BC92 28412
INIS-BR--2893

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESTUDO DA FISIOPATOLOGIA DO *Haemonchus contortus* (Rudolph, 1803) EM BEZERROS ATRAVÉS DE RADIOTRAÇADORES

SOLANGE MARIA GENNARI

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Tecnologia Nuclear.

Orientador: Dr. José Roberto Rogero

SÃO PAULO

1989

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES

AUTARQUIA ASSOCIADA À UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESTUDO DA FISIOPATOLOGIA DO *Haemonchus contortus* (Rudolph, 1803) EM BEZERROS ATRAVÉS DE RADIOTRAÇADORES

SOLANGE MARIA GENNARI

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do Grau de Doutor em Tecnologia Nuclear.

Orientador: Dr. José Roberto Rogero

SÃO PAULO
1989

IPEN
LIVRO
Nº 19004
BIBLIOTECA

Você é levado
em sua vida
pela criatura viva interior,
o ser espiritual brincalhão
que é o seu ser verdadeiro.

Não dê as costas
a possíveis futuros
antes de ter certeza de que não tem
nada a aprender com eles.

Você está sempre livre
para mudar de idéia e
escolher um futuro, ou
um passado
diferente.

"ILUSÕES"
RICHARD BACH

A meus pais,

OLÍVIA e ARLINDO

pela grande capacidade

de amor e doação.

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP - IPEN

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, e em especial às seguintes pessoas e instituições:

Ao Dr. JOSÉ ROBERTO ROGERO pela orientação, apoio e amizade;

À Profª Drª MARIA CECÍLIA REALE VIEIRA BRESSAN pela amizade, incentivo e colaboração;

Ao Prof. Dr. JAMES L. DUNCAN, do Departamento de Parasitologia e ao Dr. JOHN M. MacLEAN, do Departamento de Fisiologia da Escola de Veterinária da Universidade de Glasgow-Escócia, pela valiosa colaboração no ensino das técnicas radioisotópicas empregadas;

Ao Prof. Dr. OSWALDO UBRÍACO LOPES, Diretor do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e ao Dr. CLÁUDIO RODRIGUES, Superintendente do IPEN, pelas facilidades oferecidas para a realização deste trabalho;

Ao Prof. Dr. ERNEY PLESSMANN DE CAMARGO, Chefe do Departamento de Parasitologia do ICB/USP, pelo apoio;

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP - IPEN

Aos pesquisadores do IPEN, MARYCEL FIGOLS DE BARBOZA e CARLOS HENRIQUE DE MESQUITA pela cooperação e auxílio na contagem da radioatividade das amostras;

Ao Sr. ANTONIO SOARES DE GOUVEA e à Srtª MARIA DO CARMO COSTA FALCÃO pelo auxílio nas análises estatísticas e uso do computador;

Ao Sr. CASSIANO PEREIRA NUNES pela ilustração dos gráficos;

Aos técnicos MÁRCIO DOS SANTOS e ANTONIO DA SILVA SOARES pelo auxílio na criação e manejo dos animais experimentais;

Aos técnicos e amigos do Departamento de Aplicações em Ciências Biológicas do IPEN e do Departamento de Parasitologia do ICB-USP pela amizade e cooperação sempre presentes;

Aos Srs. ANIBAL ÁVILA, JOÃO DE DEUS PINTO MONTEIRO FILHO, JOSÉ GOMES VIEIRA FILHO, PAULO JOSÉ REALE VIEIRA e VITORINO CASSIANO pela doação dos animais utilizados neste experimento;

À PREFEITURA DA CIDADE UNIVERSITÁRIA "ARMANDO DE SALLES OLIVEIRA" - USP, pela gentileza na construção das gaio-

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP - IPEN

las metabólicas e baias para manutenção dos animais experimentais, e

Ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO (CNPq) pelo apoio financeiro.

INDICE

Pág.

RESUMO

SUMMARY

1. INTRODUÇÃO 1

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 6

3. MATERIAL E MÉTODOS 23

3.1 - Local 23

3.2 - Delineamento experimental 24

3.3 - Animais 24

3.4 - Métodos parasitológicos 25

3.4.1 - Parasitos 25

3.4.2 - Infestação dos doadores 26

3.4.3 - Infestação experimental 27

3.4.4 - Necrópsia e recuperação dos vermes 27

3.5 - Preparo dos animais 28

3.6 - Métodos radioisotópicos 29

3.6.1 - Marcação da albumina com ^{125}I 29

3.6.2 - Marcação dos eritrócitos com ^{51}Cr 30

3.6.3 - Marcação da transferrina com ^{59}Fe 31

3.7 - Preparo das injeções dos marcados 33

3.8 - Injeção dos radioisótopos 34

3.9 - Colheita e amostragem de sangue 34

3.10 - Colheita e amostragem de fezes e urina 35

3.11 - Contagem da radioatividade nas amostras 36

3.12 - Cáculos referentes à marcação do ^{125}I - Albumina 37

3.12.1 - Radioatividade total injetada (RTI) 37

Pag.

3.12.2 - Construção das curvas de atividade plasmática (Qp), atividade retida (Qr) e atividade extravascular (Qe) 38
3.12.3 - Volume plasmático 40
3.12.4 - Pools de albumina intravascular (IA), extravavascular (EA) e albumine total (TA) 40
3.12.5 Catabolismo de albumina F (JA) 41
3.12.6 Clearance ou depuração das células vermelhas via fezes e urina 42
3.12.7 - Meia vida- do ^{125}I - albumina 42
3.13 - Cálculos referentes a marcação dos eritrócitos - ^{51}Cr 43
3.13.1 - Volume de células vermelhas (Vc) 43
3.13.2 - Volume de sangue (Vs) 44
3.13.3 - Meia-vida aparente (t1/2) do ^{51}Cr-células vermelhas 44
3.13.4 - Clearance das células vermelhas via fezes e urina 44
3.14 - Cálculos referentes à marcação da transferrina - ^{59}Fe 45
3.14.1 - Meia-vida da transferrina - ^{59}Fe (T1/2) 45
3.14.2 - Renovação do ferro plasmático (PIT) 45
3.14.3 - Porcentagem de utilização do ^{59}Fe pelas células vermelhas 46
3.14.4 - Clearance das células vermelhas pelas fezes 46
3.15 - Análise estatística 47

Pag.

4. RESULTADOS 50

4.1 - Observações clínicas 50

4.2 - Dados parasitológicos 51

4.2.1 - Exame de fezes 51

4.2.2 - Necrópsia 51

4.3 - Bioquímica do sangue e hematócrito 52

4.4 - Metabolismo da albumina 53

4.5 - Cinética das células vermelhas 54

4.6 - Cinética do ferro 55

5. DISCUSSÃO 68

6. CONCLUSÃO 77

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 78

APÊNDICE

COMISSÃO NACIONAL DE ENERGIA NUCLEAR/SP - IP

LISTA DE FIGURAS

Pag.

Figura 1 - Gaiola metabólica utilizada durante o período de injeção dos radioisótopos e colheita das amostras (vista anterior e vista posterior) 48

Figura 2 - Sistema utilizado para injeção dos radioisótopos 49

Figura 3 - Abomaso dos animais infestados, números 3 e 4, 45 dias após ministração das larvas infestantes do H. contortus (500 L_3/kg)..... 57

Figura 4 - Abomaso dos animais infestados, números 7 e 8, 45 dias após ministração das larvas infestantes do H. contortus (500 L_3/kg) 58

Figura 5 - Valores diários do hematócrito (%) dos bezerros dos grupos infestado e controle, desde a aplicação dos radioisótopos até o final do experimento (M ± desvio padrão) 63

Figura 6 - Curva de utilização do ^{59}Fe pela medula óssea, mostrando o aparecimento de novas células vermelhas na circulação, desde a aplicação dos radioisótopos até o final do experimento nos bezerros dos grupos infestado e controle (valores médios) 67

LISTA DE TABELAS

Pag.

1. Peso na infestação, abate e ganho de peso dos bezerros dos grupos infestado e controle (M ± SE) 59

2. Dose infestante, número de H. **contortus** e porcentagem de vermes recuperados do abomaso dos bezerros infestados (M ± SE)..... 60

3. Valores de proteína total (g/100 ml), albumina sérica (g/100 ml) e ferro sérico (µg/100 ml) dos animais dos grupos infestado e controle (M ± SE)..... 61

4. Valores do hematócrito dos animais dos grupos infestado e controle desde a injeção dos radioisótopos até o final do experimento. (Média ± desvio padrão) 62

5. Estudo do metabolismo da albumina em bezerros infestados com H. **contortus** (500 L_3/kg) e controles 64

6. Estudo da cinética das células vermelhas em bezerros infestados com H. **contortus** (500 L_3/kg) e controles (M ± SE)..... 65

7. Estudo da cinética do ferro em bezerros infestados com H. **contortus** (500 L_3/kg) e controles 66

ESTUDO DA FISIOPATOLOGIA DO **Haemonchus contortus** (RUDOLPH. 1803) EM BEZERROS ATRAVÉS DE RADIOTRAÇADORES

SOLANGE MARIA GENNARI

RESUMO

Bezerros machos, da raça Holandesa Preta e Branca, com idade variando entre 3 a 5 meses foram utilizados no estudo da fisiopatologia do **Haemonchus contortus**. Para tanto, oito animais foram divididos em dois grupos de quatro animais cada, baseados em seus pesos e idades. Os bezerros de um dos grupos receberam 500 larvas infestantes de **H. contortus** por quilograma de peso, via oral, e os demais permaceram como controles sadios. Cinco semanas após a infestação, na fase de patência, a albumina marcada com ^{125}I, os eritrócitos com o ^{51}Cr e a transferrina plasmática com o ^{59}Fe foram injetados em todos os animais permitindo observações do metabolismo da albumina e da cinética dos eritrócitos e do ferro nos bezerros infestados e controles.

Os resultados mostraram uma queda nos valores de hematócrito e uma tendência de menor ganho de peso nos animais parasitados. O metabolismo da albumina e a eritropoese apresentaram-se alterados nos bezerros com haemoncose. A relação entre os **pools** de albumina extra e intravascular mostrou-se diminuída e o volume plasmático aumentado com consequente aumento do volume de sangue nos animais parasitados. Nesses animais também foi evidenciado um aumento do **turnover** do ferro plasmático e da porcentagem de utilização desse elemento pela medula óssea. As perdas de albumina e de células vermelhas pelo trato gastrintestinal nos animais parasitados não mostraram diferenças significantes em relação aos controles sadios.

STUDIES ON THE PATHOPHYSIOLOGY OF **Haemonchus contortus** (RUDOLPH, 1803) INFECTION IN CALVES WITH THE USE OF RADIOISOTOPES

SOLANGE MARIA GENNARI

SUMMARY

This study was conduced to investigate the pathophysiology of **Haemonchus contortus** infection in friesian calves.

The animals were divided in two groups of four calves each. One group was infected, orally, with 500 **Haemonchus contortus** larvae per kg bodyweight and the other one as the worm-free control. Five weeks after infection they were all housed in metabolic crates and injected with ^{125}I-bovine albumin, ^{51}Cr-red cell and ^{59}Fe-transferrin to study the albumin metabolism, the erythokinetic and ferrokinetic.

The results showed that there was a significant reduction in the mean haematocrit values and an evidence of lower weigh gains over the period of experiment in the infected calves compared with the controls. There was also a change in the distribution of albumin from the extravascular to the intravascular pool and a significant increase in the plasma and blood volumes of infected calves. The study of ferrokinetic showed an increase in the iron turnover and in the rate of iron utilization in the infected group. The blood and albumin loss by the gastrointestinal tract were similar in both groups.

1. INTRODUÇÃO

As doenças parasitárias são uma das maiores causas de perdas econômicas em ruminantes em todo o mundo, tendo as parasitoses gastrintestinais um lugar de destaque entre elas. As infestações por nematóides afetam a produtividade com perda de peso, alterações na composição das carcaças, que geralmente vem acompanhada por aumento do conteúdo hídrico e diminuição dos sólidos, ocorrendo também uma ação indireta sobre a produção de leite e reprodução, e muitas vezes levando à morte.

O grau de distúrbio fisiológico e o nível de diminuição da produtividade são determinados pela

espécie e carga parasitária além da idade, estado nutricional e imune do hospedeiro. Esses efeitos são mais claramente observados em casos clínicos, porém mesmo em infestações "sub-clínicas" importantes alterações fisiopatológicas ocorrem nos animais parasitados.

Dentre os nematóides de grande importância por sua patogenicidade e alta prevalência em ruminantes domésticos, encontra-se o **Haemonchus contortus**. Este parasito está presente em várias partes do mundo, porém destaca-se em regiões de clima tropical e sub-tropical e ALLONBY & DARGIE (1973) referiram-se a ele como o maior responsável por perdas na produção de carne e lã nessas regiões.

Cada **H. contortus** retira 0,05 ml de sangue por dia de seu hospedeiro. Segundo ALLONBY & DARGIE (1973) este valor torna-se representativo quando em um ovino, que contém um e meio a dois litros de sangue, encontram-se 2.000 vermes, infestação esta bastante comum a nível de campo. Nesses casos cada animal está perdendo 100 ml de sangue, por dia, através do abomaso juntamente com proteínas e minerais.

Sabe-se também que o parasito necessita sugar sangue para produzir ovos e aproximadamente 100.000 ovos são produzidos por ml de sangue consumido. Assumindo que desses 100.000 ovos 20.000 completem seu desenvolvimento até larva infestante e 6.000 atinjam a maturidade

quando ingeridos, tem-se que, em apenas um mês, uma perda inicial de 1 ml de sangue pode ser ampliada para 300 ml e contaminar a pastagem com aproximadamente 30 milhões de ovos por dia. Estes valores explicam o porque do aparecimento de infestações severas e mortes por haemoncose em um pequeno espaço de tempo, quando as condições ambientais tornam-se favoráveis ao parasito.

No Brasil, estudos sobre epidemiologia parasitária dos bovinos nas diferentes regiões ecológicas do país, vem sendo realizados. Nesses estudos os gêneros **Cooperia** sp e **Haemonchus** sp aparecem respectivamente como os de mais alta prevalência, variando de acordo com os fatores ambientais de cada local estudado, porém sempre presentes durante todo o ano. O **Haemonchus** sp corresponde a aproximadamente 20% dos nematóides encontrados, estando em maior quantidade nos animais jovens, a partir do 5º mês de idade e apresentando um nítido declíneo em torno dos 15 meses de idade.

