

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
Centro de Desenvolvimento Tecnológico – CDTec  
Curso de Graduação em Biotecnologia



Trabalho Acadêmico de Conclusão de Curso

**Avaliação do efeito nematicida da goma xantana  
em ovinos infectados naturalmente por  
*Haemonchus* spp.**

**Francine Vargas Ribeiro**

Pelotas, 2014

**Francine Vargas Ribeiro**

Avaliação do efeito nematicida da goma xantana em ovinos infectados naturalmente com *Haemonchus* spp.

Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Biotecnólogo.

Orientador Acadêmico: Dr. Fábio Pereira Leivas Leite

Orientador de Estágio: Msc. Alceu Gonçalves dos Santos Junior

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:  
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/901  
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

R484a      Ribeiro, Francine Vargas

Avaliação do efeito nematicida da goma xantana em ovinos infectados naturalmente por *Haemonchus* spp. / Francine Vargas Ribeiro. – 50f. : il. – Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Biotecnologia). Universidade Federal de Pelotas. Centro de Desenvolvimento Tecnológico. Pelotas, 2014. – Orientador Fábio Pereira Leivas Leite ; **co-orientador** Alceu Gonçalves dos Santos Junior.

1.Biotecnologia. 2.Nematoides gastrintestinais. 3.Ovinos.  
4.Goma xantana. 5.Citocinas. I.Leite, Fábio Pereira Leivas.  
II.Santos Junior, Alceu Gonçalves. III.Título.

### **Banca examinadora**

Msc. Alceu Gonçalves dos Santos Junior – Doutorando PPGV/ UFPEL;

Itauá Leston Araujo – Mestrando- PPGB/ UFPel;

Dr. Fábio Pereira Leivas Leite – Professor do Núcleo de Biotecnologia CDTec - UFPel;

*“Dedico este trabalho a todos que me apoiaram e estiveram do meu lado ao longo dessa caminhada.”*

## **Agradecimentos**

A Deus, pela minha vida e pelas conquistas alcançadas.

Ao meu pai João Luiz, pelo incentivo durante esses anos e ajuda durante as atividades práticas para realização deste trabalho.

À minha mãe Juçara, por ficar feliz a cada página que eu escrevia, pelo carinho, apoio, amor e exemplo de mãe.

Ao meu namorado Eduardo, pelo incentivo, apoio, paciência e por entender meus momentos de angústia e minha ausência quando tinha que estudar e concluir meus trabalhos acadêmicos.

À minha irmã Caroline e meu cunhado Anderson, por sempre me receberem, apoiarem e pelas palavras de incentivo.

Aos meus demais familiares que foram presentes, mesmo que nem sempre fisicamente, pelo apoio nos momentos mais difíceis e pela torcida para que tudo desse certo.

As minha amigas Cláudia Alves, Josiane Tessmann, Tarcila Cruz, Pedrita Cavalheiro, Taína Cavalheiro, Camila Stein, Kauane Pedroso, Caroline Thiel, por sempre estarem ao meu lado, torcendo e vibrando pelas minhas conquistas.

Aos meus amigos e colegas, Francine Maagh, Bruna Coi, Cíntia Garcia, Fabrício Pereira e Filipe Dutra, pelo companheirismo e ajuda nesses quatro anos e por compartilharem comigo as angústias da vida acadêmica. Sem vocês, seria mais difícil chegar até aqui!

Ao professor Fábio Leite, pela oportunidade de estágio e pela ótima orientação, que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao meu orientador de estágio Alceu, pelos ensinamentos passados, ajuda incansável e paciência na explicação dos conteúdos, além da disposição em me ajudar tanto na parte prática como na escrita.

Ao senhor Darci Sigalis, pela ajuda na realização da parte prática deste trabalho.

A todo pessoal do laboratório de Bacteriologia da Universidade Federal de Pelotas, Denis, Ana, Vitória e Matheus pela ajuda e pelos momentos de descontração. Em especial ao Itauá pela boa vontade em me ajudar nas partes práticas e explicação dos procedimentos.

Aos funcionários do Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas e à mestrandia Luciana Laitano, pela ajuda no processamento das amostras.

E a todos os outros, que mesmo de forma indireta, também contribuíram para a realização deste trabalho e para que eu pudesse concluir esta etapa da minha vida.

**MUITO OBRIGADA!**

## Resumo

RIBEIRO, Francine Vargas. **Avaliação do efeito nematicida da goma xantana em ovinos infectados naturalmente com *Haemonchus* spp.** 2014. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Grandes perdas econômicas ocorrem na ovinocultura devido ao parasitismo ocasionado por nematoides gastrintestinais, sendo o gênero *Haemonchus*, o que apresenta maior distribuição e prevalência em ovinos. Estes são hematófagos e podem causar gastropatias, perdas proteicas e em casos extremos levam a anemia hemorrágica aguda acarretando na morte do animal. O controle desta parasitose pode ser realizado através de uso profilático e terapêutico de anti-helmíntico, no entanto o uso indiscriminado tem ocasionado resistência aos seus princípios ativos ocasionando falhas no controle desta parasitose. Assim, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de novas drogas ou moléculas que visem diferentes mecanismos de ação para o controle e prevenção desta enfermidade. Estas substâncias devem ser capazes de estimular o sistema imune dos hospedeiros para combater a fixação dos parasitos hematófagos na mucosa intestinal. Uma alternativa apresentada neste estudo é o uso da goma xantana, polissacarídeo extracelular produzido pela bactéria *Xanthomonas* spp.. Estudos têm demonstrado que este polissacarídeo é um ativador de receptores Toll-like e potente indutor de IL-12 e TNF- $\alpha$  produzidos por macrófagos. A IL-12 produzida por células apresentadoras de antígenos pode estimular a diferenciação de linfócitos TCD4 em Th1. Após inoculação com este polissacarídeo, a média de redução dos animais tratados foi de 65% no dia 3, 85% no dia 28 e 88% no dia 33. Dessa forma este estudo sugere que a goma xantana, ativou a resposta Th1, promovendo maior inflamação o que impediu o estabelecimento dos parasitos no trato gastrintestinal dos ovinos.

Palavras-chave: Nematoides gastrintestinais; Ovinos; Goma Xantana; Citocinas.



## Abstract

RIBEIRO, Francine Vargas. **Evaluation of the nematicidal effect of xanthan gum in ovine naturally infected with *Haemonchus* spp.** 2014. 50f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Large losses occur in the sheep industry due to parasitism caused by gastrointestinal nematodes, *Haemonchus* being the genre, which has greater distribution and prevalence in sheep. These are hematophagous and may cause gastropathy, protein loss and in extreme cases lead to acute hemorrhagic anemia resulting in death of the animal. The control of this disease can be achieved through prophylactic and therapeutic use of anthelmintic. However, the indiscriminate use has led resistance to its active principles causing failures in the control of this disease. Thus, it becomes extremely important to develop new drugs or molecules that address different mechanisms of action for the control and prevention of this disease. These substances should be capable of stimulating the host 's immune system to fight the fixing of bloodsucking parasites in the intestinal mucosa. An alternative presented in this study is the use of xanthan gum, extracellular polysaccharide produced by the bacterium *Xanthomonas* spp.. Studies have shown that this polymer is an activator of Toll-like receptor and potent inducer of IL-12 and TNF- $\alpha$  produced by macrophages. The IL -12 produced by antigen-presenting cells can stimulate the differentiation of Th1 CD4 T lymphocytes. After inoculation with this polymer, the average reduction in the treated animals was 65% on day 3, 85% at day 28 and 88% on day 33. Thus this study suggests that xanthan gum, activated Th1 promoting further inflammation which prevented the establishment of parasites in the gastrointestinal tract of sheep.

Keywords: Gastrointestinal Nematodes; Sheep; Xanthan Gum; Cytokine.

## Lista de figuras

Figura 1: Estrutura do polissacarídeo extracelular de <i>X. campestris</i> .....	32
Figura 2: Porcentagem da redução da contagem de ovos. ....	37

## Lista de Abreviaturas e Siglas

cm- Centímetros

FAMACHA- *Faffa Malan Chart*

GX- Goma xantana

IgA- Imunoglobulina A

IgE- Imunoglobulina E

IgG- Imunoglobulina G

IgM- Imunoglobulina M

IL- Citocina

L3- Estágio infectante do *Haemonchus* spp.

