



**FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS
CURSO DE MESTRADO**



**BIOMARCADORES DA NEMATODIOSE
GASTRINTESTINAL EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS A
PASTO EM UMA REGIÃO DE CLIMA TROPICAL**

VINÍCIUS DUARTE RODRIGUES

**Campo Grande – MS
2023**

VINÍCIUS DUARTE RODRIGUES

**BIOMARCADORES DA NEMATODIOSE
GASTRINTESTINAL EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS A
PASTO EM UMA REGIÃO DE CLIMA TROPICAL**

***GASTROINTESTINAL NEMATODIOSIS BIOMARKERS IN BEEF BOVINE
RAISED IN TROPICAL WEATHER***

VINÍCIUS DUARTE RODRIGUES

Orientador: FERNANDO DE ALMEIDA BORGES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

**Campo Grande – MS
2023**



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada “Impacto de coinfeção por endo e ectoparasitos em parâmetros sanitários e produtivos de bovinos. Subprojeto – Biomarcadores para infecção por nematódeos gastrintestinais em bovinos”, registrada com o nº 1.074/2019, sob a responsabilidade de **Fernando de Almeida Borges** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 6ª reunião ordinária do dia 29/08/2019.

FINALIDADE	() Ensino (x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	25/09/2019 a 30/12/2019
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Bos indicus</i> / Nelore
Nº de animais	36
Peso/Idade	180 - 350kg / 9 a 15 meses
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Fazenda Escola da FAMEZ/UFMS

Fábio José Carvalho Faria

Coordenador da CEUA/UFMS

Campo Grande, 02 de setembro de 2019.



Documento assinado eletronicamente por **Fabio Jose Carvalho Faria**,
Professor do Magisterio Superior, em 03/09/2019, às 18:16, conforme
horário oficial de Mato Grosso do Sul, com fundamento no art. 6º, § 1º, do
[Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufms.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1465016** e o código CRC **21275983**.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Av Costa e Silva, s/nº - Cidade Universitária

Fone:

CEP 79070-900 - Campo Grande - MS

Referência: Processo nº 23104.022109/2019-53

SEI nº 1465016

DEDICATÓRIA

A Deus;

Aos meus avós, Hermínio, Candelária, Walter e Maria.

Aos meus pais, Marcos e Kátia, e meu irmão, Walter.

A minha noiva/esposa, Bruna.

As pessoas que me apoiaram na conclusão desse projeto.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof.º Dr.º Fernando de Almeida Borges, que foi meu preceptor durante a Residência e meu orientador no Mestrado, pois em todo período estimulou e incentivou a pesquisa, não medindo esforços para execução dos projetos.

Aos integrantes da equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias (LADPAR), que foram dedicados para executar a metodologia durante o período do estudo.

Aos laboratórios que auxiliaram na execução dos diagnósticos presentes nesse projeto, Laboratório de Patologia Clínica e Laboratório de Biologia Molecular.

A MSD Saúde Animal e a Capes pelo apoio financeiro à essa pesquisa.

A todos que contribuíram e auxiliaram de alguma forma no projeto.

RESUMO

RODRIGUES, V. D. **Biomarcadores da nematodiose gastrointestinal em bovinos de corte criados no Brasil central**. 2023. MESTRADO – Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

Os biomarcadores são condições específicas durante o processo biológico normal ou patogênico, que podem auxiliar no diagnóstico de enfermidades. Alguns biomarcadores, como o pepsinogênio, já foram bem padronizados para bovinos taurinos infectados por *Ostertagia* sp. e criados em regiões de clima temperado, porém, ainda não há informações sobre seu uso em bovinos zebuínos infectados predominantemente por *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. Diante disso, os objetivos desse projeto foram avaliar prováveis biomarcadores, que possam diferenciar animais portadores e não portadores de nematodioses gastrointestinais (NGIs) e avaliar correlação com indicadores de infecção e de saúde dos animais. Na primeira etapa foi definido um biomarcador que diferenciava os grupos, foram selecionados 36 bovinos da raça Nelore, machos e fêmeas com idades entre 10 e 18 meses, mantidos em um mesmo piquete com água, suplementação mineral *ad libitum* e naturalmente infectados por NGIs. Eles foram distribuídos em um delineamento em blocos casualizados em dois grupos, com base no exame de ovos por grama de fezes (OPG), sexo, peso, hemograma e bioquímica sérica no dia -14, aos quais foram sorteados os seguintes tratamentos: tratado com anti-helmíntico (TRAT A) e não tratado com anti-helmíntico (CON A). Nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 42 e 56 somente no grupo TRAT foi administrado uma dose de fenbendazole 5mg/kg, via oral. Nessas mesmas datas, foram coletadas fezes e avaliado o OPG, pela técnica de Mini-FLOTAC, coleta de sangue para avaliar hemograma, bioquímica sérica e possíveis biomarcadores (fósforo, gastrina e pepsinogênio). Na segunda etapa avaliou o biomarcador que diferenciou os grupos TRAT A e CON A, no caso o pepsinogênio. Sendo selecionados 75 bovinos da raça Nelore, com idades entre 12 a 24 meses, machos, separados em um delineamento em blocos casualizados, com base no OPG, pela técnica de McMaster e peso no dia 0 e distribuídos em três grupos: não tratado com anti-helmíntico (CON BC), tratado com Moxidectina 0,2 mg/kg P.V. (TRAT B) e tratado com associação de Ivermectina (0,2 mg/kg P.V.) e Sulfóxido de Albendazol (2,5 mg/kg P.V.) (TRAT C). Os níveis de pepsinogênio foram avaliados nos dias 0 e 28. Na primeira etapa, os resultados de peso, albumina, hematócrito (VG), eritrócitos e hemoglobina não apresentaram diferença entre os grupos; e houve correlação negativa de VG e albumina com pepsinogênio, e albumina apresentou correlação negativa com porcentagem de *Haemonchus* sp. na coprocultura. Dentre os biomarcadores, apenas o pepsinogênio diferenciou TRAT A e CON A a partir do 28º dia do estudo. Isso também se repetiu na segunda etapa, em que os grupos TRAT B e TRAT C apresentaram diminuição dos valores de pepsinogênio após o tratamento anti-helmíntico. Deste modo, é evidente que o pepsinogênio é um promissor biomarcador no diagnóstico de NGIs e na avaliação de tratamentos anti-helmínticos em bovinos criados a pasto no Brasil central.

Palavras-chave: Bovinocultura, *Cooperia* sp., Diagnóstico, *Haemonchus* sp., Verminose.

ABSTRACT

RODRIGUES, V. D. **Biomarkers of gastrointestinal nematodes in beef cattle raised in central Brazil**. 2023. MASTER'S DEGREE – Graduate Program in Veterinary Sciences. Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, 2023.

Biomarkers are specific characteristics during the normal or pathogenic biological process, which can help in the diagnosis of diseases. Some biomarkers, such as pepsinogen, have already been well standardized for taurine cattle infected with *Ostertagia* sp. and reared in temperate climate regions, however, there is still no information about its use in zebu cattle infected predominantly by *Cooperia* sp. and *Haemonchus* sp. In view of this, the objectives of this project were to evaluate candidates for biomarkers that can differentiate between animals carrying and not carrying gastrointestinal nematodes (NGIs) and to evaluate correlation with indicators of infection and health of the animals. In the first step to define a biomarker that differentiated the groups, 36 Nelore cattle, males and females aged between 10 and 18 months, kept in the same paddock with water, mineral supplementation ad libitum and naturally infected by NGIs were selected. They were distributed in a randomized block design into two groups, based on the examination of eggs per gram of feces (OPG), sex, weight, blood count and serum biochemistry on day -14, to which the following treatments were randomly assigned: treated with anthelmintic (TRAT A) and not treated with anthelmintic (CON A). On days 0, 7, 14, 21, 28, 42 and 56, only the TRAT group received a dose of fenbendazole 5mg/kg, orally. On these same dates, feces were collected and EPG was evaluated, using the Mini-FLOTAC technique, blood collection to assess complete blood count, serum biochemistry and possible biomarkers (phosphorus, gastrin and pepsinogen). In the second stage, he evaluated under field conditions the biomarker that differentiated the TRAT A and CON A groups, in this case pepsinogen. Seventy-five male Nelore cattle, aged between 12 and 24 months, were selected in a randomized block design, based on the OPG, by the McMaster technique and weight on day 0, and distributed into three groups: not treated with anti-helminthic (CON BC), treated with Moxidectin 0.2 mg/kg P.V. (TRAT B) and treated with a combination of Ivermectin (0.2 mg/kg P.V.) and Albendazole Sulphoxide (2.5 mg/kg P.V.) (TRAT C). Pepsinogen levels were evaluated on days 0 and 28. In the first stage, the results for weight, albumin, hematocrit (VG), erythrocytes and hemoglobin did not differ between groups; and there was a negative correlation of VG and albumin with pepsinogen, and albumin showed a negative correlation with the percentage of *Haemonchus* sp. in coproculture. Among the biomarkers, only pepsinogen differentiated TRAT A and CON A from the 28th day of the study. This was also repeated in the second stage, in which TRAT B and TRAT C groups showed a decrease in pepsinogen values after anthelmintic treatment. Thus, it is evident that pepsinogen is a promising biomarker in the diagnosis of NGIs and in the evaluation of anthelmintic treatments in cattle raised on pasture in central Brazil.

Keywords: Cattle breeding, *Cooperia* sp., Diagnosis, *Haemonchus* sp., Verminosis.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

- Figura 1. Adaptado de Charlier et al., 2011 - Fluxograma que foi usado para fornecer recomendações de controle de verminose em bezerros de primeiro pastejo..... 22

Capítulo II

- Tabela 1. Tabela com média do peso (kg) de bovinos em cada etapa, pertencentes aos grupos controle e tratamento durante o estudo..... 39
- Figura 1. Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de Albumina (mg/L) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado..... 40
- Figura 2. Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de Volume Globular (%) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado..... 40
- Figura 3. Gráfico de linhas, com médias de fósforo sérico e gastrina de bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado..... 42
- Figura 4. Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de pepsinogênio sérico (Unidade de Tirosina/ml de sangue) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado..... 42
- Tabela 2. Tabela com média do pepsinogênio (Utyr/ml) de bovinos em cada etapa, pertencentes aos grupos controle e tratamento durante o estudo.. 43
- Figura 5. Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de pepsinogênio sérico (Unidade de Tirosina/ml de sangue) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratados..... 43
- Figura 6. Correlação de albumina e quantidade proporção de larvas infectantes de *Haemonchus* sp. recuperada de coprocultura..... 44

SUMÁRIO

RESUMO.....	7
Abstract.....	8
CAPÍTULO I	
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2. OBJETIVOS.....	14
2.1. Geral.....	14
2.2. Específicos.....	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1. Verminose Subclínica.....	15
3.2. Diagnóstico de verminose.....	16
3.3. Biomarcadores.....	18
3.3.1. Fósforo.....	18
3.3.2. Gastrina.....	19
3.3.3 Pepsinogênio.....	20
3.4. Indicadores de saúde.....	23
3.4.1 Hematológico.....	23
3.4.2. OPG e Coprocultura.....	24
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	26
CAPÍTULO II	
5. ARTIGO I - Biomarcadores da nematodiose gastrintestinal em bovinos de corte criados no brasil central.....	34
CAPÍTULO III	
6. CONSIDERAÇÕES/CONCLUSÃO (GERAL).....	55
7. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU INOVAÇÃO.....	55

94

95

96

1. INTRODUÇÃO GERAL

A nematodiose gastrointestinal (NGI) em bovinos normalmente ocorre de forma assintomática, com perdas diretas na produtividade e potencializadas pela resistência anti-helmíntica (Borges et al., 2013; Heckler et al., 2016; Höglund et al., 2018). Excepcionalmente, protocolos sanitários inapropriados podem resultar em casos clínicos clássicos e até mesmo a morte dos bovinos, como os relatados recentemente no Brasil (Lima et al., 2022). Porém, a baixa percepção de produtores sobre os danos causados pela verminose, associada a fatores operacionais limitantes na realização de exames coproparasitológicos, reflete na pouca utilização de diagnóstico laboratorial como critério para desverminação dos animais ou para monitoramento dos danos causados por nematodas gastrointestinais (NGIs) (Delgado, et al., 2009; Gasbarre et al., 2015).

Segundo dados do serviço de Inspeção Sanitária Animal e Vegetal dos Estados Unidos até 2007/2008 o diagnóstico coproparasitológico era pouco utilizado nas fazendas, 4,7% realizavam exame, e aquelas que realizavam tratamentos anti-helmínticos, apenas 0,6% utilizavam diagnóstico para definir os tratamentos, sendo a avaliação da aparência do animal o método mais comum para determinar o resultado do anti-helmíntico (82,3% das propriedades) (USDA, 2010).

Mesmo trabalhos mostrando que animais com OPG baixo tem ganhos de peso após o tratamento anti-helmíntico (Borges et al., 2013; Heckler et al., 2016; Zapa et al., 2021), a correlação entre ganho de peso e OPG varia conforme a raça dos animais, categoria animal, suplementação proteica, presença de animais resilientes no rebanho (Zapa et al., 2021), além de quais parasitos mais encontrados (Coles et al., 2006). Além disso, há uma interação não esclarecida entre OPG e carga parasitária, por apresentar correlações positiva (Bryan e Kerr, 1989), nula (Fenerich et al., 1987) ou negativa (Taylor et al., 2002). Portanto, mesmo sendo uma técnica muito antiga e já de uso rotineiro a campo, o exame de OPG não permite identificar precisamente quando os animais deverão ser tratados.

Esse cenário de pouca utilização de exames laboratoriais, variações na correlação OPG com carga parasitária e ganho de peso, evidencia a dificuldade de diagnosticar danos causados por NGIs em bovinos. A utilização de exame

hematológico e bioquímico como diagnósticos da infecção por *H. placei* ou *H. contortus* é imprecisa, pois mesmo em bezerros apresentando discreto edema submandibular podem não ser observadas alterações hematológicas e bioquímicas (Fávero et al., 2016).

Em condições de campo, diversos fatores afetam a execução, interpretação e a aceitação do diagnóstico de verminose, por isso o estudo de outros métodos de diagnóstico na identificação da verminose é importante. E uma opção são os candidatos a biomarcadores, que são características moleculares, histológicas ou fisiológicas específicas durante o processo biológico normal, patogênico ou uma intervenção terapêutica, sendo utilizados para detectar uma doença, monitorar uma condição médica, identificar a progressão de uma doença, diferenciar indivíduos mais susceptíveis a uma afecção (FDA-NIH, 2016). De forma geral, os biomarcadores servem para auxiliar no diagnóstico e controle de uma situação específica.