Métodos utilizando radioisótopos têm sido amplamente empregados em estudos de fisiopatologia de doenças parasitárias devido a velocidade de determinação, simplicidade e precisão das técnicas, e vem elucidando de modo dinâmico o mecanismo de resposta do hospedeiro às agreções pelos parasitos.

Com a utilização de radioisótopos estudos sobre a fisiopatologia da **Cooperia oncophora** (ARMOUR

et alii, 1987) e **Oesophagostomum radiatum** (BREMNER, 1969a,b) foram realizados em bovinos e sobre **Ostertagia ostertagi** (HOLMES & MacLEAN, 1971), **Trichostrongylus colubriformis** (BARKER, 1973), **Fasciola hepatica** (HOLMES et alii, 1968) e **Haemonchus contortus** (ALLONBY & DARGIE, 1973) em ovinos. Nesses trabalhos os mecanismos das alterações ocorridas nos hospedeiros parasitados foram melhor conhecidos, principalmente os relativos às perdas de proteínas plasmáticas e anemias que estão presentes na maioria das helmintoses gastrintestinais.

Essas técnicas baseiam-se na medida dos fluidos corpóreos e são normalmente obtidas pelo "princípio de diluição". Esses são métodos indiretos onde quantidades conhecidas de alguma substância marcada são adicionadas ao compartimento em estudo. Após a substância ter se equilibrado no organismo, amostras são removidas para determinação da concentração do marcado. Conhecendo-se a quantidade total do marcado injetado no compartimento e sua concentração após homogeneização, o volume ao qual o marcado foi adicionado é facilmente determinado.

BREMNER (1982) em revisão sobre o tema "Fisiopatologia das gastrenterites parasitárias em bovinos" mostrou-se surpreso por encontrar somente alguns poucos estudos relacionados com haemoncose bovina e utilizou resultados obtidos com estudos em ovinos para completar a revisão.

Apesar da conhecida importância desse parasito em rebanhos bovinos, aspectos relacionados às alterações nas funções do hospedeiro são ainda desconhecidos.

O presente trabalho teve por finalidade estudar a fisiopatologia do **Haemonchus contortus** em bezerros, utilizando métodos radioisotópicos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O **Haemonchus contortus** (Rudolphi, 1803) é um nematóide pertencente à família Trichostrongylidae que parasita o abomaso de bovinos, ovinos, caprinos e vários ruminantes silvestres. O ciclo evolutivo é direto, as fêmeas produzem ovos em grande quantidade, estes eclodem e liberam as larvas de primeiro estágio (L_1), que nas pastagens desenvolvem-se para L_2 e L_3, forma infestante, em 5 a 7 dias com temperatura e umidade ideais, porém podem levar semanas ou até meses sob baixas temperaturas. Após ingeridas as L_3 realizam a primeira muda já no rúmem, e no abomaso mais duas ecdises próximas às glândulas gástricas. Antes da última muda, elas de

senvolvem uma lanceta perfurante na cavidade bucal, que vai permitir à larva e mais tarde ao adulto a obtenção de sangue dos vasos da mucosa do abomaso. Após tornarem-se adultos os parasitos movem-se livremente pela superfície da mucosa. A fase de pré-patência, em bovinos, é de aproximadamente quatro semanas (URQUHART et alii, 1987).

Em 1954, ROBERTS et alii, na Austrália, trabalhando com **H. contortus** de origem bovina e ovina concluíram, baseados em estudos de morfologia, que os espécimes provenientes de bovinos e ovinos representavam espécies diferentes e propuseram que o **H. contortus** fosse mantido para as formas encontradas nos ovinos e **H. placei** para as provenientes de bovinos. Em 1979, GIBBONS estudou formas de **H. contortus** de vários hospedeiros silvestres e domésticos, admitindo que o **H. contortus** e o **H. placei** são espécies sinônimas.

MIRANDA (1981) realizou estudos com espécimes provenientes de várias regiões do Brasil e observou que, em bovinos, os helmintos apresentam diferenças biométricas para com o material de origem ovina e caprina porém estas foram insuficientes para se estabelecer identidade com a espécie **H. placei** a qual não foi observada em nenhuma amostra, e o material de origem bovina, não foi morfologicamente diferenciado.

A alteração no peso corpóreo de animais parasitados é um dos critérios mais utilizados na avalia

ção dos danos causados pelos parasitos sobre os hospedeiros. Porém, sob condições de campo, uma grande variação nos níveis proteicos das pastagens, e por consequinte nos animais, ocorre durante as diferentes épocas do ano. Períodos de níveis proteicos baixos causam impáctos maiores sobre o metabolismo e produtividade, principalmente em animais parasitados.

Fraser & Robertson e Whitlock (In: ABBOTT et alii, 1985a) e GIBSON (1963) foram os primeiros a observar efeitos da nutrição sobre a patogenia do **H. contortus**. PRESTON & ALLONBY (1978) também realizaram experimentos nesse sentido, porém todos com controles inadequados e observaram somente alguns aspéctos clínicos tais como peso corpóreo, hematócrito e contagem de ovos nas fezes.

Em 1979, BARONI no Brasil e ABBOTT et alii (1985a, 1986a e 1988) na Escócia estudaram mais amplamente a correlação entre nutrição e patogenia, em ovinos sob diferentes planos nutricionais e níveis de infestação por **H. contortus**. Concluíram que o nível proteico da ração não influencia no estabelecimento de uma maior ou menor quantidade de vermes, porém o grau de patogenicidade observado através de sinais clínicos como perdas de peso, anemia e inapetência, tornou-se mais evidente nos animais mal nutridos, apesar de perdas de sangue pelo trato gastrintestinal terem ocorrido igualmente nos

animais sob diferentes níveis proteicos. Observaram também que cordeiros alimentados com rações contendo níveis proteicos normais quando submetidos a repetidas doses de infestação, desenvolveram resistência mais rapidamente do que os animais com dietas pobres em proteínas.

SILVERMAN et alii (1970) e ALLONBY & DARGIE (1973) estudaram haemoncose ovina utilizando animais controles que recebiam quantidade de alimento igual à consumida diariamente por seus pares infestados **(pair-feeding)** e controles sadios, alimentados com ração **ad libitum**. Concluiram que a parasitose causa diminuição de apetite com redução na ingestão de alimentos, e que esta redução por si só é responsável por perdas significativas e provavelmente seja o fator que mais contribua para a queda na produção e peso.

Em algumas parasitoses bovinas por tricostrongilídeos já são conhecidas as variações na composição corpórea dos animais parasitados. HALLIDAY et alii (1965) constataram que a porcentagem de água estava aumentada em bovinos com ostertagiose. ENTROCASSO et alii (1986) com infestação mista e ABBOTT et alii (1988) em haemoncose ovina, observaram que a deposição de gorduras e tecido muscular estavam diminuídas nos animais parasitados. ROWE et alii (1988) também com haemoncose ovina demonstraram que a retenção e ingestão de água estavam aumentados nos animais parasitados. VIEIRA BRESSAN et

alii (no prelo) com infestação moderada por H. contortus em bovinos jovens não observaram aumento da água corpórea nos animais infestados, porém a distribuição desta mostrou-se alterada.

Esses trabalhos ressaltam um importante aspécto nos estudos de fisiopatologia das parasitoses, onde, devido as alterações na composição das carcaças e da retenção hídrica, geralmente presentes nesses animais, a análise de peso corpóreo isoladamente pode estar superestimando os ganhos, uma vez que peso corpóreo é constituído basicamente por sólidos e água.

Estudos de balanço de nitrogênio foram feitos simultaneamente à infestação por parasitos e demonstraram que nas helmintoses de modo geral, ocorre redução na retenção de nitrogênio corpóreo, que normalmente aparece associada a um aumento das perdas deste pela urina (PARKINS et alii, 1973; HOLMES, 1987).

Métodos para quantificar perdas proteicas por células epiteliais descamadas e muco não são, ainda, disponíveis, porém pouca dúvida existe da ocorrência dessas perdas em várias parasitoses. ROWE et alii (1982) através da incorporação de ^{3}H-timidina, observaram um aumento na taxa de renovação das células da parede do abomaso em ovinos com haemoncose aguda. No mesmo estudo, mostraram que a proteína sangüínea perdida no abomaso pela ação espoliativa do parasito, pode ser reabsorvida

pelo intestino delgado, mesmo em infestações graves, de modo que as perdas associadas com hemoncose ocorrem principalmente pela redução na ingestão de alimentos e aumento na utilização de energia para regeneração de tecidos e sangue.

SYMONS e colaboradores, na Austrália, realizaram uma série de trabalhos sobre síntese de proteínas séricas utilizando L-^{14}C-leucina e L-^{14}C-tirosina em animais parasitados (SYMONS et alii, 1974; SYMONS & JONES, 1978). Observaram que a síntese proteica estava reduzida nos músculos esqueléticos de ovinos infestados com T. colubriformis porém a síntese pelo fígado encontrava-se aumentada nos mesmos animais. Mais tarde, em 1983, SYMONS & JONES mediram a síntese proteica nos tecidos do trato gast-intestinal em cobaios infestados por T. colubriformis e constataram um aumento na síntese proteica tanto no intestino delgado como no grosso.

Devido a esses estudos, SYMONS (1985) em revisão sobre o tema, concliu que a inapatência, perdas de proteína pelo trato gastrintestinal e aumento do metabolismo proteico nos tecidos do trato digestivo favorecem uma transferência do nitrogênio proteico dos músculos e pele para o fígado e trato gastrintestinal diminuindo a disponibilidade das proteínas para o crescimento e produção. Certamente esses mecanismos descritos por SYMONS, não são exclusivos do T. colubriformis e

ocorrem na maioria das parasitoses gastrintestinais, inclusive na haemoncose.

KUTLER & MARBLE (1960) com infestação mista por trichostrongilídeos a níveis clínico e moderado, em ovinos, observaram uma variação significativa nos teores de proteína sérica e nas frações proteicas do soro dos animais clinicamente parasitados, porém nos ovinos com infestação moderada, a diferença em relação aos controles sadios não foi significativa.

KERBOEUF (1977) estudou as variações nos teores de pepsinogênio, proteínas e lipídeos no soro de ovinos sob diferentes níveis de infestação por **H. contortus**. Observou uma diminuição nos níveis de albumina sérica e proteína total nos animais altamente parasitados, com teores mais baixos entre os dias 27 a 30 pós-infestação. Os animais com parasitose a nível moderado, tiveram os teores de albumina sérica similares aos controles sadios. Observou também uma diminuição nos valores totais de globulina que foram proporcionais à quantidade de larvas infestantes ministradas. Em relação ao pepsinogênio somente os animais altamente parasitados mostraram alterações marcantes, semelhantes às encontradas com **Ostertagia** sp, porém o aumento do pepsinogênio sérico na haemoncose foi observado do 1º ao 4º dia pós-infestação, diferença esta ocorrida devido as características peculiares existentes entre os dois ciclos biológicos. O

autor não observou diminuição nos lipídeos séricos.

Para ROSS & ARMOUR (1960) as alterações nos teores de albumina sérica poderiam servir como um indicador de haemoncose, porém trabalhos mais recentes (KERBOUEF, 1977; DARGIE, 1980; ABBOTT et alii, 1984, 1985a, 1986a, 1988) mostraram que a albumina e proteínas séricas sofrem alterações dependendo da raça, plano nutricional, nível de infestação e fase da parasitose observada.

DARGIE (1980), em relação ao metabolismo da albumina nas gastrenterites parasitárias de modo geral, comenta que durante as primeiras fases da doença, quando a concentração sérica e o **pool** intravascular da proteína praticamente não se alteraram, ocorre uma elevação gradual do catabolismo fracionado da albumina intravascular que é acompanhada por um aumento da degradação em termos absolutos. Nesse período estas perdas são facilmente respostas pelo **pool** extravascular, porém com o tempo, devido a um contínuo hipercatabolismo, o **pool** intravascular torna-se progressivamente dimunuído e o **turnover** aumentado. No mesmo trabalho, o autor concluíu ser impossível definir a quantidade de vermes necessária para produzir alterações metabólicas. Em geral animais altamente parasitados morrem no primeiro estágio da doença devido hemorragia e perda de plasma, com remoção de quantidades significativas de proteína da circulação an

tes que uma síntese efetiva ocorra como resposta do organismo. Animais com infestação crônica tem perdas mais amenas e o organismo responde com aumento da síntese proteica de modo a haver um balanço entre perdas e síntese. Entretanto, com a evolução da doença e redução na ingestão de alimentos o organismo torna-se incapaz de substituir a proteína e ferro perdidos pela ação dos parasitos. Nas chamadas infestações "sub-clínicas", onde os animais apresentam pequenas alterações nos níveis proteicos e no quadro hemático, DARGIE (1980) comenta que : "Não se pode assumir que esses animais por apresentarem-se clinicamente normais estejam metabolicamente normais. Nesses casos, a taxa de catabolismo da proteína pode estar altamente afetada, porém devido a alterações no volume dos **pools** a quantidade de proteína que passa pelo trato gastrintestinal pode, inclusive, estar igual ou maior do que naqueles clinicamente afetados, mas que possuem um **pool** menor e estão com uma taxa de catabolismo maior. Portanto, em infestações sub-clínicas, as perdas pelo trato gastrintestinal contribuem proporcionalmente menos no catabolismo total e uma vez que a ingestão de alimentos não está diminuída, a síntese proteica é melhor realizada com manutenção do tamanho e concentração dos **pools**".

ALTAIF & DARGIE (1978) observaram resistência genética à infestação por **H. contortus** em ovinos da raça Finn Dorset e Scottish Blackface. Essa resistência foi

evidente em todos os parâmetros estudados que mostraram-se sempre mais alterados nos ovinos Finn Dorset.

ABBOTT, PARKINS e HOLMES, na Escócia, realizaram uma série de estudos sobre a fisiopatologia do **H. contortus**, em ovinos sob infestações crônica, moderada, agúda e contínua. Nesses trabalhos os autores correlacionaram a parasitose com rações de diferentes níveis proteicos em duas diferentes raças de ovinos.

Com haemoncose crônica (ABBOTT et alii , 1984) onde baixos níveis de infestação estão presentes, observou-se que nos animais sob plano de nutrição pobre, houve aparecimento de uma anemia normocítica normocrômica que esteve associada às perdas de sangue pelo trato gastrintestinal e uma leve alteração na eritropoese. Estas variações ocorreram nos ovinos de ambas as raças, Scottish Blackface e Merino porém as alterações fisiopatológicas foram mais marcantes nos animais da raça Merino com aumento do volume plasmático associado a um aumento no **pool** intravascular.