L1- Estágio larval 1

L2- Estágio larval 2

mL- Mililitros

mm- Milímetros

NK- Célula *natural killer*

OPG- Ovos por gramas de fezes

RS- Rio Grande do Sul

Th- Linfócito T auxiliar

Th1- Linfócito T auxiliar 1

Th2- Linfócito T auxiliar *helper 2*

TLR-4- Toll like receptor 4

TNF- $\alpha$ - Fator de Necrose Tumoral alfa

$\mu$ m- Micrometro

°C- Graus Celsius

## Sumário

<b>1. Introdução</b> .....	<b>14</b>
<b>2 Objetivos</b> .....	<b>16</b>
2.1 Objetivo geral .....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
<b>3 Revisão de Literatura</b> .....	<b>17</b>
3.1 Ovinocultura no Rio Grande do Sul.....	17
3.2 Parasitoses em ovinos .....	17
3.3 Resposta imunológica aos parasitos.....	19
3.3.1 Resposta inata contra nematoides.....	19
3.3.2 Resposta imune humoral e celular contra nematódeos .....	20
3.4 Superfamília Trichostrongyloidea.....	21
3.5 Gênero <i>Haemonchus</i> .....	22
3.5.1 Hemoncose.....	23
3.6 Tratamento e Resistência .....	24
3.7 Alternativas para o controle de nematoides .....	26
3.7.1 Método Famacha .....	26
3.7.2 Rotação de Pastagens.....	27
3.7.3 Controle biológico .....	28
3.7.4 Controle por fitoterápicos.....	30
3.7.5 Produção de vacinas .....	30
3.7.6 Goma Xantana.....	31
<b>4 Materiais e Métodos</b> .....	<b>35</b>
4.1 Animais estudados.....	35
4.2 Coleta das amostras fecais.....	35
4.3 Contagem de ovos por gramas de fezes .....	35
4.4 Extração de células do baço e sangue periférico.....	36
<b>5 Resultados</b> .....	<b>36</b>
5.1 Resultados das análises da técnica Gordon e Wicthlok.....	36
<b>6 Discussão</b> .....	<b>38</b>

<b>7 Conclusão .....</b>	<b>40</b>
<b>8 Referências .....</b>	<b>41</b>

## 1. Introdução

A ovinocultura é uma das principais atividades do setor pecuário desenvolvida no Rio Grande do Sul (VIANA & SILVEIRA, 2009). A criação de raças laneiras no século XX deu-se com o objetivo de exploração da lã. Porém, no fim da década de 1980 ocorreu um período de crise nesse setor, devido à comercialização de tecidos sintéticos no mercado internacional (BOFILL, 1996). Com isso, a carne destes animais, que antes era consumida apenas pelos produtores, passou a ser apreciada e trouxe um novo mercado para a ovinocultura no estado (VIANA & SILVEIRA, 2009).

Todavia, grandes perdas econômicas ocorrem na ovinocultura devido ao parasitismo por nematoides gastrintestinais (COOP & KYRIAZAKIS, 2001). A infecção por estes endoparasitos retarda o crescimento dos hospedeiros, gera gastos com mão-de-obra e aquisição de anti-helmínticos e em casos de infecção grave pode causar elevadas taxas de mortalidade. Estes fatos geram impacto econômico nesta atividade (AROSEMENA et al., 1999). A família Trichostrongylidae, que inclui o gênero *Haemonchus*, é a que apresenta maior distribuição e prevalência em ovinos (AMARANTE et al., 2004).

*Haemonchus contortus* é o parasito mais patogênico para pequenos ruminantes em regiões tropicais e subtropicais em todo o mundo. Estes, por sua característica hematófaga, podem causar gastropatias, perdas protéicas e em casos extremos levam a anemia hemorrágica aguda (SANGSTER et al., 1999), acarretando na morte do animal (STRAIN & STEAR, 2001).

O controle desta parasitose pode ser realizado através de uso profilático e terapêutico de anti-helmínticos (CHARLES et al., 1989), porém a resistência aos seus princípios ativos ocasionam falhas no seu controle (SANGSTER, 2001). Os primeiros relatos de resistência no Brasil foram identificados no Rio Grande do Sul (DOS SANTOS & GONÇALVES, 1967).

Com o surgimento de nematoides resistentes, torna-se de extrema importância o desenvolvimento de novas drogas e moléculas que visem o controle e prevenção desta enfermidade. Estas substâncias devem ser capazes de

estimular o sistema imune dos hospedeiros para combater a fixação dos parasitos hematófagos na mucosa intestinal (EADY et al., 2003).

A resposta imune contra infecção por *Haemonchus contortus* é do tipo Th2 e a IgE tem importante ação ao recobrir o parasita. Os eosinófilos reconhecerão as IgE aderidas à membrana do parasita e secretarão enzimas que destroem estes diretamente (MADRUGA et al., 2001).

A goma xantana é um polissacarídeo extracelular produzido pela bactéria *Xanthomonas* spp., que vem sendo testado como adjuvante vacinal (ROOS et al., 2009). Estudos indicam que este polissacarídeo é um ativador de receptores Toll-like e potente indutor de IL-12 e TNF- $\alpha$  produzidos por macrófagos (TAKEUCHI et al., 2009).

A IL-12 produzida por células apresentadoras de antígenos (macrófagos e células dendríticas) pode estimular a diferenciação de linfócitos TCD4 em Th1, (TERRA et al., 2012). Dessa forma surge a possibilidade de que a xantana, ativando a resposta Th1, possa causar inflamação impedindo o estabelecimento dos parasitos no trato gastrintestinal dos ovinos.

Com o desenvolvimento do processo inflamatório os neutrófilos, eosinófilos e monócitos são atraídos para o local da inflamação por meio dos TLR presentes em suas membranas citoplasmáticas que são estimulados por componentes antigênicos. Quando os TLR são estimulados, a produção de citocinas e proteínas de fase aguda são ativadas, induzindo a fagocitose (MADRUGA et al., 2001).

## **2 Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito nematicida da goma xantana na diminuição do número de ovos de tricostrongilídeos nas fezes de ovinos naturalmente infectados.

### **2.2 Objetivos específicos**

2.2.1 Observar a cinética do efeito nematicida, através da OPG, da goma xantana em ovinos infectados naturalmente por *Haemonchus* spp..

2.2.2 Realizar cultivo de esplenócitos e PBMC para posterior avaliação das citocinas produzidas após estimulação com goma xantana.



### **3 Revisão de Literatura**

#### **3.1 Ovinocultura no Rio Grande do Sul**

O rebanho de ovinos no Brasil ocupa o 18º lugar em nível mundial. De acordo com a Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM) 2011 do IBGE, a população de ovinos cresceu 3,4%, passando de 16,81 milhões para 17,38 milhões de cabeças. O Rio Grande do Sul lidera a produção brasileira com 3.979.258 cabeças (MAPA, 2011).

Estes animais representam um grande potencial no que se refere à produção de carne, lã, pele, leite e outros subprodutos que podem ser comercializados tanto no mercado nacional, quanto internacional. A produção de lã, até o final da década de 1980, foi o principal objetivo de exploração dos ovinos na Região Sul. Posteriormente, direcionou-se para a comercialização da carne destes animais (OLIVEIRA & ALVES, 2008).

#### **3.2 Parasitoses em ovinos**

Um dos maiores problemas que chegam a inviabilizar a criação de ovinos são as parasitoses ocasionadas por nematoides gastrintestinais (VIEIRA, 2008). As maiores perdas ocorrem em animais jovens cujo sistema imunológico ainda não está suficientemente maduro para que possa lhes proteger das infecções (GUEDES, 2008).

Embora os animais criados a campo geralmente alojem diferentes espécies de helmintos, esse parasitismo muitas vezes não é sinônimo de doença, pois grandes partes desses animais estão em boas condições de saúde, e devido ao fato dos hospedeiros terem mecanismos imunológicos que mantêm os endoparasitos sob controle. Porém, esse equilíbrio entre parasita e hospedeiro pode ser alterado por vários fatores como o manejo, condição nutricional, idade e estado fisiológico dos animais (AMARANTE, 2003; CAVALCANTE et al., 2009).

Um dos fatores que podem contribuir para o estabelecimento de doenças parasitárias é a superlotação da pastagem, resultando em alta contaminação ambiental com os estágios de vida livre dos parasitos. Além disso, por o Brasil apresentar ampla variedade de climas, acaba favorecendo a sobrevivência das larvas de vida livre dos parasitos nas pastagens, o que ocasiona altas taxas de contaminação em praticamente todo o ano (CAVALCANTE et al., 2009).

Na fase de vida livre, a pastagem, a vegetação com boa cobertura do solo e os inimigos naturais do estágio larval como fungos, bactérias e coleópteros, são fatores importantes que interferem no desenvolvimento dos parasitos. Já na fase de vida parasitária, a genética, nutrição, estados fisiológicos, manejo do rebanho, taxa de lotação, regime de criação e aspectos relativos ao bem-estar animal tem relação direta no desenvolvimento dos nematódeos (VIEIRA et al., 2002).

Dentre as verminoses, as que são causadas por nematódeos tricostrongilídeos ocasionam grandes perdas econômicas por parasitarem ruminantes domésticos, tanto em regiões tropicais como temperadas, levando à queda na produção e qualidade da lã, redução no ganho de peso, e mortalidade de animais (ECHEVARRIA, 1988; CHARLIER et al., 2009).

O custo com a compra de anti-helmínticos no mundo cresce acentuadamente. De acordo com Antunes (1991) o faturamento com a venda de vermífugos no ano de 1990 no Brasil foi da ordem de 100 milhões de dólares, e Molento et al. (2004) mostram que o comércio com estes produtos no País já alcança 42% de um volume de vendas de 700 milhões de dólares anuais, equivalente a um montante de 294 milhões de dólares. Dados mais recentes apontam que o comércio de antiparasitários no Brasil já atinge valores de aproximadamente 960 milhões de reais anualmente (SINDAN, 2009). Já a venda mundial de produtos veterinários é de 15 bilhões de dólares anuais, sendo que 27% são representados por parasiticidas.

Este cenário eleva os custos de produção, pela frequência com que se administram anti-helmínticos e, por consequência, pela produção de carcaças com maior nível de resíduos químicos, fator esse, que tem impacto negativo perante as classes consumidoras, em especial no mercado estrangeiro (SOUZA, 2013).

### **3.3 Resposta imunológica aos parasitos**

Os fatores inatos do hospedeiro que influenciam as cargas de helmintos incluem idade, sexo e base genética do hospedeiro. A influência da idade e sexo parece ser em grande parte hormonal (URQUHART et al., 1998). Nos animais que apresentam ciclo sexual sazonal, os parasitos tendem a sincronizarem seus ciclos reprodutivos com os dos seus hospedeiros (HOUDIJK, 2008).