Alguns parâmetros são promissores como biomarcadores de verminose em bovinos, como a mensuração do nível sérico de fósforo, gastrina e pepsinogênio. O fósforo (P) em infecções por *Trichostrongylus colubriformis* (Dias-Silva et. al., 2018; Dias-Silva et. al., 2021) e *Cooperia* sp., se apresenta como um candidato a biomarcador, pois durante as infecções os animais consomem menos matéria seca, por consequência ingerem menor quantidade de P, com isso afeta o fluxo desse mineral do sangue para o trato gastrointestinal, diminuindo os valores plasmáticos (Louvandini et al., 2009). A gastrina é um possível biomarcador em infecções por nematódeos que afetam o abomaso, a NGI no abomaso causa danos na mucosa do abomaso reduzindo a secreção de HCl, e os parasitos presentes secretam/excretam substância que afetam o aumento do pH do abomaso. A elevação do pH de 2-3 a aproximadamente 6-7, faz com que células G presentes no antro piloro estimulem a liberação de gastrina para garantir equilíbrio na acidez do abomaso (Simpson 2000).

O nível sérico de pepsinogênio é um biomarcador já validado para a detecção de infecções clínicas ou subclínicas por *Ostertagia ostertagi*, nematódeo presente em abomaso (Berghen et al 1993; Dorny e Vercruysse, 1998). Isso baseado em trabalhos que relacionam os valores de pepsinogênio com carga parasitária, contaminação das pastagens, utilização de anti-helmínticos, ganho de peso (Ploeger et. al., 1990; Ploeger et. al., 1994; Ploeger et. al., 1995; Dorny et.

al., 1999; Höglund et. al., 2009; Charlier et al.; 2011). Além de ter recomendações práticas para seu uso como critério para o tratamento dos animais (Charlier et al.; 2011) e monitoramento de verminose no rebanho (Berghen et. al., 1993; Eysker e Ploeger, 2000). O aumento de pepsinogênio é resultado de infecções parasitárias que causam danos na mucosa, e devido a isso há redução na produção de ácido e menor transformação do pepsinogênio em pepsina, fazendo com que o pepsinogênio acumulado extravase para a corrente sanguínea (Simpson, 2000).

Considerando que *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. são os principais helmintos no Brasil central, por serem os mais prevalentes e por ocasionarem perdas subclínicas (Heckler et al.; 2016), torna-se necessário o desenvolvimento de um diagnóstico que contribua para o controle efetivo da verminose, sendo capaz de identificar os danos que as NGIs estão causando nos animais, e não somente a quantidade de vermes presente em cada animal. Por isso o uso de biomarcadores, pode auxiliar propondo tratamentos mais assertivos e possibilitando um prognóstico das infecções.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Esse projeto teve o objetivo de diferenciar bovinos portadores de infecções naturais de helmintos através de biomarcadores.

2.2. Específicos

- Identificar potenciais biomarcadores para diagnosticar verminose subclínica em bovinos criados em áreas tropicais.
- Avaliar correlação entre biomarcadores com parâmetros indicadores de saúde e de infecção helmíntica.
- Verificar os índices de biomarcadores antes e após tratamentos anti-helmínticos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Nematodioses Gastrintestinais

Bovinos com nematodioses gastrintestinais (NGIs) podem manifestá-las de forma sintomática, apresentando sinais clínicos, ou assintomática, sem apresentar sintomatologia. Na apresentação assintomática o animal não expressa o seu potencial produtivo, com ganho de peso abaixo do esperado (Heckler et al, 2016), menor ingestão de matéria seca (Forbes et al., 2000) e menor aptidão reprodutiva (Couto et al., 2021), sinais pouco avaliados na propriedade. A verminose tanto clínica como subclínica é caracterizada pela presença de várias espécies de helmintos, mas em cada região a prevalência altera (Craig, 2018).

O NGI mais importante em bovinos em áreas de clima temperado é *Ostertagia ostertagi* (Craig, 2018), já no Brasil Central se destacam *Haemonchus* sp. e *Cooperia* sp., que juntos representam de 80 a 90% da população de parasitas gastrintestinais presentes nos bovinos (Heckler et al., 2016). *Haemonchus* sp. tem como característica patogênica causar anemia e alterar a distribuição intravascular de albumina (Gennari et al., 1991), e *Cooperia* sp. por afetar a diminuição no consumo de matéria seca pelos animais, com isso altera consumo, absorção e retenção dos nutrientes, culminado em menor ganho de peso (Louvandini et al., 2009; Stromberg et al., 2012).

As infecções por helmintos em bovinos causam perdas econômicas devido aos danos diretos dos NGIs e também aos custos com o controle, e as perdas são potencializadas com a dificuldade de identificar a verminose subclínica e a resistência anti-helmíntica (Borges et al., 2013; Grisi et al., 2014; Heckler et al., 2016; Höglund et al., 2018,). Por isso, tratamentos eficazes podem resultar em ganhos produtivos, por exemplo, bezerros tratados com avermectinas com eficácia menor que 50% apresentaram ganho de peso igual aos animais não tratados, e menor que animais tratados com anti-helmínticos com eficácia de 84%, isso deixa claro que a ineficácia do tratamento de verminose afeta a produtividade animal (Borges et al., 2013). A nutrição é outro item que auxilia o animal a expressar a sua produtividade, ela pode amenizar danos causados por NGIs e melhorar índices produtivos, porém para o animal apresentar o máximo

potencial produtivo deve-se levar em consideração os danos da NGIs assintomática. A compreensão dessa interação nutrição e verminose é importante para evitar que falhas nutricionais sejam responsabilizadas de forma equivocada pela baixa produtividade causada pela verminose subclínica (Craig, 2018).

A verminose assintomática é um problema que afeta a produtividade e possivelmente subdiagnosticada no Brasil, pois no país com aproximadamente 83% dos animais abatidos são provenientes de criação a pasto, e com expectativa de aumentar a quantidade de animais por hectare (ABIEC, 2022). Além disso, há a resistência anti-helmíntica que ocasiona tratamentos ineficientes e é subestimada (Borges, 2012), somado a isso ocorre baixa aderência ao controle estratégico de verminose, devido ao desconhecimento pelos pecuaristas das possíveis formas de controle da verminose (DELGADO, 2009). Essas características de criação a pasto com baixa aderência ao controle estratégico e tratamentos ineficientes expõem os animais as perdas produtivas.

3.2. Diagnóstico de verminose

Existe baixa percepção dos produtores sobre os danos causados pela verminose, em questionário feito com produtores de Minas Gerais, apenas 5,7% deles indicaram a verminose como o principal problema parasitário na propriedade, com baixa aderência a controle estratégico para verminose (Delgado et al., 2009). Esse posicionamento diverge do real impacto que a verminose causa no bem-estar e na produtividade animal. Estima-se que a verminose no Brasil tem um potencial de causar prejuízos por volta de US\$7,11 milhões (Grisi et al., 2014)

É verificado que na maioria das vezes os animais são tratados após presença de sinal clínico, de forma aleatória ou somente nos meses de entrada e saída das águas, coincidindo com as campanhas de vacinação obrigatória contra a febre aftosa, ou seja, esses critérios não auxiliam em ganhos produtivos, e indicam a falta de parâmetros para controlar a verminose (Delgado et al., 2009; Heckler et al., 2016).

O diagnóstico de contagem de ovos por grama de fezes (OPG), método que mensura a quantidade de ovos de helmintos eliminados junto com as fezes, é utilizado como o método para monitoramento de verminose, auxilia na escolha de

um anti-helmíntico e avalia a contaminação ambiental (Sabatini et al., 2023). Porém, as limitações operacionais são uma barreira para utilizá-lo em propriedades rurais (Gasbarre et al., 2015) e seu uso rotineiro é limitado ao menos por três motivos: ausência de correlação com peso, ausência de correlação com a intensidade parasitária, e dificuldade na interpretação dos resultados.

A correlação do OPG com a produtividade dos animais é incerta, pois há variação do peso e do OPG conforme a imunidade, raça dos animais, categoria animal, suplementação proteica, presença de animais resilientes (Zapa et al., 2021), além de quais parasitos mais prevalentes (Coles et al., 2006). O OPG também tem limitação ao se correlacionar com a carga parasitária, por apresentar correlações positiva (Bryan e Kerr, 1989), nula (Fenerich et al., 1987) ou negativa (Taylor et al., 2002). Para o aproveitamento correto do valor de OPG deve-se observar aspectos relacionados a execução laboratorial, e levar em consideração a variabilidade do hospedeiro e do ambiente. Por isso a dificuldade e a impossibilidade de ter um resultado a partir do OPG que defina um limiar de infecção ou produtividade que possa ser usado em diferentes rebanhos (Forbes, 2017).

Esse cenário de pouca utilização de exames laboratoriais, monitoramento de verminose por peso e variações na correlação de carga parasitária e OPG, mostra a dificuldade de diagnosticar danos causados por NGIs em bovinos. Quando se utiliza exame hematológico ou bioquímico também pode não observar associações com infecção de *H. placei* ou *H. contortus*, mesmo os animais apresentando discreto edema submandibular, sendo verificadas alterações somente na histopatologia do abomaso (Fávero et al., 2016). Sabe-se que fatores nutricionais (Gennari et al., 1995) e a idade interferem nos valores de referência.

A verminose no Brasil central se apresenta com infecções mistas que causam perdas produtivas, com maior prevalência de *Cooperia* sp. e *Haemonchus* sp. (Santos et al., 2010; Heckler et al., 2016). A necessidade de um controle efetivo da verminose nessa região converge com a utilização de biomarcadores para o diagnóstico de doenças, triagem de animais assintomáticos e capacidade de determinar o prognóstico do animal (Myers et al., 2017; FDA-NIH, 2016). Por exemplo: um biomarcador que identifique os danos causados

pelos NGIs, pode determinar como está o desenvolvimento da doença e auxiliar no controle adequado.

3.3. Biomarcadores

3.3.1. Fósforo

O fósforo é um mineral fundamental na dieta dos bovinos, pois atua em diferentes fases fisiológicas, produtivas e reprodutivas. E quando se visa um sistema de produção com a máxima capacidade produtiva deve considerar a verminose como um fator negativo por afetar a cinética de P em bovinos. As infecções parasitárias causadas por *C. punctata* e *T. colubriformis*, ocorre no principal local de absorção de P na dieta, o intestino delgado superior (Dias Silva, 2021; Louvadini, 2009).

A redução na absorção de nutrientes induzida por *T. colubriformis* pode causar deficiência mineral devido ao aumento da perda de cálcio (Ca) e P disponíveis na dieta. Em ovinos essa deficiência de fósforo pode ocorrer pela indisponibilidade mineral no organismo, seja por má absorção e/ou fluxos alterados no TGI (Dias e Silva et al., 2021). E em casos de ovinos expostos a infecções altas de *T. colubriformis* diariamente durante 2 meses apresentaram redução de 30% na absorção de P exógeno e aumento da perda endógena, além de redução no plasma (Wilson & Field, 1983).

A infecção por *C. punctata* em bezerros ocasiona queda no consumo de ração, diminuição do peso vivo e alterações no metabolismo do P (Louvandini et al., 2009). Alterações no consumo de matéria seca começam com NGIs aderidos na mucosa do intestino, causando transformações morfológicas e bioquímicas nas células epiteliais (Holmes e Coop, 1994; Holmes, 1985), isso afeta a produção de hormônios relacionados com a ingestão de ração, como gastrina e colecistoquinina (Soulsby, 1982). Dessa forma, primeiro há diminuição no consumo de matéria seca (MS) e por seguinte alteração na demanda de alguns nutrientes para o organismo, como o fósforo. Embora a ação dos hormônios tenha influência na origem da inapetência, outro fator como dor abdominal é importante na alteração de consumo (Holmes, 1985).

O impacto dos NGIs no consumo de MS e nas exigências nutricionais é de difícil avaliação, dessa forma pesquisas são necessárias para avaliar as

consequências da verminose e esclarecer recomendações. Dessa maneira a mensuração do nível plasmático de fósforo em infecções por *Trichostrongylus colubriformis* e *Cooperia* sp. (Dias e Silva et al, 2018; Dias silva, 2021), é uma alternativa por existir alteração no fluxo de P do sangue para o trato gastrointestinal, diminuindo os valores plasmáticos (Louvandini et al., 2009).

3.3.2. Gastrina

A gastrina se apresenta como possível biomarcador para verminose, devido à hipergastrinemia que ocorre em infecções por NGIs presentes no abomaso. Isso ocorre quando os parasitos presentes no abomaso causam inflamação e excretam/secretam (substâncias químicas, dessa forma interferem na parede parietal bloqueando bomba de prótons e por seguinte diminuindo a secreção ácida (Simpson, 2000). Esse ambiente com pH alto e produtos da excreção e secreção do parasito estimula a liberação de gastrina por células G, e a liberação de gastrina pode perdurar mesmo o pH abomasal voltando ao normal (Lawton et al., 1996).

Existem variações nos níveis de gastrina conforme o perfil da infecção, se há mais presença de parasitos em estágio de larvas infectantes (L3) ou adultos. Em vacas leiteiras em período de lactação e submetidas a infecção experimental com larvas infectantes de *O. ostertagi*, verificou-se que em situações de animais assintomáticas e baixo estabelecimento de vermes adultos os níveis de gastrina não se alteraram entre os animais, sugerindo o uso da gastrina como biomarcador para infecções já estabelecidas com vermes adultos (Pitt et al., 1988), isso devido a gastrina apresentar uma detecção sérica mais tardia em comparação ao pepsinogênio (Fox et al. 1987). Essa diferença no tempo de resposta tem relação com a patofisiologia da infecção, apesar de ambos estarem relacionados ao aumento do pH abomasal. A hipergastrinemia ocorre principalmente devido ao estímulo na mucosa gástrica para liberação de gastrina. Esse estímulo pode ser desde a alteração do pH e até a presença do parasito (Fox et al. 1987).

A resposta tardia de gastrina frente a vermes adultos também é observada em bezerros. Em dois grupos de bezerros submetidos a dois tipos de infecções experimentais com *O. ostertagi*, constante e única, se verificou que houve aumento nos níveis de gastrina após o estabelecimento de vermes adultos, e o

pico após a infecção única foi no 19º dia e no grupo com infecção constante foi do 27º a 29º dia após a infecção inicial, porém nesse último grupo 10 dias depois a gastrina voltou aos níveis antes da infecção. Em bezerros que receberam L3 de *O. ostertagi* por 30 dias consecutivos, divididos em infecções baixas (500 L3) e altas (5000 L3), as infecções baixas não causaram alterações na gastrina e no pepsinogênio, já nas infecções altas foi verificado que a partir do 23º dia começou um aumento de gastrina e com pico no 41º dia (1000pg/ml) (Hilderson et al., 1991). Isso evidencia que a quantidade de vermes adultos na infecção interfere nos níveis de gastrina (MCKELLAR et al., 1987; PITT et al., 1988).