Com haemoncose moderada (ABBOTT et alii, 1985a, b) foram utilizados ovinos Scottish Blackface e Finn Dorset. Os autores confirmaram que a patogenia da haemoncose ovina é essencialmente dependente das perdas de sangue pelo abomaso e que a severidade dos sinais clínicos observada nos Finn Dorset, principalmente sob baixos níveis proteicos na ração, estava diretamente associa

da com as alterações fisiopatalógicas ocorridas nesse grupo, particularmente o alto nível de perdas de sangue.

ABBOTT et alii (1986a, b), com haemoncose aguda, observaram que a mortalidade foi mais freqüente nos animais do grupo que recebeu ração pobre em proteína. Houve também anemia, hipoproteinemia e hipoalbuminemia que apresentaram-se de modo mais severo nos animais desse grupo, apesar das perdas sangüíneas pelo trato gastrintestinal terem atingido níveis semelhantes.

Nessa série de trabalhos realizados por ABBOTT e colaboradores, os autores observaram que de modo geral os ovinos respondiam prontamente à hemorragia gástrica com aumento da captação do ferro sérico pela medula óssea associado a uma maior absorção do ferro dietético por esses animais.

BAKER & DOUGLAS (1966) realizaram uma revisão sobre as alterações do sangue em infestações helmínticas e observaram que nos estudos das anemias por trichostrongilídeos é fundamental a identificação da espécie de parasito e o mecanismo patogênico pelo qual ele opera.

Desde 1915 VEGLIA descobriu que tanto as larvas como as formas adultas do **Haemonchus contortus** retiram sangue do abomaso. A anemia é o sintoma clínico mais significativo na haemoncose ovina e é causada principalmente pela ação dos parasitos sob a mucosa do aboma

so (BAKER et alii, 1959; CLARCK et alii, 1962).

Técnicas radioisotópicas são de grande importância na elucidação dos mecanismos pelos quais os parasitos causam anemia a seus hospedeiros, por meio delas é possível quantificar as variações cinéticas associadas não só com a anemia, mas também com as perdas proteicas que ocorrem simultaneamente.

Dois radioisótopos, o ^{51}Cr e o ^{59}Fe são de particular importância. O ^{51}Cr quando ligado à célula vermelha é utilizado na monitoração de hemodiluição e quebra de eritrócitos, enquanto o ^{59}Fe marcado à transferrina completa o estudo fornecendo dados sobre a síntese de novas células vermelhas.

BAKER et alii (1959) foram os primeiros a quantificar as perdas de sangue e ferro que ocorrem em infestações por **H. contortus**, em ovinos, utilizando técnicas nucleares. CLARCK et alii (1962) também quantificaram essas perdas em ovinos constatando que a retirada média diária é de 0,049 ml por parasito e que 6 a 12 dias após a administração das larvas já é possível encontrar sangue nas fezes.

Somente em 1975, DARGIE & ALLONBY monitoraram simultaneamente as perdas de células vermelhas e a atividade hematopoética em ovinos com infestação clínica única e reinfestação por **H. contortus**. Desse trabalho observou-se que a anemia causada por esse nematóide

tem 3 estágios. O primeiro, que ocorre durante as 3 primeiras semanas e é caracterizado por uma progressiva queda nos valores de hematócrito e níveis de ferro sérico apresentando-se normais. Nessa fase os valores baixos encontrados no hematócrito são devido a atividade sugadora das larvas em desenvolvimento e adultos jovens somada à latência na resposta do sistema eritrocitário do hospedeiro. O segundo estágio ocorre devido a uma contínua hemorragia da mucosa do abomaso, que estimula a eritropoese e as reservas de ferro do organismo animal começam a diminuir. O terceiro estágio é caracterizado por redução dramática no hematócrito e ferro séricos com exaustão metabólica devido a franca hemorragia e deficiência de ferro associadas à redução, também acentuadas, das proteínas do organismo.

Em relação às técnicas radioisotópicas utilizadas em estudos de fisiopatologia, MULLIGAN (1973) acentua a importância dos isótopos do iodo (^{125}I e ^{131}I) na marcação de proteínas. Esses isótopos tem uma série de características que os tornam especialmente úteis nesses estudos, tais como:

- Após feita a marcação esta mantêm-se firme até que a proteína seja degradada.
- Após degradação o isótopo é excretado de maneira quantitativa e rápida pela urina, desde que antes da ministração a tiróide tenha sido bloqueada com iodo estável.

. O iodo radioativo não é reutilizado na síntese proteica.

. Após marcação adequada as moléculas radicativas comportam-se exatamente do mesmo modo que as não marcadas.

Os métodos de marcação e determinação mais amplamente utilizados são os de MATTHEWS (1957) e CAMPBELL et alii (1956). Este último método é baseado nas medidas das atividades excretadas diariamente, sendo portanto uma análise direta e mais acurada. Porém, o método de MATTHEWS é bastante aceito em estudos onde coletas de urina e fezes não são possíveis de ser obtidos.

Através desses métodos é possível determinar-se volume plasmático, **pool** de albumina intra e extravasculares e taxa de catabolismo fracionado da albumina, isto é, a fração do **pool** intravascular que é catabolizada a cada 24 horas.

Para MULLIGAN (1973) a validade dos métodos depende primeiramente da qualidade da proteína marcada. Se alguma denaturação ocorrer durante a marcação ou purificação os resultados são prejudicados.

Segundo KIEFFER (1976) devido as próprias características da dinâmica do iodo como: absorção intestinal, reciclagem pelas secreções salivares, gástricas e intestinal, fixação na glândula tiróide e excreção renal, é impossível obter-se simultaneamente dados cinéti

cos relativos ao metabolismo das proteínas e à quantificação de suas eventuais perdas digestivas utilizando o iodo radioativo.

Waldmann In: KIEFFER (1976) introduziu então a radiocromo ($^{51}CrCl_3$) na marcação da albumina, uma vez que este elemento praticamente não é absorvido pelo trato gastrintestinal.

Paralelamente à albumina cromada, outras soluções foram sugeridas para quantificar as perdas digestivas de proteínas plasmáticas. Dentre elas destacou-se a polivinilpirrolidona marcado com ^{131}I, que não sendo metabolizada poderia tornar-se um indicador ideal, porém devido ao alto custo e principalmente à fácil despolimerização foi pouco utilizada (DAWSON & WILLIAMS, 1961).

Nos estudos das anemias é importante saber se está havendo interferência na produção das células vermelhas ou perda anormal das mesmas ou se ambos os mecanismos estão envolvidos. Para obtenção dessas informações dois são os traçadores de grande utilidade, o ^{51}Cr e o ^{59}Fe.

Em 1950, GRAY & STERLING empregaram a marcação de hemácias com ^{51}Cr para determinação da massa circulante e, mais tarde também foi utilizado na determinação da sobrevida dos eritrócitos. O método apresenta um inconveniente: a ligação do radioisótopo às proteínas

intracelulares não é suficientemente firme para permanecer até o término dos ensaios, havendo uma contínua perda do marcador, eluição, principalmente nos 3 a 5 primeiros dias pós-injeção. Em ruminantes, de 40 a 60% do total injetado é perdido nesse período e após, as perdas são de 3 a 10% ao dia. Devido a esse fato, os valores de meia-vida (t1/2) do ^{51}Cr-eritrócitos são índices aparentes e não devem ser analisados em termos quantitativos, porém são de particular utilidade quando envolve-se comparações entre animais normais e doentes. Outra propriedade do ^{51}Cr ligado às células vermelhas é a de permitir a quantificação das perdas de sangue via trato gastrintestinal, uma vez que após hemorragia por essa via , o ^{51}Cr não é reabsorvido e sim eliminado com as fezes (IAEA, 1982).

As informações obtidas pela marcação do ^{51}Cr-células vermelhas elucidaram os mecanismos pelos quais os parasitos causam anemias, porém esta metodologia é limitada no que tange à síntese de novas células.

Para estudos de síntese utiliza-se o ^{59}Fe, que é um marcador que se incorpora diretamente à hemoglobina e permite estudos de cinética do ferro que servem como índice de eritropoese. Esta técnica foi preconizada por POLLYCOVE & MORTIMER (1961) e baseia-se na marcação da transferrina plasmática com o ^{59}Fe. A transferrina transporta esse metal pelo sangue e seu destino é

suprir a medula óssea de ferro para ser empregado na síntese da hemoglobina e na maturação dos glóbulos vermelhos. Após incorporação na hemoglobina, o ferro aparece nas células vermelhas circulantes. A taxa de utilização do ferro pelas células vermelhas e o **turnover** do ferro radiativo no plasma são índices eficazes de eritropoese e facilmente obtidos por esta técnica (BOTHWELL et alii, 1975).

De acordo com a literatura revista, estudos da fisiopatologia do **Haemonchus contortus**, em bovinos, utilizando técnicas radioisotópicas, não foram ainda objeto de qualquer investigação científica publicada no país ou exterior.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Local

Este trabalho foi realizado no Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, e na Divisão de Radiobiologia do Departamento de Aplicações em Ciências Biológicas do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN) da Comissão Nacional de Energia Nuclear em São Paulo.

3.2 - Delineamento experimental

O delineamento experimental foi o de blocos com 2 tratamentos e 4 repetições.

Os bezerros foram divididos em dois grupos de quatro animais cada baseados em seus pesos e idades, de modo a formarem grupos homogênios. Os animais de um dos grupos receberam, via oral, 500 larvas infestantes de 3º estágio (L_3) de **Haemonchus contortus** por quilograma de peso e os outros permaneceram como controles sadios. Cinco semanas depois da infestação, os radioisótopos (^{125}I - albumina, ^{51}Cr-células vermelhas e ^{59}Fe-transferrina) foram injetados, via intravenosa e, após 14 dias de observações e colheitas de sangue, fezes e urina, os bezerros foram sacrificados e o abomaso removido para recuperação e contagem dos vermes.

3.3 - Animais

Foram utilizados oito bovinos machos, da raça Holandesa Preta e Branca, puros de origem (PO), com 4 a 6 meses de idade, nascidos em diferentes propriedades do Município de Pindamonhangaba, São Paulo.

Os bezerros foram mantidos em baias individuais, sobre piso ripado, livres de verme desde o nascimento até o início do experimento. Receberam colostro

e leite em pó comercial (Du Balde - Anhanguera) até o desmame que se deu aos 50 dias de idade.

A dieta desde o desmame até o final do experimento constou de feno de gramínea Cost-Cross (Cynodon dactylon), água à vontade e concentrado comercial (Nuvital) duas vezes ao dia.

Os bezerros foram pesados logo após o nascimento, antes da infestação da injeção dos radioisótopos e das necrópsias, em balança de chão, tipo armazém (Filizola de 1 a 200 kg) adaptada para pesagem de animais.

3.4 - Métodos parasitológicos

3.4.1 - Parasitos

A cepa de **Haemonchus contortus** utilizada no experimento foi proveniente de bovinos do Município de Pindamonhangaba - SP, que estavam acometidos por este parasito e outros tricostrongilídeos gastrintestinais.

Dentre os vermes recolhidos do abomaso, as fêmeas maturas de **H. contortus** foram separadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico. Estas foram maceradas em gral com solução fisiológica e a suspensão final peneirada, obtendo-se, assim, os ovos embrionados. Culturas desses ovos foram realizadas utilizando-se como

substrato conteúdo de rúmen lavado e esterelizado de acordo com a técnica de ROBERTS O'SULLIVAN (1950).

As culturas permaneceram em estufa BOD (FANEN) à 27°C por 8 dias. O líquido de lavagem contendo as larvas infestantes, foi clarificado a fim de se retirar todo o conteúdo fecal e obter-se uma suspensão de larvas limpas. Nesse processo utilizou-se um equipamento de filtragem à vácuo com um funil de Bückner de 12 cm de diâmetro e papel de filtro (Sartorius 550) de 98 mm de diâmetro. O papel de filtro foi colocado em contato direto com uma peneira de malha 0,125 mm e esta em funil com água morna à uma temperatura de 40°C, de modo que a água atingia a superfície do papel de filtro do lado que continha as larvas. Após 6 h coletou-se o conteúdo da porção final do funil, aproximadamente 100 ml e a esta suspensão de larvas adicionou-se mais água e manteve-se em geladeira a 4°C até o momento do uso em garrafa de Roux.

3.4.2 - Infestação dos doadores

Uma dose de 500 larvas infestantes de **H. contortus** por quilo de peso foram administradas, via oral, a dois bezerros de aproximadamente 5 meses de idade, criados estabulados em baias individuais, livres de vermes desde o nascimento, e que serviram como doadores de larvas do parasito.

À partir do 20º dia após a administração das L_3, foram realizados exames de fezes pela técnica Mc Master (GORDON & WITLOCK, 1939). Quando o número de ovos por grama de fezes (opg) atingiu um mínimo de 200, sacolas coletoras de fezes foram atadas nos animais. Com as fezes recolhidas a cada 12 h, foram feitas culturas e as L_3 obtidas como descrito no ítem 3.4.1. foram utilizadas na infestação dos animais experimentais.

3.4.3 - Infestação experimental

Na preparação dos inóculos para infestação experimental, foram contadas dez alícotas de 0,1 ml da suspensão aquosa de larvas. À partir do número médio de L_3 obtido calculou-se o volume do inóculo que foi ministrado a cada animal, via oral, de acordo com a dose infestante de 500 L_3 de **H. contortus** por quilograma de peso vivo.

3.4.4 - Necrópsia e recuperação dos vermes

No décimo quarto dia após as injeções dos radioisótopos, os animais foram abatidos e o abomaso removido para recuperação dos vermes. O órgão foi aberto pela curvatura maior e o conteúdo total coletado em balde de plástico, seguindo-se uma lavagem da porção interna

do mesmo com água corrente. A esse conteúdo mais o líquido de lavagem adicionou-se água até completar o volume de 2 litros. Após homogeneização foi retirada uma amostra contendo 400 ml, 20% do total, e adicionou- se 40 ml de formol puro.

A presença de formas imaturas foi pesquisada na mucosa do abomaso após deixá-lo em banho-maria por 12 h à 42°C em solução fisiológica. Após esse período o líquido obtido foi deixado em sedimentação por 2 h, o sobrenadante retirado e ao sedimento adicionou-se 10% do volume deste com formol puro.

Foram contados os vermes existentes em 20% do conteúdo e o total da digestão do abomaso, calculando -se o número de parasitos e diferenciando-os em adultos e imaturos.

