

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS REALEZA - PR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE, BEM-ESTAR E PRODUÇÃO
ANIMAL SUSTENTÁVEL NA FRONTEIRA SUL
CURSO DE MESTRADO

JUNIOR CÉSAR FERRON

DESORDENS HEMOSTÁTICAS EM OVINOS PARASITADOS POR
HAEMONCHUS CONTORTUS

REALEZA - PR

2024

JUNIOR CÉSAR FERRON

**DESORDENS HEMOSTÁTICAS EM OVINOS PARASITADOS POR
*HAEMONCHUS CONTORTUS***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde, Bem-Estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Braz

**REALEZA - PR
2024**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Ferron, Junior César

DESORDENS HEMOSTÁTICAS EM OVINOS PARASITADOS POR
HAEMONCHUS CONTORTUS / Junior César Ferron. -- 2025.
35 f.

Orientador: Doutor Paulo Henrique Braz

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da
Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Saúde,
Bem-Estar e Produção Animal Sustentável Na Fronteira
Sul, Realeza, PR, 2025.

1. Hematologia. 2. Parasitologia. 3. Patologia
Clínica. I. Braz, Paulo Henrique, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

JUNIOR CÉSAR FERRON

**DESORDENS HEMOSTÁTICAS EM OVINOS PARASITADOS POR
*HAEMONCHUS CONTORTUS***

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), como requisito para obtenção do título de Mestre em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul.

ESTE TRABALHO FOI DEFENDIDO E APROVADO PELA BANCA EM 06/03/2025

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **PAULO HENRIQUE BRAZ**
Data: 24/03/2025 09:35:24-0300
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

**PROF. DR. PAULO HENRIQUE BRAZ – UFFS
ORIENTADOR**



**PROF^A. DR^A. ANA CAROLINE DOYLE TORRES – ATITUS EDUCAÇÃO
AVALIADORA**



**PROF^A. DR^A. LYGIA MALVESTIO GIANCOTTI – ATITUS EDUCAÇÃO
AVALIADORA**

**Dedico este trabalho aos meus pais e
meu irmão.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida e por me permitir ser quem sou e por me abençoar todos os dias na realização dos meus sonhos.

À minha mãe, meu pai e meu irmão por sempre estarem comigo e me apoiarem.

Aos meus amigos, pelos momentos de descontração e por entenderem os momentos de ausência.

Aos meus colegas de trabalho na Atitus Educação, por serem inspiração e exemplos de profissionais de ensino e da Medicina Veterinária.

Aos professores que tive durante minha graduação, pois foram eles que despertaram em mim o sonho do mestrado e vida acadêmica.

A todos os professores do Programa de Pós-graduação em Saúde, Bem-estar e Produção Animal Sustentável na Fronteira Sul, por todo conhecimento e vivência transmitidos.

Ao meu orientador Paulo Henrique Braz, por ser exemplo de profissional, de pessoa e um grande orientador. Faltam palavras para expressar o quanto sou grato por toda ajuda, incentivo, comprometimento e auxílio que me prestou durante todo o mestrado.

A todos, muito obrigado.

“Ame a você mesmo, seja quem você é, nunca deixe ninguém dizer o que deve ou não fazer, porque você nasceu assim, do jeito que Deus lhe fez, e Ele nunca erra” (Tradução livre - Lady Gaga).

RESUMO

A hemoncosse continua sendo, até hoje, a principal doença encontrada na criação de ovinos em todo o mundo. É caracterizada pela parasitemia de ovinos pelo agente hematófago *Haemonchus contortus*. O parasito causa lesões no trato gastrointestinal de animais infectados. Essas lesões, juntamente com a secreção de fatores anticoagulantes e proteínas, facilitam a alimentação do parasito através do sangramento induzido nesses locais. A perda sanguínea gerada pelo parasito leva à anemia e perda excessiva de proteínas como a albumina, resultando em sintomas clínicos de perda de peso, aumento da morbidade e redução da eficiência produtiva, o que causa perdas econômicas significativas à indústria e afeta o bem-estar dos animais afetados. Este estudo tem como objetivo avaliar as alterações hemostáticas causadas pela infecção por *Haemonchus contortus* em ovinos. Foram utilizadas 19 ovelhas de ambos os sexos e idade variando entre 7 e 8 meses. Os animais receberam via oral, de forma experimental, 10.000 larvas infectantes de estrongiloides. Após 30 dias os animais foram submetidos aos testes hemostáticos para avaliação das possíveis alterações da cascata de coagulação geradas pelos parasitos. Os resultados mostraram diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre ovelhas parasitadas do grupo experimental e ovelhas livres do parasito, como controle negativo, para todos os testes diagnósticos, que incluíram: Tempo de Coagulação Ativada ($p = 0,0001$), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada ($p = 0,0045$) e Tempo de Protrombina ($p = 0,0325$), utilizando-se como teste comparativo entre os grupos o teste ANOVA. Além disso, foram observadas diferenças significativas entre os grupos controle e experimental ($p < 0,05$) nos valores de hematócrito ($p < 0,0001$) e contagem de plaquetas ($p < 0,0001$). A infecção por parasitos gastrointestinais traz alterações hemostáticas relacionadas a via intrínseca, que são prejudiciais para a produção ovina e para o bem-estar dos animais acometidos.

Palavras chave: Anemia, coagulação, trombina, protrombina

ABSTRACT

Hemonchosis remains, to this day, the main disease found in sheep farming around the world. It is characterized by the parasitemia of sheep by the hematophagous agent *Haemonchus contortus*. The parasite causes damage to the gastrointestinal tract of infected animals. These lesions, together with the secretion of anticoagulant factors and proteins, facilitate the parasite's feeding through the bleeding induced in these locations. Blood loss generated by the parasite leads to anemia and excessive loss of proteins such as albumin, resulting in clinical symptoms of weight loss, increased morbidity and reduced production efficiency, which causes significant economic losses to the industry and affects well-being. affected animals. This study aims to highlight and point out the hemostatic changes that *Haemonchus contortus* infection causes in sheep. 19 sheep of both sexes and ages ranging between 7 and 8 months were used, which experimentally received 10.000 infective strongyloid larvae. After 30 days, the animals were subjected to hemostatic tests to evaluate possible changes in the coagulation cascade generated by parasites. The results showed a statistically significant difference ($p < 0.05$) between experimentally parasitized sheep and parasite-free sheep for all diagnostic tests, which included: Activated Coagulation Time ($p = 0.0001$), Activated Partial Thromboplastin Time ($p = 0.0045$) and Prothrombin Time ($p = 0.0325$), using ANOVA as a comparative test. Furthermore, significant differences ($p < 0.05$) were observed in hematocrit ($p < 0.0001$) and platelet count ($p < 0.0001$) values. Infection by gastrointestinal parasites brings hemostatic changes related to the intrinsic pathway, which are harmful to sheep production and the well-being of affected animals.

Keywords: Anemia, coagulation, thrombin, prothrombin

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1 - Resultados de Tempo de Coagulação Ativada (TCA) do grupo experimental.....	30
Tabela 2 - Resultados de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) do grupo experimental.....	30
Tabela 3 - Resultados de Tempo de Protrombina (TP) do grupo experimental.....	31
Tabela 4 - Resultados dos níveis de hematócrito (HCT) do grupo experimental.....	31
Gráfico 1 – Média mensal de contagem de ovos por grama de fezes nos grupos controle e experimental.	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	Adenosina difosfato
ALB	Albumina
AST	Aspartato aminotransferase
Ca ⁺	Cálcio
CEUA	Comissão de ética para uso de animais
cm	Centímetros
EUA	Estados Unidos da América
Fator II	Protrombina
Fator V	Proacelerina
Fator VII	Proconvertina
Fator VIII	Fator anti-hemolítico
Fator IX	Componente tromboplastínico do plasma
Fator X	Fator Stuart-power
Fator XI	Antecedente tromboplastínico do plasma
Fator XII	Fator Hageman
FT	Fator tecidual
gForce	Força gravitacional
G1	Grupo 1
G2	Grupo 2
IFFAR	Instituto Federal Farroupilha
Kg	Quilograma
K2 EDTA	Ácido etilenodiamina tetra-acético
Ltda	Limitada
L1	Larvas em primeiro estágio
L2	Larvas em segundo estágio
L3	Larvas em terceiro estágio
mg	Miligramas
mL	Mililitros
mm	Milímetros
Nº	Número
p.	Probabilidade
PT	Proteínas totais

OPG	Ovos por grama de fezes
TCA	Tempo de coagulação ativada
TIL	Linfócitos infiltrantes de tumor
TP	Tempo de protrombina
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativada
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Por cento
<	Menor
=	Igual

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 PERDAS ECONÔMICAS RELACIONADAS À HEMONCOSE	18
2.2 PATOGENESE.....	19
2.3 EFEITOS HEMATOLÓGICOS E HEMODINÂMICOS	20
2.4 ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS	23
3 MATERIAIS E MÉTODOS	27
3.1 DESENHO EXPERIMENTAL	27
3.2 TESTES COPROPARASITOLÓGICOS	27
3.3 TESTES HEMATOLÓGICOS	28
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	29
4 RESULTADOS	29
5 DISCUSSÃO	33
6 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS.....	37
ANEXO 1- ARTIGO.....	41

1 INTRODUÇÃO

Estima-se que o rebanho ovino brasileiro seja composto por mais de 18 milhões de animais. A região sul do Brasil abriga 30% do rebanho, que é destinado principalmente à produção de carne (IBGE, 2016).

A nematodíase de pequenos ruminantes é uma das principais doenças que afetam a produtividade das fazendas sob pastoreio, condição esta que causa perdas econômicas significativas tanto para a cadeia produtiva quanto para o bem-estar dos animais acometidos (GIL et al., 2024).

Vários são os nematoides que parasitam os ovinos, dentre eles pode-se citar o *Nematodirus* sp., *Trichostrongylus* sp., *Cooperia* sp., *Oesophagostomum* e o *Haemonchus contortus* sendo este, o mais comum encontrado nesta espécie, além de ser o responsável pela maior parte de perdas produtivas na ovinocultura relacionadas a parasitoses (ALAM, HASSANEN e EL-MANDRAWY, 2020).

O parasito *Haemonchus contortus* é um parasito gastrointestinal hematófago com maior prevalência em regiões tropicais e subtropicais (ABDO, TESFAYE e SHIBIRRU, 2017). Afeta ovinos de todas as idades, tornando-se uma preocupação em todas as faixas etárias (OLIVEIRA, 2017). A doença é considerada uma das principais questões sanitárias na ovinocultura, levando a perdas econômicas significativas para os produtores (SCZESNY-MORAES, 2017).

A patogênese da hemoncose ovina está relacionada ao dano causado ao abomaso pelo parasito, que utiliza uma lanceta oral para retirar sangue dos vasos sanguíneos da camada mucosa do abomaso (GONZALEZ-GADUÑO, 2014), além de causar distúrbios digestivos (HOSTE, 2016). Consequentemente, os animais afetados podem apresentar perda de peso, hipoproteinemia e anemia grave (ALAM, HASSANEN e EL-MANDRAWY, 2020).