Por outro lado, a detecção de gastrina poucos dias após a inoculação também pode ser observada em alguns casos. Em cabras submetidas a infecção experimental com 10500 L3 de *Haemonchus contortus*, verificou-se oscilações nos índices, com picos nos dias 7, 14 e 28 pós infecção (Fox et. al., 1991). Variações entre estudos e/ou entre animais podem ter relação com a variação de pH em diferentes regiões do abomaso, na secreção ácida das células não afetadas por parasitos e na presença do parasito adulto (Simpson et al., 2000; Fox et al., 1987).

3.3.3 Pepsinogênio

A utilização do nível sérico de pepsinogênio está mais vinculado a pesquisas, mas não há uso rotineiro em bovinos a campo, devido aos custos, dificuldade de padronização entre os laboratórios e o método de amostragem ser mais invasivo (Sabatini et. al., 2023). Mesmo assim, por ser uma técnica que afere o dano causado pelo parasito no abomaso, é consolidada no diagnóstico e controle seletivo de infecções por *Ostertagia ostertagi* (Berghen et al 1993; Dorny e Vercruysse, 1998; Charlier et al., 2011; Eysker e Ploeger, 2000; Vercruysse e Claerebout, 2001).

O aumento de pepsinogênio está relacionado com o dano que ocorre quando larvas aderidas em glândulas gástricas e se desenvolvem até o quarto estágio e emergem, durante esse período ocorre diminuição significativa na acidez do abomaso e aumento da permeabilidade vascular. Essa alteração no pH do abomaso interfere na transformação de pepsinogênio (a enzima inativada) em pepsina (a enzima ativa); e o aumento da permeabilidade vascular, faz com que

as substâncias presentes no abomaso extravasem para corrente sanguínea (SIMPSON et al., 1997; SIMPSON, 2000). Esses danos estão ocorrendo de forma simultânea na mucosa gástrica do abomaso, assim o excesso de pepsinogênio extravasa para corrente sanguínea, onde pode ser aferido em diagnóstico laboratorial.

O pepsinogênio sérico pode ser detectado desde 4-5 dias até 27 dias pós-infecções experimentais com L3 de *Haemonchus contortus*, e as alterações na acidez e aumento na concentração de íons de sódio do fluido abomasal dentro de 3 a 5 dias (COOP R. L., 1971). As mudanças no abomaso e a verificação de pepsinogênio sérico decorrem do aumento da permeabilidade da mucosa (FOX et al., 1991).

A identificação de pepsinogênio sérico frente a diferentes desafios vem sendo estudada em diferentes espécies e categorias animais. Em vacas infectadas com *O. ostetagi* sem apresentar ostertagiose clínica e sem alteração na produção de leite ou peso vivo, foi possível identificar níveis de pepsinogênio alterados entre os dias 3 e 24 após infecção, com pico no dia 14 (1041mU de tirosina), e queda significativa nos valores após tratamento anti-helmíntico (PITT et al., 1988). Já em bezerros submetidos a infecções constantes ou única, verificou-se o aumento de pepsinogênio 3 a 6 dias pós infecção (aprox. 900mU de tirosina) permanecendo crescente até o pico máximo entre 25 e 35 dias, nos bezerros submetidos somente a uma infecção os picos máximos foram alcançados mais cedo (HILDERSON, et al., 1991).

Em cabras nativas com infecções únicas de *Haemonchus contortus* apresentaram um aumento significativo nos níveis de pepsinogênio a partir do 4º dia pós infecção, com valores de pico (média de 741 mU de tirosina) ocorrendo no dia 14, e constante até o 40º dia, quando foi realizado o tratamento anti-helmíntico, e após verificado a redução nos valores de pepsinogênio (Fox, 1991).

Diante desses estudos pode-se retirar considerações práticas, como a questão de infecção única, com doses altas e por um curto período de tempo pode causar mais danos do que uma infecção lenta (HILDERSON, et al., 1991). Ao comparar os índices de gastrina e pepsinogênio, pode-se inferir que o pepsinogênio indica o grau de dano, enquanto a gastrina pode estar relacionada com a quantidade de vermes adultos (Pitt et al., 1988).

Utilização de níveis de pepsinogênio para o diagnóstico de ostertagiose já é estabelecida na Europa, e com valores de referências baixo, médio e alto (Berghen et. al., 1993; DORNY e VERCRUYSSSE, 1998), e com recomendações práticas para controle e prevenção (Vercruysse e Claerebout, 2001). Como apresentado na Figura 1. Porém ainda não é validado em áreas tropicais com bovinos criados a pasto e expostos as infecções naturais, sem a presença de *Ostertagia* spp. e com predominância de *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp.

O teste de pepsinogênio tem baixas variações dentro do lote, isso facilita a utilização da mensuração de poucos animais para estimar a média do grupo, por exemplo em um lote com 40 animais poderia ser coletado 7 amostras para sabermos a média do lote (Charlier et al., 2011). No caso de bezerros estabulados em parte do ano utiliza-se informações de pepsinogênio antes de estabulado com informações de manejo da propriedade e histórico de tratamento para propor um protocolo de controle de verminose adequado para cada lote ou individuo no próximo ano (Figura 1).

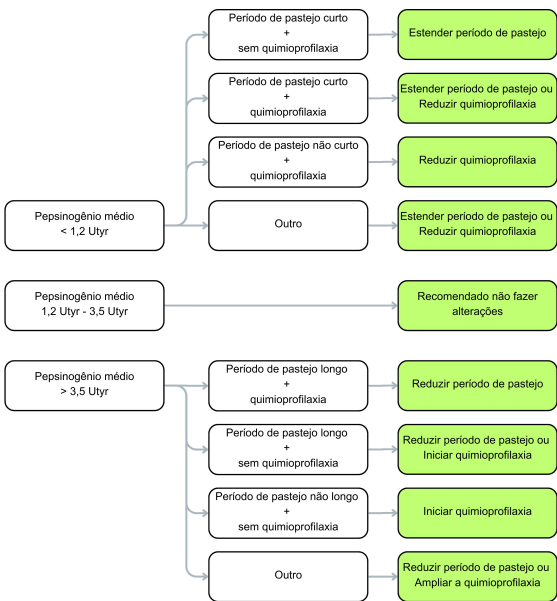


Figura 1 – Adaptado de Charlier et al., 2011 - Fluxograma que foi usado para fornecer recomendações de controle de verminose em bezerros de primeiro pastejo. Os limites para os resultados do pepsinogênio foram baseados em Dorny et al. (1999). Período de pastejo curto quando ≤ 3 meses e longa quando ≥ 6 meses. "Outros" significa que as informações disponíveis não foram claras o suficiente para classificá-los.

3.4. Indicadores de saúde

3.4.1 Exames Hematológicos

H. placei em bezerros levam à diminuição da contagem de glóbulos vermelhos, o que pode causar anemia grave. Em relação aos glóbulos brancos, há um aumento do número de leucócitos, iniciando-se após a primeira semana após a infecção seguido posteriormente de uma veloz diminuição, ainda no período pré-patente (FONSECA, 2006). Duas semanas após a ingestão de L3 inicia-se a perda de hemocomponentes e as alterações hematológicas tornam-se evidentes (URQUHART et al., 1998), a determinação da hemoglobina sanguínea é o melhor e mais sensível método para identificar o grau de alteração hematológica e o estágio inicial da infecção pelo *Haemonchus* spp. (Shoo & Wiseman, 1986).

As principais células efetoras envolvidas nas infecções por nematodas são os mastócitos e os eosinófilos (BALIC et. al., 2000). Os mastócitos são encontrados no tecido conjuntivo, pele e membranas mucosas e, se presentes nas mucosas, respondem especificamente à invasão do parasita (TIZARD, 2008). O número de eosinófilos, após infecções por nematodas gastrintestinais, pode aumentar no sangue e nos tecidos, ocasionando a eliminação do parasita (BALIC et. al., 2000; TIZARD, 2008).

A hemoncose causa alterações na composição do plasma em particular, uma diminuição na proteína sérica total, isso fica evidente com a hipoalbuminemia grave, seguido pelo desenvolvimento de edema submandibular e ascite (Holmes, 1985). O teste metabólico de componentes sanguíneos é uma ferramenta para diagnosticar, prever ou monitorar doenças laborais e subnutrição (RADOSTIST et al., 2002). Consequentemente, é importante mensurar a atividade sérica de certas enzimas e a concentração de metabólitos que são os principais marcadores da doença.

Ao avaliar bezerros zebuínos e potenciais patógenos (protozoários e rickettsias transmitidos por carrapatos, tripanossomas e parasitas intestinais), foi avaliada a relação entre patógenos e os parâmetros hematológicos com a diminuição significativa de VG em coinfeções de tripanossomas e NGIs. Ocorreu diminuição significativa na contagem de hemácias em verminoses com OPG

maior que 1000, e a verminose foi considerada o segundo patógeno que mais causa anemia em bezerros criados no leste africano (van Wik et al., 2014). Por isso na identificação da verminose considerar outros patógenos é importante em condições a campo.

3.4.2. OPG e Coprocultura

Um pilar importante no controle de verminose é o diagnóstico, e a contagem de ovos por grama de fezes (OPG), baseado principalmente pela técnica de McMaster (GORDON e WHITLOCK, 1939), devido a sua facilidade de execução e pouco investimento para implementação é o método mais utilizado dentre os diagnósticos disponíveis (Vercruysse e Claerebout, 2001). O método de OPG vem sendo aprimorado nos últimos anos, através do Mini-FLOTAC e do FECPAK, com o intuito de minimizar a baixa replicabilidade e variada sensibilidade, que afetam a sua utilização a campo (Cringoli et. al., 2017).

Outro ponto que afeta a aplicabilidade da técnica de McMaster é a dificuldade em interpretar os resultados em bovinos. Pois é necessário olhar fatores ligados aos parasitos, ao hospedeiro e ao ambiente. Aos parasitos se destaca a patogenicidade parasitária, pois OPG baixos provenientes de espécies como *Ostertagia* spp. e *Cooperia* spp. podem causar perdas de produtividade; já ligado ao hospedeiro destaca característica racial e a categoria animal (bezerros, vacas, touros). Os animais conforme vão chegando à vida adulta, vão desenvolvendo imunidade, porém, dependendo do período reprodutivo de fêmeas e/ou da estação do ano podem ficar mais sensíveis a infecções (Höglund et. al., 2021). Em relação ao ambiente é importante conhecer a epidemiologia na região e a taxa de lotação, que tem relação positiva com a capacidade dos animais de se infectarem (Thamsborg et. al., 1998), além de verificar as condições nutricionais da dieta, pois animais em condições adequadas são mais resilientes às NGIs (Zapa et. al., 2020).

O diagnóstico de OPG auxilia a estimar a contaminação de pastagem com ovos de NGIs (Vercruysse e Claerebout, 2001), porém deve ter cuidados na interpretação pois é uma técnica executada com uma amostra de fezes que representa apenas 0,0008% da quantidade total de fezes que um bovino produz por dia (Sabatini et al., 2023). A associação de exames coproparasitológicos,

OPG e coprocultura, identifica a quantidade de ovos de strongilídeos e a proporção de L3, com isso estima a quantidade de cada gênero de NGIs presentes. Mas se o intuito for definir medidas de controle deve-se associar o OPG, a coprocultura, histórico de tratamentos, manejos, ganho de peso e condições climáticas, pois se utilizar o OPG sozinho existe o risco de definir ações inapropriadas (Sabatini et al., 2023).

As medidas de controle a partir de diagnósticos coproparasitológicos são um desafio devido à falta de limiares nesses diagnósticos para orientar sobre um momento adequado de tratamento, e aliado a isso a interação parasita x hospedeiro se tornou mais dinâmica diante de propriedades rurais com diferentes características. Um exemplo dessa dinâmica é quando se compara raças taurinas (*Bos taurus*) com zebuínas (*Bos taurus indicus*) diante os desafios por NGIs, e verifica que os zebuínos são geneticamente mais resistentes as NGIs (O'Kelly, 1980), porém em situações que o OPG foi igual a zero e os animais não foram suplementados, os animais com sangue taurino exibiram maior ganho de peso (Zapa et. al., 2020).

Produtores e técnicos devem ter cautela ao utilizar o OPG com o intuito de relacionar com a produtividade, como o ganho de peso, pois há variações nos resultados de OPG entre raças, entre categorias (amamentando, desmamados e sobreano), e animais suplementados e não suplementados (Zapa et. al.; 2020).

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Beef Report 2022. 2022. Disponível em <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/> Acesso em 02 de julho de 2022.

BALIC, A.; BOWLES, V. M.; MEEUSEN, E. N. T. The Immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Advances in Parasitology**, London, v. 45, p. 181-241, 2000.

BERGHEN, P.; HILDERSON, H.; VERCruysse, J.; DORNY, P. Evaluation of pepsinogen, gastrin and antibody response in diagnosing ostertagiasis. **Veterinary Parasitology**, 46, 175-195. 1993.

BORGES, A.C., **Componentes sanguíneos de bovinos (Bos taurus) sadios da raça pantaneira, em diferentes faixas etárias, criados extensivamente.** 2008. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

BORGES F.A., ALMEIDA G.D., HECKLER R.P., LEMES R.T., ONIZUKA M.K., BORGES D.G. Anthelmintic resistance impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Trop Anim Health Prod.**; 45 (3):723-7. 2013.

BRYAN RP, KERR JD. The relation between the natural worm burden of steers and the faecal egg count differentiated to species. **Vet Parasitol.** 30(4):327-34. 1989

CHARLIER J., DORNY P., LEVECKE B., MCKAY-DEMELE J., VON SAMSON-HIMMEL-STJERNA G., HÖGLUND J., et al. Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. **Res Vet Sci.** 90:451–6. 2011

COLES, G.C. JACKSON, F., POMROY, W.E., PRICHARD, R.K., SAMSON-HIMMELSTJERNA G. V. SILVESTRE, A., TAYLOR, M.A., VERCruysse, J., The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet Parasitol.** 136, 167–185. 2006.

