

CORRELAÇÃO ENTRE pH ABOMASAL E PRESENÇA DE *Haemonchus contortus* EM OVINOS NATURALMENTE PARASITADOS

Marilia Salgado¹
Raimundo Souza Lopes²
Soraya Regina Sacco³

RESUMO

A presença de *Haemonchus contortus* e outros helmintos gastrointestinais no abomaso poderia mudar a acidez local necessária para a operação adequada de enzimas catalíticas que têm um pH ótimo extremamente baixo. O nosso objetivo foi avaliar as alterações hematológicas e do líquido abomasal de ovelhas com cargas parasitárias de *H. contortus* no abomaso: negativa (livre de parasitas), leve, moderada e pesada. A análise foi feita após o abate regular e a carga parasitária foi determinada pela coleta de vermes adultos e imaturos no conteúdo abomasal. Os resultados mostraram associações entre maiores valores de pH abomasal e maior carga parasitária. O aumento do pH abomasal pode facilitar a persistência do parasita e, portanto, a manutenção da acidez do líquido abomasal pode ser uma estratégia contra a resistência anti-helmíntica, a fim de evitar maiores perdas na produção.

Palavras-chave: Brasil, helmintos, ovinos, parasitismo, infecção natural.

CORRELATION BETWEEN ABOMASAL PH AND PRESENCE OF *Haemonchus contortus* IN SHEEP NATURALLY INFECTED

ABSTRACT

The presence of *Haemonchus contortus* and other gastrointestinal helminths in the abomasum could change the local acidity necessary for the proper operation of catalytic enzymes that have extremely low optimum pH. We aimed to evaluate the haematological changes and abomasal fluid of sheep with parasitic loads of *H. contortus* in the abomasum: negative (parasite free), light, moderate and heavy. The analysis was made after the regular slaughter and parasite load were determined by collecting adult and immature worms in the abomasal content. The results showed associations between higher pH abomasal values and greater parasitic load. As increasing the abomasal pH can facilitate the parasite's persistence, maintaining acidity could be a good strategy to avoid further losses in production due to these parasites.

Index terms: Brazil, livestock, helminths, naturally infection, parasitism

CORRELACIÓN ENTRE PH ABOMASAL Y PRESENCIA DE *Haemonchus contortus* EN OVINOS NATURALMENTE PARASITADOS

RESUMEN

La presencia de *Haemonchus contortus* y otros helmintos gastrointestinales en el abomaso podría modificar la acidez local necesaria para el buen funcionamiento de las enzimas

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP-Botucatu. Correspondência: marilia.salgado@unesp.br.

² Docente da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. UNESP-Botucatu. souzalopes@fmvz.unesp.br.

³ Professora de Patologia Clínica Veterinária e Parasitologia Veterinária, Instituto Federal Catarinense.

catalíticas que tienen un pH ideal extremadamente bajo. Nuestro objetivo fue evaluar los cambios hematológicos y del fluido abomasal en ovejas con cargas parasitarias de *H. contortus* en el abomaso: negativo (libre de parásitos), ligero, moderado y pesado. El análisis se hizo después del sacrificio regular y la carga parasitaria se determinó recogiendo parásitos adultos e inmaduros en el contenido abomasal. Los resultados mostraron asociaciones entre valores de pH abomasales más altos y una mayor carga de parásitos. El aumento del pH del abomaso puede facilitar la persistencia del parásito y, por consiguiente, el mantenimiento de la acidez del líquido abomasal puede ser una estrategia contra la resistencia a los antihelmínticos a fin de evitar mayores pérdidas en la producción.

Palabras-clave: Brasil, helmintos, ovinos, parasitismo, infección natural.

INTRODUÇÃO

Dentre os problemas que afetam a ovinocultura no Brasil e no mundo, destaca-se a verminose causada principalmente pelo nematóide *Haemonchus contortus* (1,2). Por ser um parasita hematófago, *H. contortus* promove lesões severas na mucosa abomasal (1). Apesar de pequeno, cada verme adulto consome 0,05mL de sangue/dia, assim uma ovelha com infecção moderada de 2000 vermes pode perder de 5-7% de seu volume de sangue/dia, ocasionando anemia, hipoproteinemia e pequeno ganho de peso (3).