A principal abordagem para controlar os parasitos gastrointestinais, incluindo *H. contortus*, é através de produtos químicos medicamentosos. Seu uso irracional acabou por desencadear um problema de resistência anti-helmíntica em todo o mundo (HERRERA-MANZANILLA et al., 2017; BAUDINETTE et al., 2022). Nesse sentido, diversas pesquisas utilizam a gestão integral para controle destes parasitos, tais como rotação de pastagem, seleção de animais resistentes (COLVIN et al., 2021), uso de dietas ricas em proteínas e energia (CAN-CELIS et al., 2022), controle biológico utilizando fungos nematófagos (MENDOZA-DE GIVES et al., 2022). Já foram foram

propostos estudos envolvendo extratos de plantas com alto teor de metabólitos secundários na tentativa de modular a resposta imunológica frente a hemoncosse e reduzir os efeitos deletérios causados pela infecção (JAYAWARDENE et al., 2021).

A anemia é considerada uma das alterações relativas às condições de saúde animal que refletem a perdas de produção. Nematoides gastrointestinais, incluindo o *H. contortus* são considerados uma importante causa de anemia em ovinos em todo o mundo (MONGRUEL et al., 2020).

Além do *H. contortus*, demais nematoides intestinais assim como *Cooperia sp* e *Trichostrongylus sp*, quando em infecções massivas, também podem desencadear desordens hematológicas, principalmente relacionado às anemias causadas pela hematofagia e, conseqüente, perda de produtividade e de bem-estar dos animais acometidos (CAN-CELIS et al., 2022).

A hemostasia é um processo fisiológico que visa manter o sangue em estado fluido dentro dos vasos sanguíneos, prevenindo hemorragias e trombozes (HUPP et al., 2018). Os componentes envolvidos na hemostasia incluem plaquetas, células endoteliais, vasos sanguíneos, fatores de coagulação plasmática, inibidores fisiológicos da coagulação e o sistema de fibrinólise (SILVA e HASHIMOTTO, 2006).

As alterações hemostáticas observadas em ovinos parasitados por *Haemonchus contortus* podem envolver disfunções na coagulação sanguínea, como alterações na ativação de fatores da cascata de coagulação e na função plaquetária, além do aumento do risco de hemorragias e trombozes (ALAM, HASSANEN e EL-MANDRAWY, 2020). Compreender esses mecanismos é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes, que considerem não apenas a eliminação do parasita, mas também a manutenção da integridade hemostática dos animais.

Dado que o impacto das alterações hemostáticas podem variar conforme a carga parasitária e a resposta imunológica do animal, estudos sobre esses distúrbios podem fornecer informações cruciais para melhorar o manejo clínico e a prevenção de complicações associadas à infecção por *Haemonchus contortus*, promovendo o bem-estar dos animais e a sustentabilidade da cadeia agropecuária.

Somado a isso, observa-se poucos estudos relacionadas aos distúrbios de hemostasia em ovinos parasitados por *H. contortus* na literatura, o que dificulta o entendimento do processo patológico envolvido nas falhas hemostáticas desta doença.

Tendo em vista isso, o presente estudo demonstra relevância técnico-científica para a comunidade acadêmica e para o agronegócio da cadeia ovina.

O objetivo do presente estudo é determinar as alterações de hematócrito, TP, TTPA e TCA causadas em ovinos parasitados por *Haemonchus contortus*, além de avaliar o ganho de peso de animais parasitados.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERDAS ECONÔMICAS RELACIONADAS À HEMONCOSE

A hemoncose é caracterizada por ser uma parasitose gastrointestinal crônica causada por nematoides do gênero *Haemonchus*. É uma das doenças mais prevalentes e economicamente importante, que afeta os pequenos ruminantes (GIL et al., 2014; SALGADO et al., 2019). Esses impactos são multidimensionais e envolvem tanto perdas diretas com tratamento e controle da infecção quanto perdas indiretas associadas à redução na produção animal, queda na taxa de fertilidade e aumento da mortalidade (CARVALHO et al., 2021).

Esta doença é uma das principais causas de perda de peso dos ovinos, uma vez que a infestação por *Haemonchus* reduz a capacidade do animal de absorver nutrientes, o que compromete o estado geral de saúde do ruminante (ALMEIDA et al., 2018). A anemia resultante da infecção leva à diminuição do apetite e à baixa eficiência alimentar, com consequente redução no crescimento e menor capacidade de engorda (CARVALHO et al., 2021). Animais afetados por hemoncose podem apresentar até 30% de redução no ganho de peso diário em comparação com indivíduos não infectados (WILMSEN et al., 2014).

Além disso, a produção de leite se torna reduzida devido ao estresse físico da infecção e à baixa ingestão de alimentos. A redução da produção leiteira pode variar de 20% a 50%, dependendo da intensidade da infecção, com consequentes perdas diretas aos produtores (WILMSEN et al., 2014).

A hemoncose intensifica o estresse metabólico dos animais, alterando o ciclo estral. O ciclo estral pode ser interrompido ou desregulado em fêmeas infectadas, resultando em uma diminuição da taxa de concepção e aumento do intervalo entre partos (ALMEIDA et al., 2018; CARVALHO et al., 2021), reduzindo o número de cordeiros produzidos anualmente (CARVALHO et al., 2021).

A mortalidade associada à hemoncose ocorre principalmente em casos de infecções de alta intensidade de parasitos, quando a perda sanguínea é severa e a capacidade do animal de se recuperar é comprometida (JAYAWARDENE et al., 2021). Rebanhos não tratados ou mal manejados podem apresentar taxas de mortalidade superiores a 10% em períodos críticos, representando uma perda financeira substancial, uma vez que a morte de um animal implica não apenas a perda do valor

de mercado, mas também da genética e do potencial de produção da ovelha (TORRES et al., 2016).

Além das perdas diretas associadas ao controle e à produção, a hemoncose gera uma série de perdas indiretas que comprometem a competitividade e a sustentabilidade da produção de ovinos (GIL et al., 2014). Afeta a qualidade da carne, do leite e da lã, devido ao estresse crônico e ao impacto negativo no estado nutricional do animal (CARVALHO et al., 2018).

A carne proveniente de ovinos parasitados frequentemente apresenta menor qualidade, com menor marmoreio e alterações na textura, o que resulta em um preço de mercado inferior (HERRERA-MANZILLA et al., 2014). No caso do leite, a baixa produção compromete os preços e a lucratividade dos produtores leiteiros (CARVALHO et al., 2018). Semelhante a isso, a produção de lã também sofre baixa produtividade, além da diminuição da qualidade, apresentando alterações na textura e comprimento dos fios (GIL et al., 2014).

Outro fator limitante é o comprometimento da resistência imunológica dos ovinos, tornando-os mais susceptíveis a outras doenças (JAYAWARDENE et al., 2021). Esse fenômeno implica em maiores custos com tratamentos veterinários, vacinas e prevenção, além de contribuir para o aumento das taxas de morbidade e mortalidade (SALGADO et al., 2019). A perda de resistência imunológica pode, portanto, ter efeitos em cadeia, tornando o rebanho mais vulnerável e, conseqüentemente, mais dispendioso de ser mantido (GIL et al., 2014).

2.2 PATOGENESE

O ciclo biológico do *Haemonchus contortus* inicia com a deposição de ovos nas fezes de ovinos infestados. Esses ovos eclodem no ambiente, dando origem a larvas de primeiros estágios (L1), que se desenvolvem até o estágio L3, a larva infectante. As larvas de estágio L3 são ingeridas pelos ovinos ao pastarem, e é esse estágio larval que invade o sistema digestivo do hospedeiro. As larvas, após alcançarem o abomaso, penetram na mucosa gástrica, onde se desenvolvem em adultos que começam a se alimentar de sangue (TAYLOR et al., 2007).

O parasito adulto, que pode atingir até 3 cm de comprimento, fixa-se nas mucosas do abomaso, onde se alimenta do sangue do hospedeiro (MONGRUEL et al., 2020). O processo de alimentação por parte dos nematoides adultos provoca uma

série de lesões locais nas mucosas, resultando em sangramentos e secreção de fluidos (TAYLOR et al., 2007). Esse consumo contínuo de sangue pelo parasita causa uma série de efeitos deletérios para o hospedeiro, culminando em uma resposta imunológica que pode levar a alterações clínicas (MONGRUEL et al., 2020).

As lesões provocadas pelo *H. contortus* no abomaso dos ovinos resultam em uma série de alterações morfológicas e fisiológicas (OLIVEIRA, 2017). A presença dos parasitos na mucosa gástrica provoca inflamação, necrose das células epiteliais e ulceração, provocados pelo ato da hematofagia (ABDO, TESFAYE e SHIBIRRU, 2017). A resposta inflamatória intensa aumenta a permeabilidade das mucosas, favorecendo o extravasamento de sangue e proteínas para o interior do lúmen gástrico (MONGRUEL et al., 2020). Essa perda de líquidos e proteínas contribui para a hipoproteïnemia observada nos animais afetados, resultando em um quadro clínico caracterizado por edema subcutâneo (OLIVEIRA, 2017).

Além disso, a função de secreção gástrica é prejudicada, uma vez que a mucosa do abomaso perde a capacidade de produzir enzimas digestivas e ácido gástrico adequados para a digestão de alimentos, comprometendo a digestão e a absorção de nutrientes, afetando diretamente o aproveitamento dos alimentos consumidos pelos ovinos (CARVALHO et al., 2018). Como resultado, o animal passa a exibir uma perda de peso significativa e uma diminuição na taxa de crescimento, fatores que impactam diretamente na produtividade do rebanho (ALAM, HASSANEN e EL-MANDRAWY, 2020).

2.3 EFEITOS HEMATOLÓGICOS E HEMODINÂMICOS

A infecção por *H. contortus* pode induzir uma série de alterações hematológicas, principalmente, devido à intensa perda sanguínea causada pela alimentação do parasito. A anemia, um dos principais distúrbios hematológicos decorrentes dessa infecção, caracteriza-se pela redução nos níveis de hemácias, hemoglobina e hematócrito (CASANOVA et al., 2018). Este fenômeno ocorre devido ao consumo contínuo de sangue pelo parasito, resultando em um quadro de anemia arregenerativa do tipo microcítica hipocrômica (WEISS e WARDROP, 2010). A capacidade de regeneração é limitada, especialmente em infecções severas ou crônicas e pode variar de acordo com a idade, sexo e condições ambientais dos hospedeiros (CASANOVA et al., 2018).

A perda excessiva de ferro devido a hematofagia dos parasitos, gera a diminuição dos níveis séricos de ferro, o que diminui a capacidade da medula em sintetizar tecido hematopoiético, agravando os casos de anemia e intensificando assim os sinais clínicos dos hospedeiros (SCZESNY-MORAES, 2017).

A anemia em ovinos parasitados por *H. contortus* é derivada da perda crônica de sangue devido à alimentação do parasita e da dificuldade do organismo em reter e utilizar o ferro necessário para a produção de hemoglobina, resultando em hemácias com baixa concentração de hemoglobina e com tamanho menor, caracterizando, portanto, a anemia microcítica hipocrômica (CASANOVA et al., 2018).

Além da anemia microcítica hipocrômica também pode-se observar em alguns casos a presença de anemia normocítica normocrômica associada à resposta inflamatória que compromete a utilização e disponibilidade de ferro. Nesse tipo de anemia, as hemácias mantêm o tamanho e a coloração normais, mas sua quantidade diminui devido à incapacidade do organismo de repor adequadamente as células sanguíneas perdidas, resultando em uma anemia moderada, mas não tão severa quanto a microcítica hipocrômica (HUPP et al., 2018).