COOP, R. L. The effect of large doses of *Haemonchus contortus* on the level of plasma pepsinogen and the concentration of electrolytes in the abomasal fluid of sheep. **Journal of Comparative Pathology**, 81, 213-219. 1971

- COUTO, L. F. M., ZAPA, D. M. B., HELLER, L. M., CAVALCANTE, A. S. A., NICARETTA, J. E., CRUVINEL, L. B., COLLI, M. H. A., FERREIRA, L. L., ALENCAR, A., DE MELO-JUNIOR, R. D., SOARES, V. E., BORGES, F. A., & LOPES, W. D. Z. Gastrointestinal nematode control programs in yearling Nellore heifers: Analysis of fecal egg counts, weight gain and reproductive indices. *Animal reproduction science*, 226, 106695. 2021.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106695>
- CRAIG, T. M. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. **Vet Clin Food Anim** 34, 185–199. 2018.
- CRINGOLI G, MAURELLI MP, LEVECKE B, BOSCO A, VERCROYSSSE J, UTZINGER J, RINALDI L. The Mini-FLOTAC technique for the diagnosis of helminth and protozoan infections in humans and animals. **Nat Protoc**.12 (9): 1723-1732. 2017
- DELGADO, F. E. F.; LIMA, W.S.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P.; DOMINGUES, L. N.; WANDERLEY, R. P. B.; LEITE, P. V. B.; LEITE, R. C. Vermínoses dos bovinos: percepção de pecuaristas em Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 29–33. 2009.
- DIAS-SILVA, T. P., JIMENEZ, C. R., IEDA, E. I., ABDALLA, A. L., LOUVANDINI, H. Phosphorus kinetics in lambs experimentally infected with *Trichostrongylus colubriformis* with the use of ³²P, **Experimental Parasitology**. Volume 188, Pages 13-20. 2018.
- DIAS-SILVA TP, LOUVANDINI H, AMARANTE AFT. *Trichostrongylus colubriformis* affecting sheep phosphorus metabolism and precision feeding as a mitigating strategy. **Braz J Vet Parasitol**. 30(1): e026820. 2021.
- DORNY, P.; J. VERCROYSSSE. Evaluation of a micro method for the routine determination of serum pepsinogen in cattle. **Research in Veterinary Science**, 65, 259-262. 1998.
- DORNY P, SHAW DJ, VERCROYSSSE J. The determination at housing of exposure to gastrointestinal nematode infections in first-grazing season calves. **Vet Parasitol**. 80: 325–40. 1999.
- EYSKER, M., PLOEGER, H.W. Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Parasitology**. 120, S109–S119. 2000.

FÁVERO, F. C., BUZZULINI, C., CRUZ, B. C., FELIPPELLI, G., MACIEL, W. G., SALATTA B., TEIXEIRA, W. F. P., SOARES, V. E., OLIVEIRA, G. P., LOPES, W. D. Z., COSTA A. J., Experimental infection of calves with *Haemonchus placei* and *Haemonchus contortus*: Assessment of parasitological parameters, **Veterinary Parasitology**. Vol. 217, Pages 25-28. 2016.

FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration (US). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/> Co-published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD). 2016-2021.

FENERICH, F.L., OLIVEIRA, S.M., RODRIGUES, F.M., VIANNA, W.O., CHIBA, S. Correlação entre a contagem de ovos de helmintos gastrintestinais por gramada fezes de bovinos e a carga parasitária, na região de Campinas, SP. **Pesq. Agropec.** 22, 741–746. 1987.

FONSECA, A., H. **Helmintoses gastro-intestinais dos ruminantes**. Material didático, 2006. Disponível em: <<http://adivaldofonseca.vet.br/2011>>. Acesso em: 04 fev 2022.

FOX, M. T., GERRELLI, D., PITT, S. R., JACOBS, D. E., HART. I. C. & SIMMONDS, A. D. Endocrine effects of a single infection with *Ostertugia ostertugi* in the calf. **International Journal for Parasitology**. 17, 1181- 1185. 1987.

FOX, M. T., PITT, S. R., GERRELLI, D., JACOBS, D. E., ADHIKARI, D.R. & GODDARD, P.J. Use of blood gastrin assay in the diagnosis of ovine haemonchosis. **The Veterinary Record**. 112, 136–7. 1988.

FOX, M. T.; JACOBS, D. E.; SANI R. A. Blood gastrin and pepsinogen responses of native village goats in Malaysia to infection with *Haemonchus contortus*, **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**. 85:2, 263-267, 1991.

FORBES, A. B., HUCKLE, C. A., GIBB, M. J., ROOK, A. J., & NUTHALL, R.. Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. **Veterinary parasitology**, 90(1-2), 111–118. 2000. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(00\)00218-1](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(00)00218-1)

FORBES, A. Faecal egg counts in cattle: how do they stack up?. **Livestock**. 22. 124-127. 2017.

GASBARRE, L.C., BALLWEBER, L.R., STROMBERG, B.E., DARGATZ, D.A., RODRIGUEZ, J.M., KOPRAL, C.A., ZARLENGA, D.S. Effectiveness of current

anthelmintic treatment programs on reducing fecal egg counts in United States cow-calf operations. **Can. J. Vet. Res.** 79, 296–302. 2015.

GENNARI, S.M., ABDALLA, A.L., VITTI, D.M.S.S., MEIRELLES, C.F., LOPES, R.S., VIEIRA BRESSAN, M.C.R., *Haemonchus placei* in calves: effects of dietary protein and multiple experimental infection on worm establishment and pathogenesis. **Vet. Parasitol.** 59, 119-126. 1995.

GORDON, H.MCL., WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J. Counc. Sci. Ind. Res.** 12, 50-52. 1939.

GRISI L., LEITE R.C., MARTINS J.R.S., BARROS A.T.M., ANDREOTTI R., CANÇADO P.H.D., LEÓN A.A.P., PEREIRA J.B., VILLELA H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

HECKLER, R. P., BORGES, D. G., VIEIRA, M. C., CONDE, M. H., GREEN, M., AMORIM, M. L., ECHEVERRIA, J. T., OLIVEIRA, T. L., MORO, E., VAN ONSELEN, V. J., & BORGES, F. A. New approach for the strategic control of gastrointestinal nematodes in grazed beef cattle during the growing phase in central Brazil. **Veterinary Parasitology**. 2016. 221, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.03.010>

HILDERSON, H.; DORNY, P.; BERGHEN, P.; VERCROYSSSE, J.; FRANSEN, J.; BRAEM, L. Gastrin and Pepsinogen Changes During an *Ostertagia ostertagi* Challenge Infection in Calves. **J. Vet. Med.** B 38, 25-32. 1991.

HÖGLUND, J., MORRISON, D.A., CHARLIER, J., DIMANDER, S., LARRSON, A., Targeted selective treatments for gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle based on mid-season daily weight gains. **Vet. Parasitol.** 164, 80–88. 2009.

HÖGLUND J, CARLSSON A, GUSTAFSSON K. Effects of lambing season on nematode fecal egg output in ewes. **Vet Parasitol Reg Stud Rep.** 26:100 633. 2021.

HOLMES, P. Pathogenesis of trichostrongylosis. **Veterinary Parasitology** 18, 89–101. 1985.

HOLMES, P.H., COOP, R.L. Pathophysiology of gastrointestinal parasites. **Veterinary Parasitology.** 54, 299–303. 1994.

JENNINGS, F. W., ARMOUR, J., LAWSON, D. D. & ROBERTS, R. Experimental Ostertagia ostertagi infections in calves: studies with abomasal cannulas. **American Journal of Veterinary Research**. 27, 1249–57. 1966.

KAPLAN RM. The changing landscape of parasite control in small ruminants: what practitioners need to know. In: Smith RA, editor Proceedings of the 2020. Louisville. **AABP Conference**, 24–26 Sept 2020; p. 242-51

LOUVANDINI, H.; RODRIGUES, R.R.; GENNARI, S.M.; MCMANUS, C.M.; VITTI, D.M. Phosphorus kinetics in calves experimentally submitted to a trickle infection with Cooperia punctata. **Vet Parasitol**. 163 (1-2): 47-51. 2009.

LAWTON, D. E. B., REYNOLDS, G. W., HODGKINSON, S. M., POMROY, W. E. & SIMPSON, H. V. Infection of sheep with adult and larval Ostertagia circumcincta: effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen. **International Journal for Parasitology**. 26, 1063–1074. 1996.

LIMA, S. C., BORGES, D. G. L., PUPIN, R. C., GUIZELINI, C. C., PAULA, J. P. L., BORGES, F. A., LEMOS, R. A. A. Mortality caused by gastrointestinal nematodes in beef cattle submitted to an inadequate sanitary protocol. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. 42. 2022.

MCKELLAR, Q., J. L. DUNCAN, J. ARMOUR, F. E.F. LINDSAY, and P. MCWILLIAM. Further studies on the response to transplanted adult Ostertugzu ostertagi in calves. **Res. Vet. Sci**. 42, 29-34. 1987.

MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation and diagnosis**. 2nd ed. Philadelphia: Saunders, p.351. 2004.

MYERS M.J., SMITH E.R., TURFLE P.G. Biomarkers in Veterinary Medicine. **Annu Rev Anim Biosci**. 5:65-87. 2017.

PITT, S. R.; FOX, M. T.; GERRELLI, D.; JACOBS, D. E. Blood gastrin and pepsinogen responses to subclinical infection with Ostertagia ostertagi in adult dairy cattle. **Research in Veterinary Science**. 45, 130-131. 1988.

PLOEGER HW, BORGSTEEDE FHM, EYSKER M, VAN DEN BRINK R. Efect of nematode infections on growth performance of calves after stabling on commercial dairy farms. **Vet Parasitol**. 36:71–81. 1990.

PLOEGER HW, KLOOSTERMAN A, RIETVELD FW, BERGHEN P, HILDERSON H, HOLLANDERS W. Quantitative estimation of the level of exposure to

gastrointestinal nematode infection in first-year calves. **Vet Parasitol.** 55:287–315. 1994.

PLOEGER H.W., KLOOSTERMAN A., RIETVELD F.W., BERGHEN P. Weight gain and the course of some estimators of gastrointestinal nematode infection in calves during winter housing in relation to the level of exposure during the previous grazing season. **Vet Parasitol.** 56:91–106. 1995.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 1770. 2002.

SABATINI, G. A.; BORGES, F. A.; CLAEREBOU, E.; GIANECHINI, L. S. G.; HÖGLUND, J.; KAPLAN, R. M.; LOPES, W. D. Z.; MITCHELL, S.; RINALDI, L.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; STEFFAN, P.; WOODGATE, R. Practical guide to the diagnostics of ruminant gastrointestinal nematodes, liver fluke and lungworm infection: interpretation and usability of results. **Parasites & Vectors.** 16:58. 2023.

SANTOS, T.R., LOPES, W.D.Z., BUZULINI, C., BORGES, F.A., SAKAMOTO, C.A.M., LIMA, R.C.A., LOIVEIRA, G.P., COSTA, A.J. Helminth fauna of bovines from Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. **Cienc. Rural.** 40, 934-938. 2010.

SCHUBERT, M. L. **Regulation of gastric secretion.** Current Opinion in Gastroenterology 13, 441–50. 1997.

-SHOO, M. K.; WISEMAN, A. Changes in serum pepsinogen and concentration in calves infected with *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science,** London, v. 41, p. 124-125, 1986.

SIMPSON, H.V. Pathophysiology of abomasal parasitism: is the host or parasite responsible?. **Vet J.** 160(3):177-91. 2000.

SIMPSON, H. V., LAWTON, D. E. B., SIMCOCK, D. C., REYNOLDS, G. W. & POMROY, W. E. Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal secretion. **International Journal for Parasitology.** 27, 825–31. 1997.

SOULSBY, E.J.L., **Helminths, arthropods, and protozoa of domesticated animals.** London: Lea e Febiger 1982. 809p.

STROMBERG B.E., GASBARRE L.C., WAITE A., et al. *Cooperia punctata*: effect on cattle productivity? **Vet Parasitol.** 183:284–91. 2012.

834

835 TAYLOR, M.A., HUNT, K.R., GOODYEAR, K.L. Anthelmintic resistance detection
836 methods. **Vet. Parasitol.** 103, 183–194. 2002.

837

838 THAMSBORG S.M., JERGENSEN R.J., NANSEN P. Internal parasitism of steers
839 grazing extensively at different stocking rates. **Acta Vet Scand.** 39:311–23. 1998.

840

841 TIZARD, I. R., **Imunologia veterinária**. 5 ed. São Paulo: Elsevier, 2008. p. 587.

842

843 URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W.
844 **Parasitologia veterinária**. Helmentologia Veterinária. 2nd ed. Rio de Janeiro:
845 Guanabara Koogan, 1998. p. 3-120.

846

847 **USDA**, Beef 2007–08: part IV: reference of beef cow-calf management practices
848 in the United States, 2007-08. USDA-APHIS National Animal Health Monitoring
849 System. USDA APHIS Veterinary Services, Fort Collins; USA. 2010.

850

851 VAN WYK I.C., GODDARD A., BRONSVOORT B.M.C., COETZER J.A., HANDEL
852 I.G., HANOTTE O., JENNINGS A., LESOSKY M., KIARA H., THUMBI S.M., TOYE
853 P., WOOLHOUSE M.W., PENZHORN B.L. The impact of co-infections on the
854 haematological profile of East African Short-horn Zebu calves. **Parasitology**.
855 141(3):374-88. 2014.

856

857 VERCRUYSSSE J, CLAEREBOU E. Treatment vs non-treatment of helminth
858 infections in cattle: defining the threshold. **Vet Parasitol.** 98:195–214. 2001.

859

860 WARD, M.P., LYNDAL-MURPHY, M., BALDOCK, F.C. Evaluation of a composite
861 method for counting helminth eggs in cattle faeces. **Vet. Parasitol.** 73, 181-187.
862 1997.

863

864 WYK, I. C. VAN ; GODDARD, A. ; BRONSVOORT, B. M. DE C. ; COETZER, J.
865 A. W. ; HANDEL, I. G. ; HANOTTE, O. ; JENNINGS, A. ; LESOSKY, M. ;
866 KIARA, H. ; THUMBI, S. M. ; TOYE, P. ; WOOLHOUSE, M. W. ; PENZHORN,
867 B. L. The impact of co-infections on the haematological profile of East African
868 Short-horn Zebu calves. **Parasitology**. 141. 374-388. 2014.

869

870 WILSON WD, FIELD AC. Absorption and secretion of calcium and phosphorus in
871 the alimentary tract of lambs infected with daily doses of *Trichostrongylus*
872 *colubriformis* or *Ostertagia circumcincta* larvae. **J Comp Pathol.** 93(1): 61-71.
873 1983.

874

875 ZAPA, D.M., COUTO, L.F., HELLER, L.M., CAVALCANTE, A.S., NICARETTA,
876 J.E., CRUVINEL, L.B., MACIEL, W.G., TEIXEIRA, W.F., FELIPPELLI, G.,
877 GOMES, L.V., FERREIRA, L.L., SOARES, V.E., COSTA, A.J., BORGES, F.D., &
878 LOPES, W.D. Association between fecal egg count and weight gain in young beef
879 cattle. **Livestock Science**, 104335. 2020.