A digestão química ocorre no abomaso onde o suco gástrico atua na digestão enzimática de proteínas pela digestão química. O líquido abomasal possui composição semelhante ao suco gástrico nos humanos, entretanto sua atividade proteolítica e sua concentração de HCl são menores (4). Compostos não degradados e micro-organismos seguem normalmente para o abomaso que também é considerado o principal órgão digestivo dos animais lactentes, secretando renina ou quimosina, ácido clorídrico e pepsinogênio (5). O líquido abomasal normal deve apresentar coloração de verde-oliva a acizentado, odor acidificado e pH ácido (4). Sangue ou hemoglobina não devem ser observados no fluido abomasal, sua presença pode indicar alguma enfermidade podendo se tratar, na maioria dos casos, de úlceras abomasais e/ou lesões do rúmen ou do intestino delgado. O pH do conteúdo abomasal pode variar de 1,38 a 4,50 ($2,5 \pm 0,87$), ideal às enzimas proteolíticas, renina e pepsina, as quais possuem o máximo poder catalisador sob condições de pH muito baixo (6).

Elevadas cargas parasitárias no abomaso reduzem a acidez do líquido abomasal e pode aumentar o pH para valores entre 5 e 7, provavelmente decorrente de abomasites crônicas ou hemorragias (7). Este aumento pode acarretar maior produção de pepsinogênio e diminuição nas concentrações de pepsina uma vez que a conversão de pepsinogênio em pepsina torna-se muito lenta em meios que apresentam pH maior que 4 (8). Observam-se ainda interferências na solubilidade de macro e microelementos e diminuição da digestibilidade das proteínas adquiridas na alimentação e provenientes das perdas de sangue, muco e células epiteliais esfoliadas (9). As perdas de proteínas sanguíneas provocam um aumento do fluxo de nitrogênio para o duodeno, grande parte desse nitrogênio sanguíneo é convertida pelos parasitas em NH_3 , resultando em maior síntese de uréia devido ao metabolismo hepático e aumentando o requerimento de proteínas pelo hospedeiro (10). A presença de *Haemonchus contortus* e outros helmintos gastrointestinais no abomaso pode mudar a acidez local necessária para a operação adequada de enzimas catalíticas que têm um pH ótimo extremamente baixo. O objetivo com este estudo foi avaliar as alterações hematológicas e do

líquido abomasal em ovinos com cargas parasitárias de *H. contortus* no abomaso: negativa (livre de parasitas), leve, moderada e pesada.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram escolhidos aleatoriamente 36 ovinos destinados ao abate sem predileção por sexo, raça ou idade, embora todos os animais apresentassem menos de 6 meses de idade. No momento das coletas fomos informados pelos funcionários do abatedouro que o sistema de criação dos animais selecionados era intensivo, sendo os animais confinados desde os 30 dias até o momento do abate. Além disso, esses animais teriam sido vermifugados antes de serem vendidos ao frigorífico. Previamente ao abate, os animais foram submetidos a coletas de sangue, fezes e a ingerir pequenas bolinhas de plástico numeradas para identificação individual post-mortem (Figura 1). Após o abate, os tratos gastrointestinais foram separados e as extremidades dos órgãos a serem analisados foram amarradas com barbante para posterior avaliação físico-química do líquido abomasal.

A avaliação da composição física e química foi realizada segundo Braun (6). Determinou-se o pH com pHmetro microprocessado, pH-100 PHTEK[®], imediatamente após a abertura dos abomasos sem que o conteúdo fosse exposto. Para a quantificação dos parasitas, o volume obtido foi diluído em água de torneira, sendo que 10% do volume total permaneceram fixados em 5% de formalina a 10%, o resultado do número de parasitas foi adquirido pela seguinte equação: *carga parasitária do conteúdo abomasal = número de parasitas contados x 10% do volume da alíquota retirada*. Também foram realizadas contagem de ovos por grama de fezes (O.P.G.) (11), identificação de larvas pela técnica de Roberts e O'Sullivan (12), hemograma completo, concentração de proteínas plasmáticas totais e dosagem de fibrinogênio (13).