Além disso, a infecção por *Haemonchus* também pode induzir um quadro de leucocitose por eosinofilia (MONGRUEI et al., 2020). A eosinofilia é uma resposta imunológica típica a infecções helmínticas, refletindo a ativação do sistema imunológico do animal na tentativa de controlar a carga parasitária. Embora a presença de eosinófilos seja uma resposta esperada, níveis excessivos podem ser indicativos de uma infecção mais grave (WEISS e WARDROP, 2010).

As lesões provocadas no trato gastrointestinal dos animais acometidos também podem induzir a leucocitose por neutrofilia, por vezes podendo também apresentar desvio à esquerda devido a infecções secundárias das lesões, ou apenas neutrofilia sem desvio decorrente da resposta inflamatória ocasionada nos tecidos lesionados (CASANOVA et al., 2018).

Outro efeito hemodinâmico significativo da hemonose é a hipoalbuminemia, decorrente da perda de albumina, que ocorre devido à perda sanguínea associada à infecção (ALMEIDA et al., 2018). A redução nos níveis de albumina resulta em uma diminuição da pressão oncótica, favorecendo o extravasamento de líquidos para os espaços intersticiais e, conseqüentemente, o desenvolvimento de edemas (WEISS e WARDROP, 2010).

A diminuição da pressão oncótica em ovinos com hemoncose está relacionada a fatores fisiopatológicos que envolvem a perda de proteínas plasmáticas e a resposta inflamatória associada à infecção parasitária (SCZESNY-MORAES, 2017). A pressão oncótica é determinada principalmente pela concentração de proteínas plasmáticas, como a albumina o fibrinogênio e as globulinas, que têm a capacidade de atrair água e manter o equilíbrio de fluídos no sistema vascular (HUPP et al., 2018). Com a ingestão de grandes volumes de sangue pelo parasito, ocorre perda crônica de sangue, que, por sua vez, resulta na diminuição das proteínas plasmáticas, especialmente da albumina (SCZESNY-MORAES, 2017).

O fibrinogênio é uma proteína plasmática crucial na hemostasia. Durante a hemostasia, o fibrinogênio se converte em fibrina, uma rede fibrosa que forma o coágulo sanguíneo (REZENDE, 2010). Esse processo ocorre após a ativação da cascata de coagulação, envolvendo os fatores de coagulação, formando e estabilizando o coágulo e cessando a hemorragia (HUPP et al., 2018).

Em casos de hemorragia, como a que ocorre na hemoncose, o fibrinogênio pode estar diminuído ou insuficiente para formar coágulos eficazes, devido a perda excessiva de sangue ocasionada pelos parasitos, resultando em sangramentos contínuos (LIMA et al., 2022).

As globulinas, em conjunto com a albumina e o fibrinogênio, são fundamentais para a manutenção da pressão osmótica, equilíbrio de fluídos e transporte de substâncias no plasma sanguíneo (PIRES et al., 2021). Na hemoncose as globulinas desempenham um papel muito importante, especialmente as gama globulinas (LIMA et al., 2022). O sistema imunológico pode ser afetado, e as alterações nos níveis de globulinas podem refletir distúrbios no processo de defesa ou na capacidade de o organismo responder a infecções secundárias (REZENDE, 2010).

Os efeitos hemodinâmicos da hemoncose estão diretamente relacionados às perdas sanguíneas e às alterações nas proteínas plasmáticas, com repercussões significativas para o sistema cardiovascular (ALMEIDA et al., 2018). A diminuição do volume sanguíneo, associada à perda de hemácias e à queda na concentração de proteínas plasmáticas, pode levar a uma hipotensão sistêmica, caracterizada por uma redução da pressão arterial (MOROWSKY et al., 2013). A queda na pressão arterial compromete a perfusão tecidual, o que pode prejudicar o funcionamento de diversos órgãos, incluindo os rins e o coração, especialmente em casos mais graves (SILVA e HASHIMOTTO, 2006).

A hipoalbuminemia também desempenha um papel crucial nos efeitos hemodinâmicos da hemoncose, pois a diminuição da albumina reduz a pressão oncótica, fator essencial para a manutenção de líquidos dentro dos vasos sanguíneos (HUPP et al., 2018). Como resultado, há um aumento da permeabilidade vascular e o extravasamento de líquidos para os tecidos, o que contribui para o desenvolvimento de edema, especialmente nas regiões submandibulares (ALAM, HASSANEN e EL-MANDRAWY, 2020).

Podendo assim, resultar em um estado de debilidade geral, com sintomas como fraqueza, letargia, e em casos mais graves, podendo levar a morte dos animais parasitados (CASANOVA et al., 2018).

2.4 ALTERAÇÕES HEMOSTÁTICAS

A hemostasia é o processo biológico responsável pela formação de coágulos sanguíneos, essenciais para a contenção de sangramentos. Este processo envolve três etapas principais: vasoconstrição, formação do tampão plaquetário e ativação da cascata de coagulação. A coagulação é mediada por uma série de fatores de coagulação, que se ativam em sequência até a formação de fibrina, responsável pela estabilidade do coágulo (REZENDE, 2010).

Em infecções parasitárias como a hemoncose, os animais podem apresentar alterações hemostáticas, que podem ser tanto qualitativas quanto quantitativas (SALGADO et al., 2019). A perda sanguínea associada à alimentação do parasita e a resposta inflamatória ao parasita afetam diretamente esses processos (HOSTE et al., 2016).

Estudos anteriores indicam que, em infecções graves por parasitas do gênero *Haemonchus*, pode ocorrer uma diminuição nos níveis de fibrinogênio, o que compromete a formação de coágulos. Além disso, a perda de proteínas plasmáticas pode levar a uma desregulação na função das plaquetas e nos sistemas anticoagulantes, aumentando o risco de sangramentos e dificultando a recuperação dos animais (COLVIN et al., 2019).

O fígado é um órgão fundamental para que a hemostasia ocorra, visto que, grande parte dos fatores de coagulação, são produzidos nos hepatócitos (TORRES et al., 2016). Ele é responsável por metabolizar diversas substâncias, além de ser o responsável pela síntetização de muitas proteínas, dentre elas os fatores de

coagulação, responsáveis pela cascata da coagulação, por isso uma adequada avaliação hepática também se torna essencial para se medir a manutenção de uma hemostasia adequada (GRESSLER et al., 2014). Segundo Hupp et al (2017), altas cargas de parasitárias gastrointestinais levam à lesões hepáticas.

A cascata da coagulação é um processo complexo envolvendo uma série de proteínas plasmáticas conhecidas como fatores de coagulação, que se ativam em uma sequência ordenada (REZENDE, 2010). Em animais infectados por *Haemonchus*, podem ocorrer alterações nos níveis desses fatores, como o fator II (protrombina), fator V, fator VII e fator X (RIZATTI e FRANCO, 2001).

A via intrínseca é ativada quando ocorre um dano nos vasos sanguíneos, liberando os fatores de coagulação presentes no sangue. O fator XII (Hageman) é o primeiro a ser ativado, levando à ativação do fator XI, que, por sua vez, ativa o fator IX. O fator IX ativado, junto com o fator VIIIa, forma o complexo tenase, que ativa o fator X, iniciando a via comum da coagulação. Essa via é fundamental para amplificar a resposta de coagulação e garantir a formação eficiente do coágulo (MOROWSKI et al., 2013).

A via extrínseca é ativada pela exposição do fator tecidual (FT), uma glicoproteína presente nas células do tecido lesado. O fator VII, que circula no sangue, se ativa ao entrar em contato com o fator tecidual, formando o complexo FT-VIIa. Esse complexo ativa diretamente o fator X, o que liga a via extrínseca à via comum. A via extrínseca é a mais rápida a ser ativada após o dano vascular, garantindo uma resposta precoce à hemorragia (HUPP et al., 2018).

A via comum é o ponto de convergência das vias intrínseca e extrínseca. O fator X ativado (Xa), em conjunto com o fator Va, forma o complexo protrombina, que converte a protrombina em trombina (IIa). A trombina é essencial para a conversão do fibrinogênio em fibrina, a proteína que forma a rede do coágulo. Essa rede estabiliza o coágulo, interrompendo o sangramento e permitindo a cicatrização do vaso sanguíneo danificado (HUPP et al., 2018).

A via extrínseca da coagulação é a principal afetada na hemoncose. Isso ocorre devido ao impacto do parasito sobre a hemostasia, especialmente pela perda crônica de sangue e a ativação da resposta inflamatória do organismo. Além disso, o parasito provoca um aumento da produção de citocinas inflamatórias, que ativam a via extrínseca da coagulação, principalmente pelo aumento da expressão do fator tecidual (GRESSLER et al., 2013).

Em infecções graves, a diminuição dos níveis de fibrinogênio e o aumento da resposta inflamatória podem afetar a ativação desses fatores de coagulação (YI et al., 2010). Como resultado, pode-se observar prolongamento dos tempos de coagulação, como o tempo de protrombina (TP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), o que indica uma deficiência na ativação dos fatores de coagulação ou um consumo excessivo desses fatores devido ao processo inflamatório ou à perda sanguínea (RIZATTI e FRANCO, 2001).

Além disso, a diminuição dos níveis de fatores de coagulação pode tornar o sistema hemostático dos ovinos mais vulnerável, dificultando a formação de coágulos estáveis em resposta a danos vasculares (YI et al., 2010).

Os anticoagulantes naturais, como a antitrombina III e as proteínas C e S, desempenham papéis críticos no controle da coagulação, evitando a formação excessiva de coágulos e assegurando que a coagulação ocorra apenas quando necessário. Em infecções por *Haemonchus*, o sistema anticoagulante também pode ser afetado de diversas maneiras (CÉRIAC et al., 2017).

A antitrombina III é uma proteína plasmática que inibe a atividade das enzimas da cascata de coagulação, principalmente as proteínas trombina e fator X (REZENDE, 2010). Durante a inflamação crônica associada à hemoncose, os níveis de antitrombina III podem ser consumidos mais rapidamente, devido ao aumento da atividade inflamatória e ao aumento da trombose local, tendo como resultado, o controle do processo de coagulação pode ser perdido, favorecendo a formação de microtrombos (MOROWSKI, 2013).

Além disso, a infecção por *Haemonchus* pode alterar também a produção e a função das proteínas S e C, favorecendo uma maior predisposição à coagulação intravascular (REZENDE, 2010). Como resultado, esses animais podem ser mais propensos ao desenvolvimento de distúrbios hemorrágicos ou microtromboses (YI et al., 2010).

As plaquetas também desempenham um papel essencial no processo de hemostasia primária, ajudando na formação do tampão plaquetário e na ativação dos fatores de coagulação (FERREIRA et al., 2010). Nos ovinos infectados por *Haemonchus*, pode-se observar alterações na quantidade e função das plaquetas (LIMA et al., 2022). Alguns animais apresentam plaquetopenia, devido à destruição plaquetária associada à perda sanguínea (CÉRIAC et al., 2017). Tal condição compromete a função hemostática, pois, além da quantidade inadequada de

plaquetas, a função de agregação e adesão das plaquetas também pode ser prejudicada devido à resposta inflamatória (LIMA et al., 2022).