880

ARTIGO I

BIOMARCADORES DA NEMATODIOSE

GASTRINTESTINAL EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS

NO BRASIL CENTRAL

Resumo

Os biomarcadores são características moleculares, histológicas ou fisiológicas específicas durante o processo biológico normal ou patogênico, que podem auxiliar no diagnóstico de enfermidades, sendo promissores no diagnóstico de nematodioses gastrintestinais (NGIs) em bovinos, que normalmente se apresentam de forma subclínica, com perdas produtivas. Diante disso, o objetivo desse projeto foi de verificar quais biomarcadores podem diferenciar animais portadores e não portadores de NGIs e avaliar antes e depois de tratamentos anti-helmínticos. Foram realizadas duas etapas, na primeira foram selecionados 36 bovinos da raça Nelore, machos e fêmeas com idades entre 10 e 18 meses, mantidos em um mesmo piquete com água, suplementação mineral ad libitum e naturalmente infectados por NGIs. Eles foram distribuídos em um delineamento em blocos casualizados, e divididos em dois grupos, tratado com anti-helmíntico (TRAT A) e não tratado com anti-helmíntico (CON A), com base no exame de ovos por grama de fezes (OPG), sexo, peso, hemograma e bioquímica sérica no dia -14. Nos dias 0, 7, 14, 21, 28, 42 e 56 somente no grupo TRAT foi administrado uma dose de fenbendazole 5mg/kg, via oral. Todos os dias do experimento foram coletadas fezes e avaliado o OPG, pela técnica de Mini-FLOTAC, coleta de sangue para avaliar hemograma, bioquímica sérica e possíveis biomarcadores (fósforo, gastrina e pepsinogênio). Na segunda etapa, foram selecionados 75 bovinos da raça Nelore, com idades entre 12 a 24 meses, machos, separados em um delineamento em blocos casualizados, com base no OPG, pela técnica de McMaster e peso no dia 0 e distribuídos em três grupos: não tratado com anti-helmíntico (CON BC), tratado com Moxidectina 0,2 mg/kg P.V. (TRAT B) e tratado com associação de Ivermectina (0,2 mg/kg P.V.) e Sulfóxido de Albendazol (2,5 mg/kg P.V.) (TRAT C). Na primeira parte os resultados de peso, albumina, hematócrito (VG), eritrócitos e hemoglobina não apresentaram diferença entre os grupos; e houve correlação negativa de VG e albumina com pepsinogênio, e albumina apresentou correlação negativa com porcentagem de *Haemonchus* sp. na coprocultura. Dentre os biomarcadores, apenas o pepsinogênio diferenciou TRAT e CON a partir do 28º dia do estudo, os grupos TRAT A, TRAT B e TRAT C apresentaram diminuição dos valores de pepsinogênio após o tratamento anti-helmíntico. Deste modo, os resultados evidenciam que o pepsinogênio é um promissor biomarcador para verminose, com capacidade de identificar e diferenciar as infecções por NGI's e avaliar tratamentos anti-helmínticos em bovinos criados a pasto no Brasil central.

Palavras-chave: Pepsinogênio, *Cooperia* sp., Diagnóstico, *Haemonchus* sp., Verminose.

Introdução

A nematodíose gastrointestinal (NGI) em bovinos normalmente ocorre de forma assintomática, com perdas diretas na produtividade e potencializadas pela resistência anti-helmíntica (Borges et al., 2013; Heckler et al., 2016; Höglund et al., 2018). Excepcionalmente aparece de forma clínica, associada a protocolos sanitários inapropriados que podem resultar em casos clínicos clássicos e até mesmo a morte dos bovinos, como os relatados recentemente no Brasil (Lima et al., 2022). Essas características da verminose refletem a baixa percepção de produtores sobre os danos causados pela verminose (Delgado, et al., 2009).

Hoje o diagnóstico da verminose é baseado na contagem de ovos por grama de fezes (OPG), método que mensura a quantidade de ovos de helmintos eliminados junto com as fezes, é utilizado como o método para monitoramento de verminose, auxilia na escolha de um anti-helmíntico e avalia a contaminação ambiental causada por NGI (Sabatini et al., 2023). Mas se o intuito for definir medidas de controle, deve-se associar o OPG, a coprocultura, categoria animal, histórico de tratamentos, manejos, ganho de peso e condições climáticas, pois com a utilização do OPG sozinho existe o risco de definir ações inapropriadas (Sabatini et al., 2023). Evidenciando a dificuldade e a impossibilidade de ter um resultado a partir do OPG que defina um limiar de infecção ou produtividade para ser usado a campo (Forbes, 2017). Outro ponto a considerar são as limitações operacionais na realização de exames coproparasitológicos, que reflete na pouca utilização em propriedades rurais como critério para desverminação dos animais ou para monitoramento dos danos causados pela NGI (Gasbarre et al., 2015).

A necessidade de um controle efetivo da verminose converge com a utilização de biomarcadores, que são características moleculares, histológicas ou fisiológicas específicas, sendo utilizados para detectar uma doença, monitorar uma condição médica, identificar a progressão de uma doença, diferenciar indivíduos mais susceptíveis a uma afecção (Myers et al., 2017; FDA-NIH, 2016). De forma geral, os biomarcadores servem para auxiliar no diagnóstico e controle de uma situação específica (FDA-NIH, 2016).

Alguns parâmetros que podem ser biomarcadores de verminose em áreas tropicais são promissores, como os níveis de fósforo após infecções por

Trichostrongylus colubriformis e *Cooperia* sp., que ocasionam queda no consumo de ração, diminuição do peso vivo e por consequência alterações no metabolismo de alguns nutrientes (Louvandini et al., 2009; Dias-Silva et. al., 2021). A gastrina é um possível biomarcador devido a hipergastrinemia que ocorre em infecções por NGIs presentes no abomaso (Simpson 2000). A utilização de níveis de pepsinogênio para o diagnóstico de ostertagiose já é estabelecida na Europa, e com valores de referências baixo, médio e alto (Berghen et. al., 1993; DORNY e VERCRUYSSSE, 1998), e com recomendações práticas para o controle e a prevenção de verminose (Vercruysse e Claerebout, 2001). Porém ainda não é validado em áreas tropicais com bovinos zebuínos criados a pasto e expostos as infecções naturais, sem a presença de *Ostertagia* spp. e com predominância de *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp.

Diante das dificuldades e problemas apontados anteriormente, o presente estudo teve como objetivo de identificar potenciais biomarcadores para diagnosticar verminose subclínica e correlacioná-los com tratamentos anti-helmínticos e indicadores de saúde em bovinos zebuínos criados em áreas tropicais e naturalmente infectados por *Haemonchus* sp. e *Cooperia* sp.

Material e Métodos

Etapas

Etapa I

Na etapa I da pesquisa foram avaliados possíveis danos fisiológicos (Peso, Albumina, VG, Eritrócitos e Hemoglobina); indicadores de infecção (OPG e coprocultura); e candidatos a biomarcadores (Fósforo, Gastrina e Pepsinogênio) com o objetivo de correlacioná-los entre si e definir um biomarcador adequado para região tropical.

Etapa II

Na etapa II foi reavaliado o dano fisiológico através do Peso; reavaliado o OPG, como indicador de infecção e a validação a campo do melhor biomarcador (pepsinogênio). Isso com o objetivo de validar o Pepsinogênio como candidato e o período de amostragem apresentado na primeira etapa.

Etapa I

Local do experimento

O experimento a campo foi realizado em duas etapas, a primeira na Fazenda Escola da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FAMEZ/UFMS), localizada em Terenos, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Coleta de amostras

As coletas de sangue foram realizadas por punção da veia jugular, e armazenadas em tubos com EDTA para análise hematológica, bioquímica e plasma para gastrina, e em tubo sem anticoagulante, para obter soro para análise de pepsinogênio e fósforo. As fezes coletadas diretamente da ampola retal e foi realizada a pesagem dos animais. Na primeira etapa do estudo foram realizadas nos dias -14, zero, +7, +14, +21, +28, +42 e +56.

Animais e grupos experimentais

Na primeira etapa do estudo foram selecionados 36 bovinos da raça Nelore, com idades entre 10 e 18 meses, 18 machos e 18 fêmeas, com OPG acima de 50 e sem histórico prévio de tratamento com anti-helmíntico nos últimos quatro meses.

Os animais foram distribuídos em um delineamento em blocos casualizados, com base no OPG, sexo, peso, hemograma e bioquímica sérica no dia -14. Os animais foram distribuídos em dois grupos: naturalmente infectado por NGIs e tratado (TRAT A) e o outro naturalmente infectado por NGIs e não tratado (CON A).

O grupo TRAT A recebeu uma dose de fenbendazole 5mg/kg P.V. (Panacur® Suspensão 10% - MSD Saúde Animal), por via oral em todos dias de coleta, com intuito mitigar efeitos deletérios causados por NGI. No dia -14, todos os animais foram tratados contra *Rhipicephalus microplus* com uma formulação carrapaticida contendo Fluazuron 2,5mg/kg (Tackzuron® - Zoetis).

Avaliação da condição fisiológica dos animais

Na primeira etapa, peso (kg), hematócrito (%VG), hemograma de séries vermelha e a albumina foram realizados para a avaliação da condição fisiológica dos animais nos dias -14, 0, 14, 28 e 56.

Biomarcadores

O Fósforo sérico (mg/dL) foi analisado com kit comercial Cobas 111® com base em espectrofotometria. As dosagens de gastrina foram realizadas por meio de kits de diagnóstico imunoenzimáticos específicos (Bovine Gastrin (astrin-34) ELISA Kit®). Os valores de pepsinogênio foram obtidos conforme o protocolo de Dorny e Vercruisse (1998) com as seguintes modificações: utilização de tampão Glicina-HCl (0,1M) em vez de Glicina-NaCl-HCl (0,1M); adição de duas soluções padrões de Tirosina, com diluições de 0,1 a 0,5 umol/ml. Essas avaliações foram realizadas na primeira parte do estudo nos dias zero, +7, +14, +21, +28, +42 e +56; e na segunda parte realizado diagnóstico de pepsinogênio.

Determinação da carga parasitária

A quantificação de ovos por grama de fezes (OPG) foi avaliado em cada data do estudo, sendo colhidas amostras de fezes individuais diretamente da ampola retal, transportadas sob refrigeração até o Laboratório de Doenças Parasitárias/FAMEZ/UFMS (LADPAR) e submetidas ao exame parasitológico, na primeira parte do estudo pela técnica de Mini-FLOTAC (Cringoli et al., 2013) de acordo com Noel et al., (2017) com as seguintes modificações: utilização de solução de flutuação de sulfato de magnésio (1.2 g/ml), não utilização de Fill-FLOTAC, tempo para flutuação dos ovos de cinco minutos.

Destas mesmas amostras, foram realizadas coproculturas em pool para cada grupo para a determinação dos gêneros de nematódeos presentes (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950).

Etapas II

Local do experimento

Por seguinte na segunda etapa realizada em propriedade rural localizada em Nioaque, Mato Grosso do Sul, Brasil. Houve a validação a campo do melhor biomarcador e mais adequado período de amostragem apresentados na primeira etapa.

Em ambas etapas os animais dos grupos, controle e tratamento, foram mantidos no mesmo piquete com pastagem de *Brachiaria* spp., com disponibilidade de água e suplementação mineral *ad libitum*.

Coleta de amostras

As coletas de sangue, de fezes e a pesagem dos animais seguiram o padrão da primeira etapa. coletadas diretamente da ampola retal e foi realizada a pesagem dos animais. Na segunda etapa foram realizadas nos dias zero, junto com o tratamento, e dia 28 pós tratamento.

Animais e grupos experimentais

Na segunda etapa foram selecionados 75 bovinos da raça Nelore, com idades entre 12 a 24 meses, machos, sem histórico recente de tratamento anti-helmíntico. Na fazenda havia histórico de problemas com verminose sintomática em lotes contemporâneos. No dia 0 os animais foram separados de forma aleatória em três grupos, conforme os tratamentos pré-estabelecidos: tratado via subcutânea com associação de ivermectina (0,2 mg/kg P.V.) + sulfóxido de albendazol (2,5 mg/kg P.V.; Evol® - Ourofino Saúde Animal) (TRAT B); e outro grupo tratado via subcutânea com moxidectina 0,2 mg/kg P.V. (Cydectin® 1% – Zoetis) (TRAT C). sem tratamento anti-helmíntico (CON BC); Esses tratamentos anti-helmínticos foram escolhidos por serem de classes diferentes, Lactonas macrocíclicas e Benzimidazóis, e pela criação de bovinos no Brasil essas moléculas terem boa eficácia (Gomes et al., 2022; Teixeira et al., 2021).

Avaliação da condição fisiológica dos animais

Na segunda etapa, o peso (kg) avaliado para definir a condição fisiológica dos animais nos dias zero e 28.

Biomarcadores

Os valores de pepsinogênio foram obtidos conforme o protocolo realizado na etapa I. Com avaliações realizadas nos dias zero e 28.

Determinação da carga parasitária

Desde a coleta de amostras até a refrigeração no LADPAR foi padrão igual na etapa I. O OPG na segunda parte do estudo foi determinado pela técnica de McMaster (GORDON, e WHITLOCK, 1939) nos dias zero e 28.

Análise estatística

Os dados de fósforo, gastrina, pepsinogênio, peso, OPG, albumina, VG, eritrócitos e hemoglobina foram submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Eritrócitos, fósforo e pepsinogênio, OPG, VG e hemoglobina apresentaram distribuição normal, enquanto gastrina, peso e albumina, não apresentaram normalidade, portanto, os dados foram transformados em Log (x+1). Os dados foram submetidos à análise de variância de dois fatores (tratamento e tempo) com medidas repetidas e, posteriormente, o teste de comparações múltiplas de Sidak intra e intergrupos. Na avaliação de correlação foi utilizado teste de correlação de Spearman. As análises foram realizadas ao nível de significância de 5%, utilizando o programa GraphPad Prism version 6.0 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, E.U.A., www.graphpad.com).

Resultados

Indicadores de danos fisiológicos

Peso

Em ambas etapas do estudo não houve diferença entre os grupos. Na primeira etapa do estudo os dois grupos apresentaram pesos semelhantes durante todo o experimento. E na segunda etapa todos os grupos perderam peso, em média 6,7kg.

Tabela 1 - Tabela com média do peso (kg) de bovinos em cada etapa, pertencentes aos grupos controle e tratamento durante o estudo.