3.5 - Preparo dos animais

Os animais foram colocados em gaiolas para ensaios de metabolismo (**Fig. 1**) três dias antes da injeção dos radioisótopos. No mesmo período atou-se sacolas coletoras de fezes e iniciou-se a ministração oral de 10 ml de solução a 0,75% de iodeto de potássio (KI) aos animais. Esta teve por finalidade saturar a tiróide com iodo estável e bloquear a captura do iodo radioativo por essa glândula. A ministração foi feita dia

riamente até o final do experimento.

No dia anterior à aplicação dos radioisótopos os pêlos das faces laterais do pescoço foram removidos, a fim de facilitar a injeção e colheitas das amostras de sangue. Soro de cada animal foi obtido para a determinação dos teores de ferro, albumina e proteína total.

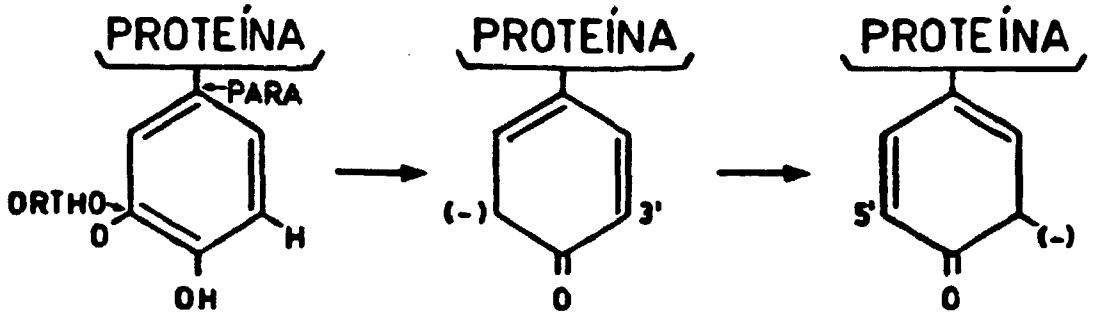
Dezesseis horas antes da aplicação dos radioisótopos os animais foram mantidos em jejum completo.

3.6 - Métodos radioisotópicos

3.6.1 - Marcação da albumina com ^{125}I

A marcação da albumina com ^{125}I foi realizada segundo o método do iodo monoclorídrico de McFARLANE (1958).

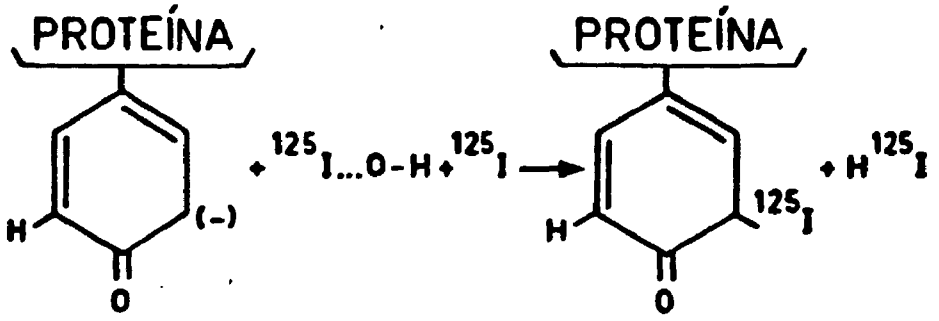
A química da radioiodação baseia-se na substituição do hidrogênio dos grupos de tirosina pelo iodo radioativo, conforme o esquema que se segue:



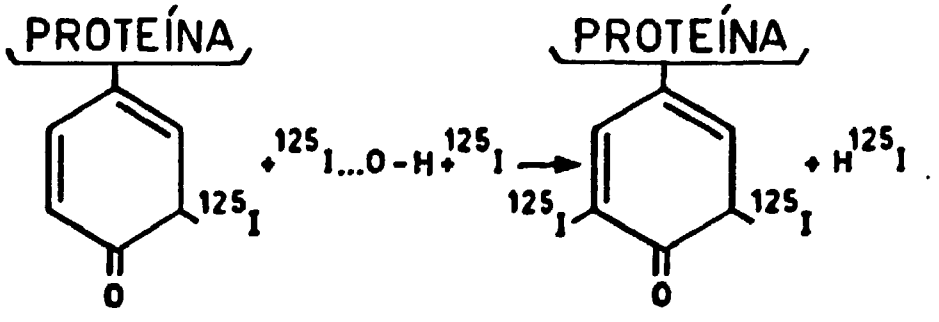
Grupo Fenil da Tirosina

Presentes em soluções alcalinas como anions fenolato.

A - Formação do 3' ou 5' mono-iodotirosina.



B - Segue-se uma imediata substituição do H pelo I permanecendo na posição ortho e formando o 3',5' di-iodotirosina.



Na marcação usou-se albumina bovina (Sigma A4503) que contêm 96,99% de albumina e o iodo-125 produzido livre de carregador pela New England.

Foi utilizada solução de albumina a 2% numa relação de uma molécula de iodo para cada molécula de proteína, afim de evitar desnaturação proteica.

Uma vez que o período experimental durou duas semanas, utilizou-se 37 MBq* de ^{125}I por animal para marcação da albumina segundo recomendações da FAO/IAEA (1982).

3.6.2 - Marcação dos eritrócitos com ^{51}Cr

Na marcação de células vermelhas usou-se o ^{51}Cr na forma de cromato de sódio ($Na_2{}^{51}CrO_4$) produzido pela Dupont.

A técnica utilizada foi a de GRAY & STERLING (1950) que baseia-se na penetração do cromato de sódio aniônico hexavalente, $Na_2{}^{51}CrO_4$, nas células vermelhas com redução deste à forma catiónica trivalente, $^{51}CrCl_3$, e imediata absorção pela fração globina e hemoglobina da célula vermelha.

No dia da injeção dos radioisótopos, aproximadamente 20 ml de sangue de cada um dos animais foi retirado utilizando sistema vacutainer em tubos heparinizados. Este sangue foi centrifugado em centrífuga refri

* 37 MBq= 1 mCi

gerada a 4°C (Sorvall) a 200 rpm por 10 minutos a fim de separar o plasma das células. Um **pool** de plasma foi reservado para posterior marcação com ^{59}Fe e as células vermelhas de cada animal foram marcadas com o ^{51}Cr.

Para cada suspensão utilizou-se 37 MBq de ^{51}Cr mantendo em banho-maria à 37°C por 30 minutos agitando-se suavemente a cada 10 minutos. Após a marcação, o radioisótopo livre foi separado do marcado por centrifugações sucessivas a 2000 rpm por 4 minutos com solução fisiológica na proporção de 4 volumes para 1 de células vermelhas. Depois de cada centrifugação o sobrenadante foi retirado e desprezado. Após três lavagens, à suspensão de células vermelhas adicionou-se solução fisiológica reconstruindo-se assim, o volume de sangue original.

3.6.3 - Marcação da transferrina com ^{59}Fe

O ^{59}Fe quando em contato com o plasma forma um complexo com a transferrina e na circulação são carreados à medula óssea entrando na síntese da hemoglobina.

A marcação da transferrina plasmática foi realizada utilizando-se ^{59}Fe (Amersham) na forma de citrato ferroso segundo POLLYCOVE & MORTIMER (1950) na dose de 37 KBq* por quilograma de peso.

A dose total de ferro calculada para os

---

* 37 KBq- 1 μ Ci

oito animais foi adicionada ao **pool** de plasma obtido conforme ítem **3.6.2.**, deixando-se por 5 minutos à temperatura ambiente. Após esse intervalo foram preparados os inóculos dividindo-se o volume total em partes iguais para posterior injeção nos animais.

3.7 - Preparo das injeções dos marcados

Após a marcação da solução da albumina ^{125}I, das células vermelhas com o ^{51}Cr e do **pool** de plasma com o ^{59}Fe, iniciou-se a preparação das amostras para injeção. Inicialmente soluções padrões foram preparadas retirando-se, com seringas plásticas descartáveis, 1 ml de cada marcado. Para maior precisão a quantidade retirada foi determinada por diferença de peso da seringa cheia e vazia. O conteúdo existente nas seringas era colocado em balões volumétricos de 100 ml e os volumes completados com solução fisiológica, sendo os balões fechados e identificados. Obteve-se, assim, uma solução de referência (solução padrão) de albumina ^{125}I, outra de ^{59}Fe-transferrina e oito de ^{51}Cr-eritrócitos, uma vez que, no caso deste último o sangue de cada animal foi marcado individualmente.

Esses padrões destinaram-se à quantificação da dose administrada e ao preparo de amostras padrões utilizadas nas contagens.

As injeções dos marcados foram preparadas com seringas plásticas descartáveis de 20 ml, de modo que cada animal recebeu quantidades semelhantes que foram determinadas por diferença de peso das seringas antes e após a aplicação, utilizando balança analítica (Mettler P1200) com três casas decimais.

3.8 - Injeções dos radioisótopos

Os marcados foram injetados intravenosamente, na veia jugular esquerda por meio de cateter de polietileno (Portex) de 40 cm de comprimento e 1 mm de diâmetro. Neste cateter foram fixadas, através de um sistema seqüencial de 3 torneiras de saída tripla, as seringas contendo a albumina, o sangue e o plasma marcados, os quais foram injetados sucessivamente. No mesmo sistema estava anexada, na extremidade distal, uma seringa de 20 ml com solução fisiológica que foi injetada após os radioisótopos, para limpeza do cateter e garantia de que os marcados haviam sido injetados (Fig. 2).

3.9 - Colheita e amostragem de sangue

Foi efetuada uma colheita seriada de sangue nos tempos 10-20-30-45-60-90-120-180 e 240 minutos após aplicação dos radioisótopos; duas vezes ao dia, ma

nhã e tarde, até o 4º dia pós-injeção e uma vez ao dia, pela manhã, até o final do período experimental, em horá rios pré-estabelecidos.

Todas as amostras de sangue foram obtidas da jugular direita, oposta à utilizada na aplicação dos radioisótopos, em tubos à vacúo de 5 ml contendo EDTA. Primeiramente determinou-se o hematócrito de cada uma das amostras. Através de pipeta automática retirou-se 1 ml do sangue total que era colocado em tubos de polie tileno, próprios do contador de cintilação gama, e a es se sangue adicionou-se 2 ml de solução de NaOH 0,02N pa dronizando-se o volume de todas as amostras em 3 ml.

Posteriormente, o restante da amostra de sangue era centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos para obtenção do plasma que foi amostrado de modo idêntico ao sangue.

3.10 - Colheita e amostragem de fezes e urina

O total de fezes e urina foram pesados diariamente em balança tipo armazem, Filizola, com capa cidade de 100 g a 10 kg, desde o momento da injeção dos radioisótopos até o final do experimento.

Após a pesagem do total de fezes a massa fecal era bem homogeneizada para a retirada de uma amos tra. À partir desta, sete tubos semelhantes aos utiliza

dos nas amostragens de plasma e sangue eram preenchidos com aproximadamente 3 g de fezes cada um. O peso exato era determinado por diferença de peso do tubo vazio e cheio. As amostras eram identificadas com o número do animal, dia da colheita e número da repetição.

A urina recebeu igual tratamento. Após a pesagem do total eliminado em cada dia, 3 amostras de 3 ml cada eram retiradas com auxílio de seringas plásticas descartáveis e colocadas nos tubos de contagem. A quantidade exata de cada amostra também foi obtida por diferença de peso.

Nas pesagens das amostras de fezes e urina utilizou-se balança analítica, Mettler P160, com duas casas decimais.

3.11 - Contagem da radiatividade nas amostras

As amostras de sangue, plasma, urina e fezes preparadas diariamente eram mantidas em estantes apropriadas e só foram contadas quanto à radiatividade existente no material no final do período experimental. Esse procedimento eliminou a necessidade de correção da taxa de decaimento entre as amostras coletadas nos diferentes tempos de ensaio.

Amostras de padrões utilizadas nas contagens foram preparadas à partir das soluções padrões feitas

no momento das marcações. Alícotas de 1 ml dessas soluções foram colocadas nos tubos de contagem adicionando-se 2 ml de solução de NaOH 0,02N como padronizado. De cada solução padrão foram feitas 12 repetições.

As contagens por minuto (cpm) de todas as amostras foram determinadas em um contador de cintilação gama bicanal BERTHOLD LBMA6-312.

Após as contagens realizou-se a correção das cpm do iodo devido interferência do cromo e ferro e do cromo pelo ferro, utilizando-se os valores das cpm dos padrões de cada radioisótopo nos seus respectivos canais e nos canais vizinhos obtendo-se as porcentagens de interferência, as quais foram descontadas.

3.12 - Cálculos referentes à marcação do ^{125}I albumina

3.12.1 - Radiatividade total injetada (RTI)

Utilizando-se as 12 amostras padrões da ^{125}I-albumina determinou-se as cpm médias. A partir do peso conhecido da ^{125}I-albumina utilizada no preparo do padrão e das cpm médias das amostras padrão, calculou-se a radioatividade total do padrão (RTP) através da equação:

RTP (cpm)= Peso do marcado no padrão (g) x M cpm em 1 ml da solução padrão x 100*

*100 ml= Volume total da solução padrão

Tendo-se o valor da RTP calculou-se a Radioatividade Total Injetada (RTI) pela fórmula:

$$RTI\ (cpm) = \frac{\text{Peso do marcado injetado (g)} \times RTP}{\text{Peso do marcado no padrão (g)}}$$

3.12.2 - Construção das curvas de atividade plasmática (Qp), atividade retida (Qr) e atividade extravascular (Qe)

As medidas das radioatividades das amostras plasmáticas foram lançadas em gráfico semilogarítimico e sugeriam um comportamento linear. A seguir efetuou-se pelo método dos mínimos quadrados (SEDECOR & COCHRAN, 1967) o ajuste dos pontos experimentais à função:

$$Y = A\ e^{-Bt}$$

onde

A - corresponde a interseção da reta quando t= 0, B é a constante de decaimento das contagens e t o tempo decorrido após a injeção do radioisótopo.

Calculou-se após, para cada animal, o total de radioatividade excretada pela urina e fezes a cada dia. Para tanto conhecendo-se os pesos e os valores das cpm das amostras de urina e fezes diárias determinou-se a cpm dessas amostras por grama. Este valor multiplicado pelo total de fezes e urina eliminados no perío

do correspondente forneceu o total de atividade excretada através de cada uma dessas vias a cada dia.