As infecções por *Haemonchus contortus* em ovinos têm um impacto significativo nos fatores de coagulação, afetando tanto os fatores plasmáticos como as plaquetas e os anticorpos anticoagulantes naturais (LIMA et al., 2022).

3 MATERIAS E MÉTODOS

O estudo foi conduzido com aprovação da Comissão de Ética para Uso Animal (CEUA- IFFAR) sob protocolo nº 7843220419, tendo parecer favorável em 03 de setembro de 2019.

3.1 DESENHO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 19 ovinos cruzados Texel, com idade entre 7 e 8 meses e de ambos os sexos. Os animais foram alimentados com dieta composta por 3% do peso vivo em matéria seca, que incluía volumoso (silagem) e concentrado (ração balanceada formulada especificamente para ovinos), com água fornecida *ad libitum*.

As ovelhas passaram por um período de adaptação de 14 dias antes do início da fase experimental, que durou 4 meses. Durante esse período, os animais foram alojados em dois currais com piso ripado, divididos em dois grupos distintos:

- G1: Grupo Controle, composto por 5 ovinos, confinados por 4 meses e submetidos ao exame de fezes pela técnica de Contagem de Ovos por Grama (OPG), que foi negativo para ovos *estrongilídeos*.
- G2: Grupo Experimental, composto por 14 ovinos, também confinados há 4 meses, infectados experimentalmente por *H. contortus* e com teste positivo para ovos *estrongilídeos* na OPG.

3.2 TESTES COPROPARASITOLÓGICOS

Antes do início do experimento, todos os animais selecionados foram tratados com anti-helmíntico de amplo espectro (Monepantel 2,5%) para eliminar qualquer carga parasitária existente. Após teste fecal negativo para ovos *estrongilídeos* pela técnica de OPG e período de adaptação, foi iniciado o protocolo de infecção. Larvas infecciosas de terceiro estágio (L3) utilizadas para a infecção foram obtidas via coprocultura (Roberts e O'Sullivan, 1950). Os doadores fecais eram cordeiros com infecção parasitária de campo mista, resultando em uma cultura mista de larvas *estrongilizadas* composta por 82% de *H. contortus*, 17% de *Trichostrongylus* sp. e 1% de *Cooperia* sp. (Ueno e Gonçalves, 1998). Para a infecção experimental foi administrada por via oral uma dose de 10.000 larvas infectantes de *estrongilídeos* em

cada animal, dividida em duas aplicações de 5.000 larvas cada, sendo a primeira aplicação no dia 0 do experimento e a segunda aplicação após intervalo de 25 dias.

Determinação de Ovos por Grama de Fezes (OPG): Amostras fecais foram coletadas quinzenalmente diretamente da ampola retal para determinação do OPG pela técnica de McMaster (Gordon, 1939) - modificada para monitoramento do estado parasitológico dos grupos controle e experimental.

No primeiro e no último dia do experimento, os ovinos dos grupos Controle e Experimental foram pesados individualmente. Adicionalmente, foram realizadas avaliações semanais da coloração da mucosa ocular dos animais de ambos os grupos.

3.3 TESTES HEMATOLÓGICOS

Foram realizadas quatro coletas de sangue com intervalo de 30 dias. Após a depilação e antissepsia do local com álcool 70%, foram coletadas amostras de sangue por punção da veia jugular externa com agulha 0,70 x 25 mm e seringas descartáveis de 10 mL. O sangue coletado em tubos contendo 7,2 mg de K2 EDTA como anticoagulante foi utilizado para determinação do hematócrito e contagem de plaquetas. O sangue coletado em tubos sem anticoagulante e com gel ativador de coágulos foi utilizado para análise bioquímica sérica, enquanto o sangue coletado em tubos de citrato foi utilizado para preparação de plasma para posterior análise do perfil hemostático.

Para determinação do hematócrito, o sangue do tubo K2 EDTA foi colocado em microcapilares e centrifugado por 3 minutos a 100,62 gForce. O percentual de hematócrito foi determinado utilizando tabela padronizada para a técnica. A contagem de plaquetas foi realizada em analisador hematológico automático (Maxcel 200 Hematology Counter), com resultados corrigidos manualmente em lâminas de esfregaço de sangue.

Testes Bioquímicos e Hemostáticos: Tubos de citrato e tubos com gel ativador de coágulos foram centrifugados por 5 minutos a 69,87 gForce para facilitar a formação de coágulos ou sedimentação de componentes sanguíneos. O soro foi pipetado para microtubos Eppendorf® e as amostras foram armazenadas em freezer a -20°C até a determinação da atividade sérica da Aspartato Aminotransferase (AST) e das concentrações séricas de Albumina (ALB) e Proteína Total (PT) em analisador

automático. (Analisador Cobas® C111, Roche® Diagnostics Ltda, EUA) com Roche® Diagnostics Ltda. (EUA) kits.

O plasma obtido foi utilizado após centrifugação para os testes de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) e Tempo de Protrombina (TP), realizados em analisador bioquímico semiautomático utilizando kits comerciais (Gold Analisa® Diagnóstica Ltda, Carlos Prates, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Para o teste Tempo de Coagulação Ativada de Lee-White, um cronômetro foi acionado imediatamente após a coleta de sangue. Três mililitros de sangue foram distribuídos em três tubos de ensaio pré-aquecidos (37 °C), sendo alocado 1 mL para cada tubo. Os tubos foram recolocados no banho-maria. A coagulação no primeiro tubo foi verificada a cada 30 segundos. Assim que se formou um coágulo no primeiro tubo, o segundo tubo foi verificado e assim por diante. O tempo foi registrado após a formação completa do coágulo no terceiro tubo, que foi considerado o tempo de coagulação sanguínea.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando ANOVA para comparar as alterações pré e pós-infecção entre os grupos experimental e controle. Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

4. RESULTADOS

Os resultados obtidos nos exames relacionados à hemostasia sanguínea, incluindo Tempo de Coagulação Ativada ($p = 0,0001$) (Tabela 1), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada ($p = 0,0045$) (Tabela 2) e Tempo de Atividade de Protrombina ($p = 0,0325$) (Tabela 3), mostraram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os grupos controle e experimental quando analisados pelo teste ANOVA. Além disso, foram observadas diferenças significativas nos níveis de hematócrito ($p < 0,0001$) (Tabela 4), e na contagem de plaquetas ($p < 0,0001$).

Durante todo o experimento a coloração das mucosas permaneceu normocorada, indicando não haver repercussão sistêmica relacionada a anemia.

Tabela 1. Resultados de Tempo de Coagulação Ativada (TCA) do grupo experimental.

Nº Ovelha	1ª coleta T. coagulação	2ª coleta T. coagulação	3ª coleta T. coagulação	4ª coleta T. coagulação
1	08.02.05	05.34.22	08.35.24.	08.33.03
2	10.00.00	06.35.74	08.32.83	09.00.45
4	08.54.45	07.04.98	07.33.64	11.34.98
5	05.29.51	13.35.12	07.33.64	09.34.38
7	06.10.46	08.03.19	09.33.94	12.31.46
8	07.20.23	06.08.28	08.04.53	08.30.67
15	11.03.39	03.07.23	05.01.58	13.38.52
16	08.02.38	04.10.92	10.34.33	12.04.43
19	11.30.64	03.09.08	11.05.42	11.32.89
20	09.06.23	06.05.52	09.07.25	08.31.82
21	09.33.40	06.31.31	09.04.37	11.34.20
24	06.02.16	08.33.83	10.10.16	08.33.58
27	06.02.53	07.32.64	07.01.32	12.03.84
28	06.02.78	09.11.13	08.02.53	16.04.08

Fonte: do autor, 2025

Tabela 2. Resultados de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPA) do grupo experimental.

Nº Ovelha	1ª coleta TTPA	2ª coleta TTPA	3ª coleta TTPA	4ª coleta TTPA
1	01.09.08	00.49.36	00.47.56	00.33.10
2	00.49.17	01.02.92	00.50.31	00.34.27
4	01.15.12	00.53.98	00.47.70	01.00.15
5	01.25.78	01.45.74	00.48.19	00.33.83
7	00.39.07	02.03.60	00.46.62	00.53.82
8	00.56.63	01.03.30	00.50.75	01.08.09
15	01.08.83	00.50.42	00.47.62	00.51.92
16	00.46.80	00.59.44	00.45.26	00.48.72
19	00.58.41	01.31.51	00.57.42	00.48.72
20	02.17.70	01.35.00	00.40.84	00.49.79
21	00.38.50	01.32.74	00.47.92	01.01.26
24	01.38.47	01.04.76	00.48.16	00.32.77
27	00.56.32	01.01.79	01.09.04	01.16.27
28	01.46.76	01.01.30	00.50.40	00.48.73

Fonte: do autor, 2025

Tabela 3. Resultados de Tempo de Protrombina (TP) do grupo experimental.

Nº Ovelha	1ª coleta TP	2ª coleta TP	3ª coleta TP	4ª coleta TP
1	00.31.47	00.32.14	00.40.25	00.46.75
2	00.40.78	00.47.84	00.38.19	00.39.05
4	00.35.00	00.47.90	00.28.99	00.30.94
5	00.29.49	01.10.81	00.47.02	00.47.09
7	00.38.72	00.38.37	00.33.40	00.50.16
8	00.37.70	00.38.63	00.45.22	00.57.13
15	00.30.57	00.50.21	00.25.37	00.38.52
16	00.47.60	00.47.86	00.36.43	00.42.05
19	00.37.96	01.07.91	00.48.80	00.46.93
20	00.57.58	00.46.63	00.23.09	00.55.82
21	00.46.86	00.56.49	00.40.75	00.46.49
24	00.47.11	00.38.66	00.37.56	00.39.22
27	00.30.15	00.35.53	00.33.12	00.52.50
28	00.56.73	00.55.10	00.37.72	00.47.03

Fonte: do autor, 2025

Tabela 4. Resultados de nível de hematócrito (HCT) do grupo experimental.

