da população de leucócitos sanguíneos totais. Essas, são células que pertencem ao sistema mononuclear-fagocítico. Ao contrário dos neutrófilos, tem uma atividade fagocítica prolongada. Além da fagocitose, os monócitos secretam moléculas capazes de amplificar a resposta imune, controlam a inflamação e contribuem para o reparo de danos teciduais. Isso é realizado por meio da remoção dos tecidos lesados e auxiliam no processo de cicatrização (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000).

Durante a infestação parasitária os macrófagos são ativados nos estágios

iniciais da infestação, exercendo uma importante linha de defesa contra os parasitas, através da fagocitose e bem como de sua remoção. Os macrófagos possuem dois mecanismos principais de eliminação do parasito; uma a citotoxicidade dependente de anticorpos, e a outra pelo mecanismo de explosão oxidativa (STITES *et al.*, 2000). Esse último mecanismo ocorre quando os macrófagos são ativados pela exposição a agentes patogênicos ou quimiotáticos. Nestas condições sintetizam a enzima óxido nítrico sintetase, que usa o oxigênio para agir na L-arginina, produzindo o óxido nítrico, que ao reagir com o ânion superóxido produz derivado tóxico, tais como o NO₂, N₂O₃ e NO₃. Essas células são capazes de sintetizar várias substâncias que atuam na ação imunológica, tais como a enzima lisozima e os componentes do complemento como C₂, C₃, C₄ e C₅ (STITES *et al.*, 2000; FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000).

Além destas, existem quatro outras importantes proteínas secretadas pelos macrófagos, que exercem um papel-chave na regulação de imunidade: interleucina-1, interleucina-2, a interleucina-12 e o fator de necrose tumoral, sendo estas classificadas como citocinas (BIRO *et al.*, 1998; TIZARD, 2000).

2.3.2 Eosinófilos

Estas células são extremamente importantes no controle das infestações parasitárias e na regulação dos processos alérgicos, bem como no controle das reações inflamatórias. Os eosinófilos também possuem a propriedade de fagocitar, entretanto com menor eficiência quando comparada aos neutrófilos e macrófagos. Contudo, os eosinófilos participam de mecanismos importantes da imunidade protetora antiparasitária. Os eosinófilos participariam no processo de destruição do parasito quando este estivesse revestido de anticorpos e complemento. Isso resultaria na liberação de seu conteúdo granular, provocando a destruição do mesmo. Os grânulos dos eosinófilos contêm proteínas catiônicas e diversas enzimas lisossômicas (BAO *et al.*, 1996; FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000).

Os eosinófilos regulam as respostas de hipersensibilidade imediata (tipo I)

e inflamatórias, pela inativação da histamina e de outros mediadores químicos envolvidos nesses processos. Quando há um aumento na concentração de histamina, os eosinófilos são rapidamente atraídos para os tecidos, estas células secretam histaminase e fatores que inibem liberação de histamina. (BAO *et al.*, 1996; FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000).

Os eosinófilos são produzidos na medula óssea e possuem a mesma seqüência de maturação dos neutrófilos, exceto que a célula-tronco é diferente, sendo denominada eosinófilo-unidade formadora de colônia. A meia-vida circulatória varia de 30 minutos a 10 horas, dependendo da espécie. Na medula óssea existe uma grande reserva de eosinófilos (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000; SHAW; GATEHOUSE e MCNEILL, 1998).

Os eosinófilos deixam a circulação aleatoriamente. Sendo encontrados em muitos tecidos, principalmente no tecido conjuntivo frouxo subepitelial do intestino, do subcutâneo, útero e trato respiratório. Uma vez que esteja no tecido, a meia-vida dos eosinófilos aumenta para 12 dias (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000; SHAW; GATEHOUSE e MCNEILL, 1998).

O eosinófilos atuam numa reação IgE-dependente, promovendo a limitação da migração do parasita pelos tecidos. A destruição do parasita ocorre quando os eosinófilos se conjugam com o parasita que estão previamente recobertos por anticorpos, e então ocorre a degranulação celular liberando o conteúdo sobre a cutícula do helminto. Esse conteúdo granular inclui o superóxido, peróxido de hidrogênio e outros radicais livres gerados pelas peroxidases e pelas enzimas líticas eosinofílicas, tais como a lisofosfolipase e fosfolipase D (BUDDLE *et al.*, 1992; STEAR *et al.*, 2002; SPRY, 1996; STEVENSON; COLDITZ e LEJAMBRE, 2001).

2.3.3 Linfócitos

Os linfócitos são as células que reconhecem os antígenos estranhos por meio das células apresentadoras de antígenos e montam a resposta imune adquirida. Existem diferentes populações e subpopulações de linfócitos que

possuem características fenotípicas e funções diferentes (STITES *et al.*, 2000).

Os linfócitos são encontrados principalmente na medula óssea, linfonodos e baço. São divididos em dois grupos: linfócitos T ou linfócitos derivados do timo, e linfócitos B ou linfócitos derivados da medula óssea. Células “nulas” foram identificadas no homem e em alguns animais; lhes faltam os marcadores que caracterizam os linfócitos T ou B (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000; JAIN, 1986).

O timo e medula óssea são órgãos linfóides primários, que propiciam precursores linfóides para os órgãos linfóides secundários (linfonodos, baço, e placas de Peyer), nos quais os linfócitos T e B desenvolvem a capacidade de responder aos antígenos. Tanto a população de linfócitos T, quanto à de linfócitos B estão presentes no sangue periférico das espécies animais, sendo que os primeiros constituem a maioria. O número de linfócitos T e B, no sangue periférico varia com a idade e saúde do indivíduo. Os linfócitos B são poucos durante a vida fetal, mas aumentam continuamente, para constituir cerca de 20% dos linfócitos circulantes na maior parte dos animais domésticos adultos (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000; JAIN, 1986).

O período de vida dos linfócitos é de difícil mensuração, visto que tais células podem recircular e passar por mitoses. Não há informações para os animais domésticos, mas a maior parte dos linfócitos humanos tem longa vida, com média de existência de 4,3 anos (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000; SMITH *et al.*, 1994).

Os linfócitos T tem participação fundamental na resposta imunológica, pois reconhecem o antígeno apresentado pelas células apresentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas, células B), produzindo uma resposta imune específica com produção de linfocinas que ativam outras células do sistema imune (STITES *et al.*, 2000). Três populações de linfócitos têm suas funções melhor estabelecidas: às células T auxiliaadoras que se subdividem em subpopulações, e que são responsáveis pela regulação das respostas imunes; as células T citotóxicas que destroem os antígenos endógenos, e as células B, que fagocitam os antígenos atuam como apresentadoras de antígenos e produzem imunoglobulinas além de linfocinas (BALIC; BOWLES e MEENSEN, 2000).

As células T auxiliares emitem sinais que aumentam as respostas imunológicas mediadas por células, e que são necessários para a diferenciação das células B em células produtoras de anticorpos. Quando ativadas, as células T auxiliares produzem linfocinas solúveis, que têm a capacidade de regular as atividades das células T, células B, monócitos-macrófagos e outras células do sistema imunológico. O auxílio das células T, para diferenciação das células B, também ocorre por meio de contato direto entre os dois tipos celulares, resultando em estimulação direta dos receptores das células B, e expondo também a célula B às altas concentrações locais de linfocinas derivadas de células T (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000).

Estas células efectoras T maduras pertencem, em sua maioria, a dois subgrupos distintos, denominados células Th1 e Th2, que são distinguidos pelas linfocinas que produzem. Por sua vez, os padrões divergentes de expressão de linfocinas, permitem que cada um destes subgrupos de células Th promova tipos distintos de reações imunológicas que se caracterizam como resposta mediada por anticorpos ou por células (BALIC; BOWLES e MEENSEN, 2000).

As células Th1 produzem IL-2, interferon-gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (TNF α), também denominado linfotóxina. De modo geral, estas linfocinas promovem reações de defesa que são mediadas por macrófagos e outros fagócitos, envolvendo, portanto, a morte intracelular dos patógenos. Por exemplo, o IFN- γ ativa de forma potente os macrófagos ao induzir a óxido nítrico-sintetase e outras enzimas metabólicas que aumentam a atividade microbicida (BALIC; BOWLES; MEENSEN, 2000).