As respostas humorais e celulares são estratégias do sistema imunológico adaptativo dos mamíferos que respondem à infecção pelos nematoides. Os linfócitos T e B, citocinas, células plasmáticas, imunoglobulinas, mastócitos, eosinófilos e leucócitos são responsáveis por fazerem parte das reações imunológicas, observando-se produção e magnitude variada na ação sobre os diferentes parasitos e dos diferentes hospedeiros. Como consequência da invasão parasitária, têm-se o estabelecimento de infecção ou expulsão do parasito devido à ação da resposta imune do hospedeiro (NAWA et al., 1994; MEEUSEN & BALIC, 2000).

#### **3.3.1 Resposta inata contra nematoides**

A via alternativa de ativação do complemento parece ser dominante na resposta aos nematoides na imunidade inata. A ativação do sistema complemento pode ter várias consequências nas infecções por nematoides, proporcionando um estímulo para aumentar e mobilizar células efetoras como os eosinófilos. Paralelamente com a ativação do complemento, ocorre geração de mediadores quimiotáticos que induzem a degranulação de mastócitos, aumentando a resposta inata (VLIAGOFTIS et al., 2005).

Mastócitos são importantes contra infecções por nematoides. Essas células podem secretar IL-4 e IL-5, bem como leucotrienos e quimiocinas (ARIZMENDI-PUGA et al., 2006).

Eosinófilos são as células mais infiltradas no local da infecção, devido ao grande número de grânulos preenchidos com proteínas catiônicas que podem

liberar várias citocinas pró-inflamatórias, quimiocinas e mediadores lipídicos (ROTHENBERG et al., 2006).

### **3.3.2 Resposta imune humoral e celular contra nematódeos**

A imunidade contra esses parasitos é dependente de linfócitos T, com mudanças inflamatórias no trato digestivo e facilitado através de anticorpos específicos (WAKELIN, 1995).

A resposta imune contra os nematódeos gastrintestinais dirigidas aos vários estágios parasitários demora vários meses para se desenvolver. Existem alguns mecanismos de imunidade adquirida contra os nematódeos como: rejeição de larvas infectantes; retardamento no desenvolvimento larvar; redução na fecundidade, diminuição na oviposição pelas fêmeas adultas, ocasionando efeito provavelmente também nos machos e expulsão de helmintos adultos. Cada manifestação depende do tempo e do grau de infecção, de acordo com a espécie de parasito, do número de larvas infectantes ingeridas, idade, sexo e raça/espécie de hospedeiro (ZACHARIAS, 2004).

Os antígenos dos helmintos modulam a ativação de linfócitos tipo Th2, com produção das citocinas IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13, que juntas, suprimem a resposta imune celular e estimulam a produção de anticorpos, especialmente IgE. Além disso, em consequência da ação da IL-5, ocorre uma eosinofilia (ZACHARIAS, 2004).

O mecanismo responsável pela ação dos eosinófilos na destruição das larvas de nematoides não é bem determinado, porém tem sido relacionado à secreção de várias proteínas citotóxicas e aos mediadores inflamatórios contidos nos grânulos dessas células. A desgranulação do eosinófilo é induzida por ativação do complemento e/ou, na fase mais tardia da infecção ou reinfecção, intermediada por anticorpos parasita-específicos, processo denominado de citotoxicidade mediada por anticorpos (CAVALCANTE et al., 2009).

### 3.4 Superfamília Trichostrongyloidea

Os trichostrongilídeos são pequenos, capiliformes, apresentam bolsa copuladora e são parasitas geralmente de trato digestivo dos animais. Na sua estrutura, possuem poucos apêndices cuticulares e cápsula bucal vestigial. Os machos apresentam bolsa copuladora desenvolvida e dois espículos, que diferem gêneros e espécies dos parasitas adultos. O ciclo evolutivo é direto, sendo L<sub>3</sub> o estágio infectante (URQUHART et al., 1998). Esta superfamília apresenta ovos em formato ovóide com cápsula fina e blastomerados. Pelo fato dos ovos serem de difícil diferenciação entre os gêneros e espécies é necessária a realização de coprocultura (PINTO et al., 2009).

Estas parasitoses ocasionadas por esses parasitos estão entre os maiores problemas sanitários para os rebanhos. Esses vermes causam espoliação sanguínea, o que acaba por inibir o apetite dos hospedeiros, levando a problemas na digestão de nutrientes e ocasionando infecções secundárias no sistema digestivo (NUNES, 2012), além de diminuir o desempenho de reprodução, qualidade de carcaça e funcionamento do sistema imune, como até mesmo a morte dos animais (HANKINS, 1993).

Os ovinos podem ser parasitados simultaneamente por várias espécies de nematoides gastrintestinais (CAVALCANTE et al., 2009). Na região sul do Brasil as principais perdas econômicas em ovinos estão relacionadas com os parasitos da superfamília trichostrongyloidea que são: *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Teladorsagia circumcincta*, *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia* spp., *Nematodirus spatigher*, *Oesophagostomum venulosum* e *Trichuris ovis* (RAMOS et al., 2004).

A importância das diferentes espécies que infectam os ovinos variam de acordo com a intensidade da infecção, prevalência e patogenicidade. De acordo com esses fatores, parasitos do gênero *Haemonchus* são os principais parasitos encontrados em ovinos no Brasil (AMARANTE et al., 2004; AROSEMENA et al., 1999; RAMOS et al., 2004) e conseqüentemente os que causam maiores prejuízos no desenvolvimento, ganho de peso e gastos com tratamentos.

### 3.5 Gênero *Haemonchus*

Este gênero possui várias espécies dentre elas encontra-se *H. longistipes*, *H. contortus*, *H. similis* e *H. placei*, porém em pequenos ruminantes *Haemonchus contortus* é o principal parasito (ACHI et al., 2003) devido ao fato destes animais serem muito suscetíveis, com grande estabelecimento da infecção e alto número de excreção de ovos pelas fêmeas (JACQUIET et al., 1998).

Por ser um parasito hematófago, os animais que apresentam elevada carga parasitária acabam por apresentar anemia severa que pode ser manifestada por palidez de mucosa e edema observado frequentemente na região submandibular (SANTA ROSA, 1996).

Os vermes adultos são identificados facilmente por estarem localizados no abomaso de ovinos e terem tamanho entre 2-3 cm. O macho apresenta lobo dorsal assimétrico e espículos com ganchos, e a fêmea apresenta, na maioria das vezes, um apêndice vulvar. Ambos têm papilas cervicais e lanceta dentro da cápsula bucal. As larvas possuem 16 células intestinais, cabeça estreita e arredondada e cauda da bainha projetada. Já o ovo tem tamanho em média 74 X 44 µm, elipse ampla com paredes laterais com formato de barril e com presença de vários blastômeros que preenchem quase todo o ovo (TAYLOR et al., 2010).

As fêmeas são ovipositoras. Os ovos mudam para fase L<sub>1</sub> no pasto e chegam até L<sub>3</sub> em até cinco dias. As L<sub>3</sub> são consideradas larvas médias, com cerca de 650 a 825 µm de comprimento, a bainha da cauda é média e termina de forma aguda (SANCHO, 2009). Porém, esse desenvolvimento pode retardar em períodos frios por até semanas ou meses (TAYLOR et al., 2010). A umidade influencia na disponibilidade de L<sub>3</sub> e faz com que grandes quantidades sejam encontradas no verão, pois com as chuvas e as pastagens com temperatura em torno de 24 °C há um favorecimento da eclosão dos ovos que estão presentes no ambiente (KREVEK et al., 1991).

Após serem ingeridas, e a saída da bainha do rúmen, as larvas mudam duas vezes em oposição às glândulas gástricas. Antes de fazerem a muda final, as larvas desenvolvem a lanceta perfurante que faz com que possam obter

sangue dos vasos da mucosa. Já adultas, são capazes de moverem-se livremente na superfície da mucosa (TAYLOR et al., 2010).

A capacidade de uma espécie se multiplicar em função do tempo é conhecida como potencial biótico. O *Haemonchus* spp. possui capacidade bastante elevada, com oviposição diária entre 5.000 e 10.000 ovos. Sendo superior às outras espécies de helmintos, tais como: *Ostertagia* spp., 200-300 ovos/dia, *Cooperia* spp., 100-2000 ovos/dia, *Trichostrongylus* spp., 100–200 ovos/dia. *Nematodirus* < 100 ovos/dia, ocasionando expressivos níveis de infecção nos hospedeiros em curto espaço de tempo (ROMERO & BOERO, 2001).

### 3.5.1 Hemoncose

A hemoncose é uma doença causada por parasitos do gênero *Haemonchus* caracterizada por anemia hemorrágica aguda devido à hematofagia que realizam nos seus hospedeiros. Um verme é capaz de obter até 0,05 mL de sangue por dia (TAYLOR et al., 2010).

Quando a doença progride para fase aguda, em duas semanas a anemia já se torna aparente com notável queda no hematócrito. Como consequência da progressiva perda de ferro e proteína do trato gastrintestinal, a medula acaba se esgotando e a queda do hematócrito é ainda maior antes de ocorrer à morte do animal. Esta doença pode ser identificada por anemia, edema, letargia, fezes escuras e queda de lã (TAYLOR et al., 2010).

A intensificação da doença pode ser ocasionada pela baixa qualidade na dieta alimentar. Ao receberem dietas pobres em proteínas os animais acabam apresentando sinais clínicos mais pronunciados (ABBOTT et al., 1986).

O diagnóstico pode ser realizado pela observação de sinais clínicos, pela contagem de ovos nas fezes dos animais e pelo teste FAMACHA, através da observação da coloração da mucosa dos animais. Durante a necropsia pode-se observar a mudança no abomaso e na medula dos ossos longos (TAYLOR et al., 2010).