Nº Ovelha	2ª coleta HCT %	3ª coleta HCT %	4ª coleta HCT%
1	32	36	32
2	39	42	31
4	35	28	30
5	35	29	21
7	40	35	33
8	30	45	25
15	45	34	34
16	33	30	25
19	38	35	31
20	40	38	25
21	29	25	26
24	38	32	39
27	35	43	42
28	40	35	33

Fonte: do autor, 2025

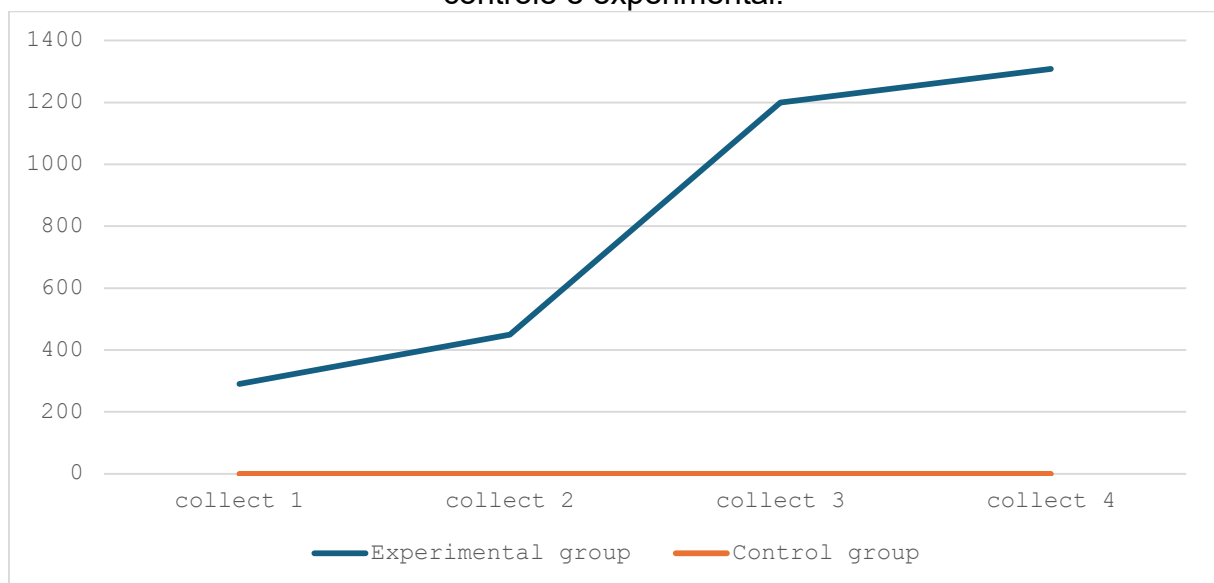
Os testes bioquímicos utilizados para avaliar possíveis lesões e função orgânica incluíram atividade sérica de aspartato aminotransferase (AST) ($p = 0,9098$) e concentrações séricas de albumina ($p = 1,0000$) e proteína total ($p = 1,0000$). Esses exames não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, sugerindo que a função hepática dos animais do grupo experimental estava

preservada, garantindo que os fatores de coagulação necessários à hemostasia sanguínea estavam sendo sintetizados.

Tanto o Grupo 1 (G1) quanto o Grupo 2 (G2) apresentaram diferenças estatisticamente significativas no ganho de peso ao longo do experimento, com base na diferença média entre os pesos inicial e final no período de 60 dias. O G2 apresentou ganho de peso médio de 6,335 kg ($p < 0,0001$), enquanto o G1 apresentou ganho médio de 9,250 kg ($p = 0,0025$), resultando em um ganho de peso 31,5% menor do grupo experimental quando comparado ao grupo controle.

Os animais do G1 permaneceram negativos para contagem de ovos por grama (OPG) durante todo o período experimental, enquanto o G2 apresentou aumento constante da OPG a partir do terceiro mês do experimento, conforme mostrado no gráfico 1.

Gráfico 1. Média mensal de contagem de ovos por grama de fezes nos grupos controle e experimental.



Fonte: do autor, 2025

5. DISCUSSÃO

O fígado é um órgão fundamental para que a hemostasia ocorra, visto que, grande parte dos fatores de coagulação, são produzidos nos hepatócitos (TORRES et al., 2016). Embora os exames laboratoriais não tenham demonstrado nenhuma alteração de função ou lesão hepática, os animais do G2 apresentaram deficiência na hemostasia, representada por aumento nos tempos de TTPA, TP e TCA. O que pode ser explicado devido a carga parasitária inoculada não ser alta o suficiente para causar lesão hepática, como demonstrado por (HUPP et al., 2017).

A hemostasia é um processo fisiológico que tem como objetivo impedir o processo hemorrágico ou a formação de trombose (REZENDE, 2010). A hemostasia primária, compreende a interação entre o endotélio vascular lesado e as plaquetas, que formam o tampão plaquetário, enquanto a hemostasia secundária, envolve uma série de reações em cascata de coagulação, cujo produto final é a fibrina, que estabiliza o tampão plaquetário (FERREIRA et al., 2010).

Foi observado uma significativa diminuição na contagem de plaquetas dos animais parasitados, demonstrando consumo plaquetário, relacionado à hemostasia primária, necessária para estabilizar o sangramento causado pelo parasito no abomaso. A plaquetopenia em animais parasitados por *H. contortus* já foi demonstrada em outros estudos (CÉRIAC et al., 2017; LIMA et al., 2022).

Existe uma redução no ADP sérica em ovinos infectados experimentalmente com *H. contortus* e há correlação desta diminuição com a dificuldade de agregação plaquetária e formação de um *plug* homeostático, o que facilita a alimentação do parasito (GRESSLER et al., 2013). Essas alterações dificultam a hemostasia sanguínea, visto que, para que ela ocorra de forma adequada é necessário que as plaquetas estejam em quantidade e qualidade adequadas (MOROWSKI et al., 2013).

Os testes de TTPA e TP, são testes de triagem, que avaliam a hemostasia sanguínea. O teste de TTPA avalia as vias intrínseca e comum da coagulação, avaliando os fatores VIII, IX, XI e XII, pré-calci-reína e cininogênio de alto peso molecular. Enquanto o TP avalia as vias extrínseca e comum da coagulação, que são os fatores VII, V, II, e X (RIZATTI & FRANCO, 2001).

Já foi identificado que o parasita *H. contortus* pode secretar uma proteína chamada calreticulina, capaz de ligar-se com o cálcio (Ca^{2+}) e proteínas de coagulação, como o fator X, agindo como um anticoagulante, o que facilita a alimentação do parasita com o sangue do hospedeiro (SUCHITRA & JOSHI, 2005).

A proteína Hc-SPI-I8A do *H. contortus* funciona como um inibidor da coagulação sanguínea pelo domínio TIL, dificultando a coagulação sanguínea extrínseca ao interagir com OaTSP1CP (Proteína contendo TSP1 de *Ovis Aries*) através do mesmo domínio (WU et al., 2021). Além disso, também há possibilidade de que o parasito interfira na via intrínseca da cascata de coagulação por mecanismos desconhecidos. O *H. contortus* pode desempenhar um papel anti-hemostático a partir da proteína serpina (YI et al., 2010).

Os dados encontrados se relacionam com a interação entre o parasita e hospedeiro, onde o *H. contortus*, junto às proteínas, possui a capacidade de interferir na cascata de coagulação, alterando o processo de hemostasia, o que pode ser observado através do prolongamento do TTPA, TP e TCA.

No presente estudo observou-se alterações de prolongamento do tempo de coagulação demonstrado através dos testes de Tempo de Coagulação Ativa ($p = 0,0001$), Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada ($p = 0.0045$) e Tempo de Atividade da Protrombina. Estando, dessa forma, possivelmente relacionado a secreção da proteína Hc-SPI-I8A (WU et al., 2021) e da proteína serpina (YI et al., 2010), agindo como anticoagulante e levando a elevação dos tempos de coagulação e inibindo o processo hemostático.

Por outro lado, o hematócrito obteve diferença estatística ao comparar o grupo controle e experimental, porém, esse parâmetro se manteve, durante todo o período experimental, dentro do considerado de referência para a espécie (24 a 50%). Já foi demonstrado que em infecções experimentais com 10.000 larvas de *H. contortus* e contagem de OPG até 2500, não são capazes de demonstrar anemia nos ovinos (HUPP et al., 2017), desta forma é possível relacionar a manutenção do hematócrito dentro da normalidade devido ao nível de infecção parasitária que os animais se encontravam.

A perda de peso de animais parasitados por *H. contortus* impacta negativamente o sistema de produção, causando graves perdas econômicas aos produtores (QAMAR et al., 2011). Quando analisado o índice zootécnico, observou-se redução no ganho de peso dos animais do grupo experimental em cerca de 31,5% em comparação aos

do grupo controle. Essa redução pode estar relacionada a forma de parasitismo do *H. contortus*, pois as lesões causadas no abomaso, além de gerarem perda sanguínea também levam a alterações digestivas e redução da absorção de nutrientes (HOSTE et al., 2016).

Embora tenha tido diferença estatística em relação ao peso, é possível notar que o grupo controle teve um ganho de peso superior ao do grupo experimental no mesmo período de tempo. Também, foi verificada a coloração da mucosa ocular dos animais uma vez na semana, sendo que estas estavam normocoradas nos dois grupos durante todo o experimento. Tal observação vai ao encontro dos valores de hematócrito também observados, que apesar da diferença estatística entre o grupo controle e o grupo experimental, se mantiveram durante todo o experimento dentro dos valores de referência pré estabelecidos para a espécie.

6. CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados deste estudo demonstram que o parasita *H. contortus* afeta os níveis de hematócrito, a contagem de plaquetas e prejudica a capacidade de atingir hemostasia sanguínea adequada em cordeiros infectados, podendo dessa forma favorecer as desordens hemostáticas e levando a quadros de hemorragias mais acentuadas em ocasiões que cursem com a perda de sangue ativa e/ou secundária. Além de causar queda no desempenho produtivo, devido a marcante diminuição no ganho de peso em cordeiros parasitados, diminuindo os ganhos produtivos e aumentando os custos de produção.

REFERÊNCIAS

- ABDO, B; TESFAYE, W; SHIBBIRU; T. Prevalence of Haemonchosis and Associated Risk Factors in Small Ruminants Slaughtered at Bishoftu ELFORA Export Abattoir, Ethiopia, **Journal of Natural Sciences Research**. v.4 , n.5 ,p. 1-9 , 2017.
- ALAM, R. T. M; HASSANEN, E. A. A; EL-MANDRAWY, S. A. M. *Haemonchus Contortus* infection in Sheep and Goats: alterations in haematological, biochemical, immunological, trace element and oxidative stress markers. **Journal of Applied Animal Research**. v. 48, p. 357-364, 2020.
- ALMEIDA, F. A. et al. Infection with gastrointestinal nematodes in lambs in different integrated crop-livestock systems (ICL). **Small Rumin Res**. v. 166, n. 7, p. 66-72, 2018.
- GIL, B. M. M. N. et al. Bioactive compounds from the parasitic plant *Arceuthobium vaginatum* inhibit *Haemonchus contortus* egg hatching. **Brazilian Journal of Veterinay Parasitology**. v. 33, n. 1, 2014.
- HERRERA-MANZANILLA, F. A, et al. Gastrointestinal nematode populations with multiple anthelmintic resistance in sheep farms from the hot humid tropics of Mexico. **Vet Parasitol Reg Stud Rep**. v. 9, n. 1, p. 29-33, 2022.
- JAYAWARDENE, K. L. T. D. et al. Natural products are a promising source for anthelmintic drug discovery. **Biomolecules**. v. 11, n. 10, 2021.
- MENDOZA-DE GIVES, P, BRAGA, R. F, ARAÚJO, J. V. Nematophagous fungi, an extraordinary tool for controlling ruminant parasitic nematodes and other biotechnological applications. **Biocontrol Sci Technol**. v. 32, n. 7, p. 777-793, 2022.
- CAN-CELIS A, et al. Effect of three feeding levels on the pathogenesis and establishment of *Haemonchus contortus* in parasite-naïve Pelibuey hair sheep lambs during their first infection. **Vet Parasitol**. v. 311, n.11, 2022.
- CARVALHO, N. et al. Performance of lambs under four levels of dietary supplementation and artificially mix-infected with *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 30, n. 1, p. 1-9, 2021.
- CASANOVA, P. V. et al., Iron supplementation for lambs experimentally infected by *Haemonchus contortus*: response to anemia and iron store in the bone marrow. **Brazilian Journal of Veterinary Reseach**. v. 38, n. 8, p. 1543-1548, 2018.
- CÉRIAC, S. et al. The nutritional status affects the complete blood count of goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **BMC Vet Res**. v. 13, p. 326, 2017.