Em contraste, as células Th2, suas citocinas atuam em conjunto para a quimioatração de células B, mastócitos, basófilos e eosinófilos, promovendo o crescimento e a diferenciação destes tipos celulares no local da resposta imunológica. Além disso, a IL-4 promove a troca de isotipo de imunoglobulinas, atuando na produção de IgE pelos plasmócitos. Esse isotipo, ligado aos receptores dos mastócitos e eosinófilos, permite que estas células reconheçam e respondam aos antígenos. Através destes processos, as células Th2 produzem um influxo de mastócitos e eosinófilos, e ajudam a direcionar o ataque contra do antígeno parasitário. Esse tipo de reação de defesa é particularmente eficaz

contra grandes parasitas multicelulares, como helmintos, que muitas vezes podem ser destruídos extracelularmente por eosinófilos, mas que são muito grandes para serem fagocitados por macrófagos (BALIC; BOWLES e MEENSEN, 2000).

2.4 IMUNIDADE HUMORAL CONTRA HELMINTOS

Numerosas interações entre as células do sistema imunológico são controladas por mediadores solúveis, denominadas de citocinas. Elas formam um grupo diversificado de proteínas de sinalização intercelular, que regulam não apenas as respostas inflamatórias e imunológicas locais e sistêmicas, como também a cicatrização de feridas, a hematopoiese e muitos outros processos biológicos. As citocinas produzidas pelos linfócitos são conhecidas como linfocinas, enquanto aquelas produzidas por monócitos e macrófagos são denominadas monocinas (FUST e CSASZAR, 1998; ROITT *et al.*, 1999).

A interleucina-4 é uma glicoproteína secretada por células T CD4, ativadas através do subgrupo Th2 e por mastócitos. Estimula a produção de IgE e promove a indução das células Th2 que controlam, entre outras funções, a proliferação e as atividades dos eosinófilos e mastócitos (BALIC e BOWLES; MEENSEN, 2000).

O efeito indireto da IL-4 sobre essas células, juntamente com seu efeito direto sobre a produção de IgE, sugere um papel central nas doenças alérgicas e parasitárias. Contrariamente, a IL-4 suprime a indução e função Th1, que controlam muitos aspectos da imunidade celular. Além dos efeitos anteriormente descritos, a IL-4 promove a atividade das células T citotóxicas, aumenta o crescimento dos mastócitos mediados pela IL-3, atua de modo sinérgico com o fatores estimuladores de colônias para aumentar o desenvolvimento de várias células hematopoéticas e induz a molécula de adesão da célula vascular (VCAM-1) nas células endoteliais, fazendo o recrutamento dos eosinófilos, linfócitos e monócitos (STITES *et al.*, 2000).

A interleucina-5 (IL-5) foi originalmente descrita como fator de crescimento de células B e eosinófilos, porém não possui a atividade estimuladora significativa

sobre as células B. As células Th2 CD4⁺ constituem a principal fonte desta citocina. A IL-5 não apenas aumenta o número de eosinófilos como também incrementa a sua função. Estudos *in vivo* demonstraram claramente ser a IL-5 a principal citocina reguladora da eosinofilia durante infestações por helmintos e doenças alérgicas (BAO *et al.*, 1996).

Nas infestações provocadas por helmintos, embora haja produção de anticorpos das classes IgM, IgG e IgA em resposta aos antígenos dos helmintos, a classe mais significativamente envolvida na resistência aos helmintos é a IgE. Os antígenos dos helmintos parecem promover preferencialmente a ativação das células Th2 e, como resultado disto, os indivíduos parasitados apresentam níveis elevados de IgE circulante (TIZARD, 2000). Os linfócitos B, após terem sido estimulados pela IL-4, diferenciam-se em plasmócitos e produzem IgE. Essas imunoglobulinas ligam-se à membrana de mastócitos e basófilos, e quando entram em contato com o antígeno, liberam substâncias mediadoras da inflamação. Portanto, estas são responsáveis pelas manifestações agudas das doenças alérgicas ou indicam infestação por helmintos (BAO *et al.*, 1996; BENDIXSEN *et al.*, 2004).

2.5 PROTEÍNAS SÉRICAS

As proteínas são elementos indispensáveis à vida, representando a base da estrutura de células, tecidos e órgãos. Funcionam como catalisadores enzimáticos nas reações bioquímicas, como hormônios na regulação endócrina, como nutrientes, como carreadores de muitos constituintes do plasma e na defesa imunológica, com anticorpos, citocinas, complemento e outras moléculas do sistema imune (LEAL *et al.*, 2003).

Pelo significado biológico e múltiplas funções exercidas no sistema orgânico, a avaliação dos níveis séricos das proteínas totais e de suas frações (albumina, alfa globulinas, beta globulinas e gama globulinas) obtidas por eletroforese, representa um importante auxílio ao diagnóstico clínico (LEAL *et al.*, 2003).

A análise do quadro de proteínas séricas é de particular interesse na bioquímica clínica, devido aos importantes progressos acumulados nos últimos anos sobre as características físico-químicas e estruturais das proteínas. Somase a esses aspectos, as propriedades fisiológicas e o significado clínico de numerosas proteínas séricas que, devido a continua evolução nas metodologias de suas caracterizações e quantificações, têm permitido auxiliar no diagnóstico de várias patologias que refletem no conteúdo dessas (NAOUM, 1999).

Entre os métodos de qualificação e quantificação dessas proteínas destaca-se a eletroforese, que permite uma avaliação aproximada das concentrações de várias proteínas importantes, cujas alterações estruturais, seja de regulação de suas sínteses, ou de seu maior consumo, podem refletir nas suas mobilidades eletroforéticas ou nas suas concentrações (NAOUM, 1999).

A eletroforese continua sendo a prova de triagem mais comumente utilizada para anormalidades das proteínas séricas, à exceção da determinação da albumina. Antes da eletroforese se tomar facilmente disponível, utilizava-se amplamente a relação albumina/globulinas, que era determinada por um método químico. A relação albumina/globulinas não deve ser mais solicitada, uma vez que a eletroforese não apenas fornece a mesma informação, como também demonstra com precisão frações em que podem ocorrer anormalidades das globulinas. Os vários métodos eletroforéticos produzem resultados variáveis, devido a fatores técnicos, e aos diferentes tipos de materiais utilizados na migração eletroforética. Alguns dos materiais padrões incluem papel de filtro, acetato de celulose, gel de agarose e gel de poliacrilamida. Cada método possui suas vantagens e desvantagens quanto à facilidade de execução, custo ou sensibilidade a certas frações protéicas (LEAL *et al.*, 2003; NAOUM, 1999).

A utilização da eletroforese tem sido ampliada nos últimos anos, devido o surgimento de aparelhos modernos e de simples utilização, e também da disponibilidade de meios de suporte industrializados. Conseqüentemente, os testes são efetuados com rapidez e uniformidade. A evidenciação de proteínas pela eletroforese é precisa e valiosa para estudos fisiopatológicos e imunopatológicos em animais (BRUNE e ALFENAS; 1998).

Até hoje foram identificados cerca de 200 tipos de proteínas plasmáticas, mas estas somente são identificadas por aparelhos de alta sensibilidade e por técnicas sofisticadas de diagnósticos bioquímicos. Entretanto, na rotina somente de dez a doze tipos podem ser detectados pelas técnicas comumente utilizadas, sendo que estas constituem mais de 90% do conteúdo protéico do soro, por isto, são componentes determinantes das zonas de traçado eletroforético. Para se obter uma nítida separação das proteínas plasmáticas deve-se utilizar o soro, pois a análise direta do plasma sofre interferência do fibrinogênio (KANEKO, 1997).

No exame de eletroforese do soro, as proteínas séricas são separadas em quatro frações principais: albumina, alfa, beta e gama globulinas. Entretanto dependendo da técnica e da espécie animal em questão, pode-se obter mais uma fração, a pré-albumina (FELDMAN; ZINKIL e JAIN, 2000; JAIN, 1986).

O principal local de produção das proteínas séricas é o fígado, onde são sintetizados a albumina, muitos fatores de coagulação e a maior parte das alfas e beta globulinas (JAIN, 1986). Outras fontes dessas proteínas são as células do sistema fagocítico mononuclear, linfócitos e plasmócitos (KANEKO, 1997).