DIA	ETAPA 1		ETAPA 2		
	CON A	TRAT A	CON BC	TRAT B	TRAT C
-14	200.2	205.00	-	-	-
0	209.6	214.4	325.6	320.6	316.4
7	211.3	213.4	-	-	-
14	216.8	219.9	-	-	-
21	208.1	207.1	-	-	-
28	210.6	213.3	322.4	314.0	306.3
42	212.1	217.9	-	-	-
56	215.2	222.0	-	-	-

Albumina e VG

Não houve diferença nos níveis de albumina entre os grupos ($p>0,05$), porém houve variação intragrupo significativa do dia -14 com o restante dos dias (Figura 1). Nos valores de VG é possível verificar que o grupo tratado apresentou diferença intragrupo ($p\leq 0,05$) do dia 56 com os dias 0, 7, 14 e 28 (Figura 2) e foi possível verificar que alguns animais de ambos grupos apresentaram índices maiores que os de referência (24 a 46 %).

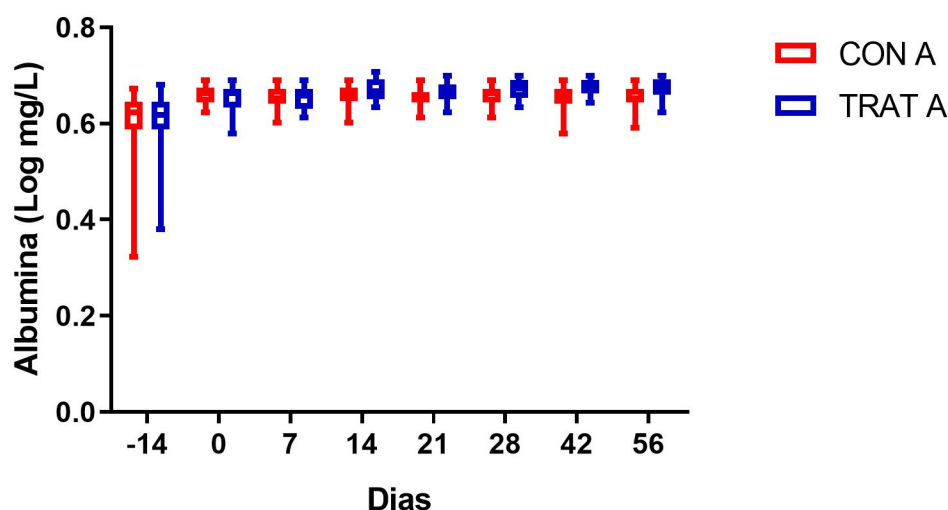


Figura 1 - Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de Albumina (mg/L) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado

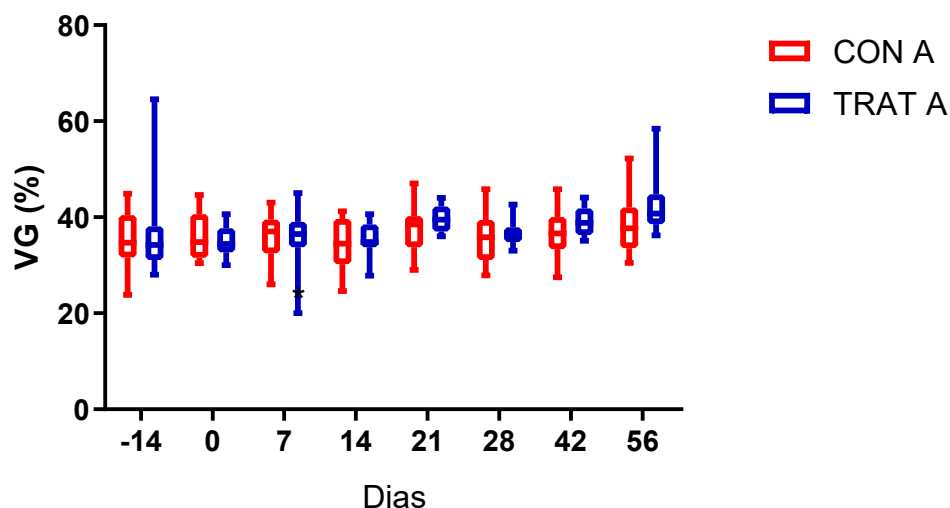


Figura 2 – Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de Volume Globular (%) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado

Eritrócitos e Hemoglobina

Em relação aos valores de eritrócitos e hemoglobina não houve diferença entre os grupos. Ao observar valores dos eritrócitos e hemoglobina do grupo TRAT A observou aumento ($p \leq 0,05$) dos valores no último dia do experimento (D56) em relação às médias pré-tratamento, porém todos os dias com valores médios dentro do valor de referência (hemoglobina: 8 a 15 g/dL; número de eritrócitos (5 a $10 \times 10^6/\mu\text{L}$)).

Indicador de infecção - OPG

As médias de OPG nos animais do grupo CON A permaneceram estáveis e próximas à média de 389, sem variação significativa entre as datas experimentais. Os tratamentos realizados no grupo TRAT A resultaram em redução ($p \leq 0,05$) nas médias de OPG do 7° ao 56° DPT, com valores médios entre 1,7 e 21,2, respectivamente. Com isso houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos a partir do 7° dia.

Na segunda etapa os animais apresentavam OPG médio de 220 no início do estudo. O grupo controle (CON BC) apresentou OPG médio de 230 considerando as duas datas do estudo, e nos grupos tratamento 1 (TRAT B) e tratamento 2 (TRAT C) tiveram redução no OPG após tratamentos anti-helmínticos com eficácia de 95,75% e 96,02%, respectivamente.

Tabela 2 - Tabela com média da coprocultura de bovinos em cada etapa, pertencentes ao grupo controle durante o estudo.

ETAPA 1				
DIA	<i>Haemonchus</i> sp.	<i>Cooperia</i> sp.	<i>Oesophagostomum</i> sp.	<i>Trichostrongylus</i> sp.
-14	59	37	4	0
0	72	25	2	1
7	62	34	3	0
14	54	42	4	0
21	45	49	6	0
28	54	40	6	0
42	24	74	2	0
56	42	49	8	0

Biomarcadores

Fósforo e Gastrina

Não foi possível diferenciar ($p>0,05$) através de fósforo e gastrina animais dos TRAT A e CON A. A variação durante os dias de fósforo foi verificada semelhante nos dois grupos, com diminuição ($p<0,05$) dos valores nos dias 42 e 56; já no hormônio da gastrina não foi observado variação intragrupo (Figura 3).

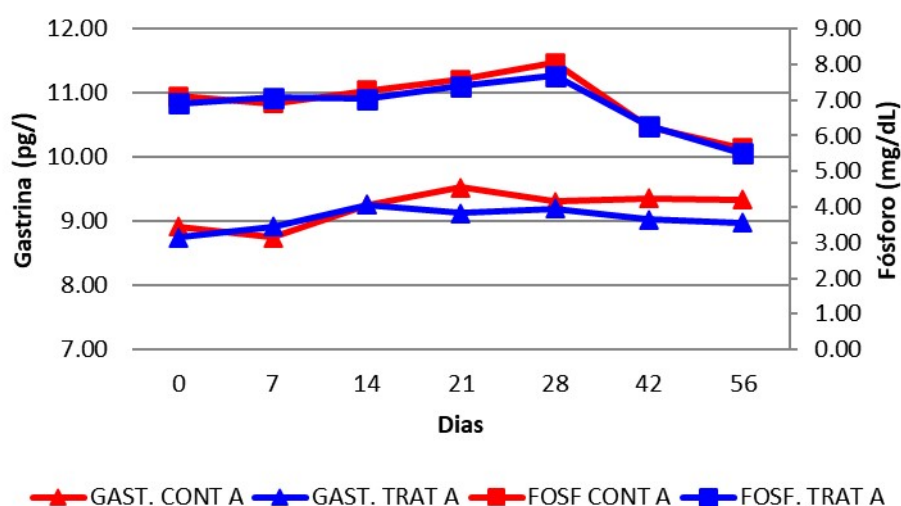


Figura 3 – Gráfico de linhas, com médias de fósforo sérico e gastrina de bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado

Pepsinogênio

Os níveis séricos de pepsinogênio diferiram entre os grupos TRAT A e CON A a partir do 28º dia pós tratamento (DPT) (Figura 4). Durante o estudo, comparando entre os dias de coleta, não houve diferença ($p>0,05$) nos valores médios de pepsinogênio no grupo CON A, enquanto no grupo TRAT A houve redução nos dias 21, 42 e 56, quando comparados ao dia 0 ($p<0,05$).

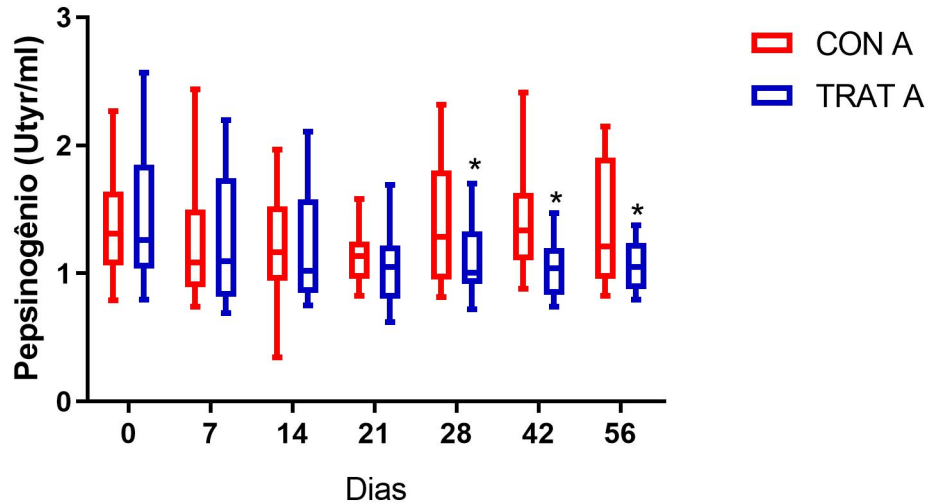


Figura 4 - Boxplot, com quartil (1º, 2º, 3º e 4º) e mediana de valores de pepsinogênio sérico (Unidade de Tirosina/ml de sangue) em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado *diferença significativa ($p<0,05$) entre os grupos pelo teste de comparações múltiplas e Sidak

Tabela 2 - Tabela com média do pepsinogênio (Utyr/ml) de bovinos em cada etapa, pertencentes aos grupos controle e tratamento durante o estudo.

DIA	ETAPA 1		ETAPA 2		
	CON A	TRAT A	CON BC	TRAT B	TRAT C
0	1.34	1.43	2.26	2.20	2.12
7	1.22	1.25	-	-	-
14	1.17	1.27	-	-	-
21	1.10	1.11	-	-	-
28	1.36	1.18	2.30	1.92	1.92
42	1.39	1.16	-	-	-
56	1.37	1.20	-	-	-

Na segunda etapa do experimento, no dia 0 (D0) não houve diferença entre os grupos ($p>0,05$), já no dia 28 (D28) houve diferença estatística entre os grupos ($P<0.0001$), com o grupo CON BC apresentando os maiores valores, 2,30 Utyr/ml, do que os tratados TRAT B (1,92 Utyr/ml) e TRAT C (1,92 Utyr/ml) (Figura 5). Em relação aos valores individuais observa variações de 1,35 a 3,03 Utyr/ml.

Além disso nos grupos tratamentos houve redução significativa dos valores de pepsinogênio comparando o D0 com D28, e no grupo controle os valores permaneceram estáveis ao longo do tempo (Figura 5).

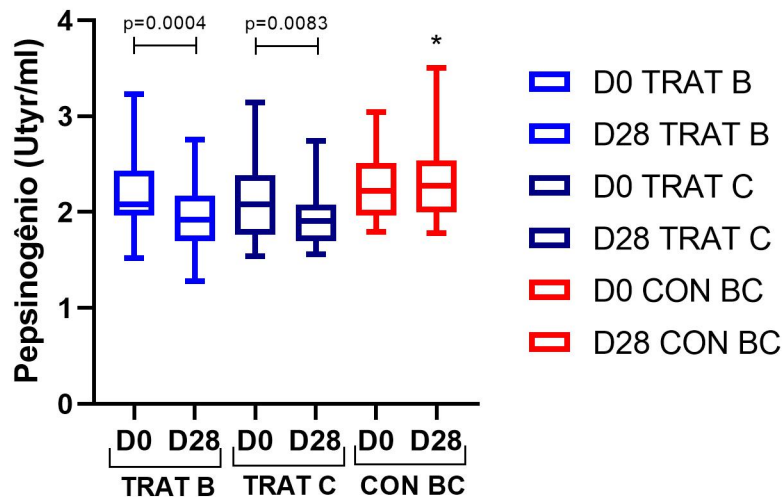


Figura 5 - Boxplot, com quartil (1°, 2°, 3° e 4°) e mediana de valores de pepsinogênio sérico (Unidade de Tirosina/ml de sangue) em bovinos pertencentes aos grupos tratamentos e controle *diferença significativa ($p < 0,05$) entre grupo controle e os grupos tratados no D28 pelo teste de comparações múltiplas e Sidak

Correlações

No teste de correlação de Spearman não houve correlação ($p > 0,05$) entre os biomarcadores (gastrina, fósforo e pepsinogênio), assim como entre OPG e os biomarcadores. Porém houve correlação fraca e negativa de albumina com pepsinogênio ($p\text{-valor} = 0,0378$; $\rho = -0,1591$), e VG com pepsinogênio ($p\text{-valor} = 0,0203$; $\rho = -0,1464$).

No grupo TRAT A, houve correlação negativa entre os valores de albumina ($p < 0,05$) com a porcentagem de larvas infectantes (L3) de *Haemonchus* sp. recuperadas na coprocultura (Figura 6).

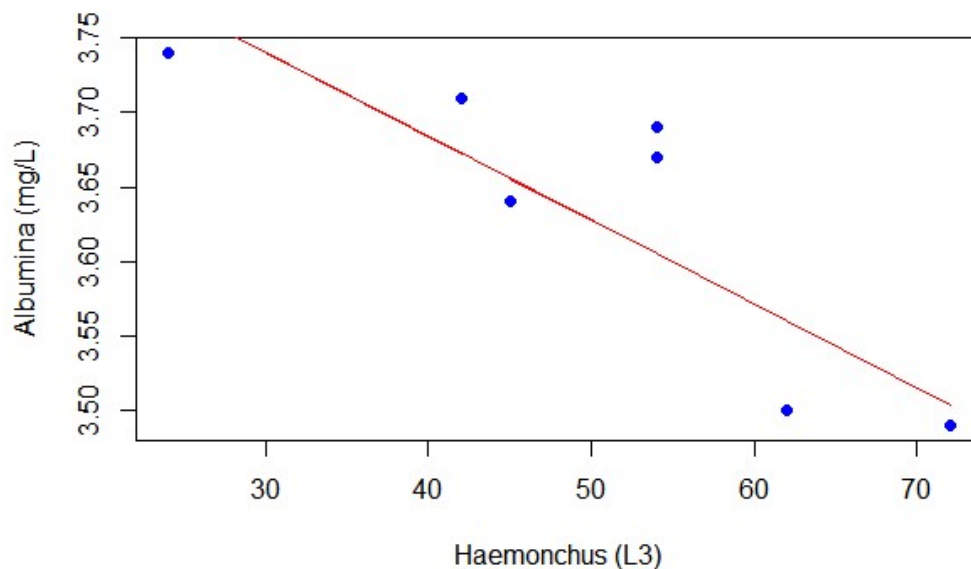


Figura 6 - Correlação de albumina e quantidade proporção de larvas infectantes de *Haemonchus* sp. recuperada de coprocultura.