- COLVIN A. F, et al. Benchmarking Australian sheep parasite control: changes in gastrointestinal nematode control practices reported from surveys between 2003 and 2019. **Vet Parasitol Reg Stud Rep**. v. 2, n. 26, p. 1-8, 2021.
- FERREIRA, C. N. et al. Novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v. 32, p. 416-421, 2010.
- GONZÁLEZ-GARDUÑO R., et al. Descripción morfológica de *Haemonchus contortus* y *Mecistocirrus digitatus* de ovinos y bovinos en Tabasco, México. **Avances en Ciencias Veterinarias**. v. 28, p. 1-7, 2014.
- GORDON, H. M; WHITLOCK H. V. 1939. **A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces**. Journal of the Council of Science and Industry Research in Australia.
- HOSTE H. et al. Interactions Between Nutrition and Infections With *Haemonchus contortus* and Related Gastrointestinal Nematodes in Small Ruminants. **Advances in Parasitology**. v. 93, p. 239-351, 2016.
- GRESSLER, L. T. et al. Experimental infection by *Haemonchus contortus* in lambs: influence of disease on purine levels in serum. **Veterinary Parasitology**. v. 141, p. 898–903, 2014.
- HUPP, B. N. L. et al. Alterações clínicas e laboratoriais como indicadores para o tratamento anti-helmíntico em ovinos experimentalmente infectados com *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal Brasileira**. v. 19, p. 1-10, 2018 .
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. **Pesquisa da Pecuária Municipal. Efetivos de rebanho, por tipo de rebanho**. Rio de Janeiro: IBGE; 2016
- LIMA, S. C, et al. Mortality caused by gastrointestinal nematodes in beef cattle submitted to an inadequate sanitary protocol. **Brazilian Journal of Veterinary Research**. v. 42, p. 1-7, 2022.
- MONGRUEL, A. C. B. et al. Survey of vector-borne and nematode parasites involved in the etiology of anemic syndrome in sheep from Southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 29, n. 3, p. 1-12, 2020.
- MOROWSKI M. et al. Only severe thrombocytopenia results in bleeding and defective thrombus formation in mice. **Blood**. v. 121, p. 4938-4947, 2013.

OLIVEIRA, P. A., et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 37, p. 797-801, 2017.

PIRES, C. R. S. et al. Survival of *Haemonchus contortus* larvae in forage species in the Eastern Amazon. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 56, n. 11, p. 1-9, 2021.

QAMAR, M. F. Economic losses due to haemonchosis in sheep and goats. **Sci.Int.** v. 23, p. 321-324, 2021.

REZENDE, M. S. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas **Revista Médica de Minas Gerais**. v. 20, p. 534-553, 2010.

RIZZATI, E. G; FRANCO, R. F. Investigação diagnóstica dos distúrbios hemorrágicos. Simpósio: Hemostasia e trombose. Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: Hemostasia e trombose. v. 34, p. 238-247, 2001.

ROBERTS, F. H. S, O'SULLIVAN, P. J. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal Agricultural Research**. v. 1, n1, p. 99-102, 1950.

SALGADO, J. A. et al. Implication of the fecal egg count reduction test (FECRT) in sheep for better use of available drugs. **Rev Bras Parasitol Vet.** v. 28, n. 4, p. 700-707, 2019.

SCZESNY-MORAES, E. A, et al. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.** v. 30, p. 229- 236, 2017.

SILVA, P. H; HASHIMOTTO, Y. Coagulação – visão laboratorial da hemostasia primária e secundária [Coagulation – laboratory view of primary and secondary hemostasis]. Rio de Janeiro: Reinventer, 2006.

TAYLOR, M. A. **Veterinary parasitology**. 3rd ed. Oxford: Blackwell, 2007. 874 p.

TORRES, M. M. et al. Hemostatic assessment of dogs associated with hepatic parasite load of *Leishmania infantum* chagasi. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**. v. 25, p. 244-247, 2016.

UENO, H; GONÇALVEZ, P. C. 1998. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes [Manual for diagnosing ruminant helminthiasis]**, 4 ed, Tokyo, Japan, Japan International Cooperation Agency.

WEISS, D. J.; WARDROP, J. K. 2010. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6th ed. Wiley-Blackwell, Oxford. 1232p

WILMSEN, M. O. et al. Gastrointestinal nematode infections in sheep raised in Botucatu, State of São Paulo, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet.** v. 23, n. 3, p. 348-354, 2014.

YI, D. et al. Haemonchus contortus: Cloning and characterization of serpin. **Experimental Parasitology**. v. 125, p. 363-370, 2010.

ANEXO 1 – Artigo da pesquisa

ABSTRACT

Haemonchosis remains, to this day, the principal disease encountered in global sheep farming. It is characterized by the parasitemia of sheep with the hematophagous parasite *Haemonchus contortus*. Parasite causes lesions in the gastrointestinal tract of infected animals. These lesions, along with the secretion of anticoagulant factors and proteins, facilitate the parasite's feeding through the bleeding induced at these sites. The blood loss caused by the parasite leads to anemia and excessive loss of proteins such as albumin, resulting in clinical symptoms of weight loss, increased morbidity, and reduced production efficiency, which causes significant economic losses to the industry and affects the well-being of the affected animals. Objective: This study aims to demonstrate that animals infected with *H. contortus* develop hemostatic disorders. Methods: Nineteen sheep, regardless of sex and age, were experimentally parasitized by a high parasitic load of nematodes. They were then subjected to hemostatic tests to evaluate the possible changes caused. Results: The results showed a statistically significant difference between experimentally parasitized sheep and parasite-free sheep. Tests conducted included Activated Coagulation Time ($p = 0.0001$), Activated Partial Thromboplastin Time ($p = 0.0045$), and Prothrombin Time ($p = 0.0325$), all showing statistical significance ($p < 0.05$) between the control and experimental groups when compared using ANOVA. Additionally, significant differences were observed in hematocrit values ($p < 0.0001$) and platelet counts ($p < 0.0001$). Conclusion: Infection by gastrointestinal parasites causes hemostatic changes relevant to sheep production and the well-being of affected animals.

KEYWORDS

Gastrointestinal Parasites; Hematology, Sheep, Sheep Farming

1. INTRODUCTION

The parasite *Haemonchus contortus* is a hematophagous gastrointestinal parasite with the highest prevalence in tropical and subtropical regions [1]. It affects sheep of all ages, making it a concern across all age categories [2]. It is considered one of the major sanitary issues in sheep farming, leading to significant economic losses for producers [3].

The pathogenesis of ovine haemonchosis is related to the damage caused to the abomasum by the parasite, which uses an oral lancet to draw blood from the mucosal vessels of the abomasum [4], in addition to causing digestive disturbances [5]. Consequently, affected animals may exhibit weight loss, hypoproteinemia, and severe anemia [6].

Hemostasis is a physiological process aimed at maintaining blood in a fluid state within the blood vessels, preventing both hemorrhage and thrombosis [7]. The components involved in hemostasis include platelets, endothelial cells, blood vessels, plasma coagulation factors, physiological inhibitors of coagulation, and the fibrinolysis system [8]. These factors are regulated to ensure a balanced opposition between the control of excessive blood loss and the prevention of intravascular thrombus formation, which is associated with excessive fibrin formation [7].

Given that hemorrhagic lesions and blood consumption are closely related to the pathogenesis of *H. contortus* parasitism, this study aimed to elucidate whether the parasite can induce alterations in the host's coagulation process through the analysis of the intrinsic, extrinsic, and common pathways of coagulation.

Other intestinal nematodes such as *Cooperia* sp and *Trichostrongylus* sp when in massive infections can also trigger hematological disorders, mainly related to anemia caused by hematophagy and consequent loss of productivity and well-being of the affected animals. [9].

This study aims to demonstrate that animals infected with *H. contortus* develop hemostatic disorders.

2. MATERIAL AND METHODS

Experimental design:

Nineteen Texel-cross sheep, aged between 7 and 8 months and of both sexes, were used in the study. The animals were fed a diet consisting of 3% of their live weight in dry matter, which included roughage (silage) and concentrate (balanced feed specifically formulated for sheep), with water provided *ad libitum*. To justify the sample number used in the experiment, the ANOVA test was used: Repeated measures, within-between interaction. Having resulted in a necessary sample of 18 animals.

The sheep underwent a 14-day adaptation period before the start of the experimental phase, which lasted 4 months. During this time, the animals were housed in two pens with slated flooring, divided into two distinct groups:

- G1: Control Group, consisting of 5 sheep, confined for 4 months and subjected to fecal examination using the Egg Count Per Gram (EPG) technique, which was negative for strongyle eggs.

- G2: Experimental Group, comprising 14 sheep, also confined for 4 months, experimentally infected with *H. contortus*, and testing positive for strongyle eggs in the OPG.

Copro-parasitological tests:

All selected animals were treated with a broad-spectrum anthelmintic (Monepantel 2.5%), 10 days before the experiment starts, to eliminate any existing parasitic load. No parasite eggs were detected using the Gordon and Whitlock modified technique, using hypersaturated sugar solution, and the adaptation period, the infection protocol was initiated. Infective third-stage larvae (L3) used for the infection were obtained via coproculture [9]. The fecal donors were lambs with a mixed field parasitic infection, resulting in a mixed culture of Trichostrongylidae larvae composed of 82% *H. contortus*, 17% *Trichostrongylus* sp., and 1% *Cooperia* sp. [10]. For the experimental infection, a dose of 10,000 infective strongyle larvae was administered orally to each animal [11], divided into two applications of 5,000 larvae each, with the first application on day 0 of the experiment and the second application after an interval of 25 days. The larvae used were the same in both infections, with the larvae being 15 days and 40 days after fecal culture. To determine the volume to be corrected for each technology, the culture underwent prediction evaluation through counting under optical microscopy.

Determination of Eggs Per Gram of Feces (EPG): Fecal samples were collected biweekly directly from the rectal ampulla to determine the EPG using the McMaster technique [12] - modified for monitoring the parasitological status of both the control and experimental groups. In the last collection, coproculture was performed on a pool of fecal samples from the infected group for analysis of the strongylid culture, and it was observed culture of strongyle larvae composed of 82% *H. contortus*, 17% *Trichostrongylus* sp., and 1% *Cooperia* sp.

On the first and last days of the experiment, the sheep from both the Control and Experimental groups were weighed individually. Additionally, weekly assessments of the ocular mucosa color of the animals through the *famacha* method in both groups were conducted.

Hematological test:

Four blood collections were performed at 30-day intervals. Following hair removal and site antisepsis with 70% alcohol, blood samples were collected via puncture of the external jugular vein using a 0.70 x 25 mm needle and 10 mL disposable syringes. Blood collected in tubes containing 7.2 mg of K2 EDTA as an anticoagulant was used for hematocrit determination and platelet count. Blood collected in tubes without anticoagulant and with a clot activator gel was

used for serum biochemical analysis, while blood collected in citrate tubes was used for plasma preparation for subsequent hemostatic profile analysis.