Conhecendo-se a atividade total de albumina injetada e subtraindo-se da atividade excretada, via urina e fezes, obteve-se os valores da atividade da albumina retida no organismo a cada 24 h e traçou-se a curva Qr, Atividade Retida, como porcentagem da atividade injetada em escala semilogarítimica contra tempo.

A curva de Atividade Extravascular (Qe) , isto é, a atividade presente nos compartimentos extravasculares, foi obtida pela diferença dos valores de Qr e Qp para cada ponto experimental.

No intuito de analisar matematicamente a distribuição da albumina entre os compartimentos intra e extravasculares, realizou-se uma análise compartimental. À partir dos valores obtidos nas contagens das amostras de plasma, fezes e urina, as curvas de atividade da albumina intravascular, extravascular, a retida no organismo e a excretada foram simuladas. Os gráficos correspondentes a essas curvas bem como os pontos experimentais e simulados e os coeficientes de transferência entre os pools intra e extravasculares encontram-se no apêndice.

12.3 - Volume plasmático (Vp)

As contagens obtidas após a albumina inje
se distribuído pelo organismo animal, isto é ,
gido o ponto de equilíbrio forneceram subsídios
ção do Volume Plasmático (Vp).

Os valores encontrados nas amostras de
os primeiros 240 minutos, em cpm, foram ajusta
ação de regressão descrita no ítem 3.12.2. (Y=
, obteve-se o valor em cpm para o tempo zero
A). Esse valor corresponde ao ponto de equi
foi utilizado na seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Total da Radioatividade Injetada (cpm)}}{\text{cpm da amostra de plasma no equilíbrio}}$$

.12.4 - Pools de albumina intravascular (IA), extravascular (EA) e albumina total (TA)

Os cálculos dos **pools** de albumina intra
extravasculares (EA) e albumina total (TA) foram
ados segundo a técnica de CAMPBELL et alii (1956),
seia-se no "tempo de equilíbrio".

Conhecendo-se os valores de albumina séri
erminados por método bioquímico convencional e o
plasmático, tem-se que:

= Vp (ml) x albumina sérica (g/ml)

Observando-se a curva de atividade extravascular (Qe) esta atinge um ponto máximo declinando numa faixa similar à curva de atividade plasmática. Quando a Qe é máxima a albumina marcada está completamente equilibrada entre os **pools** IA e EA. Neste ponto de equilíbrio a relação entre as atividades extra e intravasculares são iguais à relação entre o **pool** das massas, de tal forma que:

$$\mathbf{TA\ (g)} = \frac{IA\ (Qp + Qe)}{Qp}$$

Conhecendo-se o valor da albumina total e intravascular, por diferença obtem-se o **pool** extravascular:

$$\mathbf{EA\ (g)} = TA - IA$$

Os valores dos **pools** de albumina e albumina total foram expressos com base no peso corpóreo dos animais, isto é, grama por quilograma de peso (g/kg).

3.12.5 - Catabolismo da albumina F (IA)

Conhecendo-se o total de albumina excretada pelas fezes (F) e urina (U) diariamente e as cpm do plasma no início de cada dia de colheita (P), determinou-se o catabolismo da albumina intravascular pela fórmula:

$$F\ (IA) = \frac{U + F}{P}$$

A taxa de catobolismo da albumina no período experimental foi obtida à partir da média dos valores diários de F (IA).

3.12.6 - Clearance ou depuração da albumina plasmática via fezes e urina

Para cada colheita de fezes e urina calculou-se as cpm do ^{125}I-albumina e a das amostras de plasma no início de cada período de 24 h. Tanto para as fezes quanto para a urina as cpm da albumina marcada eliminadas foram divididas pelas cpm do ^{125}I-albumina do plasma no início de cada intervalo de 24 h, fornecendo assim o índice de depuração diário da albumina **(clearance)** para cada uma dessas vias e expresso em ml/dia.

3.12.7 - Meia vida do ^{125}I-albumina (tl/2)

Utilizando-se a equação de regressão $Y = Ae^{-Bt}$, define-se a meia vida (tl/2) como o tempo necessário para que a radioatividade da amostra decaia ao nível de $\frac{A}{2}$. Pode-se então, demonstrar que a tl/2 é determinada pela expressão:

$t1/2 = \frac{\ln 2}{B}$ onde B corresponde à constante de decaimento previamente determinada por regressão exponencial.

3.13 - Cálculos referentes à marcação dos eritrócitos - ^{51}Cr

3.13.1 - Volume de celulas vermelhas (Vc)

Através das cpm de cada amostra de sangue e seu respectivo hematócrito (Ht) calculou-se as cpm das células vermelhas pela fórmula:

$$cpm_{Cv} = \frac{\text{cpm sangue} \times 100}{\text{hematócrito (\%)}}$$

Os valores das amostras de 10, 20, 30 e 60 minutos pós-injeção foram introduzidos na equação de regressão ($Y = Ae^{-Bt}$) versus tempo obtendo-se uma curva de decaimento do isótopo na primeira hora e o ponto de equilíbrio. Conhecendo-se este ponto e a radioatividade total injetada (RTI), como determinada no ítem 3.12.1., para a albumina, porém aqui utilizando os padrões feitos com os eritrócitos marcados, calculou-se o Volume de Células Vermelhas (Vc).

$$Vc = \frac{\text{Total de radioatividade injetada (cpm)}}{\text{cpm no equilíbrio}}$$

3.13.2 - Volume de sangue (Vs)

Conhecendo-se o volume de células vermelhas (VC) e o volume de plasma (Vp), este último obtido dos cálculos com ^{125}I-albumina (ítem 3.12.3.) determinou o Volume de Sangue (Vs) pela soma dos dois valores de modo que:

$$Vs = Vc + Vp$$

3.13.3 - Meia vida aparente (t1/2) do ^{51}Cr-células vermelhas

A meia vida aparente (t1/2) do ^{51}Cr - células vermelhas foi determinada de modo idêntico ao descrito no ítem 3.12.7., para meia vida da albumina-^{125}I.

3.13.4 - Clearance das celulas vermelhas via fezes e urina

As perdas de células vermelhas via fezes e urina foram calculadas para cada período de 24 h. O total das cpm eliminadas a cada 24 h por essas vias foram divididas pelas cpm/ml das células vermelhas das amostras de sangue colhidas no início de cada período. Calculou-se assim a média dessas perdas obtendo-se o valor em ml/dia.

3.14 - Cálculos referentes à marcação da transferrina - ^{59}Fe

3.14.1 - Meia vida transferrina - ^{59}Fe (t1/2)

As cpm de plasma obtidas das quatro primeiras horas foram traçadas em escala semi-logarítimica contra o tempo e por regressão obteve-se o valor em cpm para o tempo zero e à partir dele a meia-vida do ^{59}Fe no plasma.

3.14.2 - Renovação do ferro plasmático (PIT)

A avaliação da renovação ou **turnover** plasmático representa a quantidade de ferro que deixa o compartimento plasmático na unidade de tempo. Sendo conhecidos os valores da t1/2, a concentração plasmática do ferro e o volume plasmático, determinou-se a taxa de renovação do ferro no plasma (PIT) empregando-se a seguinte fórmula:

$$\text{PIT (mg/dia)} = \frac{\text{Fe sérico (mg/ml)} \times 0{,}693 \times 1440^{*} \times Vp}{t1/2}$$

*1440= minutos existentes em 24 h

3.14.3 - Porcentagem de utilização do ^{59}Fe pelas células vermelhas

Através das cpm/ml de cada amostra de sangue e seus respectivos hematócritos, calculou-se as cpm/ml de células vermelhas e traçou-se em pepel semi-log versus tempo, em dias, a curva de atividade do ^{59}Fe. Através do valor de máxima atividade encontrado nessa curva e do volume total de células vermelhas (Vc) determinou-se a Porcentagem de Utilização do ^{59}Fe pelas Hemácias através da fórmula:

$$\% \text{ Utilização} = \frac{100 \times Vc \times \text{cpm máx. do } ^{59}Fe}{\text{Radioatividade total injetada (RTI)}}$$

3.14.4 - Clearance das células vermelhas pelas fezes

Para cada período de 24 h calculou-se o **clearance** ou perdas das células vermelhas pelas fezes. Estas foram determinadas através da atividade nas fezes a cada 24 h e nas células vermelhas no início de cada período, conforme descrito no ítem 3.13.4., determinando-se posteriormente o valor médio do período.

3.15 - Análise estatística

A análise estatística empregada foi o teste t. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos e as variações das médias foram expressas através do erro padrão (S.E.). As análises foram realizadas na Divisão de Apóio à Engenharia e Pesquisa do Departamento de Processamento de Dados do IPEN, utilizando o sistema SAS (1985).

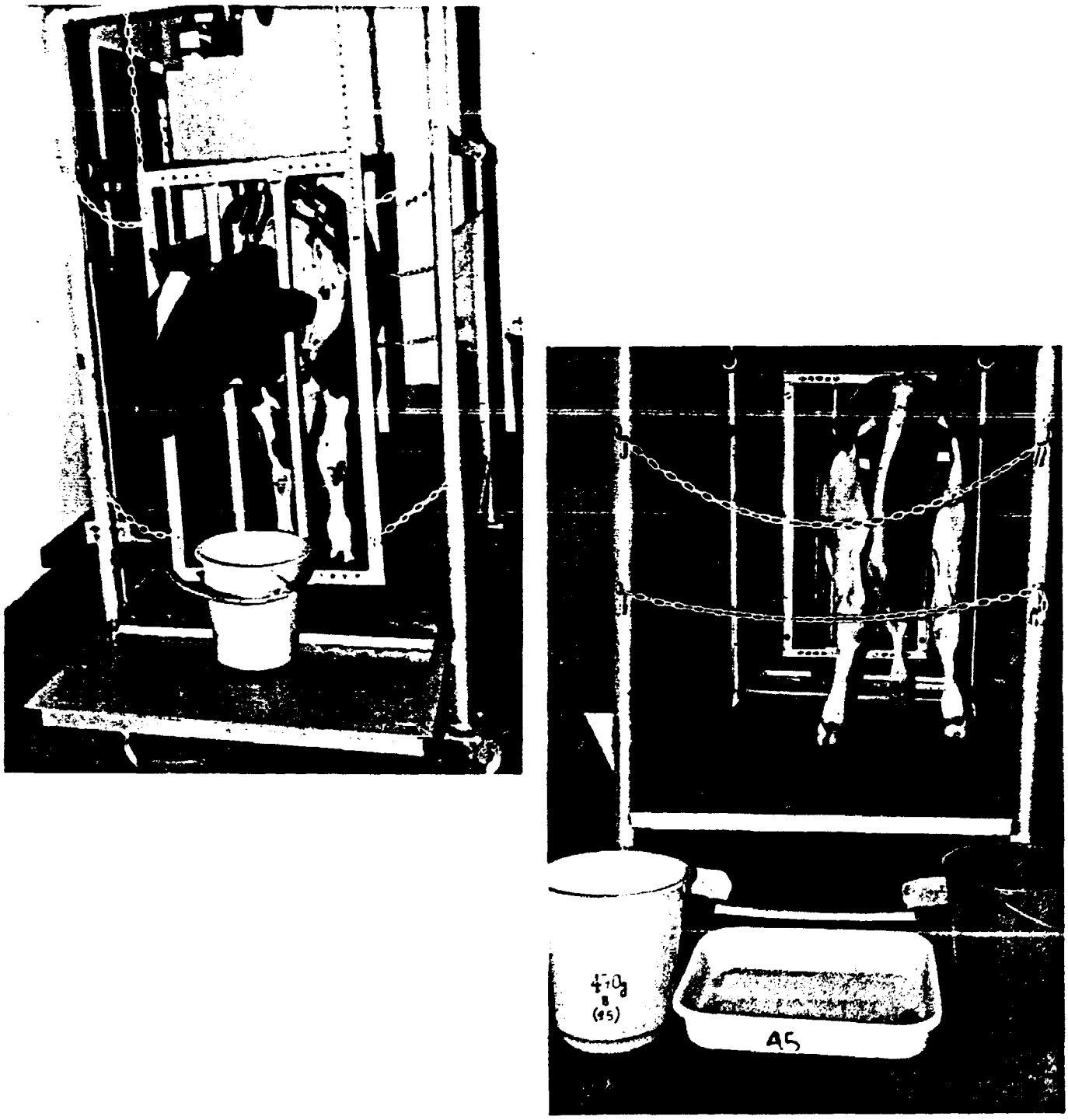


Figura 1 - Gaiola metabólica utilizada durante o período de injeção dos radioisótopos e colheita das amostras.

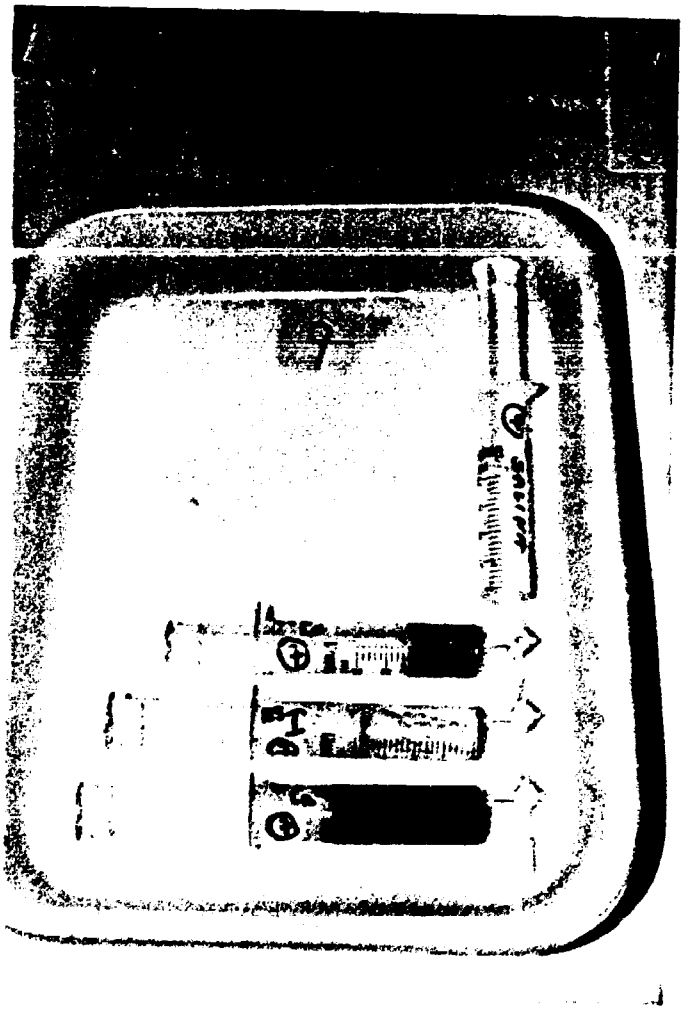


Figura 2 - Sistema utilizado para injeção dos radioisótopos.