Após resultados parasitológicos e hematológicos, os 36 cordeiros foram subdivididos em 4 grupos: G1: carga parasitária negativa (livre de vermes), G2: carga parasitária leve (carga parasitária no abomaso menor que 25 exemplares de *H. contortus*), G3: carga parasitária moderada (ausência de sinais clínicos e com carga parasitária entre 25 e 100 exemplares de *H. contortus* e/ou O.P.G.>1000), G4: carga parasitária intensa (alterações hematológicas, O.P.G.>1900 e carga parasitária do abomaso maior que 300 exemplares de *H. contortus*). Apenas os animais do grupo G4 apresentaram sinais clínicos de verminose como caquexia, edema submandibular, mucosas orais e oculares pálidas, anemia e hipoproteïnemia.

Para analisar estatisticamente as variáveis que apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variâncias foi realizada a análise de variância no delineamento inteiramente ao acaso, seguida do teste de Tukey para comparações múltiplas entre as médias. Quando as variáveis não apresentavam distribuição normal optou-se por realizar a análise de Kruskal-Wallis, seguida do teste de comparações múltiplas de Dunn. Toda a discussão realizada encontra-se no nível de 5% de significância, de acordo com Zar (14).

Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ - UNESP/Botucatu, SP (protocolo: 219/11) em atendimento à Lei 11794/2008.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este estudo constatou que os animais estavam parasitados pelo *H. contortus* pelo método de Roberts & O'Sullivan (12) e confirmou o aumento do pH do líquido abomasal nas diferentes cargas parasitárias (Tabela 1). Os dados obtidos demonstraram diferença estatística significativa nos valores de OPG entre o grupo G1 e os grupos G3 e G4, já entre os grupos G2, G3 e G4 não foi observada diferença. Os valores do grupo G4 foram marcadamente superiores aos demais grupos e evidenciam a influência do parasitismo por *Haemonchus* sp na acidez do líquido abomasal. Apenas o grupo G1 apresentou pH dentro dos valores normais (6). Similarmente aos achados neste estudo, outros pesquisadores identificaram aumento do pH abomasal de ovinos tornando o meio mais favorável para o estabelecimento do parasita (7,8). A presença de sangue devido a abomasites e hemorragias causadas pelo repasto sanguíneo pode ser responsável por alterar a acidez local já que o pH sanguíneo normal se encontra entre 7,32-7,54 (13). Além disso, as lesões provocadas poderiam inibir a secreção de íons de hidrogênio (H^+) para o líquido abomasal aumentando o pH (7).

Tabela 1. OPG e pH do líquido abomasal em ovinos livres de parasitas (G1) e carga parasitária leve (G2), moderada (G3) e intensa (G4) de *H. contortus*.

Grupo	OPG			Carga parasitária do abomaso	pH do líquido abomasal
	Median a	1ºquarti l	3ºquarti l	Média ± σ	Média ± σ
G1	0 ^b	0	75	0 ^b ± 0	3,8 ^b ± 0,4
G2	100 ^{ab}	0	325	10,111 ^b ± 7,801	4,7 ^a ± 0,9
G3	400 ^a	225	1625	28,571 ^b ± 17,106	4,6 ^{ab} ± 0,4
G4	42600 ^a	12075	43575	2346,667 ^a ± 3278,846	5,3 ^a ± 1,1

Letras minúsculas comparam grupos e médias seguidas de pelo menos 1 letra em comum não diferem estatisticamente. σ = desvio padrão e $p=0,001$

Assim como foi descrito por El-Ashram et al. (7), a presença de lesões macroscópicas na parede abomasal dos ovinos estudados foi frequentemente observada, inclusive no grupo G1 embora os animais apresentassem carga parasitária negativa ao momento das coletas. Entretanto, a presença de lesões associadas a alta prevalência da haemoncose em rebanhos ovinos (1,2) sugere provável infecções anteriores. Entretanto, as análises físicas do líquido do abomaso não apresentaram diferenças em relação à carga parasitária do abomaso no que se refere à coloração, odor e consistência (Tabela 2). Contrariamente a estudo anterior que observaram conteúdo abomasal de coloração castanho-escuro ou castanho-avermelhada em elevadas cargas parasitárias do abomaso (15).