As proteínas séricas consistem em albumina e globulinas, tanto na forma livre ou como proteínas transportadoras. A palavra “globulina” é um antigo termo químico de fracionamento que se refere à porção não-albumínica das proteínas séricas. Subseqüentemente, foi constatado que esta porção inclui um grupo heterólogo de proteínas, como glicoproteínas, lipoproteínas e imunoglobulinas (EK, 1970; LEAL *et al.*, 2003).

Em geral, as moléculas de globulina são maiores do que as de albumina, apesar da concentração total de albumina, em condições normais, ser duas a três vezes ao da globulina. A albumina parece ser mais ativa na manutenção da pressão oncótica do soro, onde normalmente é cerca de quatro vezes mais importante do que a globulina. Sendo responsável por cerca de 80% da pressão oncótica do plasma. A albumina também atua como proteína de transporte para alguns medicamentos e outras substâncias (ENGLER, 1995).

As globulinas exercem funções mais variadas do que a albumina e formam

o principal sistema de transporte de várias substâncias, além de constituir o sistema de anticorpos, as proteínas da coagulação, o complemento e certas substâncias de função especial, como as proteínas de “reação aguda” (NAOUM, 1999; KANEKO, 1997; LEAL *et al.*, 2003).

2.5.1 As principais proteínas

Pré-albumina:

Esta proteína é facilmente identificada nas aves, porém em outras espécies animais, há dificuldade em visualizar esta proteína por meio da eletroforese, ou porque está ausente em alguns animais domésticos (JAIN, 1986). Sendo esta sintetizada no fígado e com peso molecular de 50 a 60 kDa, a pré-albumina é considerada uma proteína de fase aguda negativa. Nos processos inflamatórios agudos é observada sua diminuição de concentração. A sua redução precoce e marcante está associada à insuficiência funcional das células hepáticas (NAOUM, 1999).

Albumina sérica:

As principais funções da albumina são o controle da pressão osmótica plasmática e transporte específico do material resultante de várias substâncias endógenas e exógenas, como a bilirrubina, ácidos graxos, ácidos biliares, histamina, IL-6, cálcio, cobre, zinco, corantes e fármacos. Observa-se a redução da albumina em processos inflamatórios agudos, por aumento da permeabilidade capilar, e em situações como a caquexia do câncer, subnutrição e diversas patologias no sistema digestivo que provocam má absorção. O decréscimo do nível de albumina também pode ocorrer por hepatopatias, onde a sua síntese encontra-se prejudicada. A perda da albumina também ocorre por nefropatias e por queimaduras cutâneas extensas (BIRGEL, 1982; ATHANASIADOU, 2000). A hiperalbuminemia é resultado de uma hemoconcentração, já que um acréscimo verdadeiro na concentração de albumina sérica não ocorre (JAIN, 1986).

Alfaglobulina:

No fracionamento da alfa-globulina, encontram-se outros subgrupos de proteínas, a alfa-1 antitripsina, alfa-2 antiqumiotripsina e da alfa-2 macroglobulina. Essas globulinas possuem uma função importante no controle da resposta inflamatória aguda, bloqueando as proteases liberadas a partir dos grânulos dos neutrófilos, bem como a trombina e a plasmina (TIZARD, 2000).

A alfa-1 antitripsina é um dos componentes mais importantes entre os inibidores de proteases. Esse grupo de proteínas possui a função de neutralizar as atividades das enzimas proteolíticas, seja de natureza bacteriana ou leucocitária, durante um processo inflamatório (TIZARD, 2000). Observa-se o aumento da alfa-1 antitripsina em casos de hepatopatias agudas e crônicas em fases não muito avançadas, e na fase terminal da cirrose, observa-se um decréscimo (ESTOMBA *et al.*, 1993).

A fração alfa-2 globulina é composta pelas proteínas alfa-2 macroglobulina e a haptoglobina (GREEN; JENKINS e CLARK, 1982). A primeira possui pouca importância clínica, pois a diminuição ocorre em casos de hepatopatias crônicas na fase avançada, pois sua síntese ocorre no fígado (NAOUM, 1999). A haptoglobina forma um complexo protéico com a hemoglobina livre plasmática, que é removido posteriormente por fagocitose, realizada pelas células reticulo-endoteliais (LASTRAS *et al.*, 2001). Durante uma infecção bacteriana os macrófagos liberam IL-1, estimulando os hepatócitos a secretarem a haptoglobina, sendo que esta molécula se conjuga ao ferro diminuindo sua disponibilidade para as bactérias (CHOI *et al.*, 2004). A haptoglobina está associada a anemia observada em algumas infecções severas ou crônicas, porque a haptoglobina reduz a disponibilidade de ferro para a produção de hemácias (TIZARD, 2000).

Betaglobulina:

As zonas das Betaglobulinas contem a transferrina, beta-lipoproteína e vários componentes do complemento (GREEN; JENKINS e CLARK, 1982; NUVOLE *et al.*, 1984), sendo que a redução no nível de betaglobulinas não é

muito comum.

A função da transferrina que é sintetizada no fígado é o transporte do ferro plasmático. Sua concentração e peso molecular variam conforme a espécie animal, de 76 a 90 kDa (JAIN, 1986). Quando ocorre um estado de carência de ferro, e há hemoglobina livre no soro ou fibrinogênio do sangue não coagulado, ocorre um aumento da transferrina. Entretanto, na prática clínica, o fator mais comum de aumento seja o jejum. As betaglobulinas também podem estar aumentadas quando os níveis séricos de colesterol estão elevados. Esse distúrbio pode ser resultante de hipertireoidismo, nefrose ou de alguns casos de diabetes, enquanto a sua diminuição é observada nas hepatopatias crônicas (CHOI *et al.*, 2004).

O C3 é o componente mais abundante do sistema complemento, sendo o mesmo sintetizado pelos hepatócitos e macrófagos (CHOI *et al.*, 2004). O aumento desse componente está relacionado à fase tardia da reação inflamatória aguda, por isso é considerada uma proteína de fase aguda positiva. Sua diminuição ocorre quando há um consumo excessivo, devido à ativação da complexa seqüência de reações em cascata do complemento (NAOUM, 1999);

Gamaglobulina:

As imunoglobulinas (Ig) também chamadas anticorpos são glicoproteínas. Estas são divididas em cinco classes, sendo a IgG a que possui maior concentração sérica nos mamíferos, seguida pela IgM e IgA. A IgE é encontrada em baixas concentrações no soro (JAIN, 1986; ORTONA *et al.*, 2002). As subclasses de imunoglobulinas dos ovinos são as IgG1, IgG2 e IgG3. Descreveu-se que alguns ovinos possuem uma IgG1a, mas esta molécula é provavelmente um alótipo (TIZARD, 2000).

A IgG, com peso molecular de 180 kDa e com concentração variável entre 1.700 a 2.000 mg/dl em ovinos, é produzida e secretada pelos plasmócitos, que são encontrados no fígado, medula óssea, baço e outros órgãos linfóides secundários. Essa é a imunoglobulina de maior concentração no sangue, e tem meia vida média de 20 dias. O aumento da IgG está relacionado aos casos de

doenças infecciosas, parasitárias, doenças do tecido conectivo, hepatopatias, mielomas e outros tumores (FERRE; ORTEGA e MORA; ROJO-VASQUEZ, 1997), enquanto a sua diminuição é observada em fetos, animais recém-nascidos que não ingeriram o colostro, em animais com imunodeficiências e em casos de agamaglobulinemia (VERVELDE *et al.*, 2003).

A IgM, apresenta uma concentração sérica de 150 a 250 mg/dl e peso molecular de aproximadamente 900 kDa. É a segunda imunoglobulina em concentração plasmática, mas a principal classe de imunoglobulina produzida durante uma resposta imune primária. A sua produção ocorre nos plasmócitos, baço, linfonodos e medula óssea. Esta imunoglobulina é mais eficiente que a IgG na ativação do complemento, opsonização, neutralização de vírus e aglutinação, e esta se encontra confinada na corrente sanguínea, por ser uma molécula de elevado peso molecular (JAIN, 1986; LASTRAS *et al.*, 2001).