### 3. 6 Tratamento e Resistência

A estratégia de controle dos nematódeos visa compreender a dinâmica populacional nos hospedeiros e nas pastagens que não deve restringir-se à aplicação de produtos químicos, mas na associação de medidas de manejo que pode em algumas situações ser mais importante do que o uso da medicação (ZACHARIAS, 2004).

A medicação dos rebanhos de ovinos é recomendada quando a região apresenta condições ambientais desfavoráveis para o desenvolvimento e sobrevivência dos estágios de vida livre dos parasitos no ambiente. Para tanto, a vermifugação deve ser adaptada com o clima de cada região (VIEIRA, 2008).

Ao tratar os animais nos períodos menos favoráveis aos parasitos ocorreriam à redução da eliminação dos ovos no meio ambiente, levando a uma conseqüente diminuição da contaminação de pastos. No entanto, ao retornar o período de condições favoráveis ao desenvolvimento dos parasitos, a contaminação dos animais seria reduzida e a produtividade aumentaria (CAVALCANTE et al., 2009).

A fim de controlar os nematoides gastrintestinais faz-se uso profilático e terapêutico de anti-helmínticos (CHARLES et al., 1989). Embora protejam contra graves enfermidades e mortalidade dos animais, estes tratamentos nem sempre são eficientes na tentativa de prevenir os animais expostos a níveis elevados de contaminação por larvas infectantes, podendo resultar na reinfecção no período de intervalo entre os tratamentos (CAVALCANTE et al., 2009).

A partir da década de 60 desenvolveu-se a maioria dos anti-helmínticos. Sendo os de amplo espectro: benzimidazóis, imidazotiazóis e lactonas macrocíclicas; e os de curto espectro: salicilanilidas/ fenóis substituídos e organofosforados. Sendo os últimos, utilizados para controlar *Haemonchus* spp. (CAVALCANTE et al., 2009).

Com a utilização dos anti-helmínticos houve um aumento na produtividade dos rebanhos, porém o uso contínuo dessas drogas acarretou na resistência aos grupos químicos utilizados (CAVALCANTE et al., 2009). Resistência esta,



proveniente do uso intensivo de fármacos, aplicação de subdoses, falha nos diagnósticos e a falta de rotatividade das bases farmacológicas (NUNES, 2012).

Os primeiros sinais de resistência aos anti-helmínticos são as falhas no controle dos parasitas após a administração das drogas (SANGSTER, 2001). Os vermes são capazes de sobreviver a uma dose do medicamento que poderia ser letal para os nematoides (ECHEVARRIA, 1996). A diversidade biológica dos seres vivos pode levar alguns indivíduos, em uma dada população, a desenvolverem habilidade de sobreviver aos efeitos de um composto químico. Esta habilidade pode ser transmitida aos seus descendentes. Neste sentido, a resistência torna-se uma resposta genética evolutiva dos parasitos aos agentes medicamentosos. O primeiro relato de resistência a anti-helmínticos em ovinos, no Brasil, foi feito no Rio Grande do Sul (SANTOS & GONÇALVES, 1967).

O surgimento de isolados resistentes ao tratamento é explicado pela seleção natural de uma população de parasitos, na qual existem indivíduos com capacidade genética que os permite sobreviver ao tratamento (GRIFFITHS et al., 1998). Na medida em que os indivíduos sensíveis são eliminados, a próxima geração será composta daqueles parasitos sobreviventes ao tratamento e, conseqüentemente, muitos destes terão herdado a capacidade de sobrevivência à exposição anti-helmíntica (NUNES, 2012).

A questão genética também é um fator que pode contribuir para o desenvolvimento da resistência, na medida em que uma população de origem que contém os genes de resistência incorpora esses genes na nova população de parasitas. Assim, ocorre a dispersão de alelos de uma população para outra (SILVESTRE & HUMBERT, 2002). Altas taxas de mutação encontradas em tricostrongilídeos também aumentam a chance de surgimento de alelos que conferem resistência aos fármacos (BLOUIN et al., 1995).

A hipobiose, ou desenvolvimento larval inibido, é uma estratégia utilizada pelos parasitos para que condições climáticas adversas às suas progênes sejam evitadas e possa permanecer sexualmente imaturo até que boas condições para seu desenvolvimento sejam estabelecidas. Assim, a sobrevivência do nematódeo no hospedeiro é assegurada durante períodos adversos. Posteriormente, as larvas

inibidas são maturadas e a contaminação do meio ambiente é aumentada podendo, às vezes, resultar em doença clínica. O acúmulo de larvas hipobióticas coincide com o início do período seco nas regiões tropicais e subtropicais (VIEIRA et al., 2002). À volta ao estado larval maturo coincide com o retorno das condições favoráveis no início do período chuvoso, no entanto, o sinal para a volta da maturação dessas larvas não está claro (URQUHART, 1998).

### **3.7 Alternativas para o controle de nematoides**

Para reduzir o desenvolvimento e a disseminação de nematódeos resistentes podem-se administrar as drogas nas doses corretas, restringindo ao mínimo o número de tratamentos anuais, além de utilizar os anti-helmínticos em esquema de rodízio anual e avaliação periódica das fazendas para verificação da presença de nematoides resistentes (COLES & ROUSH, 1992).

Além disso, pesquisadores sugerem o uso de tratamentos curativos ou seletivos. A utilização de drogas antiparasitárias pode se tornar menos acentuada se programas de nutrição e melhoramento genético forem implantados na ovinocultura como a suplementação da alimentação dos animais com altos níveis de proteína (CAVALCANTE et al., 2009).

#### **3.7.1 Método Famacha**

A técnica de Famacha (*Faffa Malan Chart*) foi desenvolvida originalmente na África do Sul, para o controle do *H. contortus* em ovinos (BARGER et al., 1994).

O método Famacha foi idealizado na tentativa de diminuir o uso de drogas por meio de dados clínicos e comprovações laboratoriais, administrando o tratamento apenas dos ovinos que apresentam estado de anemia (CAVALCANTE et al., 2009).

No período de desenvolvimento da hemoncose, ocorrem mudanças de coloração da mucosa ocular dos ovinos, passando de rosa para praticamente

branco, no caso de forte anemia (JAIN, 1986). Essas mudanças de coloração podem ser comparadas com um cartão ilustrativo que guia o técnico de forma que o mesmo seja orientado para a necessidade ou não de tratamento (CAVALCANTE et al., 2009).

Nesse cartão encontram-se cinco categorias que variam entre a cor vermelha brilhante até a pálida quase branca. Essa divisão corresponde a diferentes médias de valores de hematócrito, sendo 32, 27, 22, 17 e 12%, respectivamente para os grupos 1 a 5 de coloração. Baseado nessa comparação são tratados com anti-helmínticos somente os animais que apresentarem coloração 3, 4 e 5 ou hematócrito abaixo de 22%. Antes da aplicação do método é necessária uma avaliação parasitológica do rebanho (ZACHARIAS, 2004).

Como vantagens, o método permite a identificação de animais que apresentam algum grau de anemia, ocasionado pela infecção por *Haemonchus contortus*. Além disso, apresenta praticidade de aplicação e possibilita tratamento individualizado dos animais, com conseqüente redução da resistência e mortalidade. Porém, sua aplicação necessita de conhecimento do profissional técnico que irá aplicar o teste além de que quando o animal está em estresse o nível de circulação sanguínea nos pequenos vasos aumenta, podendo levar a resultados errôneos do teste (CAVALCANTE et al., 2009).

### **3.7.2 Rotação de Pastagens**

Esta prática é importante visto que permite aperfeiçoar as áreas destinadas ao pastejo dos animais, além de diminuir as populações de larvas de nematoides nas pastagens. Porém isso nem sempre é verdade, visto que ao deixar as pastagens em descanso no período de 30 a 40 dias, este período pode ser curto para uma redução significativa da contaminação da pastagem, já que para se desenvolverem os parasitas necessitam de vários dias. Além disso, as larvas infectantes podem permanecer no ambiente durante várias semanas, ou até mesmo vários meses. Nesse sentido, a rotação de pastagens sendo realizada frequentemente, resulta no contrário do que se esperaria em termos de

descontaminação. Como ela permite aumentar o número de animais em uma área, pode ocorrer o aumento da contaminação (CAVALCANTE et al., 2009).

Uma alternativa para tentar reduzir a contaminação da pastagem é o consórcio de animais de diferentes espécies. A eficiência deste método depende da especificidade dos parasitos. As larvas com alta especificidade parasitária são destruídas ao serem ingeridas por um animal de outra espécie. Porém, vários fatores influenciam o sucesso dos sistemas integrados de controle, os quais incluem tanto a especificidade parasitária quanto o impacto da consorciação na qualidade e na produtividade das forrageiras (CAVALCANTE et al. 2009).

### **3.7.3 Controle biológico**

Fazer uso de antagonistas naturais disponíveis no ambiente é normalmente denominado de controle biológico (GRØNVOLD et al., 1996).

Com o surgimento de resistência anti-helmíntica pesquisas vêm sendo desenvolvidas em relação ao controle biológico dos parasitismos utilizando fungos nematófagos. Ao contrário do uso de formulações químicas, o controle biológico direciona-se para os estágios de vida livre do parasito no meio ambiente. Esses fungos devem sobreviver à passagem ao trato gastrintestinal do animal mantendo sua atividade predatória nas fezes (ARAÚJO et al., 1999; CAVALCANTE et al., 2009).