Discussão

No presente trabalho foi possível avaliar diferentes candidatos a biomarcadores da verminose subclínica em zebuínos infectados naturalmente pelos gêneros *Haemonchus* e *Cooperia*, e sua correlação com OPG e parâmetros fisiológicos. O pepsinogênio apresentou melhores resultados na primeira etapa, por isso, foi escolhido para a segunda etapa, de validação a campo.

A utilização de parâmetros fisiológicos, hematológicos e bioquímicos, como diagnóstico de verminose foi impreciso no presente trabalho, os valores de eritrócitos e hemoglobina se mantiveram dentro dos limites de referência, e pelos valores de VG e Albumina, não foi possível diferenciar os grupos, mesmo alguns animais de forma esporádica apresentando valores acima do valor de referência, isso deve ser devido a fatores individuais que interferem nesses índices, como os fatores nutricionais (Gennari et al., 1995) e a idade (Borges, 2008). Esses resultados são semelhantes aos dados de infecções experimentais de *H. placei* ou *H. contortus* em bezerros apresentando discreto edema submandibular, porém sem alterações nos parâmetros hematológico e bioquímico, sendo identificado alterações somente na histologia do abomaso (Fávero et al., 2016). Dessa forma, no presente estudo, os animais apresentavam verminose subclínica, pois mesmo

1232 após o tratamento supressivo de anti-helmíntico os parâmetros sanitário (peso) e
1233 fisiológicos não apresentaram alterações suficientes para diferenciar os grupos.

1234 Também não foi possível diferenciar animais dos grupos tratado e controle
1235 com os resultados de P, o que limita seu uso a campo como biomarcador para
1236 verminose, mesmo sabendo que é viável a mensuração do nível plasmático de P
1237 em infecções por *Trichostrongylus colubriformis* e *Cooperia* sp. (Dias e Silva et al,
1238 2018; Dias Silva, 2021), e existe alteração no fluxo de P do sangue para o trato
1239 gastrointestinal, diminuindo os valores plasmáticos (Louvandini et al., 2009).
1240 Porém, a dificuldade no diagnóstico acontece por diversos fatores que interferem
1241 no metabolismo, como quantidade de parasitos, ingestão de fósforo e o tipo do
1242 diagnóstico, o mais indicado para diagnosticar a cinética de fósforo é seguir
1243 metodologia com identificação radioativa (Lovadini et al.; 2009), porém ainda não
1244 é possível aferir os danos causados por verminose subclínica de forma prática a
1245 partir do fósforo.

1246 A gastrina, outro possível biomarcador, também não diferenciou os grupos
1247 CON A e TRAT A, isso pode ter ocorrido devido ao perfil de infecção no presente
1248 cenário, com animais que apresentavam predominância de *Haemonchus* sp. e
1249 *Cooperia* sp. com OPG baixo, e para ser diagnosticada é necessário que os
1250 parasitos presentes no abomaso causem lesão suficiente para estimular a
1251 liberação de gastrina por células G (Lawton et al., 1996), por isso ela se apresenta
1252 como um biomarcador que identifica infecção alta ou baixa em animais adultos
1253 com maior quantidade de vermes maduros (MCKELLAR et al., 1987; PITT et al.,
1254 1988), o que pode não ter ocorrido no presente estudo. Logo, que o pico máximo
1255 de 92,5pg/ml encontrado no grupo CON A equivale a resultados de animais sem
1256 contato com parasito em estudos de inoculação de *O. ostertagi*, com valores de
1257 93pg/ml a 100pg/ml (Entrocasso et al., 1989; Berghen,1993). E nos animais com
1258 ostertagiose os valores podem ser de 184 a 1000 pg/ml (Entrocasso et al., 1989;
1259 Berghen,1993; Forbes, 2009). Ao comparar a gastrina, com os índices de
1260 pepsinogênio, pode-se inferir que o pepsinogênio indica o grau de dano, enquanto
1261 a gastrina pode estar relacionada com a quantidade de vermes adultos (Pitt et al.,
1262 1988).

1263 No presente estudo foi verificada a diminuição do pepsinogênio a partir do
1264 21º dia após o tratamento anti-helmíntico na primeira etapa do estudo e também
1265 possibilitou diferenciar os grupos tratados dos controles no 28º dia em ambas

etapas. Em trabalhos com inoculação experimental com *O. ostertagi* (COOP R. L., 1971; PITT et al., 1988; HILDERSON, et al., 1991) em que avaliaram o aumento de pepsinogênio após infecção, foram identificadas variações por volta de 24 a 35 dias após a inoculação. A verificação de pepsinogênio sérico/plasmático e as mudanças no abomaso decorrem do aumento da permeabilidade da mucosa (FOX et al., 1991). Por isso, ainda há necessidade de determinar qual seria o intervalo pós-tratamento para avaliar se os níveis de pepsinogênio retornariam aos aceitáveis em animais infectados experimentalmente com *Haemonchus* sp. e *Cooperia* sp.

O pepsinogênio se apresentou como possível biomarcador para zebuínos criados em condições semelhantes a deste estudo (tropical), com a confirmação dos resultados de pepsinogênio obtidos nas etapas 1 e 2, com a continuação do estudo em uma propriedade com histórico de verminose clínica e em uma situação dos animais apresentando emagrecimento, foi possível confirmar os resultados da etapa 1. Os valores de referência baixo (0,9 Utyr/ml), médio (2,1 Utyr/ml) e alto (5,1 Utyr/ml) já estabelecidos (DORNY e VERCRUYSSSE, 1998) para bovinos infectados por *Ostertagia* sp., quando comparados aos resultados obtidos no presente estudo, verifica-se que na primeira etapa os valores do TRAT A e CON A ficaram baixos; e na segunda etapa do estudo todos os grupos no D0 tinham valores de referência médios e após os tratamentos, TRAT B e TRAT C, diminuíram para valores de referência baixos, somente o CON BC continuou com os valores médios. Considerando que os animais na etapa 2 apresentavam sinais clínicos de verminose, mas ainda assim não foram classificados no estrato alto de pepsinogênio, talvez seja necessário reavaliar os valores limites para a estratificação em baixo, médio e alto para as condições do presente estudo, que são representativas de grande parte da pecuária em regiões tropicais, com animais zebuínos expostos permanentemente a infecções mistas, predominantemente pelos gêneros *Haemonchus* e *Cooperia*.

Outros valores que podem ser considerados no monitoramento do rebanho, é o VG e a albumina, que apresentaram correlação negativa com pepsinogênio. Isso é coerente com o parasitismo, pois a hemoncose causa alterações na composição do plasma, em particular uma diminuição na proteína sérica total, ficando evidente a hipoalbuminemia, e em casos graves desenvolvendo edema submandibular e ascite (Holmes, 1985).

1300 Portanto, no presente estudo, VG e a albumina podem auxiliar de forma
1301 pontual no monitoramento de NGIs em bovinos criados em regiões tropicais,
1302 enquanto fósforo e gastrina não se apresentaram como bons biomarcadores. O
1303 pepsinogênio foi capaz de identificar animais com verminose clínica e subclínica e
1304 também pode ser utilizado como um parâmetro para avaliação de tratamentos
1305 anti-helmínticos.

1306 Diante desses resultados importantes para o monitoramento de NGI em
1307 bovinos criados em regiões tropicais, aparece novas oportunidades de estudo,
1308 como no presente trabalho não foi utilizado infecção experimental, futuros
1309 trabalhos devem validar liminares “baixo, médio e alto” de pepsinogênio para
1310 situações semelhantes a essa, e compreender de forma precisa a correlação de
1311 pepsinogênio com VG e albumina.

1312

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIEC - Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. Beef Report 2022. 2022. Disponível em <http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/> Acesso em 02 de julho de 2022.

BALIC, A.; BOWLES, V. M.; MEEUSEN, E. N. T. The Immunobiology of gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Advances in Parasitology**, London, v. 45, p. 181-241, 2000.

BERGHEN, P.; HILDERSON, H.; VERCRUYSSSE, J.; DORNY, P. Evaluation of pepsinogen, gastrin and antibody response in diagnosing ostertagiasis. **Veterinary Parasitology**, 46, 175-195. 1993.

BORGES, A.C., **Componentes sanguíneos de bovinos (Bos taurus) sadios da raça pantaneira, em diferentes faixas etárias, criados extensivamente.** 2008. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

BORGES F.A., ALMEIDA G.D., HECKLER R.P., LEMES R.T., ONIZUKA M.K., BORGES D.G. Anthelmintic resistance impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Trop Anim Health Prod.**; 45 (3):723-7. 2013.

BORGES, F.A., ALMEIDA, G.D., HECKLER, R.P., LEMES, R.T., ONIZUKA, M.K.V., BORGES, D.G.L., Impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Trop. Anim. Health Prod.** 45, 723–727. 2013.

BRYAN RP, KERR JD. The relation between the natural worm burden of steers and the faecal egg count differentiated to species. **Vet Parasitol.** 30(4):327-34. 1989

CHARLIER J., DORNY P., LEVECKE B., MCKAY-DEMELER J., VON SAMSON-HIMMEL-STJERNA G., HÖGLUND J., et al. Serum pepsinogen levels to monitor gastrointestinal nematode infections in cattle revisited. **Res Vet Sci.** 90:451–6. 2011

COLES, G.C. JACKSON, F., POMROY, W.E., PRICHARD, R.K., SAMSON-HIMMELSTJERNA G. V. SILVESTRE, A., TAYLOR, M.A., VERCRUYSSSE, J., The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet Parasitol.** 136, 167–185. 2006.

1354 COOP, R. L. The effect of large doses of *Haemonchus contortus* on the level of
 1355 plasma pepsinogen and the concentration of electrolytes in the abomasal fluid of
 1356 sheep. **Journal of Comparative Pathology**, 81, 213-219. 1971

1357

1358 CRAIG, T. M. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. **Vet Clin Food**
 1359 **Anim** 34, 185–199. 2018.

1360

1361 CRINGOLI G, MAURELLI MP, LEVECKE B, BOSCO A, VERCURYSSE J,
 1362 UTZINGER J, RINALDI L. The Mini-FLOTAC technique for the diagnosis of
 1363 helminth and protozoan infections in humans and animals. **Nat Protoc**.12 (9):
 1364 1723-1732. 2017

1365

1366 DELGADO, F. E. F.; LIMA, W.S.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P.;
 1367 DOMINGUES, L. N.; WANDERLEY, R. P. B.; LEITE, P. V. B.; LEITE, R. C.
 1368 Verminoses dos bovinos: percepção de pecuaristas em Minas Gerais, Brasil.
 1369 **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 29–33. 2009.

1370

1371 DIAS-SILVA, T. P., JIMENEZ, C. R., IEDA, E. I., ABDALLA, A. L., LOUVANDINI,
 1372 H. Phosphorus kinetics in lambs experimentally infected with *Trichostrongylus*
 1373 *colubriformis* with the use of ³²P, **Experimental Parasitology**. Volume 188,
 1374 Pages 13-20. 2018.

1375

1376 DIAS-SILVA TP, LOUVANDINI H, AMARANTE AFT. *Trichostrongylus*
 1377 *colubriformis* affecting sheep phosphorus metabolism and precision feeding as a
 1378 mitigating strategy. **Braz J Vet Parasitol**. 30(1): e026820. 2021.

1379

1380 DORNY, P.; J. VERCURYSSE. Evaluation of a micro method for the routine
 1381 determination of serum pepsinogen in cattle. **Research in Veterinary Science**,
 1382 65, 259-262. 1998.

1383

1384 DORNY P, SHAW DJ, VERCURYSSE J. The determination at housing of
 1385 exposure to gastrointestinal nematode infections in first-grazing season calves.
 1386 **Vet Parasitol**. 80: 325–40. 1999.

1387

1388 EYSKER, M., PLOEGER, H.W. Value of present diagnostic methods for
 1389 gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Parasitology**. 120, S109–S119.
 1390 2000.

1391

1392 FÁVERO, F. C., BUZZULINI,C., CRUZ, B. C., FELIPPELLI, G., MACIEL, W. G.,
 1393 SALATTA B., TEIXEIRA, W. F. P., SOARES, V. E., OLIVEIRA, G. P., LOPES, W.
 1394 D. Z., COSTA A. J., Experimental infection of calves with *Haemonchus placei* and

1395 Haemonchus contortus: Assessment of parasitological parameters, **Veterinary**
1396 **Parasitology**. Vol. 217, Pages 25-28. 2016.

1397

1398 **FDA-NIH Biomarker Working Group**. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other
1399 Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug Administration
1400 (US). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/> Co-
1401 published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD). 2016-2021.

1402

1403 FENERICH, F.L., OLIVEIRA, S.M., RODRIGUES, F.M., VIANNA, W.O., CHIBA, S.
1404 Correlação entre a contagem de ovos de helmintos gastrintestinais por gramade
1405 fezes de bovinos e a carga parasitária, na região de Campinas, SP. **Pesq.**
1406 **Agropecu.** 22, 741–746. 1987.

1407

1408 FONSECA, A., H. **Helmintoses gastro-intestinais dos ruminantes**. Material
1409 didático, 2006. Disponível em: <<http://adivaldofonseca.vet.br/2011>>. Acesso em:
1410 04 fev 2022.

1411

1412 FOX, M. T., GERRELLI, D., PITT, S. R., JACOBS, D. E., HART. I. C. &
1413 SIMMONDS, A. D. Endocrine effects of a single infection with Ostertagia ostertagi
1414 in the calf. **International Journal for Parasitology**. 17, 1181- 1185. 1987.

1415

1416 FOX, M. T., PITT, S. R., GERRELLI, D., JACOBS, D. E., ADHIKARI, D.R. &
1417 GODDARD, P.J. Use of blood gastrin assay in the diagnosis of ovine
1418 haemonchosis. **The Veterinary Record**. 112, 136–7. 1988.