A IgA é secretada pelos plasmócitos predominantemente localizados nas paredes dos tratos intestinal e respiratório, sistema urinário, pele e glândula mamária. Esta, quando produzida nas superfícies corpóreas, pode atravessar pelas células epiteliais para as secreções externas ou se difundir na corrente sanguínea, conseqüentemente, a maior parte da IgA produzida no intestino é transportada no fluido intestinal. Esta é transportada através das células epiteliais intestinais conjugadas a um receptor conhecido como receptor de imunoglobulina polimérica (RIgp) ou componente secretor. A molécula complexa formada, chamada de IgA secretora, torna-se resistente à digestão por parte das proteases intestinais. O principal modo de ação da IgA é o impedimento da aderência de microrganismos às superfícies corpóreas (BENDIXSEN *et al.*, 2004). Sua concentração sérica em ovinos varia de 10 a 50 mg/dl, e possui peso molecular de 360 kDa. Devido a sua presença nas membranas externas, os constituintes secretores da IgA formam uma primeira linha de defesa contra agressões do ambiente externo (STEAR *et al.*, 2004). Aparentemente, não conseguem ativar o complemento pela via clássica, fazendo-o pela via alternativa (JAIN, 1986; LASTRAS *et al.*, 2001).

A IgE, como a IgA, é produzida predominantemente pelos plasmócitos localizados nas paredes dos tratos intestinal e respiratório, sistema urinário, pele

e glândula mamárias. Possui peso molecular de 190 kDa e é encontrada em concentração extremamente baixa no soro. Devido a essa concentração ela não pode agir simplesmente através da conjugação e do recobrimento de antígenos, semelhante ao que as outras imunoglobulinas fazem (BENDIXSEN *et al.*, 2004).

As moléculas de IgE são encontradas conjugadas a receptores de mastócitos e basófilos e quando o antígeno se conjuga com essas moléculas, há liberação dos agentes inflamatórios a partir dessas células. Tem um papel importante na imunidade ativa contra parasitos, especialmente os helmintos, e nas doenças alérgicas. Possui uma meia vida de dois a três dias, sendo razoavelmente instável (BENDIXSEN *et al.*, 2004).

2.5.2 Fatores que influenciam a concentração das proteínas séricas

Fatores como a idade, dieta alimentar, estresse, hemoconcentração, gestação e lactação, são fatores biológicos que podem influenciar as concentrações das proteínas séricas (ABBOTT; PARKINS e HOLMES, 1986; KATARIA *et al.*, 1992; KANEKO, 1997).

Após o nascimento, observamos baixos valores de proteínas séricas, devido ao baixo nível de imunoglobulinas (LEAL *et al.*, 2003). Este quadro é rapidamente revertido a partir da ingestão do colostro. Os níveis normais de albumina e globulinas são alcançados na fase adulta, porém com o avanço da idade, os níveis de albumina decrescem ligeiramente, enquanto há um progressivo incremento nos níveis de globulinas (JAIN, 1986; LEAL *et al.*, 2003). Os indivíduos idosos apresentam um declínio das proteínas totais (LOPES *et al.*, 1996).

Existem várias condições patológicas que podem influenciar as concentrações das proteínas séricas, tais como as doenças que provocam febre, qualquer forma de injúrias nos tecidos e casos de hemorragias. Animais que apresentam desidratação, devido à redução do volume sanguíneo, apresentam valores aumentados das proteínas séricas (JAIN, 1986; KESSABI e LAMNAOUER, 1981).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

No presente estudo foram utilizados 40 animais da espécie ovina, sem raça definida e com mais de um ano de idade. Os animais que apresentavam sintomas clínicos evidenciavam secreção ocular, nasal e fezes de consistência pastosa o que caracterizava um quadro de diarreia. Ao exame das mucosas (palpebral e oral), alguns animais estavam com as mesmas hipocoradas.

As amostras foram coletadas na Cabanha Santa Suzana, localizada no macroanel rodoviário (Km 8,5), porção central do Estado de Mato Grosso do Sul. A região está a uma altitude média de 532 m acima do nível do mar e situa-se nas seguintes coordenadas geográficas: Latitude - 20° 26' 34 "Sul e Longitude - 54° 38' 47" Oeste. Os animais eram expostos à infestação natural por helmintos gastrintestinais. O manejo sanitário da propriedade era deficiente, sem programa estabelecido de desvermifugação.

Os animais foram divididos em quatro grupos, segundo a contagem de ovos de helmintos por grama de fezes (OPG). Portanto, os grupos contendo 10 animais cada, foram agrupados da seguinte maneira: grupo I (até 100 OPG) com o mínimo de zero e um máximo 100 OPG, grupo II (200 a 700 OPG) apresentando um número mínimo de 200 OPG e um máximo 700 OPG, grupo III (700 a 1.700 OPG) com um número mínimo de 900 OPG e um máximo 1700 OPG e grupo IV (mais de 1.700 OPG) com um número mínimo de 1800 OPG e um máximo 13200 OPG.

Dos animais experimentais foram coletadas fezes em frascos coletores universais, transportados para o laboratório sob refrigeração e processadas no

mesmo dia. As fezes no laboratório foram pesadas (2 gramas), e adicionadas a 58 ml de solução salina hipersaturada. Após homogeneização as amostras foram peneiradas no mínimo duas vezes e em seguida colocadas na câmara MacMaster para contagem (REINECK, 1983). Essa técnica foi realizada no microscópio Zeiss, modelo ICS Standard 25 utilizando a objetiva de 10 X. Também foram coletadas amostras de sangue por punção da veia jugular com seringas de 10 mL. Deste volume total 7 mL de sangue foram transferidos para tubos de ensaio sem anticoagulante, enquanto que 3 mL foram colocados em tubos de ensaio com anticoagulante (ácido etilenodiamino tetracético – EDTA). As amostras foram transportadas sob refrigeração para o laboratório. Foram utilizados 3 mL de sangue total, dispostos em tubos de ensaio com EDTA, para a realização do leucograma. As amostras com anticoagulante foram utilizadas para contagem global de leucócitos que foi realizada em câmara de Neubauer pelo método do hemocítômetro. Estas amostras foram preparadas por diluição do sangue total no reativo de Türk. O exame foi feito numa câmara de Neubauer em microscópio com a objetiva de 10x.

A contagem diferencial foi feita através de extensão sangüínea corada pelo corante panótico (Newprov), usado para coloração rápida na hematologia clínica, e após a obtenção da contagem relativa dos neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos, os números foram transformados em contagem absoluta de linfócitos (HEWITT, 1984).

O tubo com sangue sem anticoagulante foi centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos (Fanem, modelo 211), para obtenção do soro. O soro obtido foi congelado – 20° C, até ser analisada.

A separação das frações das proteínas foi realizada através da eletroforese. O suporte utilizado foi o gel de agarose. Para isto utilizou-se uma cuba com dois compartimentos separados por 5 a 10 cm, o primeiro contendo o eletrodo com fio preto, que determina o pólo negativo, e o segundo, o eletrodo com fio vermelho, que é o pólo positivo. Nos compartimentos foi colocada a solução tampão, e entre os compartimentos o suporte de eletroforese (agarose). As amostras foram colocadas no suporte, e então aplicada uma corrente elétrica para o posterior fracionamento das proteínas.

Na análise estatística foram consideradas as seguintes variáveis: proteínas totais (em g/dl), globulinas totais (em g/dl), gamaglobulinas, alfa globulinas e beta globulinas avaliadas pela eletroforese (em g/dl), linfócitos totais (em células/ml). Tais variáveis foram submetidas à análise de variância, de acordo com os quatro grupos experimentais. Nos casos em que houve significância no resultado, foi realizada a comparação entre médias dos grupos pelo método de Tükey. Foi realizado, também, o teste de correlação entre as variáveis citadas e os valores de OPG. Os testes foram realizados com níveis de significância igual a 5% ($p < 0,05$), conforme recomendam Berquó, Souza e Gotlieb (1981).

4 RESULTADOS

Os animais, dos quatro grupos experimentais apresentaram as médias dos leucócitos dentro dos valores referência para a espécie (4.000 a 12.000 céls. / μ L). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Os linfócitos dos animais pertencentes aos grupos I, II e III não apresentaram diferença estatisticamente significativa, enquanto que os animais do grupo IV apresentaram diferença significativa entre as medias conforme indicado na Tabela 1.