4. RESULTADOS

4.1 - Observações clínicas

Dois dias após a injeção dos radioisótopos, um dos animais do grupo controle apresentou um quadro de timpanismo agudo após a alimentação da tarde, e por permanecer praticamente imóvel na gaiola metabólica, a evolução foi rápida e 5 h após a ingestão da ração o animal foi encontrado morto. A partir deste fato, os bezerros passaram a receber o concentrado mais cedo, no período da tarde, facilitando assim, a observação dos animais após a ingestão deste.

Os animais de ambos os grupos mantiveram-se durante todo o período experimental em boas condições clínicas. Não observou-se anorexia, edema sub-mandibular, pêlos arrepiados, e nenhum sintoma clínico comum em infestações por **Haemonchus contortus**.

O ganho de peso nos bezerros parasitados foi menor que nos controles, 21,25 ± 3,77 kg e 34,33 ± 6,27 kg, respectivamente, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa (Tab. 1).

4.2 - Dados parasitológicos

4.2.1 - Exame de fezes

Vinte dias após a inoculação da L_3 infestantes do parasito, iniciou-se exames de fezes diariamente. Observou-se que o período de pré-patência foi, em média, de 30 dias, porém o acompanhamento do opg não foi realizado durante o restante do período experimental.

4.2.2 - Necrópsia

O exame macroscópico do abomaso dos animais de números 3 e 4, infestados, mostrou mucosa da região fúndica de aspecto gelatinoso, espessa com coloração avermelhada e formações gelatinosas amareladas na porção

externa do mesmo. Já nos bezerros de números 7 e 8, a mucosa apresentou-se um pouco mais espessa que o normal com petéquias hemorrágicas distribuídas na região fúndica (Fig. 3 e 4).

Da dose infestante de 500 L_3 por quilograma de peso administrada aos bezerros, uma média de 5,71% (2,16 - 11,26%) foram recuperadas do conteúdo e digestão do abomaso, apresentando-se em sua maioria no estágio adulto. Nenhum verme foi encontrado nos animais do grupo controle. Estes resultados estão ilustrados na Tab. 2.

4.3 - Bioquímica do sangue e hematócrito

Os valores de albumina sérica (g/100 ml), proteína total (g/100 ml) e ferro sérico (µg/100 ml) encontram-se na Tab. 3.

As concentrações de ferro, albumina e proteína total no plasma não apresentaram diferenças entre os grupos e estes valores estavam dentro dos teores normais para a espécie, que são de 3,0 a 3,8 g/100 ml para a albumina, 6,5 a 8,5 g/100 ml para a proteína e 70 a 250 µg/100 ml para o ferro segundo SWENSON (1984).

Os dados de hematócrito do momento da injeção até o final do experimento encontram-se na Tab.4. Os valores médios de 27 e 34,5% obtidos no tempo zero, pa

ra os grupos infestado e controle respectivamente, foram significantes a nível de 5%, mantendo-se esta diferença até o último dia do experimento conforme demonstrado na Fig. 5.

4.4 - Metabolismo da albumina

Os dados referentes ao metabolismo da albumina encontram-se na Tab. 5.

Os valores médios de meia vida (t1/2) , em dias, para a albumina marcada não apresentaram diferença significante entre os grupos, 15,67 ± 0,98 e 13,93 ± 2,21 dias, respectivamente para os infestados e controles, o mesmo ocorrendo com a taxa de catabolismo fracionado da albumina F(IA) com 0,069 ± 0,005 nos animais parasitados e 0,074 ± 0,006 nos controles.

O volume plasmático médio apresentou um aumento significativo ($p < 0,05$) nos bezerros infestados (57,65 ± 5,29 ml/kg) quando comparados aos controles (47,70 ± 1,25 ml/kg).

Diferenças estatísticas significativas não foram detectadas entre os valores dos **pools** de albumina intra e extravasculares, no entanto, a distribuição entre eles apresentou-se alterada com uma tendência de aumento no **pool** intravascular, sendo que a relação entre ambos (EA/IA) foi significante ($p < 0,006$), com valores de 1,17 ± 0,04 g/kg para os infestados e 1,44 ± 0,03 g/kg pa

ra os controles.

No apêndice encontram-se os gráficos obtidos através de uma análise modelo bi-compartimental relativos à atividade plasmática (Qp), atividade extravascular (Qe), atividade retida no organismo (Qr) e atividade excretada (Qs) da albumina marcada com o ^{125}I dos bezerros infestados e controles.

A análise matemática da distribuição e comportamento da albumina entre os pools intra e extravasculares, mostrou que os valores ajustaram-se ao modelo bi-compartimental. Em relação aos coeficientes de transferência de um compartimento a outro e aos de eliminação, a análise não detectou diferenças significantes entre os animais infestados e controles.

4.5 - Cinética das células vermelhas

Os resultados do estudo da cinética das células vermelhas encontram-se na Tab. 6.

O volume de eritrócitos (Vc) na circulação e a meia vida (t1/2) das células vermelhas -^{51}Cr não foram estatisticamente significantes entre os animais infestados e controles.

Nos animais parasitados a quantidade de eritrócitos perdidos pelo trato gastrintestinal e urinário, diariamente, estava aumentada, mas este aumento também não foi significante.

Apesar do volume de células vermelhas não ter apresentado diferença estatística entre os grupos, os valores encontrados para total de sangue (Vs) mostraram-se significantes ($p < 0,005$), obtendo-se para o grupo controle uma menor quantidade de sangue total, 62,56 ± 2,18 ml/kg, em relação ao infestado, 74,5 ± 2,70 ml/kg.

4.6 - Cinética do ferro

Os resultados referentes ao estudo da cinética do ferro são mostrados na **Tab. 7.**

Os valores de meia vida (t1/2) da transferrina-^{59}Fe e do **clearance** dos eritrócitos pelas fezes, não diferiram entre os dois grupos. Em relação a estes valores é importante observar que dos 3 animais controles o animal de número 2 eliminou 93 mg de eritrócitos por dia pelas fezes, enquanto os outros dois controles não apresentaram nenhuma perda. O mesmo animal apresentou o valor da t1/2 bastante abaixo (73 h) dos índices encontrados nos animais do mesmo grupo (124,6 e 156,0 h), comportando-se em relação à cinética do ferro de modo semelhante aos animais parasitados. Devido a essa discrepância nos valores, a análise estatística não teve sensibilidade para detectar as diferenças observadas entre os grupos.

O **turnover** do ferro no plasma (PIT) apresentou-se aumentado nos animais infestados (0,72 ± 0,02

mg/kg/dia) relativamente aos controles (0,48 ± 0,07 mg/kg/dia) com $p < 0,05$. A curva de utilização do ferro pelas células vermelhas, em dias, apresentou valores máximos mais cedo nos bezerros parasitados, ao redor do 11º dia, enquanto que nos controles esses valores máximos foram observados no 14º dia (**Fig. 6**). A porcentagem de utilização do ferro radioativo pela medula óssea foi maior e estatisticamente significante nos animais parasitados com valores de 59,40 ± 1,59% para o grupo infestado e 42,80 ± 6,30% para o controle ($p < 0,005$).

Figura 3 - Abomaso dos animais infestados, números 3 e 4, 45 dias após ministração das larvas infestantes do **H. contortus** (500 L_3/kg).

...ERGIA NUCLEAR/SP - IPEN

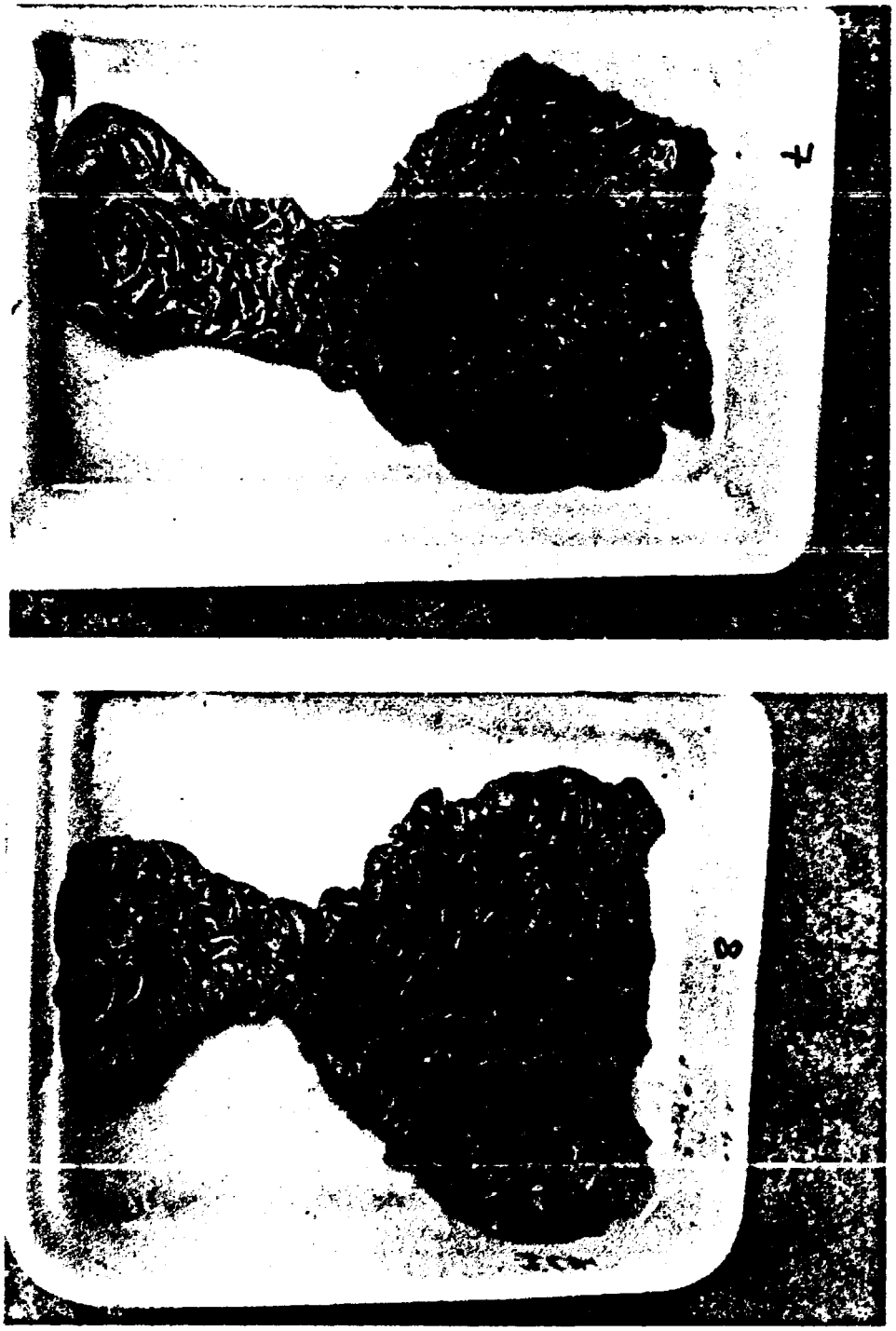


Figura 4 - Abomaso dos animais infestados, números 7 e 8, 45 dias após ministração das larvas infestantes do **H. contortus** (500 L_3/kg).

TABELA 1 - Peso na infestação, abate e ganho de peso dos bezerros dos grupos infestado e controle (M ± SE).

GRUPO EXPERIMENTAL	ANIMAL Nº	PESO NA INFESTAÇÃO (kg)	PESO NO ABATE (kg)	GANHO DE PESO (kg)
Infestado	3	115	139	24
	4	97	122	25
	7	104	114	10
	8	98	124	26
	M ± SE	103,5 ± 4,13	124,75 ± 5,21	21,25 ± 3,77
Controle	1	82,5	117,4	34,9
	2	106,0	129,2	23,2
	6	86,8	131,7	44,9
	M ± SE	91,76 ± 7,22	126,10 ± 4,40	34,33 ± 6,27

TABELA 3 - Valores de proteina total (g/100 ml), albumina sérica (g/100 ml) e ferro sérico (µg/100 ml) dos animais dos grupos infestado e controle (M ± SE).