Para que sejam utilizados como antagonistas naturais, os fungos devem possuir especificidade de ação, alta capacidade reprodutiva e suportar as condições ambientais no local em que o controle é realizado. Além de que seja produzido em escala industrial, nos custos relacionados a esta produção, na competitividade com as drogas tradicionais estabelecidas no mercado e no tempo de sobrevivência do organismo em formulações comerciais. Assim, as formulações devem fornecer segurança para produtores, consumidores, animais tratados e ao meio ambiente e, principalmente, ser efetivo no controle do parasito

(GRØNVOLD et al., 1996). Existem mais de 150 espécies de fungos nematófagos catalogados (BARRON, 1977).

Embora existam muitos avanços em relação à utilização de fungos nematófagos no controle biológico de parasitos gastrintestinais de animais domésticos, a presença de obstáculos impede a sua completa utilização, como a relutância das empresas produtoras de fármacos em investir em pesquisas neste setor pela incerteza do sucesso dos resultados gerados. Porém, pesquisas que envolvam tanto epidemiologia, biologia e o modo de ação dos fungos nematófagos, fornecerão um novo conhecimento sobre a viabilidade do emprego desses agentes (CAVALCANTE et al., 2009).

Há algum tempo, vem sendo testado na agricultura o uso de diversas espécies de *Bacillus* spp. (RODRIGUES et al., 1988). Em especial os *Bacillus thuringiensis* vêm desempenhando um papel relevante no cenário agrícola (SCHNEPF et al., 1998). O efeito nematicida do *B. thuringiensis* é iniciado no momento em que um parasito suscetível ingere os cristais liberados durante a esporulação da bactéria. Esses cristais são pró-toxinas que, ao serem ingeridas, são solubilizadas pelo pH alcalino do trato intestinal do parasito. Após serem ativos, os fragmentos dessas pró-toxinas se ligam em receptores específicos das células epiteliais do intestino médio, resultando na lise intestinal pela formação de poros que ocasionam a morte do parasito (O'GRADY et al., 2007).

Sinott et al., (2012) demonstraram o efeito nematicida de *B. thuringiensis* var. *israelensis*, *B. thuringiensis* var. *osvaldocruzi*, *B. thuringiensis* var. *kurstaki*, e *B. circulans* contra larvas de *H. contortus*. Foi observada uma significativa redução no desenvolvimento das larvas, e estes efeitos foi proporcional à quantidade de bactérias adicionadas às fezes. No entanto, nenhum efeito foi observado quando *B. thuringiensis* var. *morrisoni* ou *B. cereus* foi adicionado. Estas observações sugerem que estas bactérias podem ser eficazes como nematicidas e podem permitir o desenvolvimento de controle biológico integrado de nematoides.

### 3.7.4 Controle por fitoterápicos

O controle de parasitos gastrintestinais por meio da utilização da fitoterapia apresenta uma alternativa viável e barata (SANTOS et al., 2012). A pesquisa com plantas medicinais para aplicação em animais, não é muito explorada pela indústria farmacêutica no Brasil. Até o presente momento não existem fitoterápicos validados cientificamente contra verminoses de pequenos ruminantes. Devido à variabilidade dos princípios ativos e a reprodutibilidade dos resultados que comprovem eficiência. Neste sentido, o desenvolvimento de pesquisas nessa área é de grande importância, visto que cada vez mais têm surgido metodologias e técnicas que possibilitam o rastreamento de substâncias e de genes de interesse (CAVALCANTE et al., 2009).

Dias de Castro et al., (2013), avaliaram a ação *in vitro* de *Origanum vulgare* sobre ovos de nematódeos gastrintestinais de bovinos. Para avaliar a capacidade de inibição da eclodibilidade dos ovos, diferentes formas de extratos das folhas secas desta planta foram testadas como tintura, extrato hidroalcoólico e extrato aquoso. Os resultados dos testes demonstraram que os diferentes extratos de *O. vulgare* inibiram a eclodibilidade dos ovos de nematoides gastrintestinais de bovinos com percentual de inibição variando de 8,8 a 100%, sendo a tintura e o extrato hidroalcoólico as formas mais promissoras. Frente a esta propriedade ovicida, o *O. vulgare* pode representar uma importante fonte de compostos antiparasitários viáveis para o controle dos nematoides em ruminantes.

### 3.7.5 Produção de vacinas

O estabelecimento da resistência aos anti-helmínticos incentivou o desenvolvimento de vacinas, juntamente com a preocupação com os resíduos químicos no ambiente e nos produtos para o consumo humano (PADILHA, 1996).

Devido ao tamanho dos nematoides gastrintestinais (1-3 mm de comprimento) e da complexidade de antígenos e mecanismos imunológicos, tenta-

se identificar compostos que sejam capazes de produzir imunidade contra esses parasitas, concentrando-se as pesquisas na larva infectante e no verme adulto (PADILHA, 1996).

A primeira geração de vacinas contra nematódeos gastrintestinais utilizava larvas infectantes, que eram atenuadas pela radiação gama, para fazerem a indução da imunidade. Porém vacinas para *H. contortus* e *T. colubriformis*, feitas por este método, foram inviabilizadas para o uso comercial devido à quantidade de larvas irradiadas, custo de produção e tempo de prateleira. Como os nematódeos requerem de metabólicos rigorosos não há encorajamento para a produção *in vitro* de antígenos protetores, através do cultivo de vermes, pois os procedimentos para o cultivo são complexos e caros, e a produção de antígenos é menor que os recolhidos *in vivo* (ZACHARIAS, 2004).

Para desenvolver-se uma vacina que seja eficiente, provavelmente, esta deverá induzir uma série de respostas celulares e humorais. É desejável uma vacina que induza a rejeição de larvas o mais depressa possível para evitar o desenvolvimento da infecção. Devem induzir mastócitos locais, anticorpos específicos. O aumento da população de células T na lâmina própria e células dendríticas apresentadora de antígenos são também desejáveis, assim como a secreção e liberação de anticorpos específicos no muco. Além disso, precisa ser simples de administrar e barata para competir com outras tecnologias (PADILHA, 1996).

### **3.7.6 Goma Xantana**

A goma xantana (GX) é um polissacarídeo natural e um importante biopolímero industrial produzido pela bactéria *Xanthomonas spp.*. Foi descoberto em 1950 no *Northern Regional Research Laboratories* (NRRL) localizado no departamento de Agricultura nos Estados Unidos (MARGARITIS & ZAJIC, 1978). As bactérias do gênero *Xanthomonas* pertencem à família *Pseudomonaceae*, a composição, estrutura, biossíntese e propriedades funcionais dos polissacarídeos

extracelulares podem variar a depender da cepa, do substrato e das condições de produção (GARCIA-OCHOA et al., 2000; SILVA et al., 2009; FREITAS et al., 2011).

A estrutura primária deste heteropolissacarídeo produzido por *X. campestris pv campestris* é constituída de repetidas unidades pentassacarídicas. Geralmente é composta por uma cadeia principal celulósica de moléculas de D-glicose unidas por ligações do tipo  $\beta$  (1-4) e uma cadeia lateral trissacarídica, ligada alternadamente à posição 3 dos resíduos de glicose da cadeia principal, composta por duas moléculas de D-manose intercaladas por uma molécula de ácido D-glicurônico; a manose interna é acetilada e, aproximadamente, a metade das moléculas de manose terminal (externa) contém resíduos de ácido pirúvico (JANSSON et al., 1975). Um segundo grupo acetil ainda pode se ligar a algumas moléculas de manose terminal (STANKOWSKI et al., 1993). A estrutura molecular da GX está representada na Figura 1.

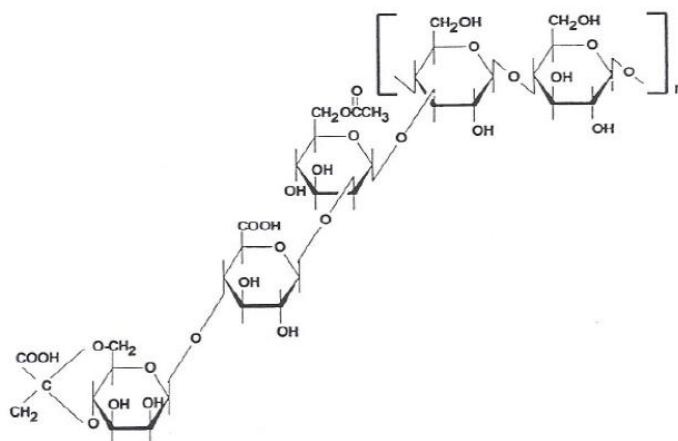


Figura 1: Estrutura do polissacarídeo extracelular de *X. campestris*.

Fonte: BECKER et al., 1998.

Pesquisas estão sendo realizadas a fim de comprovar a segurança da aplicação da GX na indústria alimentícia e farmacêutica, demonstrando que este polissacarídeo não causa irritação cutânea ou ocular, sendo aprovada nos



Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) para ser utilizada como alimento aditivo sem limitação de quantidades específicas (KENNEDY & BRADSHAW, 1984).

De acordo com Roos et al., (2009), a xantana foi capaz de desenvolver uma ação adjuvante superior ou igual aos adjuvantes utilizados em vacinas comerciais, apresentando-se inócua aos animais imunizados, sugerindo que este polissacarídeo possui um grande potencial para ser incorporado como adjuvante em vacinas para animais.

Muitos estudos têm avaliado a capacidade de  $\beta$ -D-glicanos na ativação da imunidade inata e seus efeitos sobre a imunidade adaptativa, indução de respostas imune humoral e mediada por células. Estes compostos são capazes de aumentar a atividade antimicrobiana de células mononucleares, de neutrófilos e a atividade funcional de macrófagos (LING et al., 1998; WAKSHULL et al., 1999; BURGALETTA et al., 1978; CHANPUT et al., 2013 ). Também foi relatado que podem estimular a produção de moléculas pró-inflamatórias, tais como os componentes do complemento, IL-1 $\alpha$ / $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-12, IFN- $\gamma$ , IL-10 e IL-4 (VOLMAN et al., 2003; BROWDER et al., 1990).