TABELA 1- Valores médios (e desvio padrão) de parâmetros imunológicos de ovinos naturalmente infectados por helmintos gastrintestinais

Parâmetros	Grupos			
	I (até 100 OPG)	II (200 a 700 OPG)	III (900 a 1.700 OPG)	IV (mais 1.700 OPG)
Leucócitos (céls. / μ L).	6,97 a (1,90)	8,56 a (3,47)	9,0 a (2,89)	9,03 a (2,35)
Linfócitos (céls. / μ L).	3,71 a (1,56)	3,02 a (1,11)	3,04 a (1,38)	2,91 b (1,09)

Obs.: Por meio das letras (a e b) indica-se as diferenças estatisticamente significantes a nível de 5% ($p < 0,05$), pelo método de Tükey.

A concentração média das proteínas séricas totais dos animais dos grupos I, II e III, apresentaram valores normais para a espécie, não havendo diferença estatística significativa. Porém os animais do grupo IV tiveram uma concentração média, abaixo do valor normal para a espécie. As frações albumina e

gamaglobulina nos grupos I, II, III não diferiram, segundo o teste de Tükey, porém, o grupo IV, evidenciou diferença.

GRAFICO 1- Valores médios de leucócitos e linfócitos de ovinos infestados por helmintos gastrintestinais.

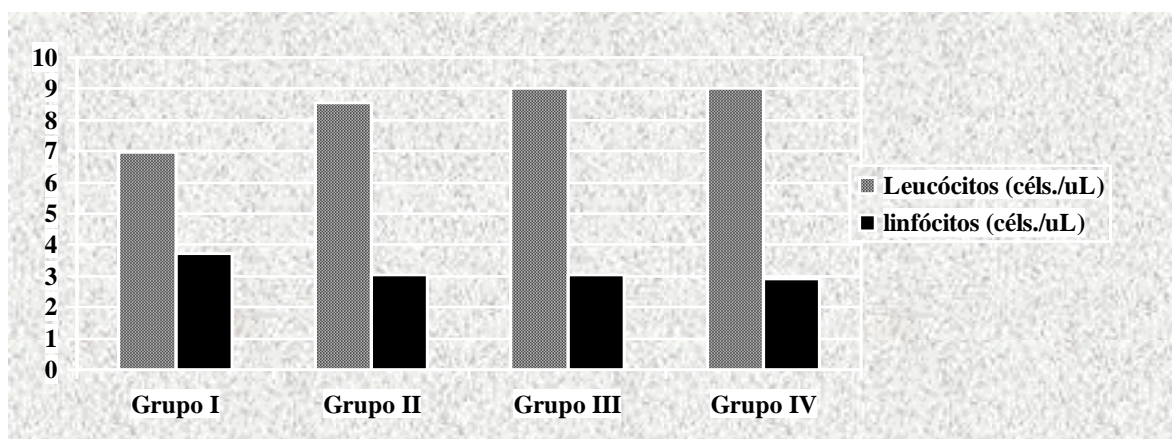


TABELA 2 - Valores médios (desvio padrão) de proteínas séricas totais, albumina, gamaglobulina e frações globulínicas determinados por eletroforese no soro de ovinos dos quatro grupos experimentais.

Parâmetros	Grupos			
	I (até 100 OPG)	II (200 a 700 OPG)	III (900 a 1.700 OPG)	IV (mais 1.700 OPG)
Proteínas totais (g/dl)	7,24 a (1,02)	7,18 a (0,51)	7,18 a (0,71)	5,88 b (0,96)
Gamaglobulina (g/dl)	2,88 a (0,89)	2,34 a (0,94)	2,03 a (1,03)	1,98 b (1,39)
Alfa 1 globulina (g/dl)	0,61 a (0,07)	0,63 a (0,15)	0,58 a (0,08)	0,55 a (0,10)
Alfa 2 globulina (g/dl)	0,69 a (0,22)	0,82 a (0,12)	0,72 a (0,15)	0,72 a (0,10)
Betaglobulina (g/dl)	1,02 a (0,23)	0,92 a (0,23)	0,96 a (0,25)	1,06 a (0,44)
Albumina (g/dl)	3,57 a (0,18)	3,24 a (0,27)	2,93 a (0,14)	2,14 b (0,17)

Obs.: Por meio das letras (a e b) indica-se as diferenças estatisticamente significantes a nível de 5% ($p < 0,05$), pelo método de Tükey.

As frações alfa-1 globulina, alfa-2 globulina e betaglobulina os resultados destas mostraram-se estatisticamente semelhantes conforme demonstrado na Tabela 2.

GRAFICO 2 – Valores médios das proteínas séricas, gamaglobulinas e albumina de ovinos infestados por helmintos gastrintestinais.

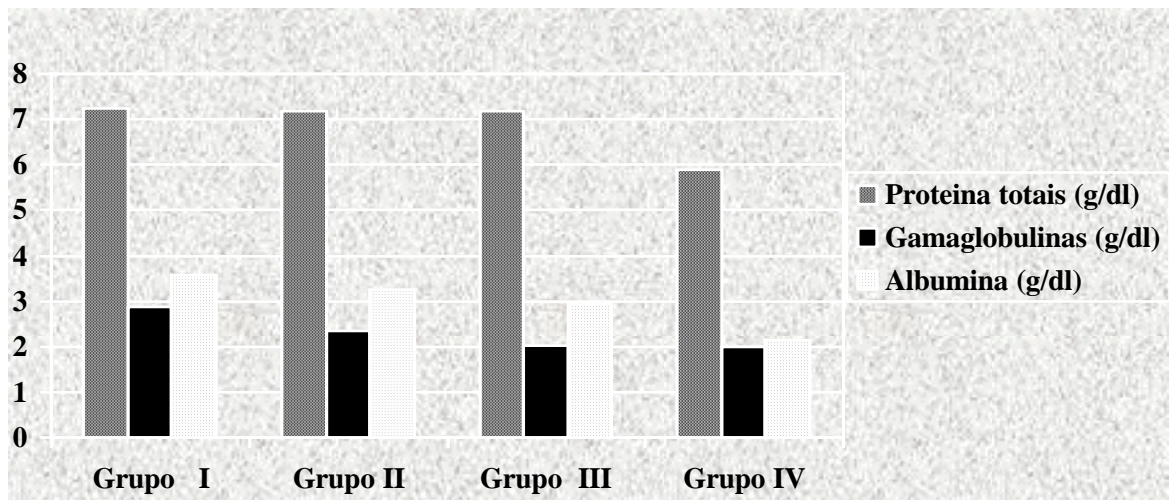


GRAFICO 3 - Valores médios das alfa 1 globulinas, alfa 2 globulinas e betaglobulinas de ovinos infestados por helmintos gastrintestinais

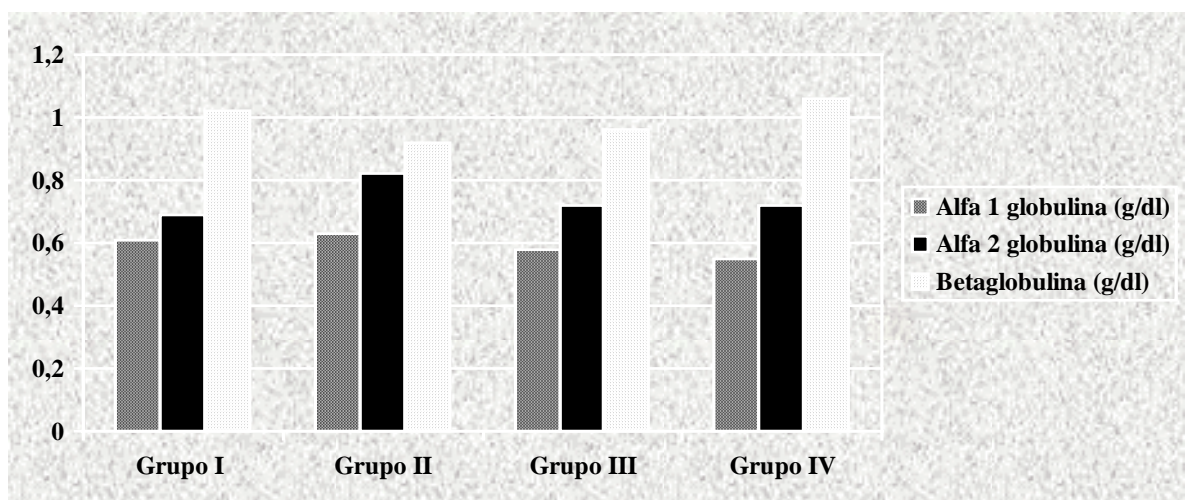


TABELA 3 - Correlação (r) entre parâmetros imunológicos celulares e humorais e contagem de ovos nas fezes dos ovinos dos quatro grupos experimentais

Correlação	Valor de r
Leucócitos x OPG	0,229
Linfócitos x OPG	- 0,03
Proteínas totais x OPG	- 0,14
Gamaglobulina x OPG	- 0,061
Alfa 1 globulina x OPG	- 0,10
Alfa 2 globulina x OPG	0,02
Betaglobulina x OPG	0,14
Albumina x OPG	- 0,25

Ao realizar o teste de correlação com a contagem de ovos (OPG), encontrou-se uma correlação negativa com as variáveis (proteínas totais, gamaglobulinas, linfócitos, alfa 1 globulina e albumina), ou seja, quanto maior a contagem do OPG, menor o valor das variáveis citadas e estudadas acima. E para os leucócitos, a alfa 2 globulina e Betaglobulina, quanto maior o valor do OPG, maior foi número de leucócitos, alfa 2 globulina e Betaglobulina, ou seja, correlação positiva, conforme descrito na Tabela 3.