GRUPO EXPERIMENTAL	ANIMAL Nº	PROTEÍNA TOTAL (g/100 ml)	ALBUMINA SÉRICA (g/100 ml)	FERRO SÉRICO (µg/100 ml)
Infestado	3	5,8	3,2	113,1
	4	6,2	3,1	113,2
	7	7,8	3,4	120,8
	8	6,0	3,6	123,2
	M ± SE	6,45 ± 0,45	3,32 ± 0,40	117,57 ± 2,60
Controle	1	7,1	3,8	102,6
	2	6,3	3,1	102,6
	6	6,9	3,5	142,0
	M ± SE	6,76 ± 0,24	3,46 ± 0,20	115,73 ± 13,13

TABELA 4 - Valores de hematócrito dos animais dos grupos infestado e controle desde a injeção dos radioisótopos até o final do experimento. (Média ± Desvio Padrão)

ANIMAL	DIAS APÓS INJEÇÃO DOS RADIOISÓTOPOS													
Nº	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
3	27	28	28	27	26	26	27	27	25	24	24	25	23	23
4	29	30	26	28	28	30	28	29	29	28	28	29	28	27
7	22	23,5	20,5	21	22	22	24	21	22	21	20	22	24,5	26
8	28	28,5	29	26	28	29	28	27	27,5	24	26,5	25	25	25
M ± DP	26,5 ± 2,7	27,5 ± 2,4	25,9 ± 3,3	25,5 ± 2,7	26,0 ± 2,5	26,75 ± 3,1	26,75 ± 1,6	26,4 ± 2,6	25,9 ± 2,6	24,2 ± 2,5	24,7 ± 3,0	25,3 ± 2,5	25,0 ± 1,8	25,3 ± 1,5
1	38	38	36,5	35	38	37	36	35	33	31	32	32	31	32
2	33	35	35	35	35	33	34	34	34	34	35	36	35	35
6	32,5	32	34	30,5	35	35	34	33	29	28	28	29	29	29
M ± DP	34,5 ± 2,5	35,0 ± 2,5	35,2 ± 1,0	33,5 ± 2,1	36,0 ± 1,4	35,0 ± 1,6	34,7 ± 0,9	34,0 ± 0,8	32,0 ± 2,2	31,0 ± 2,4	31,7 ± 2,9	32,0 ± 3,3	31,7 ± 2,5	32,0 ± 2,5

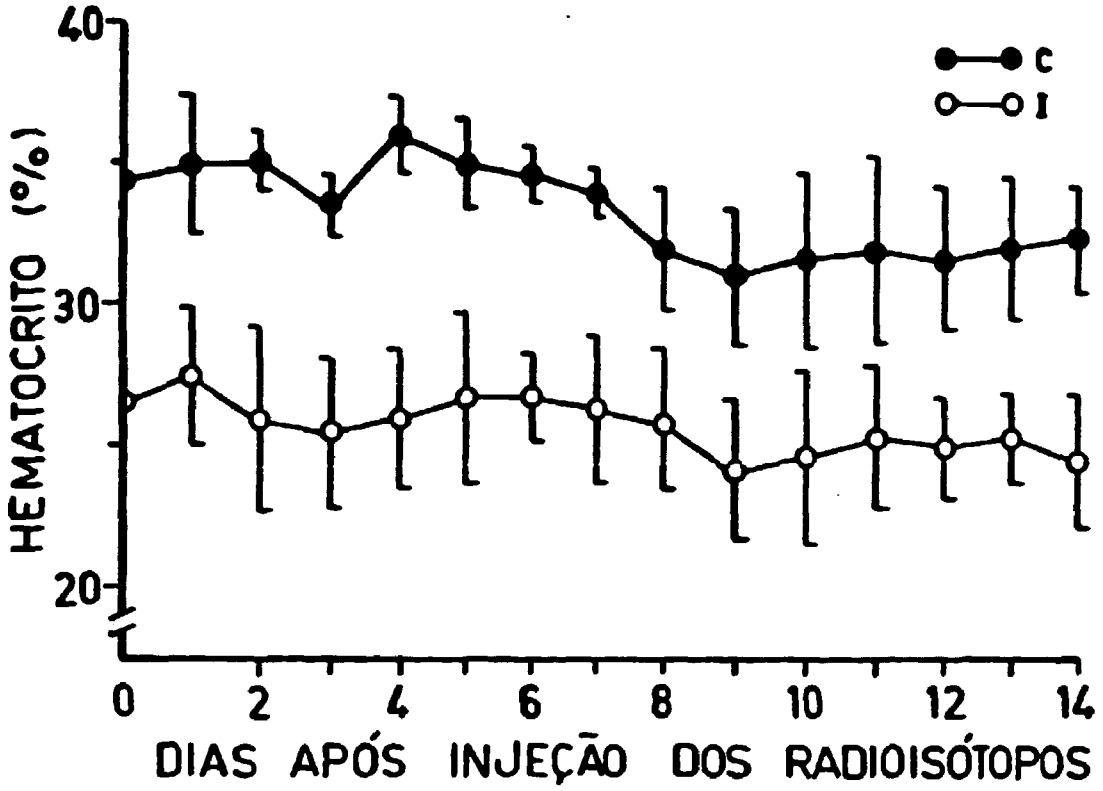


Figura 5 - Valores diários do hematócrito (%) dos bezerros dos grupos infestado e controle, desde a aplicação dos radioisótopos até o final do experimento (m ± desvio padrão).

TABELA 5 - Estudo do metabolismo da albumina em bezerros infestados com H. contortus (500 L_3/kg) e controles.

GRUPO EXPERIMENTAL	ANIMAL Nº	^{125}I ALBUMINA t 1/2 (dias)	VOLUME PLASMÁTICO (ml/kg)	IA[a] (g/kg)	EA[b] (g/kg)	EA/IA* (g/kg)	CLEARANCE ALBUMINA PELAS FEZES (ml/dia)	F (IA)[c]
INFESTADO	3	16,8	62,7	2.0	2,2	1,10	0,022	0,069
	4	17,7	58,5	1,8	2,2	1,22	0,018	0,057
	7	13,3	59,2	2,0	2,2	1,10	0,020	0,083
	8	14,9	50,2	1,8	2,3	1,27	0,013	0,070
	m ± SE	15,67 ± 0,98	57,65 ± 5,29	1,90 ± 0,05	2,22 ± 0,02	1,17 ± 0,04	0,018 ± 0,001	0,069 ± 0,005
CONTROLE	1	11,1	49,2	1,9	2,8	1,47	0,023	0,080
	2	18,1	45,2	1,4	2,1	1,50	0,031	0,093
	6	12,4	48,7	1,6	2,2	1,37	0,009	0,061
	m ± SE	13,93 ± 2,21	47,70 ± 1,25	1,63 ± 0,14	2,36 ± 0,21	1,44 ± 0,03	0,020 ± 0,006	0,074 ± 0,006

a pool de albumina intravascular
b pool de albumina extravascular
c taxa de catabolismo da albumina
* significância $p < 0,05$

TABELA 6 - Estudo da cinética das células vermelhas em bezerros infestados com H. contortus (500 L_3/kg) e controles (m ± SE).

GRUPO EXPERIMENTAL	ANIMAL Nº	VOLUME DE ERITRÓCITOS (ml/kg)	VOLUME* TOTAL DE SANGUE (ml/kg)	t 1/2 ^{51}Cr ERITRÓCITOS (hs)	CLEARANCE DO ^{51}Cr-ERITRÓCITOS PELAS FEZES (ml/dia)	CLEARANCE DO ^{51}Cr-ERITRÓCITOS PELA URINA (ml/dia)
INFESTADO	3	18,0	80,7	258	64,10	144,0
	4	17,4	75,9	182	a	55,75
	7	12,0	71,2	158	22,00	153,50
	8	18,2	68,4 .	198	18,28	336,00
	m ± SE	16,40 ± 1,47	74,05 ± 2,70	199 ± 21,31	34,79 ± 14,69	172,31 ± 58,83
CONTROLE	1	17,6	66,9	199	30,50	164,5
	2	15,6	60,9	261	5,56	146,0
	6	13,7	59,9	203	27,50	165,5
	m ± SE	15,63 ± 1,12	62,56 ± 2,18	221 ± 20,03	21,18 ± 7,86	158,66 ± 6,33

* Significância $p < 0,05$

a Amostra perdida

TABELA 7 - Estudo da cinética do ferro em bezerros infestados com H. contortus (500 L_3/kg) e controles.

GRUPO EXPERIMENTAL	ANIMAL Nº	^{59}Fe [a] t1/2 (min.)	P.I.T. [b*] (mg/dia/kg)	% UTILIZAÇÃO ^{56}Fe PELOS ERITRÓCITOS*	CLEARANCE ^{59}Fe FEZES (mg/dia)
INFESTADO	3	98,0	0,72	57,4	95,88
	4	83,0	0,79	63,2	139,86
	7	107,0	0,67	60,8	36,55
	8	88,5	0,70	56,2	115,98
	m ± SE	94,12 ± 5,29	0,72 ± 0,02	59,40 ± 1,59	97,06 ± 22,08
CONTROLE	1	124,6	0,40	38,6	0
	2	73,0	0,63	55,2	93,0
	6	156,0	0,43	34,6	0
	m ± SE	117,86 ± 24,19	0,48 ± 0,07	42,80 ± 6,30	31,00 ± 31,00

a Meia-vida do ^{59}Fe no plasma
b Turnover do ^{59}Fe no plasma
* Significância $p < 0,05$

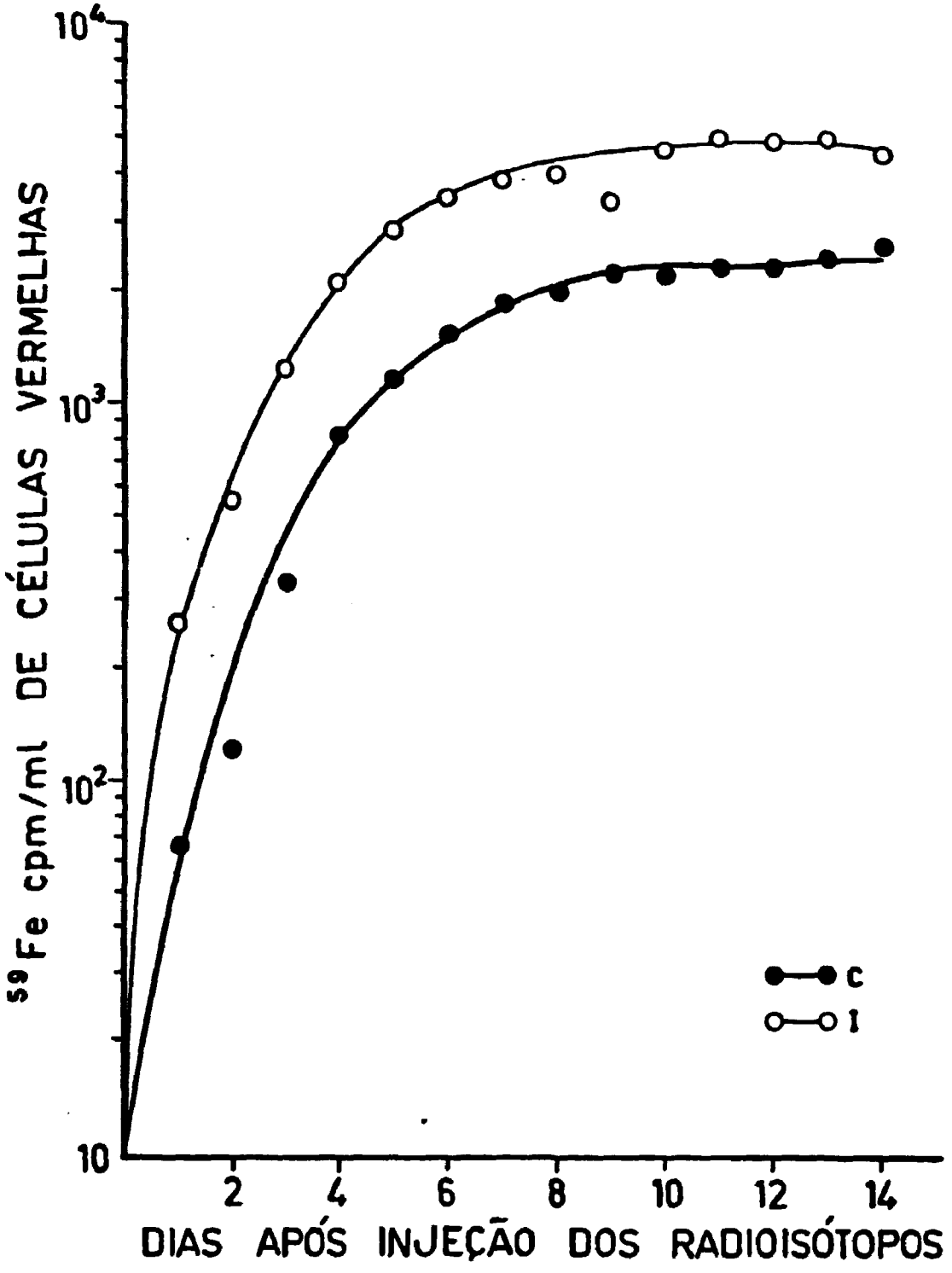


Figura 6 - Curva de utilização do ^{59}Fe, pela medula óssea, mostrando o aparecimento de novas células vermelhas, na circulação, desde a aplicação dos radioisótopos até o final do experimento nos bezerros dos grupos infestado e controle (valores médios).

5. DISCUSSÃO

Primeiramente é importante ressaltar que nem sempre foi possível estabelecer uma comparação adequada dos resultados obtidos no presente trabalho e o dos autores consultados, uma vez que praticamente todos os estudos de fisiopatologia do **Haemonchus contortus** haviam sido feitos em ovinos. Deve-se ainda mencionar que mesmo em estudos realizados com a mesma espécie animal, a fase da doença, a dose de infestação, a idade, raça, estado imune e plano nutricional do hospedeiro são alguns fatores que acarretam significativas alterações na fisiopatologia da doença (ABBOTT et alii, 1985a,b; 1986a,b). Devido a esses

fatos, as variações metabólicas ocorridas nos animais pela presença do parasito devem ser analisadas como um todo.

A dose infestante de 500 L_3 de **H. contortus** por quilograma de peso, utilizada neste experimento , levou ao aparecimento de uma haemoncose moderada enquanto em ovinos uma dose três vezes menor provocou alterações semelhantes às aqui observadas (ABBOTT et alii, 1985b) e 350 L_3 de **H. contortus** por quilograma de peso causou uma infestação aguda com alterações metabólicas significativas e mortes (ABBOTT et alii, 1986b).

A dose infestante utilizada nos bovinos deste experimento, acarretou diminuição dos valores de hematócrito, que apesar de significante em relação ao grupo controle, apresentou índices acima daqueles encontrados em infestações clínicas (HARNESS et alii, 1970). Por outro lado, baixos níveis de infestação por **H. contortus** são bastante comuns em animais com infestação mista e esses níveis, apesar de discretos, estão certamente diminuindo o desempenho dos rebanhos.

Neste experimento um menor ganho de peso foi evidenciado nos animais parasitados, que apesar de não apresentarem diferença significativa em relação aos controles sadios, foi um dado aparentemente não desprezível. É importante salientar que os animais deste experimento receberam dieta adequada através de ração balanceada comercial e feno, propiciando um bom estado nutricio-

nal que provavelmente contribuiu para o aparecimento de um quadro clínico mais ameno (BARONI, 1979; ABBOTT et alii, 1985a).

Em relação aos achados de necrópsia, as formações gelatinosas e o estado edemaciado da mucosa dos abomasos indicaram que mesmo em número não muito elevado, os parasitos causaram um processo inflamatório visível, o qual, provavelmente, interferiu nas funções do órgão, porém este é um aspecto que merece estudos mais detalhados em haemoncose bovina.

Hipoproteinemia e hipoalbuminemia não foram observadas no exame realizado no início do experimento, e os estudos do metabolismo da albumina confirmam estes dados, uma vez que o catabolismo não se apresentou aumentado nem a meia vida diminuída nos animais infestados em relação aos sadios. KERBOUF (1977) também não constatou alterações nos teores de proteína e albumina sérica em ovinos com infestação moderada e BARONI (1979) em ovinos, observou que as proteínas totais do plasma sofreram diminuição proporcional à infestação por **H. contortus.**

Sabe-se que as proteínas plasmáticas, bem como todas as outras do organismo, encontram-se em estado de equilíbrio dinâmico entre síntese e catabolismo.