Para uma utilização adequada dos glicanos como potenciadores do sistema imunológico, é necessário salientar que os polímeros de glicano derivados de várias fontes podem variar em grande medida da afinidade de ligação a receptores específicos. Conseqüentemente, diferentes efeitos biológicos podem ser promovidos de acordo com a fonte da molécula escolhida (MUELLER et al., 2000).

Takeuchi et al., (2009), partiu do princípio que um polissacarídeo extracelular produzido por *Acetobacter polysaccharogenes* (CA-1), que é composta de (1,4)- $\beta$ -D-glicano com ramos de resíduos glicosilo, exercia atividades antitumorais como agonista de TLR4 (KAMIRYO et al., 2005; SAITO et al., 2003). CA-1 induzia a produção de IL-12 e TNF- $\alpha$  por macrófagos e aumentava as atividades citotóxicas específicas de linfócitos T CD8 *in vivo*. Por a GX ser composta de (1,4)- $\beta$ -Dglicano, semelhante ao AC-1, os autores avaliaram que a XG é um potente indutor de IL-12 e TNF- $\alpha$  por macrófagos. Este polissacarídeo

ativa a via de sinalização do receptor Toll-like e foi reconhecido principalmente por TLR4. Além disso, ao analisarem-se os esplenócitos dos camundongos, foi observada grande atividade das células NK e linfócitos T citotóxicos.

## **4 Materiais e Métodos**

O estudo em campo foi realizado no município de Canguçu, Estado do Rio Grande do Sul, no período de outubro e novembro de 2013.

### **4.1 Animais estudados**

Foram utilizados três ovinos da raça Texel, criados a campo, com aproximadamente dois anos, acompanhados com exames parasitológicos no período de 0h, 24h, 48h e 72h após a inoculação da xantana.

A goma xantana foi preparada na concentração de 1,9 mg/mL. Inoculou-se 2 mL do polissacarídeo sob via subcutânea em cada animal tratado utilizando-se agulha de 1mm com 1,5 cm de comprimento e seringa de 5mL. Como controle utilizou-se três ovinos da mesma raça e idade, acompanhados com exames parasitológicos no mesmo período.

### **4.2 Coleta das amostras fecais**

As coletas das fezes foram feitas diretamente da ampola retal dos animais, acondicionados em sacos plásticos e transportados em caixas térmicas contendo gelo.

As coletas foram realizadas antes da inoculação da xantana e no intervalo de 24h, 48h, 72h, 28 dias e 33 dias após, para avaliação da diminuição do número de ovos de *Haemonchus* spp. nas fezes dos animais.

### **4.3 Contagem de ovos por gramas de fezes**

Foram realizadas contagens de ovos por grama de fezes das amostras fecais de todos os animais utilizados nesse estudo conforme a técnica de Gordon e Whitlock (1939) modificado, pesando-se 2g de fezes e utilizando-se 58 mL de

solução supersaturada de sal. As amostras foram processadas no laboratório de Parasitologia- Instituto de Biologia, na Universidade Federal de Pelotas.

A eficácia do tratamento testado foi calculada através de um Teste de Redução da Contagem de Ovos nas Fezes (FECRT), pela fórmula:  $PR = 100 (1 - \text{OPG final} / \text{OPG inicial})$ , onde, “PR” é o percentual de redução de OPG; “OPG inicial” e “OPG final” são, respectivamente, os valores de OPG de cada animal antes do tratamento, e a avaliação 24h, 48h, 72h, 28 dias e 33 dias após o tratamento.

#### **4.4 Extração de células do baço e sangue periférico**

O baço de um ovino foi adquirido no Frigorífico Salso, na cidade de Pelotas-RS e o sangue periférico foi coletado em animais localizados na cidade de Canguçu, por punção da veia jugular em tubos a vácuo, contendo anticoagulante.

O protocolo de extração e cultivo das células foi seguido de acordo com Leite et al., (2005). As células foram estimuladas com xantana (10 µg/poço), concavalina A (5 µg/ml) e soro fetal bovino (5mL), por 24h, após, foram armazenadas em Trizol a - 70 °C para posterior realização de RT-PCR para identificação das citocinas produzidas.

### **5 Resultados**

#### **5.1 Resultados das análises da técnica Gordon e Wicthlok**

Em comparação com os animais não tratados, observou-se uma redução do número de ovos nas fezes dos animais tratados com xantana por via subcutânea. Enquanto o OPG dos animais controle aumentou significativamente, o OPG dos animais inoculados reduziu significativamente (Figura 2).

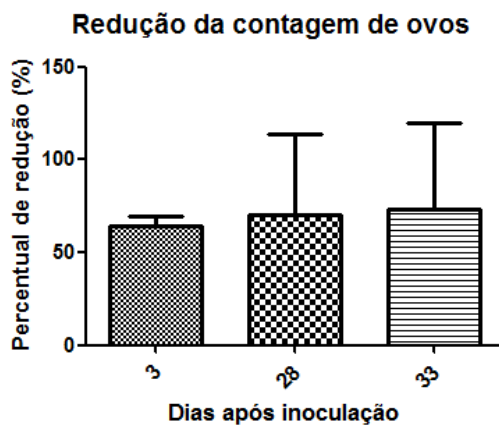


Figura 2: Porcentagem da redução da contagem de ovos. Os dados representam a porcentagem da Redução da Contagem de Ovos nas Fezes baseada nas médias do OPG em função dos dias após o tratamento (dia 3, dia 28 e dia 33), pela fórmula:  $PR = 100 (1 - OPG \text{ final} / OPG \text{ inicial})$ , onde se observou que os animais tratados apresentaram significativas porcentagens de redução do número de ovos.

## 6 Discussão

As parasitoses ocupam um lugar de destaque dentre os fatores que interferem no desenvolvimento da pecuária. Prejuízos tanto no retardo de produção, custos com tratamentos e em casos extremos a morte dos animais, são causados por estas enfermidades (PERRY & RANDOLPH, 1999). Os nematoides gastrintestinais apresentam destaque entre as verminoses que acometem ovinos (BUENO et al., 2002). Dentre os principais gêneros de nematódeos que acometem o rebanho ovino, o gênero *Haemonchus* é o mais frequente (RODRIGUES et al., 2007).

A goma xantana é um polissacarídeo composto por (1,4)- $\beta$ -Dglicano (TAKEUCHI et al., 2009). Estes glicanos têm sido descritos como moléculas biologicamente ativas (TZIANABOS, 2000; FALCH et al., 2000). Estudos apontam que os glicanos podem reagir com um ou vários receptores de superfície celular como o receptor complementar 3 (CR-3). A ligação dos glicanos aos receptores proporciona a ativação da resposta imune inata e subsequentemente a adaptativa, principalmente através da liberação de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, IL-8, IL-12 e TNF- $\alpha$  (KANEKO & CHIHARA, 1992).

A fim de criar uma alternativa para o controle da hemoncose, devido aos problemas de resistência anti-helmíntica, este estudo sugere que a GX apresenta potencial como modulador do sistema imune através de uma resposta sistêmica que pode ativar o processo inflamatório e ocasionar a diminuição do estabelecimento de nematoides gastrintestinais em ovinos.

Como mostrado nos resultados, o número de ovos de nematoides gastrintestinais eliminados nas fezes dos animais foi reduzido após a inoculação da GX por via subcutânea. Assim, sugere-se que possa ter ocorrido uma resposta inflamatória no local da inoculação, e assim como no trabalho desenvolvido por Takeuchi et al., (2009) houve a liberação de IL-12, que promove a diferenciação de células Th1, intensificando a resposta imune.

Além disso, acredita-se que possa ter sido liberada a IL-17 exercendo um papel em nível de mucosa impedindo o estabelecimento dos parasitos, pois a citocina IL-17 é um potente indutor da inflamação, induzindo a infiltração celular de

neutrófilos, por exemplo. Os linfócitos Th17 são responsáveis pela regulação da inflamação aguda (KORN et al., 2009).

Porém, para comprovação destas hipóteses se faz necessário à continuação deste estudo para realização de qPCR a fim de que as citocinas possam ser identificadas e a resposta imune induzida pela GX possa ser mais bem compreendida.

## 7 Conclusão

Os dados obtidos neste estudo sugerem uma resposta sistêmica que consequentemente pode ter atingido níveis de mucosa, induzindo uma inflamação suficiente, que possa ter ocasionado à liberação dos parasitos.

Estudos com este polissacarídeo são de grande importância para que sua ação possa ser mais bem compreendida na modulação do sistema imune de forma sistêmica, e a possível influência na diminuição do estabelecimento de nematoides no trato gastrointestinal de ovinos. Por isso, a continuação deste trabalho se faz necessária para que as citocinas produzidas possam ser identificadas, como a IL-17, que pode exercer um papel em nível de mucosa e consequentemente sobre parasitos gastrintestinais. Além disso, a associação entre métodos como controle biológico, uso de fitoterápicos, rotação de pastagens e a goma xantana, podem ser consideradas alternativas no controle dos parasitos, pois permitem diminuir a utilização de compostos químicos e a consequente resistência anti-helmíntica gerada quando estes métodos são usados de forma individual.



## 8 Referências

ABOTT, E. M.; PARKINS, J. J.; HOLMES, P. H. The effect of dietary protein on the pathogenesis of acute ovine haemonchosis. **Veterinary Parasitology**, v.20, n.4, p. 275-289. 1986.