5 DISCUSSÃO

Conforme observado no OPG das fezes, alguns animais chegaram a níveis próximos de 2.000 OPG, que reflete o nível alto de contaminação das pastagens e o número de parasitas no animal. Segundo Amarante (1995), a criação de ovinos está estabelecendo-se em áreas pequenas e com superlotação, fazendo com que o alto índice de larvas nas pastagens seja uma fonte de contaminação constante.

Possivelmente o principal parasita responsável pelas alterações encontradas seja o *Haemonchus contortus*, pois segundo Baker *et al.* (1982) citado por Silva *et al.*, (2002), descreveram hipoproteinemia com hipogamaglobulinemia em animais com hemoncose. Ressalta-se que neste trabalho os animais do grupo IV, apresentaram tais alterações. As infecções, na maioria das vezes, são mistas (AMARANTE, 1995). Assim é razoável supor que havia parasitismo por espécies de *Trichostrongylus colubriformis* e que também podem ter sido responsáveis pelas alterações encontradas.

Ao avaliar as alterações das proteínas séricas, leucócitos e linfócitos, verificamos os efeitos do parasitismo e como o animal está reagindo frente a estes parasitas. Isto foi possível porque, ao serem analisados os valores individuais dos animais estudados, observou-se uma grande variabilidade de resposta, também encontrada por outros autores (WINDON; DINEEN e KELLY, 1980; ALBERS *et al.*, 1987; PADILHA, 2000).

Os resultados também demonstram que é possível selecionar animais resistentes aos helmintos gastrintestinais conforme descrito por Woolaston,

Barger e Piper (1990). Essa avaliação pode ser um instrumento valioso para estabelecer um programa de controle parasitário, pois através dos exames realizados, verificou-se que animais que tiveram a contagem acima de 1.700 ovos por grama de fezes apresentaram alterações significativas das proteínas séricas totais, das frações albumina e gamaglobulina e diminuição da contagem absoluta de linfócitos.

Os animais do grupo IV apresentaram redução dos valores das proteínas totais e albumina, conforme descrito por Baker et al. (1982) citado por Silva *et al.*, (2002) e Vervelde *et al.* (2003), que descreveram hipoproteïnemia em animais com intensa infestação parasitaria. Houdijk *et al.* (2001), Johnston e Morris (1996) demonstraram que o parasitismo intestinal por helmintos pode provocar estado nutricional precário, devido à diminuição da absorção de nutrientes, anorexia e anemia, causando hipoproteïnemia nestes animais.

A grande perda de proteínas (parasitismo intestinal) leva a diminuição em todas as frações, mas a redução mais dramática é observada na albumina. Houdijk *et al.* (2001), descreve que distúrbios gastrintestinais crônicos interferem com a digestão e absorção, podem levar a inadequada provisão de substratos aminoácidos para a produção de proteínas.

Observou-se uma gradativa redução nos valores das gamaglobulinas, sendo esta mais intensa no grupo IV, resultados que estão de acordo com Silva *et al.* (2002) e Baker *et al.* (1982) citado por Silva *et al.*, (2002), que observaram hipogamaglobulinemia em animais com helmintose. O sistema imune é fortemente afetado pela privação severa de proteínas com diminuição da síntese de imunoglobulinas resultando em hipogamaglobulinemia e diminuição da resistência a infecções (VERVELDE *et al.*, 2003).

No presente estudo foi verificadas alterações apenas na fração alfa 2 globulina, onde foi observado aumento desta, conforme houve um acréscimo do OPG. Possivelmente o aumento dessa fração deve-se ao fato da mesma ser considerada uma proteína de fase aguda positiva, que compartilham propriedades de apresentarem elevações nas concentrações em respostas a situações de estresse ou condições inflamatórias (LASTRAS *et al.*, 2001).

Em face aos resultados encontrados no grupo IV, podemos inferir que a maior infestação fez com que os animais apresentassem hipoproteinemia, logo estes animais poderão apresentar baixo ganho de peso, diminuição da quantidade e qualidade de lã, eficiência reprodutiva baixa e diminuição da qualidade do produto enviado ao mercado consumidor. A soma desses fatores acarreta inúmeras perdas produtivas e econômicas. As perdas causadas por helmintos, estão relacionadas à baixa produtividade, devido aos custos com tratamento, profilaxia e morte dos animais (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA, 1987; HARRISON *et al.*, 2002).

6 CONCLUSÕES

O presente trabalho permite inferir que animais com intensa parasitose intestinal, apresentam redução das proteínas séricas totais, e das frações albumina e globulina, e que a hipoproteinemia resultante pode afetar a resposta imune dos animais.

Os resultados do OPG nas fezes associados à eletroforese das proteínas séricas constituem indicadores para controle parasitário de ovinos e seleção de animais resistentes a helmintos.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, E. M.; PARKINS, J. J.; HOLMES, P. H. The effect of dietary protein on the pathogenesis of acute ovine haemonchosis. **Vet Parasitology**, v. 20, n. 4, p. 275-89, Apr 1986. Disponível em: <<http://www.entrez/utis/lofref.Fcgi?PrId=3048&uid=14700534&db=pubmed&url=http://linkinghub.Elsevier.Com/retrieve/pii/S0165242703001892>>. Acesso em: 15 jul. 2004.
- ALBERS, G. A. A. GRAY, G. D., PIPER, L. R., BARKER, J. S. F., LE JAMBRE, L. F. BARKER, I. A.. The genetics of resistance and resilience to *Haemonchus contortus* infection in young Merino sheep. International. **Journal for Parasitology**, v. 17, n. 7, p. 1.355-1.363, 1987.
- AMARANTE, A. F. T. Atualidades no controle das endoparasitoses ovinas. In: **SIMPÓSIO PAULISTA DE OVINOCULTURA**, 4., 1995, Campinas-SP. *Anais...* Campinas: CATI-ASPACO, 1995. p. 33-49.
- AMARANTE, A.F.T. FERNANDES, L.H; SENO, M.C.Z; . SOUZA, H; BELLUZZO C.E.C. Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 29, p. 31-38, 1992.
- AMARANTE, A. F. T. Host specificity of sheep and cattle nematodes. **Vet. Parasitol.**, São Paulo, v. 73, p. 89-104, 1997.
- AMARANTE, A. F. T. BRICARELLO, P.A, HUNTLEY, J.F, MAZZOLIN, L.P. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Vet Parasitol**, v. 120, n. 1-2, p. 91-106, Feb 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15019147>. Acesso em: 20 nov. 2004.
- ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R.L. Consequences of long-term feeding with condensed tannins on sheep parasitised with *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitology**, v. 30, n. 9, p. 1.025-1.033, Aug 2000.

BALIC, A.; BOWLES, V. M.; MEENSEN, E. N. T. The immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Adv Parasitol**, v. 45, p. 181-241, 2000.

BAO, S. S. J. MC CLURE, D. L. EMERY, J. HUSBANDD. Interleukin-5 mRNA expressed by eosinophils and gamma/delta T cells in parasite-immune sheep. *Eur J Immunol*, v. 26, n. 3, p. 552-6, Mar 1996. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=8605920. Acesso em: 12 nov. 11/2004.

BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. R.; SIQUEIRA, E. R. Estudo da ocorrência de helmintos de ovinos de cinco diferentes raças criadas em Botucatu. In: **CONGRESSOS BRASILEIROS DE PARASITOLOGIA**, 11., 1989, Rio de Janeiro. *Resumos...* Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1989. p. 143.