For hematocrit determination, blood from the K2 EDTA tube was placed in microcapillaries and centrifuged for 3 minutes at 100,62 gForce. The hematocrit percentage was determined using a standardized table for the technique. Platelet counts were performed using an automatic hematological analyzer (Maxcel 200 Hematology Counter), with results verified manually using the modified Fonio [13] technique, on blood smear slides under optical microscopy at 1000x magnification with immersion oil, the total number of platelets present in 1000 red blood cells was added and the result divided by 1000, thus obtaining the final value of platelets per mm³ of blood.

Biochemical and Hemostatic Tests: Citrate tubes and tubes with clot activator gel were centrifuged for 5 minutes at 69,87 gForce to facilitate clot formation or sedimentation of blood components. The serum was pipetted into Eppendorf® microtubes, and the samples were stored in a freezer at -20° C until the serum activity of Aspartate Aminotransferase (AST) and serum concentrations of Albumin (ALB) and Total Protein (TP) were determined using an automatic analyzer (Cobas® C111 Analyzer, Roche® Diagnostics Ltda, USA) with Roche® Diagnostics Ltda. (USA) kits. Other work has already been carried out using the reagent brand [14] [15] [16]. The plasma obtained was used after centrifugation for the tests of Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) and Prothrombin Time (PT), conducted on a semi-automatic biochemical analyzer using commercial kits (Gold Analisa® Diagnóstica Ltda, Carlos Prates, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil).

For the Lee-White Activated Coagulation Time test, a stopwatch was started immediately after blood collection. Three milliliters of blood were distributed into three pre-warmed test tubes (37 °C), with 1 mL allocated to each tube. The tubes were placed back into the water bath. Coagulation in the first tube was checked every 30 seconds. Once a clot formed in the first tube, the second tube was checked, and so on. The time was recorded after complete clot formation in the third tube, which was considered the blood coagulation time.

Statistical analysis:

The results of the experiment were analyzed for sample normality using the Shapiro-Wilk test and then ANOVA was used to compare the results pre- and post-infection changes between the experimental and control groups. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

3. RESULTS:

The results obtained from tests related to blood hemostasis, including Activated Clotting Time ($p = 0.0001$) (Table 1), Activated Partial Thromboplastin Time ($p = 0.0045$) (Table 2), and Prothrombin Activity Time ($p = 0.0325$) (Table 3), showed statistically significant differences ($p < 0.05$) between the control and experimental groups when analyzed using the ANOVA test. Additionally, significant differences were observed in hematocrit levels ($p < 0.0001$) and platelet count ($p < 0.0001$). Additionally, the ocular mucosa color of the animals was assessed weekly, and it was found to be normochromic in both groups throughout the experiment.

Table 1. Activated Clotting Time (ACT) results of the experimental group.

	1 ^a collect	2 ^a collect	3 ^a collect	4 ^a collect
N° Sheep	T. coagulation	T. coagulation	T. coagulation	T. coagulation
1	08.02.05	05.34.22	08.35.24.	08.33.03
2	10.00.00	06.35.74	08.32.83	09.00.45
3	08.54.45	07.04.98	07.33.64	11.34.98

4	05.29.51	13.35.12	07.33.64	09.34.38
5	06.10.46	08.03.19	09.33.94	12.31.46
6	07.20.23	06.08.28	08.04.53	08.30.67
7	11.03.39	03.07.23	05.01.58	13.38.52
8	08.02.38	04.10.92	10.34.33	12.04.43
9	11.30.64	03.09.08	11.05.42	11.32.89
10	09.06.23	06.05.52	09.07.25	08.31.82
11	09.33.40	06.31.31	09.04.37	11.34.20
12	06.02.16	08.33.83	10.10.16	08.33.58
13	06.02.53	07.32.64	07.01.32	12.03.84
14	06.02.78	09.11.13	08.02.53	16.04.08

Table 2. Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) results of the experimental group

	1 ^a collect	2 ^a collect	3 ^a collect	4 ^a collect
N° Sheep	APTT	APTT	APTT	APTT
1	01.09.08	00.49.36	00.47.56	00.33.10
2	00.49.17	01.02.92	00.50.31	00.34.27
3	01.15.12	00.53.98	00.47.70	01.00.15
4	01.25.78	01.45.74	00.48.19	00.33.83
5	00.39.07	02.03.60	00.46.62	00.53.82
6	00.56.63	01.03.30	00.50.75	01.08.09
7	01.08.83	00.50.42	00.47.62	00.51.92
8	00.46.80	00.59.44	00.45.26	00.48.72
9	00.58.41	01.31.51	00.57.42	00.48.72
10	02.17.70	01.35.00	00.40.84	00.49.79
11	00.38.50	01.32.74	00.47.92	01.01.26
12	01.38.47	01.04.76	00.48.16	00.32.77
13	00.56.32	01.01.79	01.09.04	01.16.27
14	01.46.76	01.01.30	00.50.40	00.48.73

Table 3. Prothrombin Time (PT) results of the experimental group.

	1 ^a collect	2 ^a collect	3 ^a collect	4 ^a collect
N° Sheep	PT	PT	PT	PT
1	00.31.47	00.32.14	00.40.25	00.46.75
2	00.40.78	00.47.84	00.38.19	00.39.05
3	00.35.00	00.47.90	00.28.99	00.30.94
4	00.29.49	01.10.81	00.47.02	00.47.09
5	00.38.72	00.38.37	00.33.40	00.50.16
6	00.37.70	00.38.63	00.45.22	00.57.13
7	00.30.57	00.50.21	00.25.37	00.38.52
8	00.47.60	00.47.86	00.36.43	00.42.05
9	00.37.96	01.07.91	00.48.80	00.46.93
10	00.57.58	00.46.63	00.23.09	00.55.82
11	00.46.86	00.56.49	00.40.75	00.46.49
12	00.47.11	00.38.66	00.37.56	00.39.22

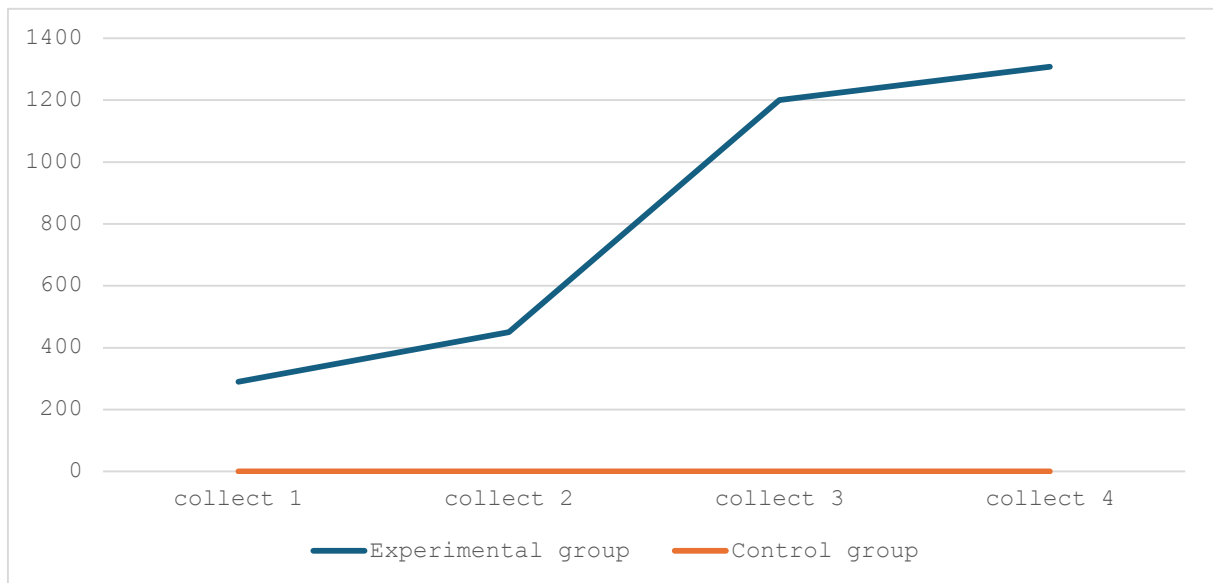
13	00.30.15	00.35.53	00.33.12	00.52.50
14	00.56.73	00.55.10	00.37.72	00.47.03

Biochemical tests used to assess potential liver damage and organ function included serum aspartate aminotransferase (AST) activity ($p = 0.9098$), and serum concentrations of albumin ($p = 1.0000$) and total protein ($p = 1.0000$). These tests did not show statistically significant differences between the groups, indicating that the liver function of the animals in the experimental group was preserved, ensuring that the coagulation factors necessary for blood hemostasis were being synthesized.

Both Group 1 (G1) and Group 2 (G2) showed statistically significant differences in weight gain over the course of the experiment, based on the mean difference between initial and final weights over the 60-day period. G2 had an average weight gain of 6.335 kg ($p < 0.0001$), while G1 showed an average gain of 9.250 kg ($p = 0.0025$).

The animals in G1 remained negative for egg per gram (EPG) counts throughout the experimental period, whereas G2 exhibited a steady increase in EPG starting from the third month of the experiment, as shown in Figure 1.

Figure 1. Monthly average of egg counts per gram of feces in the control and experimental groups.



4. DISCUSSION:

The liver is a crucial organ for hemostasis, as it is responsible for producing the majority of coagulation factors within hepatocytes [17]. Although laboratory tests did not indicate any liver dysfunction or damage, the animals in Group 2 (G2) exhibited deficiencies in hemostasis, as evidenced by increased Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Prothrombin Time (PT), and Activated Clotting Time (ACT). This can be explained by the fact that the parasitic load inoculated was not high enough to cause liver damage, as demonstrated by [18].

Hemostasis is a physiological process aimed at preventing hemorrhage or thrombosis [19]. Primary hemostasis involves the interaction between damaged vascular endothelium and platelets, leading to the formation of a platelet plug. Secondary hemostasis involves a series of coagulation cascade reactions, ultimately producing fibrin, which stabilizes the platelet plug [20].

A significant decrease in platelet counts was observed in parasitized animals, indicating platelet consumption related to primary hemostasis, which is necessary to stabilize bleeding caused by the parasite in the abomasum. Thrombocytopenia in animals parasitized by *H. contortus* has been reported in other studies [21] [22].

There is a reduction in serum adenosine diphosphate levels in sheep experimentally infected with *H. contortus*, and this decrease is correlated with impaired platelet aggregation and the formation of a hemostatic plug, which facilitates the parasite's feeding process [23]. These alterations hinder blood hemostasis, as effective hemostasis requires both an adequate quantity and quality of platelets [24].

The Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) and Prothrombin Time (PT) tests are screening assays used to evaluate blood hemostasis. The APTT test assesses the intrinsic and common coagulation pathways, including factors VIII, IX, XI, and XII, as well as prekallikrein and high-molecular-weight kininogen. On the other hand, the PT test evaluates the extrinsic and common coagulation pathways, which involve factors VII, V, II, and X [25].

It has been identified that the parasite *H. contortus* can secrete a protein called calreticulin, which is capable of binding to calcium ions (Ca^{2+}) and coagulation proteins such as factor X, thereby acting as an anticoagulant and facilitating the parasite's ability to feed on the host's blood [26].

Additionally, the *H. contortus* protein Hc-SPI-I8A functions as an inhibitor of blood coagulation through its TIL domain, hindering extrinsic blood coagulation by interacting with OaTSP1CP (a Thrombospondin Type 1 Protein Containing Domain from *Ovis aries*) through the same domain [23]. Furthermore, the parasite may also interfere with the intrinsic pathway of the coagulation cascade through unknown mechanisms. *H. contortus* may exert an anti-hemostatic effect via its serpin protein [27].