Também foram observadas alterações significativas no eritrograma, como a diminuição do número de hemácias, do hematócrito e da concentração da hemoglobina comparando o grupo G4 com os outros grupos (G1, G2 e G3), confirmando que a anemia é um dos principais sinais da parasitose Bastos et al (10) e a que elevada carga parasitária de *Haemonchus* sp pode causar distúrbios hematológicos graves. Ao contrário do esperado, não houve diferença estatística nos valores do fibrinogênio apesar da presença de enzimas proteolíticas expressadas pelos nematóides capazes de degradar componentes do sangue como fibrinogênio mesmo frente ao ataque imune do hospedeiro. Os valores de VCM elevados no grupo G4 determinaram macrocitose indicando tentativa de resposta da medula óssea ao estado anêmico. Em relação à série branca, apenas os grupos G2 e G3 apresentaram

leucocitose por neutrofilia, linfopenia e monocitose caracterizando leucograma de estresse. O grupo G4 incluiu animais resilientes e imunocomprometidos em consequência da infecção, sendo totalmente compreensível a ausência de leucocitose (Tabela 3).

Tabela 2. Características do líquido abomasal e lesões macroscópicas da mucosa do abomaso observados em ovinos livres de parasitas (G1) e carga parasitária leve (G2), moderada (G3) e intensa (G4) de *H. contortus*.

Grupo	Cor	Odor	Consistência	Macroscopia
G1	amarronzado marrom-esverdeado	Fétido S.G.	pastosa viscosa	zona de hiperemia com lesão focal; presença de areia; áreas hiperêmicas focais e difusas; mucosa hiperêmica;
G2	esverdeado marrom-esverdeado	S.G.	líquida pastosa viscosa	áreas hiperêmicas focais; presença de areia
G3	amarronzado marrom-esverdeado verde-amarelado	S.G.	viscosa	
G4	amarronzado marrom-esverdeado verde-acinzentado verde-amarelado	S.G.	líquida pastosa viscosa	mucosa abomasal ictérica; áreas focais de hemorragia

S.G = sui generis

Tabela 3. Parâmetros hematológicos em ovinos livres de parasitas (G1) e carga parasitária leve (G2), moderada (G3) e intensa (G4) de *H. contortus*.

Variável	Grupo				Valor de p
	G1	G2	G3	G4	
Hemácias (/µl)	13248667a ±1277950	13692778a ±1444392	13197143a ±1627910	5560000b ±3988734	<0,001*
Hemoglobina (g/dl)	13,1a ±0,8	12,2ab ±0,9	11,6b ±1,2	5,4c ±2,9	<0,001*
Hematócrito (%)	39,3a ±2,1	35,3b ±3,1	32,9b ±3,3	17,7c ±8,1	<0,001*
CHCM(%)	33,4a ±0,8	34,6a ±1,0	33,6a ±4,3	29,0b ±4,4	0,013*
VCM (fL)	30b [28;31]	25b [24;28]	26b [23;27]	31a [27;78]	0,001*
PPT(g/dl)	6,5b ±0,5	7,5a ±0,7	7,3ab ±0,4	5,8b ±2,2	0,003*
Fibrinogênio (mg/dl)	220,0 ±77,5	200,0 ±122,5	185,7 ±69,0	133,3 ±57,7	0,47
Leucócitos	5145b [4215;6037]	13912a [6300;17493]	12548a [11981;14319]	7665ab [7665;9341]	0,003*
Seg rel (%)	0,43 0,19	0,50 0,12	0,61 0,15	0,50 0,30	0,20
Seg abs	3188,7b 3538,6	6208,4ab 3615,9	9731,0a 3205,4	4478,7ab 3373,0	0,013*
Linf rel (%)	0,51a 0,18	0,41ab 0,12	0,28b 0,11	0,42ab 0,26	0,037*
Linf abs	2661,7 865,1	4701,8 2395,0	3854,0 2098,7	3346,0 1851,2	0,061
Eos rel (%)	0,02 0,01	0,02 0,02	0,04 0,08	0,02 0,02	0,50
Eos abs	87,5 88,3	246,6 388,4	578,0 1110,7	128,0 159,7	0,28
Mon rel (%)	0,04 0,02	0,05 0,02	0,06 0,02	0,06 0,02	0,27
Mon abs	233,7b	680,8a	800,1a	457,7ab	0,001*

180,8	435,5	397,4	136,5
-------	-------	-------	-------

Letras minúsculas comparam grupos. Médias seguidas de pelo menos 1 letra em comum não diferem estatisticamente. Abreviações: VCM-volume corpuscular médio, CHCM-concentração de hemoglobina corpuscular média, PPT-proteínas plasmáticas totais, SEG-neutrófilos segmentados, LINF-linfócitos, EOS-eosinófilos, BAS-basófilos, MON-monócitos.

CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou que a carga parasitária de *H. contortus* está diretamente relacionada com o pH abomasal. Os resultados evidenciaram que a elevação pH tende a ser mais benéfico para a sobrevivência do parasita e favorece a sua persistência no abomaso. Animais intensamente parasitados devem receber maior atenção no tratamento em relação à redução da carga parasitária com o uso de anti-helmínticos evitando o aumento do pH abomasal. A manutenção da acidez do líquido abomasal pode ser uma estratégia frente à resistência aos anti-helmínticos existentes na tentativa de controlar altas cargas parasitárias e evitar maiores prejuízos na produção.

FINANCIAMENTOS

Este estudo foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - PROCESSO: 2011/18767-0.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores não apresentaram conflito de interesses

REFERÊNCIAS

1. Selemon M. Review on control of *Haemonchus contortus* in sheep and goat. J Vet Med Res. 2018;5(5):1139.
2. Asmare K, Sheferaw D, Aragaw K, Abera M, Sibhat B, Haile A, et al. Gastrointestinal nematode infection in small ruminants in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. Acta Trop [Internet]. 2016 [cited 2020 Aug 19];160:68-77. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X16302443>
3. Clark CH, Kiesel GK, Goby CH. Measurements of blood loss caused by *Haemonchus contortus* infection in sheep. Am J Vet Res. 1962;23:977-80.
4. Feitosa FLF. Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. São Paulo: Roca; 2000.
5. Lisboa JAN, Benesi FJ, Leal MLR, Teixeira CMC. Efeito do tempo após a ingestão de leite sobre o equilíbrio ácido-básico de bezerros. Arq Bras Med Vet Zootec [Internet]. 2003 [cited 2020 Aug 19];55(6):763-5. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0102-09352003000600014&lng=en&nrm=iso&tlng=pt
6. Braun U. Ultrasonography in gastrointestinal disease in cattle. Vet J [Internet]. 2003 [cited 2020 Aug 19];166(2):112-24. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023302003015>

7. El-Ashram S, Al Nasr I, Abouhajer F, El-Kemary M, Huang G, Dinçel G, et al. Microbial community and ovine host response varies with early and late stages of *Haemonchus contortus* infection. *Vet Res Commun.* 2017;41(4):263-77. doi: <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9698-5>.
8. Muñoz-Guzmán MA, Sánchez-González VH, Revilla VA, Abd-Elghany HA, Cuenca-Verde C, Cuéllar-Ordaz JA. Efecto de la hemoncosis experimental sobre las concentraciones séricas de sodio, potasio y cobre en dos razas ovinas. *Rev Quehacer Cient Chiapas.* 2016;11(2):68-75.
9. Holmes PH. Interactions between parasites and animal nutrition: the veterinary consequences. *Proc Nutr Soc [Internet].* 1993 [cited 2020 Aug 19];52(1):113-20. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0029665193000175/type/journal_article
10. Bastos GA, Soares ACM, Vieira TM, Cândido RC de S, Morais-Costa F, Vasconcelos V de O, et al. Blood parameters of sheep with high infection of *Haemonchus contortus* and treated with “mushroom of the sun” (*Agaricus blazei*). *Semina Cienc Agrar [Internet].* 2016 [cited 2020 Aug 19];37(2):807-18. Available from: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/20955>
11. Gordon HM, Whitlock H. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J Counc Sci Ind Res.* 1939;12(1):50-2.
12. Roberts F, O’sullivan P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Aust J Agric Res.* 1950;1(1):99-102.
13. Thrall MA. *Hematologia e bioquímica clínica veterinária.* São Paulo: Roca; 2007.
14. Zar JH. *Biostatistical analysis.* New Delhi: Pearson Education India; 1999.
15. Jones TC, Hunt RD. *Patologia veterinária.* São Paulo: Manole; 1984.



Figura 1. Rúmen de ovino aberto para recuperação de “bolinha de plástico” numerada que foi ingerida pelo animal antes do abate para identificação post-mortem.



Figura 2. Área de hemorragia focal em mucosa abomasal (petéquias e sufusões).

Recebido em: 07/09/2020
Aceito em: 01/12/2020