BARRAGRY, T. B. Growth-promoting agents. In: _____. **Veterinary drug therapy**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1994. p. 597-654.

BENDIXSEN, T. WINDON, R.G.; HUNTLEY, J.F. Development of a new monoclonal antibody to ovine chimeric IgE and its detection of systemic and local IgE antibody responses to the intestinal nematode *Trichostrongylus colubriformis*. **Vet Immunol Immunopathol**, v. 97, n. 1-2, p. 11-24, Jan 2004. Disponível em: <http://www.entrez/utills/lofref.fcgi?PrId=3048&uid=14700534&db=pubmed&url=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242703001892>. Acesso em: 15 jul. 2004.

BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J. M. P.; GOTLIEB, S. L. D. **Bioestatística**. São Paulo: Pedagógicas e Universitárias, 1981.

BIRGEL, E. H. Hematologia clínica veterinária. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982. p. 2-50.

BIRO, L. Cytokine regulation of the acute-phase protein levels in multiple myeloma. **Eur J Clin Invest**, v. 28, n. 8, p. 679-86, 1998.

BRUNE, W.; ALFENAS, A. C. Modalidades da eletroforese. In: ALFENAS, A. C. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins, fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Viçosa: UFV, 1998. p. 25-84.

BUDDLE, B. M.; JOWETT, G.; GREEN, R. S.; DOUCH, P. G. C. & RISDON, P. L.. Association of blood eosinophilia with the expression of resistance in Romney lambs to nematodes. **International Journal for Parasitology**, v. 22, n. 7, p. 955-960, 1992.

CARTA, A.; SCALA, A. Recent findings on the genetics of gastro-intestinal nematode resistance in ruminants. **Parasitologia**, v. 46, n. 1-2, p. 251-255, jun. 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=A>. Acesso em: 20 out. 2004.

CHOI, Y. BAZER, F.W.; JOHNSON, G.; SPENCER, T.E. Pregnancy and interferon tau regulate major histocompatibility complex class I and beta2-microglobulin expression in the ovine uterus. **Vet Immunology Immunopathol**, v. 97, n. 1-2, p. 11-24, Jan 2004. Disponível em: <http://www.entrez/utills/lofref.fcgi?PrId=3048&uid=14700534&db=pubmed&url=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242703001892>. Acesso em: 15 jul. 2004.

EK, N. Studies of electrophoresis on cellulose acetate membrane of serum proteins from normal horses, sheep and pigs. **Acta Veto Scand**, v. 21, n. 2, p. 295-304, 1970.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Relatório técnico anual**. Bagé: EMBRAPA/UEPAE, 1987.

ENGLER, R. Acute-phase proteins in inflammation. **CR Séances Soc Biol Fil**, v. 189, n. 4, p. 563-78, 1995.

ESTOMBA, A.; AGUIRRE, A.; VICARIO, A.; MAZON L.I. An improved method for typing of plasma alpha 1-protease inhibitor (PI1) variants in sheep. **Anim Genet**, v. 24, n. 2, p. 133-4, Apr 1993.

FELDMAN, B. C.; ZINKIL, J. G.; JAIN, M. C. **Veterinary hematology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

FERRE, I.; ORTEGA-MORA, L. M.; ROJO-VASQUEZ, F. A. Serum and bile antibody responses (IgG and IgA) during sub clinical fasciola hepatica infection in sheep. **Vet Parasitol**, v. 68, n. 3, p. 261-7, Feb 1997. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=9066071. Acesso em: 20 out. 2004.

FUST, G.; CSASZAR, A. Cytokine regulation of the acute-phase protein levels in multiple myeloma. **Eur J Clin Invest**, v. 28, n. 8, p. 679-86, 1998.

GREEN, S. A.; JENKINS, S. J.; CLARK, P. A. A comparison of chemical and electrophoresis methods of serum protein determinations in clinically normal domestic animals of various ages. **Cornell Vet**, v. 72, p. 416-26, 1982.

GRUNER, L.; BOUIX, J.; BRUNEL, J. C. High genetic correlation between resistance to *Haemonchus contortus* and to *Trichostrongylus colubriformis* in 401 sheep. **Vet. Parasitol.**, v. 119, n. 1, p. 51-8, Jan 2004. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15036576. Acesso em: 20 out. 2004.

HARRISON, G. B. HAWKEN, R.J.; HEINDLEDER, S.; HENRY, H.M.; MEDRANO, J.F.; PATERSON, K.A.; SCHIBLER, L. Intestinal infusion of soluble larval antigen stimulates rejection of heterologous nematode larvae by immune sheep. **Parasitol Res**, v. 88, n. 5, p. 463-7, May 2002. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=12049466. Acesso em: 20 nov. 2004.

HEWITT, S. G. Hematology. In: GRAY, D. E. **Manual of veterinary investigation, laboratory techniques**. 3. ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1984. v. 2. cap. 6, p. 45-60.

HOODA, V. YADAV, C.L.; CHAUDHRI, S.S.; RAJPUROHIT, B.S. Variation in resistance to haemonchosis: selection of female sheep resistant to *Haemonchus contortus*., **J. Helminthol: revisit ad Haryana Agricultural University, Hisar**, India, v. 73, n. 2, p. 137-42, Jun 1999 Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=10431374>. Acesso em: 10 nov. 2004.

HOUDIJK, J. G. KYRIAZAKIS, I.; COOP, R. L.; JAKSON, F. The expression of immunity to teladorsagia circumcincta in ewes and its relationship to protein nutrition depend on body protein reserves. : **Parasitology**, v. 122, n. 6, p. 661-72, Jun.2001.Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11444619>. Acesso em: 16 nov. 2004.

JAIN, N. C. The plasma proteins, dysproteinemias and immune deficiency disorders. In: **Sham's veterinary hematology**. 4. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p. 940-83.

JOHNSTON, J. K.; MORRIS, D. D. Alterations in Blood Proteins. In: SMITH, B. P. (Ed.). **Large animal internal medicine**. 2. ed. Saint Louis: Mosby, 1996. p. 489-97.

KAHN, L. P. KYRIAZAKIS, I.; JAKSON, F.; COOP, R. L. Temporal effects of protein nutrition on the growth and immunity of lambs infected with *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitology**. v. 30, n. 2, p. 193-205, Feb 2000.

KANEKO, J. J. Serum proteins and the dysproteinemias. In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5. ed. New York: Academic Press, 1997. p. 117-37.

KASSAI, T.; TAKA, T.S.; REDL, P. Is there a relationship between hemoglobin genotype and the innate resistance to experimental *Haemonchus contortus* infection in Merino lambs? **Veterinary Parasitology**, v. 37, p. 61-77, 1990.

KATARIA, N. KATARIA, A.K.; AGARWAL, V.K.; GARG, S.L.; SAHANI, M.S. A qualitative study of electrophoresis pattern of serum proteins in some ruminants. **Indian Veto J**, v. 69, p. 265-6, 1992.

KESSABI, M.; LAMNAOUER, D. Serum proteins and their fractions in the Timahdite sheep in Morocco: variations with age and with liver or lung diseases. **Ann. Rech. Vet.** v. 12, n. 3, p. 233-237, 1981. Disponível em: <http://www.entrez/utills/lofref.fcgi?PrId=3048&uid=14700534&db=pubmed&url=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242703001892>>. Acesso em: 15 jul. 2004.

LARSEN, J. W. A. ANDERSON, N.; VIZARD, A.L.; ANDERSON, G.A.; HOSTE, H. Diarrhea in Merino ewes during winter: association with *Trichostrongylus* larvae. **Aust. Vet. J.**, v. 71, p. 365-372, 1994.

LASTRAS, M. E.; BARKER, V.A.; BARKSDALE, W.J.; BARLOTTI, A.; BARNA, A. I. Electrophoretic patterns and immunoglobulin G levels in mouflon (*Ovis orientalis musimon*) and roe deer (*Capreolus capreolus*). **J. Zoo Wildl. Med.**v. 32, n. 4, p. 426-9, Dec 2001.

LEAL, M. L. R.; MARTA, L. R. L.; BENESIL, F. J.; LISBOAL, J. N.; COELHO, C. S.; MIRANDOLAL, R. M. S.. Proteinograma sérico de bezerras sadias, da raça holandesa, no primeiro mês pós-nascimento. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**, São Paulo, v. 40, n. 2, 2003.