The data observed in this study suggests a significant interaction between the parasite and the host, where *H. contortus*, along with its proteins, has the ability to interfere with the coagulation cascade, thereby altering the hemostatic process. This interaction is evident through the prolonged Activated Partial Thromboplastin Time (APTT), Prothrombin Time (PT), and Clotting Time (CT).

In this study, alterations in prolonged coagulation time were demonstrated through the tests for Activated Clotting Time ($p = 0.0001$), Activated Partial Thromboplastin Time ($p = 0.0045$), and Prothrombin Time ($p = 0.0325$). These findings are consistent with the secretion of Hc-SPI-I8A [23] and serpin [26] proteins, which act as anticoagulants, leading to increased coagulation times and inhibition of the hemostatic process.

On the other hand, hematocrit levels showed a statistically significant difference when comparing the control and experimental groups. However, this parameter remained within the reference range for the species (24% to 50%) throughout the experimental period, except for one individual that exhibited a hematocrit level of 21% and an egg per gram (EPG) count of 3400 in the fourth month of the experiment. It has been demonstrated that in experimental infections with 10,000 Strongyle larvae and an EPG count up to 2500, anemia does not typically manifest in sheep [18]. In studies carried out with an EPG count of 2404, the animals presented anemia [28]. Therefore, the maintenance of hematocrit levels within the normal range can probably be attributed to the level of pathogenicity of the strains used.

Weight loss in animals parasitized by *H. contortus* has a detrimental impact on production systems, leading to significant economic losses for producers [26]. When analyzing zootechnical indices, a reduction in weight gain of approximately 31.5% was observed in the experimental group compared to the control group. This reduction in weight gain is likely related to the parasitic behavior of *H. contortus*, as the lesions caused in the abomasum not only lead to blood loss but also result in digestive alterations and reduced nutrient absorption [5].

Although there was a statistically significant difference in weight between the groups, it is evident that the control group achieved greater weight gain than the experimental group over the same period.

5. CONCLUSION

Infection with 10,000 *Trichostrongylidae* larvae was not capable of causing anemia in the parasitized animals, but showed a statistical difference between the control and experimental groups regarding hematocrit levels, reduction in weight gain, reduction in platelet count, and increase in coagulation time assessed through the prothrombin time, activated partial thromboplastin time and activated clotting time tests.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

XXXXXXXXX

7. REFERENCES:

- [1] Abdo B, Tesfaye W, Shibbiru T, 2017. Prevalence of Haemonchosis and Associated Risk Factors in Small Ruminants Slaughtered at Bishoftu ELFORA Export Abattoir, Ethiopia, *Journal of Natural Sciences Research* www.iiste.org ISSN: Online.
- [2] Oliveira PA, Ruas JL, Riet-Correa F, Coelho ACB, Santos BL, Marcolongo-Pereira C, Sallis ESV, et al. Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas [Parasitic diseases in cattle and sheep in southern Brazil: frequency and estimated economic losses]. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2017;37-797-801.
- [3] Sczesny-Moraes EA, Bianchin I, Da Silva KF, Catto JB, Honer MR, Paiva F, 2010. Resistência anti-helmíntica de nematóides gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras*. 2017;30-229- 236.
- [4] González-Garduño R, Navarro-Martínez F, Arias-Julián J, Gutiérrez-Cruz S, Zaragoza VM, Zaragoza VC. Descripción morfológica de *Haemonchus contortus* y *Mecistocirrus digitatus* de ovinos y bovinos en Tabasco, México. *Avances en Ciencias Veterinarias*. 2014;28-1-7.
- [5] Hoste H, Torres-Acosta JFJ, Quijada J, Chan-Perez I, Dakhee MM, Kommuru IDS, Terril TH. (2016). Interactions Between Nutrition and Infections With *Haemonchus contortus* and Related Gastrointestinal Nematodes in Small Ruminants. *Advances in Parasitology*. 2016;93-239-351.
- [6] Alam RTM, Hassanen EAA, El-Mandrawy SAM. *Haemonchus Contortus* infection in Sheep and Goats: alterations in haematological, biochemical, immunological, trace element and oxidative stress markers, *Journal of Applied Animal Research*. 2020;48-357-364.
- [7] Thrall MA, Alisson RW, Campbell TW. Pesquisa bibliográfica. In: Backer, Dale C. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária [Hematology and Biochemistry Veterinary Clinic]*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015;16.

- [8] Silva PH, Hashimoto Y. Coagulação – visão laboratorial da hemostasia primária e secundária [Coagulation – laboratory view of primary and secondary hemostasis]. Rio de Janeiro: Reinventer, 2006
- [9] Roberts FHS, O’ Sullivan PJ. Methods for eggs counts and larval cultures for strongyles infecting the gastrointestinal tract of cattle. Australian Journal Agricultural Research, Victoria, 19050;1-99-102.
- [10] Ueno H, Gonçalves PC. 1998. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes [Manual for diagnosing ruminant helminthiasis], 4 ed, Tokyo, Japan, Japan International Cooperation Agency.
- [11] Fausto GC, Pivoto FL, Costa MM, Lopes STA, França RT, Molento MB, Minervino AHH, Rocha JBT, Leal MLR. Protein profile of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and supplemented with selenium and copper. Parasites e vectrors. 2014;7-1-6.
- [12] Gordon HM, Whitlock HV. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. Journal of the Council of Science and Industry Research in Australia.
- [13] Fonio A. Ueber ein neues verfahren der Blutplättchenzahlung. Deut Ztschr Chir. 1912;117:176.
- [14] Saturnino, KC., Mariani, TM., Barbosa-Fereira, M., Brum, KB., Fernandes, CES., Lemos, RAA. Intoxicação experimental por *Brachiaria decumbens* emovinos confinados. Pesq. Vet. Bras. 2010;30-195-202.
- [15] Lima, FEO., Goes, RHTB., Gandra, JR., Penha, DS., Oliveira, RT., Gressler, MGM., Silva, TIS., Silva, NG. Inclusion of copaiba oil (*Copaifera* sp) as additive in supplements for cattle on pasture. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. 2018;19-178-192.
- [16] Santos, DSS., Klauck, V., Campignoto G., Alba, DF., Reis, JH., Gebert, RR., Souza, CF., Baldissera, MD., Schogor, ALB., Santos, ID., Wagner, R., Vedovatto, M., Silva, AS. Benefits of the açai oil in the sheeps in heat stress on health and milk production and quality. Journal of Thermal Biology. 2019;84-250-258.
- [17] Torres MM, Almeida ABPF, Paula DAJ, Mendonça AJ, Nakarazo L, Pescador CA, Souza VRF. Hemostatic assessment of dogs associated with hepatic parasite load of *Leishmania infantum* chagasi. Brazilian Journal Veterinary Parasitology. 2016;25-244-247.
- [18] Hupp BNL, Novaes MT, Martins MSS, Hupp AC, Trivilin LO, Martins IVF. Alterações clínicas e laboratoriais como indicadores para o tratamento anti-helmíntico em ovinos experimentalmente infectados com *Haemonchus contortus* [Clinical and laboratory changes as indicators for anthelmintic treatment in sheep experimentally infected with *Haemonchus contortus*]. Ciência Animal Brasileira. 2018;19-1-10.
- [19] Rezende MS. Distúrbios da hemostasia: doenças hemorrágicas [Hemostasis disorders: hemorrhagic diseases]. Revista Médica de Minas Gerais. 2010;20-534-553.

- [20] Ferreira CN, Sousa MO, Dusse LMS, Carvalho MGO. Novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações [New model of the coagulation cascade based on cell surfaces and its implications]. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 2010;32-416-421.
- [21] Cériac S, Jayles C, Arquet R, Feuillet D, Félicité Y, Archimède H, Bambou JC. The nutritional status affects the complete blood count of goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. *BMC Vet Res*. 2017;13-326
- [22] Lima SC, et al. Mortality caused by gastrointestinal nematodes in beef cattle submitted to an inadequate sanitary protocol. *Brazilian Journal of Veterinary Research* 2022;42-1-7.
- [23] Gressler LT, Silva AS, Oliveira CB, et al. Experimental infection by *Haemonchus contortus* in lambs: influence of disease on purine levels in serum. *Parasitology* 2014;141-898 – 903.
- [24] Morowski M, Vögtle T, Kraft PC. et al. Only severe thrombocytopenia results in bleeding and defective thrombus formation in mice. *Blood*. 2013;121-4938-4947.
- [25] Rizzati EG, Franco RF. Investigação diagnóstica dos distúrbios hemorrágicos. Simpósio: Hemostasia e trombose [Diagnostic investigation of bleeding disorders. Symposium: Hemostasis and thrombosis]. *Medicina, Ribeirão Preto, Simpósio: Hemostasia e trombose*. 2001;34-238-247.
- [26] Qamar, MF., Maqbool, A., Ahmad, N. 2021. Economic losses due to haemonchosis in sheep and goats. *Sci.Int. (Lahore)* 23, 321-324. ISSN 1013-5316;
- [27] Yi, D., Xu, L., Yan, R. et al., 2010. *Haemonchus contortus*: Cloning and characterization of serpin. *Experimental Parasitology* 125, 363-370.
- [28] Silva, AS., Schaefer, AS., Aires, AR., Tonin, AA., Pimentel, VC., Oliveira, CB., Zanini, D., Schetinger, MRC., Lopes, STA., Leal, MLR. E-ADA activity in erythrocytes of lambs experimentally infected with *Haemonchus contortus* and its possible functional correlations with anemia. *Research Veterinary Science*. 2013; 95-1026-1030.

Página de assinaturas



Ana Torres
022.565.180-78
Signatário



Lygia Giancotti
327.438.448-84
Signatário

HISTÓRICO

- | 28 mar 2025 | | Junior César Ferron | criou este documento. (Email: junior.ferron@atitus.edu.br, CPF: 036.204.480-51) |
|-------------|---|---------------------------------|--|
| 08:12:07 |  | | |
| 28 mar 2025 | | Lygia Maria Malvestio Giancotti | (Email: lygia.malvestio@atitus.edu.br, CPF: 327.438.448-84) visualizou este documento por meio do IP 191.5.147.207 localizado em Santo Ângelo - Rio Grande do Sul - Brazil |
| 10:05:59 |  | | |
| 28 mar 2025 | | Lygia Maria Malvestio Giancotti | (Email: lygia.malvestio@atitus.edu.br, CPF: 327.438.448-84) assinou este documento por meio do IP 191.5.147.207 localizado em Santo Ângelo - Rio Grande do Sul - Brazil |
| 10:06:11 |  | | |
| 28 mar 2025 | | Ana Caroline Doyle Torres | (Email: ana.torres@atitus.edu.br, CPF: 022.565.180-78) visualizou este documento por meio do IP 179.68.0.130 localizado em Porto Alegre - Rio Grande do Sul - Brazil |
| 08:57:27 |  | | |
| 28 mar 2025 | | Ana Caroline Doyle Torres | (Email: ana.torres@atitus.edu.br, CPF: 022.565.180-78) assinou este documento por meio do IP 179.68.0.130 localizado em Porto Alegre - Rio Grande do Sul - Brazil |
| 08:57:40 |  | | |