ACHI, Y. L.; ZINSSTAG, J.; YAO, K.; YEO, N.; DORCHIES, P.; JACQUIET, P. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 151–158. 2003.

AMARANTE, A.F.T. Controle de Endoparasitoses dos Ovinos. **Departamento de Parasitologia**, Unesp - Botucatu. 2003.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 91–106. 2004.

ANTUNES, N. A indústria veterinária no Brasil. Comportamento do mercado em 1990. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 62, p. 27-33. 1991.

ARAÚJO, J. V.; STEPHANO, M.A.; SAMPAIO, W.M. Passage of nematode-trapping fungi through the gastrointestinal tract of calves. **Veterinary Archives**, v.69, p.69-78. 1999.

ARIZMENDI-PUGA, N. G.; ENCISO, J. A.; ORTEGA-PIERRES, G. *Trichinella spiralis*: Histamine secretion induced by TSL-1 antigens from unsensitized mast cells. **Experimental Parasitology**, v.114 p. 67-76. 2006.

AROSEMENA, N. A. E.; BEVILAQUA, C. M. L.; MELO, A. C. F. L.; GIRÃO, M. D. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid areas in Brazil. **Revue Médecine Vétérinaire**, v. 150, p. 873-876. 1999.

BARGER, I. A.; SIALE, K.; BANKS, D. J. D.; LEJAMBRE, L. F. Rotation grazing for control of gastrointestinal nematodes of goats in a wet tropical environment. **Veterinary Parasitology**, v. 53, p. 109-116. 1994.

BARRON, G. L. The Nematode-destroying Fungi. Topics in Mycobiology, No. 1. **Canadian Biological Publications**, Guelph, Canada. 140 p. 1977.

BLOUIN, M.S., YOWELL C. A.; COURTNEY, C.H.; DAME, J.B. Host movement and the genetic structure of populations of parasitic nematodes, **Genetics**, v.141, p. 1007-1014, 1995.

BOFILL, F.J. A reestruturação da ovinocultura gaúcha. **Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária**, 137p.1996.

BROWDER, W.; WILLIAMS, D.; PREUTES, H.; OLIVERO, G.; ENRICHENS, F.; MAO, P.; FRANCHELLO, A. Beneficial effect of enhanced macrophage function in the trauma patient. **Annals of Surgery**, v. 211, p. 605-613. 1990.

BUENO, M. S.; CUNHA, E. A.; VERISSIMO, C. J.; SANTOS, L. E.; LARA, M. A. C.; OLIVEIRA, S. M.; SPOSITO FILHA, E.; REBOUCAS, M. M. Infection por nematodos em razas de ovelhas carniças criadas intensivamente em La region Del sudeste Del Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v. 15, p.273-280. 2002.

BURGALETTA, C.; TERRITO, M. C.; QUAN S. G.; GOLDE, D. W. Glucan activated macrophages: functional characteristics and surface morphology. **Journal of the Reticuloendothelial Society**, v. 23, p. 195-104. 1978.

CAVALCANTE, A. C. R.; VIEIRA, L. S.; CHAGAS, A. C. S.; MOLENTO, M. B. Doenças parasitárias de caprinos e ovinos epidemiologia e controle. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 1 ed. 603 p. 2009.

CHANPUT, W.; REITSMA, M.; KLEINJANS, L.; MES, J. J.; SVELKOU, H. F.; WICHERS, H. J.  $\beta$ -glucans are involved in immune-modulation of THP-1 macrophages. **Molecular Nutrition and Food Res**, v. 56, p. 822-833. 2012.

CHARLES, T. P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D. B. Efficacy of three broad- spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, v. 34, p.71-75. 1989.

CHARLIER, J.; HÖGLUND, J.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; DORNY, P.; VERCRUYSSSE, J. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy: cattle impact on production, diagnosis and control. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 70-9. 2009.

COLES, G. C. & ROUSH, R. T. Slowing the spread of anthelmintic resistant nematodes of sheep and goats in the United Kingdom. **Veterinary Record**, v. 130, p. 505- 510. 1992.

COOP, R. L.; KYRIAZAKIS, I. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 17, p. 325-330. 2001.

DIAS DE CASTRO, L. L.; MADRID, I. M.; AGUIAR, C. L. G.; CASTRO, L. M.; CLEFF, M. B.; BERNE, M. E. A.; LEITE, F. P. L. *Origanum vulgare* (Lamiaceae) ovicidal potential on gastrointestinal nematodes of cattle. **Ciência animal brasileira**, Goiânia, v.14, n.4, p. 508-513. 2013.

DOS SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpe resistente de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**, v.9, p. 201-209. 1967.

EADY, S. J.; WOOLASTON, R. R.; BARGER, I. A. Comparison of genetic and nongenetic strategies for control of gastrointestinal nematodes of sheep. **Livestock Production Science**, v. 81, p. 11–23. 2003.

ECHEVARRIA, F. A. M. **Resistência anti-helmíntica**. In: CHARLES T.P. (Ed) Controle dos nematódeos gastrintestinais. Juiz de Fora, Minas Gerais, p. 53-76. 1996.

ECHEVARRIA, F. A. M. Doenças parasitárias de ovinos e seu controle. In: SIMPÓSIO PARANAENSE DE OVINOCULTURA, 3., 1988, Guarapuava. **Anais...** Londrina: IAPAR, p. 46-47.1988.

FALCH, B. H.; ESPEVIK, T.; RYAN, L.; STOKKE, B. T. The cytokine stimulating activity of (1→3)-beta-D-glucans is dependent on the triple helix conformation. **Carbohydrate Research**, v. 329, p. 587–596. 2000.

FREITAS, F.; ALVES, V. D.; REIS, M.A.M. Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 8. p. 388-398. 2011.

GARCÍA-OCHOA, F.; SANTOS, V. E.; CASAS, J. A.; GÓMEZ, E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. **Biotechnology Advances**, v. 18, p. 549-579. 2000.

GORDON, H. McL.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council for Scientific and Industrial Research**, v. 12, n. 1, p. 50-52. 1939.

GRIFFITHS, A. J. F.; MILLER, J.H., SUZUKI, D.T. Introdução a genética. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**. 1998.

GRØNVOLD J., HENRIKSEN S.A., LARSEN M., NANSEN P.; WOLSTRUP J. Aspects of biological control with special reference to arthropods, protozoans and helminths of domesticated animals. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 47-64. 1996.

HANKINS, J. A. Economic benefits of parasite control in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.46, p.159-173. 1993.

HOUDIJK, J. G. M. Influence of periparturient nutritional demand on resistance to parasites in livestock. **Parasite Immunology**. v.30, p. 113-121. 2008.

JACQUIET, P.; CABARET, J.; THIAM, E.; CHEIKH, D. Host range and the maintenance of *Haemonchus* spp. in an adverse arid climate. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 253-261. 1998.

JAIN, N.C. Hematologic techniques, in: Schalm's Veterinary Haematology, 4th Edition, **Lea & Febiger, Philadelphia, PA**, p. 20-86. 1986.

JANSSON, P.E., KENNE, L., LINDBERG, B. Structure of the exocellular polysaccharide from *Xanthomonas campestris*. **Carbohydrate**, v. 45, p. 275-285. 1975.

KAMIRYO, Y.; YAJIMA, T.; SAITO, K.; NISHIMURA, H.; FUSHIMI, T.; OHSHIMA, Y. Soluble branched (1, 4)-beta-D-glucans from *Acetobacter* species enhance antitumor activities against MHC class I-negative and -positive malignant melanoma through augmented NK activity and cytotoxic T-cell response. **International Journal of Cancer**, v. 115, p. 769–76. 2005.

KANEKO, Y.; CHIHARA, G. Potentiation of host resistance against microbial infections by lentinan and its related polysaccharides. In: Friedman H, Klein TW, Yamaguchi H, editors. **Microbial Infections: Role of Biological Response Modifiers**. Plenum Press; New York, NY, p. 201–215. 1992.

KENNEDY J. F.; BRADSHAW, I. J. Production, properties and applications of xanthan. **Progress in Industrial Microbiology**, v. 19, p. 319-71. 1984.

KORN, T.; BETTELLI, E.; OUKKA, M.; KUCHROO, V. K. IL-17 and Th17 Cells. **Annual Review of Immunology**, v. 27, p. 485-517. 2009.

KREVECK, R. C.; GROENEVELD, H. T.; VAN WIK, J. A., Effects of time of day, season and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigated pasture. **Veterinary Parasitology**, v.40, n.(1-2), p. 87-98. 1991.

LEITE, F.; ATAPATTU, D.; KUCKLEBURG, C.; SCHULTZ, R.; CZUPRYNSKI, C. J. Incubation of bovine PMNs with conditioned medium from BHV-1 infected peripheral blood mononuclear cells increases their susceptibility to *Mannheimia haemolytica* leukotoxin. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 103, p. 187–193. 2005.

LING, J.; MELICAN, D.; CAFRO, L.; PALACE, G.; FISETTE, L.; ARMSTRONG, R.; PATCHEN, M. L. Enhanced clearance of a multiple antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* in rats treated with PGG-glucans is associated with increased leukocyte counts and increased neutrophil oxidative burst activity. **International Journal Immunopharmacology**, v. 20, p. 595-614. 1998.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. **Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária**, EMBRAPA. 2004

MARGARITIS A; ZAJIC J. E. Biotechnology review: mixing mass transfer and scale-up of polysaccharide fermentations. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 20, p. 939- 1001. 1978

MEEUSEN, E. N. T.; BALIC, A. Do Eosinophils have a Role in the Killing of Helminth Parasites? **Parasitology Today**, v. 16, n.3. 2000.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO- MAPA, 2011. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>. Acesso em: 14 dez. 2013.