LLOYD, S. End parasitic disease in goats. **Goat Veterinary Society Journal**, Cambridge, v.8, n.1, p.32-9,1987.

LOPES, S. T. **Patologia clínica veterinária**. Santa Maria-RS: Universidade Federal de Santa Maria, 1996.

MACEDO, J. B. R. R. Níveis de infecções parasitárias em cordeiros de 6, 10 e 14 semanas de idade. **Bol. Pesquisa EMBRAPA/UEPAE**, v. 6, p. 1-19, 1986.

MEEUSEN, E. N.; PIEDRAFITA, D. Exploiting natural immunity to helminthes parasites for the development of veterinary vaccines. **Int. J. Parasitology**, v. 33, n. 11, p. 1.285-90, Sep 2003. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=13678643. Acesso em: 20 out. 2004.

NAOUM, P. C. **Eletroforese: técnicas e diagnóstico**. 2. ed. São Paulo: Santos, 1999.

NUVOLE, P. Parametric ematochimici in pecore e capre di razza sarda: quadro elettroforetico delle proteine plasmatiche. **Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.** v. 60, n. 2, p. 299-305, 1984.

ORTONA, E. RIGANP, R.; GIOIA, I.; NOTARGIOCOMO, S. Immunological characterization of *Echinococcus granulosus cyclophilin*, an allergen reactive with IgE and IgG4 from patients with cystic echinococcosis. **Clin. Exp. Immunol:** revista do Istituto Superiore di Sanita, Rome, Italy, v. 128, n. 1, p. 124-30, Apr 2002. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=11982600. Acesso em: 11 out. 2004.

OZAKI, S. Ovinocultura alternativa econômica para pequenos produtores. **Revista MetrÓpole**. V. 78, n. 58, Apr. 2005.

PADILHA, T.; GASBARRE, L.; MARTINEZ, M. L.; VIERRA, L. S. Genética: a nova arma no controle de doenças. **Balde Branca**, v. 36, n. 229, p. 58, jul. 2000.

PINHEIRO, A. C. Verminose ovina. **A Hora Vet.** V. 12, p. 5-9, 1983.

PREMIER, R. R.; ROBERT, R.; JACOBS, H.J.; LOFTHOUSE, S. A.; SEDGMEN, B. J. MEEUSEN, E. N. T. Antibody isotype profiles in serum and circulating antibody-secreting cells following mucosal and peripheral immunisations of sheep. **Vet. Immunol Immunopathol**, v. 98, n. 1-2, p. 77-84, Mar 2004.

REINECK, R. K. **Veterinary Helminthology**. Durban: Butterwoths Publishers, 1983.

ROITT, I., BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. 5. ed. São Paulo: Manole, 1999.

SANTOS, V. T. **Ovinocultura – princípios básicos para sua instalação e exploração**. São Paulo, livraria Nobel S.A. 19854. 167 P.

SHAW, R.J.; GATEHOUSE, T. K.; MCNEILL, M. M. Serum IgE responses during primary and challenge infections of sheep with *Trichostrongylus colubriformis*. **Int. J. Parasitology**: revista da Wallace Ville Animal Research Centre, Upper Hutt, New Zealand, v. 28, n. 2, p. 293-302, Feb 1998. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=9512992. Acesso em: 11 out. 2004.

SIEVERS, G. JARA, M. CÁRDENAS, C. NÚÑEZ, J. Estudio anual de la eliminación de huevos y ooquistes de parásitos gastrointestinales y larvas de nemátodos pulmonares en ovinos de una estancia en Magallanes, Chile. **Arch Med Vet, Valdivia**, v. 34, n. 1, p. 37-47, 2002.

SILVA, M.M.; FARIA JÚNIOR, S.P.; SCHEIBEL, M.; MARTINS, M.F.M.; RABELLO, P.; PASCOAL, P.M.; BERTAGNON, H.G.; BORELLI, P.; MARTINEZ, M.B.; OLIVEIRA, A.A.M.; GARCIA, M.. Efeito da verminose na resposta imune em caprinos. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 15-21, jan./jun. 2002.

SMITH, W. D.; JAKSON, F. ; JAKSON, E. Resistance to *Haemonchus contortus* transferred between genetically histocompatible sheep by immune lymphocytes. **Res. Vet. Sci.** v. 37, p. 199-204, 1994.

SPRY, C. J. F.; Synthesis and secretion of eosinophil granule substances. In: SPRY, C. J. F.; TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 1996.

SRÉTER, T; KASSAI, T; TAKÁCS, E. The heritability and specificity of responsiveness to infection with *Haemonchus contortus* in sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 24, n. 6, p. 871-876, 1994.

STEAR, M. J.; PARK, M.; BISHOP, S.C. Bishop Eosinophilia as a marker of resistance to *Teladorsagia circumcincta* in Scottish Blackface lambs. **Parasitology**, v. 124, n. 5, p. 553-560, May 2002.

STEAR, M. J.; BAIRDEN, K.; INNOCENT, G. T.; MITCHELL, S.; STRAIN, S. and BISHOP, S. C. The relationship between IgA activity against 4th-stage larvae and density-dependent effects on the number of 4th-stage larvae of *Teladorsagia circumcincta* in naturally infected sheep. **Parasitology**, v. 129, n. 3, p. 363-9, Sep

2004. Disponível em: <<http://www.entrez/utils/lofref.fcgi?PrId=3048&uid=14700534&db=pubmed&url=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165242703001892>>.

Acesso em: 12 nov. 2004.

STEVENSON, L. M.; COLDITZ, I. G.; LEJAMBRE, L. F. Expression of cell surface adhesion molecules by peripheral blood eosinophils during *Trichostrongylus colubriformis* infection in sheep. **Immunol. Cell Biol.**, v. 79, n. 3, p. 240-244, Jun 2001.

STITES, D. P. A.; PARSLON, T. **Imunologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

TIZARD, I. R. **Veterinary immunology: an introduction**. 5. ed. Philadelphia: Saunders, 2000.

VANIMISETTI, H. B.; GREINER, P.; ZAJAC, A. M.; NOTTER, D. R. Performance of hair sheep composite breeds: resistance of lambs to *Haemonchus contortus*. Department of Animal and Poultry Sciences, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg 24061, USA. **J. Anim. Sci.** v. 82, n. 2, p. 595-604, Feb 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=15019147>. Acesso em: 20 nov. 2004.

VERVELDE, L. N. BAKKER, F. N. J.; KOOYMAN, A. W. C. A.; CORNELISSEN, C. M. C.; BANK, A. K.; NYAME, R. D. Cummings, and I. van Die. Vaccination-induced protection of lambs against the parasitic nematode *Haemonchus contortus* correlates with high IgG antibody responses to the LDNF glycan antigen. **Glycobiology**, v. 13, n. 11, p. 795-804, Nov 2003.

VIEIRA, G. V. N. **Criação de ovinos**. 3. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1967. 480 p.

WINDON, R. G. Genetic control of resistance to helminthes in sheep. **Vet Immunology Immunopathol**, v. 54, n. 1-4, p. 245-54, Nov 1996. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=pubmed&dopt=Abstract&list_uids=8988871>. Acesso em: 12 nov. 2004.

WINDON, R. G.; DINEEN, J. K.; KELLY, J. D. The segregation of lambs into "responders" and "nonresponders": response to vaccination with irradiated *Trichostrongylus colubriformis* larvae before weaning. **International Journal for Parasitology**, v. 10, n. 1, p. 65-73, 1980.

WOOLASTON, R. R.; BARGER, I. A.; PIPER, L. R. Response to helminths infection of sheep selected for resistance to *Haemonchus contortus*. **International Journal for Parasitology**, v. 20, n. 8, p. 1.015-1.018, 1990.

YACOB, H. T.; JACQUIET, P.; PREVOT, F.; BERGEAUD, J.P. Concurrent parasitic infections of sheep: depression of *Trichostrongylus colubriformis* populations by a subsequent infection with *Oestrus ovis*. UMR 1225, INRA DGER Interactions Hôtes Agents Pathogènes, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 23 Chemin des Capelles, F31076 Toulouse Cedex, France. **Vet. Parasitol.**, v. 121, n. 3-4, p. 297-306, 26 May 2004.