1419

1420 FOX, M. T.; JACOBS, D. E.; SANI R. A. Blood gastrin and pepsinogen responses
1421 of native village goats in Malaysia to infection with Haemonchus contortus, **Annals**
1422 **of Tropical Medicine & Parasitology**. 85:2, 263-267, 1991.

1423

1424 FORBES, A. Faecal egg counts in cattle: how do they stack up?. **Livestock**. 22.
1425 124-127. 2017.

1426

1427 GASBARRE, L.C., BALLWEBER, L.R., STROMBERG, B.E., DARGATZ, D.A.,
1428 RODRIGUEZ, J.M., KOPRAL, C.A., ZARLENGA, D.S. Effectiveness of current
1429 anthelmintic treatment programs on reducing fecal egg counts in United States
1430 cow-calf operations. **Can. J. Vet. Res.** 79, 296–302. 2015.

1431

1432 GENNARI, S.M., ABDALLA, A.L., VITTI, D.M.S.S., MEIRELLES, C.F., LOPES,
1433 R.S., VIEIRA BRESSAN, M.C.R., Haemonchus placei in calves: effects of dietary
1434 protein and multiple experimental infection on worm establishment and
1435 pathogenesis. **Vet. Parasitol.** 59, 119-126. 1995.

1436

GORDON, H.MCL., WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J. Counc. Sci. Ind. Res.** 12, 50-52. 1939.

GOMES L.V.C., TEIXEIRA W.F.P., MACIEL W.G., FELIPPELLI G., BUZZULINI C., SOARES V.E., DE MELO D.P., CRUZ B.C., RODRIGUES D.C., FERREIRA L.L., MONTEIRO C.M.O., LOPES W.D.Z., DA COSTA A.J. Strategic control of cattle co-parasitized by tick, fly and gastrointestinal nematodes: Is it better to use ecto + endoparasiticide or just endectocide formulations? **Vet Parasitol.** 2022 Jan;301:109622. doi: 10.1016/j.vetpar.2021.109622. Epub 2021 Nov 23.

GRISI L., LEITE R.C., MARTINS J.R.S., BARROS A.T.M., ANDREOTTI R., CANÇADO P.H.D., LEÓN A.A.P., PEREIRA J.B., VILLELA H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

HECKLER RP, BORGES DG, VIEIRA MC, CONDE MH, GREEN M, AMORIM ML, ECHEVERRIA JT, OLIVEIRA TL, MORO E, VAN ONSELEN VJ, BORGES FA. New approach for the strategic control of gastrointestinal nematodes in grazed beef cattle during the growing phase in central Brazil. *Vet Parasitol.* 2016. 15;221:123-9.

HILDERSON, H.; DORNY, P.; BERGHEN, P.; VERCRUYSSSE, J.; FRANSEN, J.; BRAEM, L. Gastrin and Pepsinogen Changes During an *Ostertagia ostertagi* Challenge Infection in Calves. **J. Vet. Med.** B 38, 25-32. 1991.

HÖGLUND, J., MORRISON, D.A., CHARLIER, J., DIMANDER, S., LARRSON, A., Targeted selective treatments for gastrointestinal nematodes in first-season grazing cattle based on mid-season daily weight gains. **Vet. Parasitol.** 164, 80–88. 2009.

HÖGLUND J, CARLSSON A, GUSTAFSSON K. Effects of lambing season on nematode fecal egg output in ewes. **Vet Parasitol Reg Stud Rep.** 26:100 633. 2021.

HOLMES, P. Pathogenesis of trichostrongylosis. **Veterinary Parasitology** 18, 89–101. 1985.

HOLMES, P.H., COOP, R.L. Pathophysiology of gastrointestinal parasites. **Veterinary Parasitology.** 54, 299–303. 1994.

1477 JENNINGS, F. W., ARMOUR, J., LAWSON, D. D. & ROBERTS, R. Experimental
 1478 *Ostertagia ostertagi* infections in calves: studies with abomasal cannulas.
 1479 **American Journal of Veterinary Research.** 27, 1249–57. 1966.

1480

1481 KAPLAN RM. The changing landscape of parasite control in small ruminants: what
 1482 practitioners need to know. In: Smith RA, editor Proceedings of the 2020.
 1483 Louisville. **AABP Conference**, 24–26 Sept 2020; p. 242-51

1484

1485 LOUVANDINI, H.; RODRIGUES, R.R.; GENNARI, S.M.; MCMANUS, C.M.; VITTI,
 1486 D.M. Phosphorus kinetics in calves experimentally submitted to a trickle infection
 1487 with *Cooperia punctata*. **Vet Parasitol.** 163 (1-2): 47-51. 2009.

1488

1489 LAWTON, D. E. B., REYNOLDS, G. W., HODGKINSON, S. M., POMROY, W. E.
 1490 & SIMPSON, H. V. Infection of sheep with adult and larval *Ostertagia*
 1491 *circumcincta*: effects on abomasal pH and serum gastrin and pepsinogen.
 1492 **International Journal for Parasitology.** 26, 1063–1074. 1996.

1493

1494 LIMA, S. C., BORGES, D. G. L., PUPIN, R. C., GUIZELINI, C. C., PAULA, J. P. L.,
 1495 BORGES, F. A., LEMOS, R. A. A. Mortality caused by gastrointestinal nematodes
 1496 in beef cattle submitted to an inadequate sanitary protocol. **Pesquisa Veterinária**
 1497 **Brasileira.** 42. 2022.

1498

1499 MCKELLAR, Q., J. L. DUNCAN, J. ARMOUR, F. E.F. LINDSAY, and P.
 1500 MCWILLIAM. Further studies on the response to transplanted adult *Ostertugzu*
 1501 *ostertagi* in calves. **Res. Vet. Sci.** 42, 29-34. 1987.

1502

1503 MEYER, D. J.; HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine:** interpretation
 1504 and diagnosis. 2nd ed. Philadelphia: Saunders, p.351. 2004.

1505

1506 MYERS M.J., SMITH E.R., TURFLE P.G. Biomarkers in Veterinary Medicine.
 1507 **Annu Rev Anim Biosci.** 5:65-87. 2017.

1508

1509 PITT, S. R.; FOX, M. T.; GERRELLI, D.; JACOBS, D. E. Blood gastrin and
 1510 pepsinogen responses to subclinical infection with *Ostertagia ostertagi* in adult
 1511 dairy cattle. **Research in Veterinary Science.** 45, 130-131. 1988.

1512

1513 PLOEGER HW, BORGSTEEDE FHM, EYSKER M, VAN DEN BRINK R. Efect of
 1514 nematode infections on growth performance of calves after stabling on commercial
 1515 dairy farms. **Vet Parasitol.** 36:71–81. 1990.

1516

1517 PLOEGER HW, KLOOSTERMAN A, RIETVELD FW, BERGHEN P, HILDERSON
 1518 H, HOLLANDERS W. Quantitative estimation of the level of exposure to

1519 gastrointestinal nematode infection in first-year calves. **Vet Parasitol.** 55:287–315.
 1520 1994.

1521

1522 PLOEGER H.W., KLOOSTERMAN A., RIETVELD F.W., BERGHEN P. Weight
 1523 gain and the course of some estimators of gastrointestinal nematode infection in
 1524 calves during winter housing in relation to the level of exposure during the
 1525 previous grazing season. **Vet Parasitol.** 56:91–106. 1995.

1526

1527 RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica**
 1528 **veterinária.** 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p. 1770. 2002.

1529

1530 SABATINI, G. A.; BORGES, F. A.; CLAEREBOUT, E.; GIANECHINI, L. S. G.;
 1531 HÖGLUND, J.; KAPLAN, R. M.; LOPES, W. D. Z.; MITCHELL, S.; RINALDI, L.;
 1532 SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; STEFFAN, P.; WOODGATE, R. Practical guide
 1533 to the diagnostics of ruminant gastrointestinal nematodes, liver fluke and
 1534 lungworm infection: interpretation and usability of results. **Parasites & Vectors.**
 1535 16:58. 2023.

1536

1537 SANTOS, T.R., LOPES, W.D.Z., BUZULINI, C., BORGES, F.A., SAKAMOTO,
 1538 C.A.M., LIMA, R.C.A., LOIVEIRA, G.P., COSTA, A.J. Helminth fauna of bovines
 1539 from Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. **Cienc. Rural.** 40, 934-
 1540 938. 2010.

1541

1542 SCHUBERT, M. L. **Regulation of gastric secretion.** Current Opinion in
 1543 Gastroenterology 13, 441–50. 1997.

1544

1545 SCHUBERT, M. L. **Regulation of gastric acid secretion.** Current Opinion in
 1546 Gastroenterology 15, 457–62. 1999.

1547

1548 SHOO, M. K.; WISEMAN, A. Changes in serum pepsinogen and concentration in
 1549 calves infected with *Haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science,**
 1550 London, v. 41, p. 124-125, 1986.

1551

1552 SIMPSON, H.V. Pathophysiology of abomasal parasitism: is the host or parasite
 1553 responsible?. **Vet J.** 160(3):177-91. 2000.

1554

1555 SIMPSON, H. V., LAWTON, D. E. B., SIMCOCK, D. C., REYNOLDS, G. W. &
 1556 POMROY, W. E. Effects of adult and larval *Haemonchus contortus* on abomasal
 1557 secretion. **International Journal for Parasitology.** 27, 825–31. 1997.

1558

1559 SOULSBY, E.J.L., **Helminths, arthropods, and protozoa of domesticated**
 1560 **animals.** London: Lea e Febiger 1982. 809p.

1561

1562 STROMBERG B.E., GASBARRE L.C., WAITE A., et al. *Cooperia punctata*: effect
 1563 on cattle productivity? **Vet Parasitol.** 183:284–91. 2012.

1564

1565 TAYLOR, M.A., HUNT, K.R., GOODYEAR, K.L. Anthelmintic resistance
 1566 detection methods. **Vet. Parasitol.** 103, 183–194. 2002.

1567

1568 THAMSBORG S.M., JERGENSEN R.J., NANSEN P. Internal parasitism of steers
 1569 grazing extensively at different stocking rates. **Acta Vet Scand.** 39:311–23. 1998.

1570

1571 TEIXEIRA W.F.P., GOMES L.V.C., FELIPPELLI G., BUZZULINI C., ZAPA D.M.B.,
 1572 CAVALCANTE A.S.A., BORGES D.G.L., FERREIRA L.L., SANTOS T.R.D.,
 1573 SOARES V.E., ARNHOLD E., COSTA A.J.D., BORGES F.A., LOPES W.D.Z.
 1574 Investigation of fecal egg counts versus worm burden and helminth fauna in cattle
 1575 treated or not with macrocyclic lactones in a tropical region. *Vet Parasitol.* 2021
 1576 Dec;300:109618. doi: 10.1016/j.vetpar.2021.109618. Epub 2021 Nov 20.

1577

1578 TIZARD, I. R., **Imunologia veterinária.** 5 ed. São Paulo: Elsevier, 2008. p. 587.

1579

1580 URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W.
 1581 **Parasitologia veterinária.** Helminthologia Veterinária. 2nd ed. Rio de Janeiro:
 1582 Guanabara Koogan, 1998. p. 3-120.

1583

1584 **USDA**, Beef 2007–08: part IV: reference of beef cow-calf management practices
 1585 in the United States, 2007-08. USDA-APHIS National Animal Health Monitoring
 1586 System. USDA APHIS Veterinary Services, Fort Collins; USA. 2010.

1587

1588 VAN WYK I.C., GODDARD A., BRONSVOORT B.M.C., COETZER J.A., HANDEL
 1589 I.G., HANOTTE O., JENNINGS A., LESOSKY M., KIARA H., THUMBI S.M., TOYE
 1590 P., WOOLHOUSE M.W., PENZHORN B.L. The impact of co-infections on the
 1591 haematological profile of East African Short-horn Zebu calves. **Parasitology.**
 1592 141(3):374-88. 2014.

1593

1594 VERCRUYSSSE J, CLAEREBOU E. Treatment vs non-treatment of helminth
 1595 infections in cattle: defining the threshold. **Vet Parasitol.** 98:195–214. 2001.

1596

1597 WARD, M.P., LYNDAL-MURPHY, M., BALDOCK, F.C. Evaluation of a composite
 1598 method for counting helminth eggs in cattle faeces. **Vet. Parasitol.** 73, 181-187.
 1599 1997.

1600

WYK, I. C. VAN ; GODDARD, A. ; BRONSVOORT, B. M. DE C. ; COETZER, J. A. W. ; HANDEL, I. G. ; HANOTTE, O. ; JENNINGS, A. ; LESOSKY, M. ; KIARA, H. ; THUMBI, S. M. ; TOYE, P. ; WOOLHOUSE, M. W. ; PENZHORN, B. L. The impact of co-infections on the haematological profile of East African Short-horn Zebu calves. **Parasitology**. 141. 374-388. 2014.

WILSON WD, FIELD AC. Absorption and secretion of calcium and phosphorus in the alimentary tract of lambs infected with daily doses of *Trichostrongylus colubriformis* or *Ostertagia circumcincta* larvae. **J Comp Pathol**. 93(1): 61-71. 1983.

ZAPA, D.M., COUTO, L.F., HELLER, L.M., CAVALCANTE, A.S., NICARETTA, J.E., CRUVINEL, L.B., MACIEL, W.G., TEIXEIRA, W.F., FELIPPELLI, G., GOMES, L.V., FERREIRA, L.L., SOARES, V.E., COSTA, A.J., BORGES, F.D., & LOPES, W.D. Association between fecal egg count and weight gain in young beef cattle. **Livestock Science**, 104335. 2020.

5. CONSIDERAÇÕES GERAL

A utilização de biomarcadores é promissora e efetiva no controle de enfermidades. Por isso existe a necessidade de um biomarcador que possa contribuir no controle efetivo da verminose, principalmente em animais assintomáticos. No presente estudo fósforo e gastrina não apresentaram capacidade de ser um biomarcador para verminose, já o pepsinogênio mostrou capacidade de identificar e diferenciar infecções e o tratamento anti-helmíntico em bovinos criados a pasto no Brasil central. Assim sendo, deve-se estimular novas pesquisas para compreender valores de referência e como usá-lo em protocolos de controle de verminose.

6. IMPACTO ECONÔMICO, SOCIAL, TECNOLÓGICO E/OU INOVAÇÃO

O presente trabalho tem como impacto econômico auxiliar no controle efetivo da verminose em bovinos, buscando um diagnóstico mais preciso sobre os danos causados pela NGI, infecções que afetam a produtividade na pecuária, principalmente em animais assintomáticos.

Essa pesquisa apresenta um impacto tecnológico e inovador por ser o primeiro estudo que utiliza os índices de pepsinogênio para diagnosticar infecções

1637 naturais com predominância de *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp. em áreas
1638 tropicais com bovinos criados a pasto.