MOLENTO, M. B.; TASCA, C. T.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R. Evandro Stecca Método Famacha como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1139-1145. 2004.

MUELLER, A.; RAPTIS, J.; RICE, P. J.; KALBFFLEISCH, J. H.; STOUT, R. D.; ENSLEY, H. E.; BROWDER, W.; WILLIAMS, D. L. The influence of glucan polymer structure and solution conformation on binding to (1-3)- $\beta$ -D-glucans receptors in human monocyte-like cell line. **Glycobiology**, v. 10, p. 339-346. 2000.

NAWA, Y.; ISHIKAWA, N.; TSUCHIYA, K.; HORII, Y.; ABE, T.; KHAN, A. I.; HI, B.; ITOH, H.; IDE, H.; ICHIYAMA, F. Selective effector mechanisms for the expulsion of intestinal helminthes. **Parasite Immunology**, v. 16, p. 333-338. 1994.

NUNES, R. L. Análise genética de isolados do *Haemonchus* sp isolados de ruminantes domésticos para identificação da resistência ao anti-helmíntico Benzimidazol. Belo Horizonte – Minas Gerais. **Dissertação (Doutor em Zootecnia)**. 2012.

O'GRADY, R.J. AKHURST, A.C. KOTZE The requirement for early exposure of *Haemonchus contortus* larvae to *Bacillus thuringiensis* for effective inhibition of larval development. **Veterinary Parasitology**. 2007.

OLIVEIRA, N. M; ALVES, S. R. S. Sistema de Criação de Ovinos nos Ambientes Ecológicos do Sul do Rio Grande do Sul. **Embrapa Pecuária Sul**. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Ovinos/CriacaoOvinosambientesEcologicosSulRioGrandeSul/introducao.htm> Acesso dia 19 out. 2013.

PADILHA, T. Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes. Coronel Pacheco: **EMBRAPA - CNPGL**, 258 p. 1996.

PERRY, B. D.; RANDOLPH, T. F. Improving the assessment of the economic impact of parasitic diseases and their control in production animals. **Veterinary parasitology**, v. 84, p. 145-168. 1999.

PINTO, S.; BARROS, C. S.; SCOLARI, A. P. R.; SEBEN, J. E. LARVAS DE TRICOSTRONGILÍDEOS EM FEZES DE OVINOS. **Ciência Animal Brasileira**, [S.l.], p. 701 - 706, out. 2009. ISSN 1809-6891. Disponível em: <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7887/5726>. Acesso em: 02 Nov. 2013.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA E. B. Sensibilidade dos nematoides gastrintestinais de caprinos a anti – helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.27, n. 4, p. 162-16. 2007.

RODRIGUES, I. B., TADEI, W. P., DIAS, J. M. C. S. Studies on the *Bacillus sphaericus* larvicidal activity against malaria vector species in Amazonia. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, p. 441-444. 1988.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; DALAGNOLL, C. A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1889-1895. 2004.

ROMERO, J. R., BOERO, C.A. Epidemiologia de Las Gastroenterites Verminosa de los Ovinos em Las Regiones Templadas Y Cálidas de La Argentina. **Anales acta Veterinaria**; v. 21, p. 21 – 37. 2001.

ROOS, T. B.; MORAES, C. M.; VIDOR, T.; VENDRUSCOLO, C. T.; LEITE, F. P. L. Xantana como adjuvante em vacina contra herpes suíno tipo 1. **Veterinária em Foco**, v.6, n.2, jan./jun. 2009.

ROTHENBERG, M. E.; HOGAN, S. P. The eosinophil. **Annual Review Immunology**, v. 24, p. 147-174. 2006.

SAITO, K.; YAJIMA, T.; NISHIMURA, H.; AIBA, K.; ISHIMITSU, R.; MATSUGUCHI, T. Soluble branched beta-(1, 4)glucans from *Acetobacter* species show strong activities to induce interleukin-12 in vitro and inhibit T-helper 2 cellular response with immunoglobulin E production in vivo. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 38571–8. 2003.

SANCHO, F. V. **Atlas de parasitología ovina**. Zaragoza: Grupo Asís Biomedica. 2009.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p. 89-109. 2001.

SANGSTER, N. C., BANNAN, S. C., WEISS, A. S., NULF, S. C., KLEIN, R. D., GEARY, T. G. *Haemonchus contortus* sequence heterogeneity of internucleotide binding domains from glycoproteins and an association with avermectin resistance. **Experimental Parasitology**, v. 91, p. 250-257. 1999.

SANTA ROSA, J. Enfermidades em caprinos: diagnóstico, patogenia, terapêutica e controle. Sobral: **Embrapa Caprinos**, 196 p. 1996.

SANTOS, F. C. C.; VOGEL, F. S. F.; MONTEIRO, S. G. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum*) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v. 7, p. 139-144. 2012.

SANTOS, V. T., GONÇALVES, P.C. Verificação de estirpe de *Haemonchus* resistentes ao thiabendazole no Rio Grande do Sul – Brasil . **Arquivos da Faculdade de Agronomia e Veterinária da UFRGS**, v.5, p. 201 – 211. 1967.

SCHNEPF, E., CRICKMORE, N., VAN RIE, J., LERECLUS, D., BAUM, J., FEITELSON, J., ZEIGLER, D.R., DEAN, D.H. *Bacillus thuringiensis* and Its Crystal Proteins. **Microbiology and Molecular Biology Review**, v.62, p. 775-806. 1998.

SILVA, M. F.; FORNARI, R. C. G.; MAZUTTI, M. A.; OLIVEIRA, D.; PADILHA, F. F.; CICHOSKI, A. J.; CANSIAN, R. L.; DILUCCIO, M.; TREICHEL, H. Production and characterization of xanthan gum by *Xanthomonas campestris* using cheese whey as sole carbon source. **Journal of Food Engineering**, v. 90, p. 119-123. 2009.

SILVESTRE, A.; HUMBERT, J. F.; Diversity of benzimidazole resistance alleles in populations of small ruminant parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p.321-328. 2002.



SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE PRODUTOS PARA A SAÚDE ANIMAL (SINDAN). Disponível em: <<http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html>>.

SINOTT, M. C.; CUNHA FILHO, N. A.; CASTRO, L. L. D.; LORENZON, L. B.; PINTO, N. B.; CAPELLA, G. A.; LEITE, F. P. L. *Bacillus* spp. toxicity against *Haemonchus contortus* larvae in sheep fecal cultures. **Experimental Parasitology**. v. 132 . p. 103–108. 2012.

STANKOWSKI, J., MUELLER, B., ZELLER, S. Localization of a second O-acetyl group in xanthan gum by the reductive-cleavage method. **Carbohydrate Polymers**. Res. v. 241, p. 321-326. 1993.

STRAIN, S. A. J.; STEAR, M. J. The influence of protein supplementation on the immune response to *Haemonchus contortus*. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 23, p. 527-531. 2001.

TAKEUCHI, A.; KAMIRYOU, Y.; YAMADA, H.; ETO, M.; SHIBATA, K.; HARUNA, K.; NAITO, S.; YOSHIKAI, Y. Oral administration of xanthan gum enhances antitumor activity through Toll-like receptor 4. **International Immunopharmacology**. p. 1562–1567. 2009.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A. p. 131-136. 2010.

TERRA, R.; SILVA, S. A. G.; PINTO, V. S.; DUTRA, P. M. L. Efeito do exercício no sistema imune: resposta, adaptação e sinalização celular. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v.18 no.3 São Paulo May/June. 2012.

TZIANABOS, A. Polysaccharide immunomodulators as therapeutic agents: structural aspects and biologic function. **Clinical Microbiological**, v.13, p. 523–533. 2000.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1998.

WAKELIN, D. Immunity and immunogenetics – new approaches to controlling worm infections in sheep . **Journal British Veterinary**, v.151, p.111-112. 1995.

WAKSHULL, E.; BRUNKE-REESE, D.; LINDERMUTH, J.; FISETTE, L.; NATHANS, R. S.; CROWLEY, J. J.; TUFTS, J. C.; ZIMMERMAN, J.; MACKIN, W.; ADAMS, D. S. PGG-glucan, a soluble beta-(1,3)-glucan, enhances the oxidative burst response, microbicidal activity and activates an NF-kappa B-like factor in human PMN: evidence for a glycosphingolipid beta-(1,3)-glucan receptor. **Immunopharmacology**, v.41, p. 89-107. 1999.

VIANA, J. G. A.; SILVEIRA, V. C. P. Análise econômica da ovinocultura: estudo de caso na Metade Sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.4, p.1187-1192, jul. 2009.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; XIMENES, L. J. F. Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões Semi-Áridas do Nordeste. Sobral: **EMBRAPA- CNPC**, 50p. 2002.

VIEIRA L.S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em caprinos e ovinos. **Revista Ciência e Tecnologia Agropecuária**, v. 2, p. 28-31. 2008.

VLIAGOFTIS, H.; BEFUS, A. D. Rapidly changing perspectives about mast cells at mucosal surfaces. **Immunology Review**, v. 206, p. 190-203. 2005.

VOLMAN, J. J.; RAMAKERS, J. D.; PLAT, J. Dietary modulation of immune function by beta-glucans. **Physiology & Behavior**, v. 94, p. 276-284. 2008.

ZACHARIAS, F. Controle alternativo da infecção por *Haemonchus contortus* em ovinos: avaliação do tratamento homeopático. **Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical)**. Universidade Federal da Bahia. 2004.