SYMONS (1985) mostrou que ovinos parasitados por T. **colubriformis** reduziram a síntese proteica de locais menos vitais aumentando a síntese de proteínas es

senciais tais como albumina e hemoglobina ou células proliferativas do trato gastrintestinal. Segundo DARGIE (1975) inicialmente essas perdas são facilmente repostas pelo **pool** extravascular porém devido a um hipercatabolismo contínuo esse **pool** torna-se progressivamente reduzido. No caso do presente experimento provavelmente esses fatos tenham ocorrido.

O catabolismo da albumina intravascular F(IA), também manteve-se inalterado durante o período experimental, porém observou-se variações no tamanho dos **pools** dessa proteína. A relação entre os **pools** extra e intravasculares evidenciaram um desequilíbrio na distribuição dessa proteína com um ligeiro aumento deste último, e este fato, segundo DARGIE (1975) e ABBOTT et alii (1985) precede a diminuição dos teores de albumina plasmática.

Em relação à análise matemática dos compartimentos da albumina, vale ressaltar que este estudo não é essencial nem conclusivo em análises do comportamento da albumina, porém, por meio dele, foi possível, utilizando os pontos experimentais, obter as simulações das curvas que melhor representam os pontos encontrados e ilustrar o comportamento dinâmico das trocas de albumina entre os dois compartimentos, bem como a eliminação dessa proteína durante todo o período experimental.

A não constatação de um aumento do catabolismo da albumina foi um índice de difícil explicação

uma vez que os animais infestados apresentaram uma perda de sangue pelas fezes e diminuição dos índices de hematócrito que, apesar de discretas, foram acompanhadas por perdas plasmáticas. Em todos os estudos realizados com haemoncose ovina este é um índice bastante significativo mesmo em infestações moderadas. ROWE et alii (1982) observaram que proteínas perdidas no abomaso de ovinos com haemoncose foram, em parte, reabsorvidas pelo intestino delgado. Este fato, somado à ingestão proteica a níveis adequados, provavelmente tenham sido os fatores responsáveis pela não alteração significante do F(IA) e talvez, nos bovinos, a capacidade de reabsorção das proteínas perdidas no abomaso pelo intestino delgado seja maior, fato este que ainda não foi motivo de estudos em bovinos.

O volume plasmático mostrou-se duas vezes e meia maior nos animais infestados por **H. contortus** e esse fato já foi observado em ovinos (DARGIE, 1975; ABBOTT et alii, 1986a,b).

Este achado está relacionado com as alterações na distribuição e eliminação da água e segundo HOLMES (1987) este mecanismo não está totalmente compreendido e envolve alterações no balanço hormonal e proteico.

Anemia é o aspecto mais significante na haemoncose e vários estudos mostraram que esta é causada principalmente pela ação sugadora das formas larvais e adultas do parasito na mucosa do abomaso, somada à defi

ciência de ferro advinda das perdas plasmáticas que ocorrem juntamente com as células sanguíneas.

Em relação à meia vida e ao clearance do ^{51}Cr via fezes e urina, que refletem o tempo de vida e as perdas das células vermelhas respectivamente, o teste t, devido ao reduzido número de repetições utilizadas para cada tratamento e ao alto desvio padrão, não apresentou diferença significativa. Porém a t 1/2 do cromo radioativo foi 22 horas menor nos bezerros com haemoncose e as perdas de sangue, via urinária e gastrintestinal, demonstraram valores superiores.

Neste experimento o volume total de eritrócitos circulantes não se alterou apesar das perdas de sangue e da queda nos valores do hematócrito. Esta queda é facilmente explicada pelo aumento do volume plasmático, uma vez que a ação sugadora das formas hematófagas do nematóide foi satisfatoriamente compensada pela medula óssea como pode-se observar pelo estudo da cinética do ferro. Neste estudo, a velocidade de desaparecimento do ^{59}Fe do plasma e o aparecimento deste nas hemácias foi evidenciado, ocorrendo precocemente nos animais parasitados.

O dia de máxima captação da transferrina pela medula óssea para formação de novas células, ocorreu primeiramente nos animais infestados, com aumento da porcentagem de utilização do ferro pela medula óssea em 50% e da depuração do ferro, do plasma para a medula (PIT), em

uma vez e meia.

Os resultados mostraram que o organismo animal reagiu prontamente às perdas de sangue com produção de novas células vermelhas, o que nesse grau de infestação, somado à disponibilidade do ferro tanto na circulação, uma vez que os níveis estavam normais, como na dieta balanceada, permitiu uma reposição rápida dessas perdas pelo incremento da eritropoese.

O volume total de sangue, determinado pelas medidas de volume de células vermelhas mais volume plasmático, mostrou-se aumentado em 20% nos animais parasitados e isto é um reflexo direto do aumento de plasma constatado nesses animais, uma vez que o número de eritrócitos circulantes não se alterou, como anteriormente comentado.

DARGIE (1975) afirmou que no caso da haemoncose ovina, o resultado final da doença depende da habilidade do hospedeiro em resistir ou limitar a infestação, havendo um reflexo direto no grau da anemia com maior ou menor capacidade de reposição do sangue perdido pela hemorragia causada pelo parasito. Esta capacidade de reposição, em ovinos, já provou estar diretamente relacionada com raça, idade e plano nutricional dos animais entre outros fatores (ALTAIF & DARGIE, 1978; ABBOTT et alii, 1986b). Este é outro aspecto que merece ser investigado em bovinos, uma vez que pelos estudos epidemiológicos existentes no país (GUIMARÃES et alii, 1983; FURLONG et alii, 1985; BIAN

CHIN & HONER, 1987) é possível constatar que a haemoncose está presente nos bovinos de leite e de carne com prevalência semelhantes, ao redor de 18%, restando, porém, estudos comparativos em relação à fisiopatologia da doença em bovinos de sangue taurino e zebuíno.

Esses estudos, com haemoncose bovina, merecem continuidade utilizando dose infestante maior com quadro clínico e patogenia mais evidentes, o que, certamente, contribuirá para melhor interpretação dos achados deste experimento, permitindo comparações da intensidade da resposta do hospedeiro à ação de diferentes níveis de infestação por **Haemonchus contortus**.

A maior vantagem do uso de radionuclídeos em estudos de sistemas biológicos é que estes comportam-se de modo idêntico aos seus isótopos estáveis, porém devido às características físicas das radiações emitidas , eles são facilmente identificados. Outra vantagem é que as radiações emitidas são detectadas com alta sensibilidade e geralmente uma pequena massa, bem como atividade, são necessárias nesses estudos.

Neste trabalho, cuidados com manuseio dos animais, das amostras, bem como todas as normas de proteção radiológica foram consideradas (IAEA, 1982).

A eficácia dos métodos utilizados vem do fato de que eles permitiram observações além das descrições clínicas e análises bioquímicas convencionais e

mostraram variações ocorridas nos animais parasitados em termos de alterações no tamanho dos **pools** e taxa de renovação dos constituintes essenciais dos animais, tais como eritrócitos e albumina. Deste modo, essas técnicas, além de permitirem uma mais precisa compreensão da patogenia da doença, forneceram dados sobre a resposta dos animais à infestação parasitária. Por exemplo, o fato dos índices do hematócrito terem diminuído nos animais com haemonose foi facilmente observado pela simples elaboração de um exame, porém, como os animais estavam respondendo a essas perdas, a massa total de eritrócitos circulantes e perda dessas células só puderam ser determinadas através de traçadores radioativos.

Este trabalho, além de avaliar as alterações fisiopatológicas em bovinos com infestação moderada pelo **H. contortus**, contribuíu na implantação de uma metodologia de pesquisa através de técnicas radioisotópicas, que dinamizaram as observações dessas variações e que poderão ser empregadas em estudos de várias outras parasitoses de importância no país.

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nas condições do presente experimento permitem concluir:

. A haemoncose alterou a distribuição da albumina plasmática com diminuição da relação entre os **pools** extra e intravasculares.

. Os bezerros parasitados apresentaram um aumento na eritropoese com maior utilização do ferro plasmático.

. Nos animais infestados houve um aumento do volume plasmático com conseguinte aumento no volume total de sangue.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. Influence of dietary protein on the pathophysiology of ovine haemonchosis in Finn Dorset and Scottish Blackface lambs given a single moderate infection. **Res. Vet. Sci., 38**: 54-60, 1985b.

ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. Influence of dietary protein on parasite establishment and pathogenesis in Finn Dorset and Scottish Blackface lambs given a single moderate infection of **Haemonchus contortus**. **Res. Vet. Sci., 38**: 6-13, 1985a.

ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. Influence of dietary protein on the pathophysiology of haemonchosis in lambs given continuous infections. **Res. Vet. Sci.,45**: 41-9, 1988.

ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. Studies on the pathophysiology of chronic ovine haemonchosis in Merino and Scottis Blackface lambs. **Parasitology, 89**: 585-96, 1984.

ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. The effect of dietary protein on the pathogenesis of acute ovine haemonchosis. **Vet. Parasitol., 20**: 275-89, 1986a.

ABBOTT, E.M.; PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H. The effect of dietary protein on the pathophysiology of acute ovine haemonchosis. **Vet. Parasitol., 20**: 291-306, 1986b.

ALLONBY, E.W. & DARGIE, J.D. Ovine haemonchosis. In: URQUHART, G.M. & ARMOUR, J. **Helminth diseases of cattle, sheep and horses in Europe.** Glasgow, University Press, 1973. p. 59-71. (Proceedings of a Symposium held at the University of Glasgow, Veterinary School, Scotland).

ALTAIF, K.I. & DARGIE, J.D. Genetic resistance of helminths. The influence of breed and haemoglobin type on the response of sheep to primary infections with **Haemonchus contortus**. **Parasitology, 77**: 161-75, 1978.

ARMOUR, J.; BAIRDEN, K.; HOLMES, P.H.; PARKINS, J.J.; PLOEGER, H.; SALMAN, S.K.; McWILLIAM, P.N. Pathophysiology and parasitological studies on **Cooperia oncophora** infections in calves. **Res. Vet. Sci., 42**: 373-81, 1987.

BAKER, N.F. & DOUGLAS, J.R. Blood alterations in helminth infection. **Biology of Parasites.** Academic, New York, 1966.

BAKER, N.F.; COOK, E.F.; DOUGLAS, J.R.; CORNELIUS, C.E. The pathogenesis to trichonstrongyloid parasites. III- Some physiological observation in lambs suffering from acute gastroenterites. J. **Parasitol.**, 45: 643-51, 1959.

BARKER, I.K. A study of the pathogenesis of **Trichostrongylus colubriformis** infection in lambs with observations on the contribution of gastrointestinal plasma loss. **Int. J. Parasitol.**, 3: 743-57, 1973.

BARONI, J.M. **Considerações sobre o critério de carga patogênica de Haemonchus contortus (Rudolphi, 1803) em ovinos (Ovis aries Lineu, 1758) em relação ao peso corporal, eritrograma, proteínas totais do plasma, número de ovos por grama de fezes, pH do conteúdo do abomaso e número de vermes encontrados nas necrópsias.** Santa Maria, R.S., Faculdade de Medicina Veterinária, 1979. [Dissertação de Mestrado].

BIANCHIN, I. & HONER, M.R. Endoparasites of cattle in the Tropical Savannah of South America: Epidemiology, Control, and Economics. In: DEANNING, W.H.D. & GUERRERO. J. **The economic impact of parasitism in cattle.** Montreal, 1987. p. 49-51 (Proceedings of the MSD/AGVET Symposium).

BOTHWELL, T.H.; HURTADO, A.V.; DONOHVE, D.M.; FINCH, C.A. Erythrokinetics. IV - The plasma iron turnover as a

measure of erythropoiesis. J. Hematology, 12(5):409 - 27, 1957.

BREMNER, K.C. Pathogenic factors in experimental bovine oesophagostomosis. II - Plasma iron-binding capacity, and reticulocyte responses. Exp. Parasitol., 24: 184-93, 1969a.

BREMNER, K.C. Pathogenetic factors in experimental bovine oesophagostomosis. III - Demonstration of protein - losing enteropathy with ^{51}Cr-albumin. Exp. Parasitol., 24: 364-74, 1969b.

BREMNER, K.C. The pathophysiology of parasitic gastroenteritis of cattle. In: SYMONS, L.E.A.; DONALD, A. ; DINEEN, J. Biology and control of endoparasites. Australia, Academic, 1982. p. 277-89.

CAMPBELL, R.M.; CUTHBERTSON, D.P.; MATTHEWS, C.M.; MacFARLANE, A.S. The behaviour of ^{14}C and ^{131}I-labelled plasma proteins in the rat. Int. J. Appl. Radiat. Isot., 1: 66-84, 1956.

CLARK, C.H.; KIESEL, G.K.; GOBY, C.H. Measurements of blood loss cuased by Haemonchus contortus infection in sheep. Am. J. Vet. Res., 23: 977-80, 1962.

DARGIE, J.D. Application of radioisotopic techniques to the study of red cell and plasma protein metabolism in helminth diseases of sheep. In: TAYLOR, A.E.R. & MULLER, R. **Pathogenic processes in parasitic infections.** London, Blackwell, 1975. p. 1-26. (Symposia of the British Society for Parasitology, 13).

DARGIE, J.D. The pathophysiological effects of gastrointestinal and liver parasites in sheep. In: RUCKEBUSCH, Y. & THIVEND, P. **Digestive physiology and metabolism in ruminants.** Connecticut, Avi, 1980. p. 349-71.

DARGIE, J.D. & ALLONBY, E.W. Pathophysiology of single and challenge infections of **Haemonchus contortus** in Merino sheep. Studies on red cell kinetcs and the "self-cure" phenomenon. **Int. J. Parasitol., 5:** 147-57, 1975.

DAWSON, A.M. & WILLIAMS, H.S. Faecal PVP excretion in hipoalbuminemia and gastrointestinal disease. **Brit. Med. J., 2:** 667-69, 1961.

ENTROCASSO, C.M.; PARKINS, J.J.; ARMOUR, J.; BAIRDEN, K.; McWILLIAN, P.N. Production parasitological and carcase evaluation studies in steers exposed to trichostrongyle infection and treated with a morantel bolus or febendazole in two consecutive grazing seasons. **Res. Vet. Sci., 40:** 76-85, 1986.

FURLONG, J.; ABREU, H.G.L.; VERNEQUE, R.S. Parasitoses dos bovinos na região da Zona da Mata de Minas Gerais. I - Comportamento estacional de nematóides gastrintestinais. **Pes. Agropec. bras.**, Brasília, 18(3): 287-93, 1983.

GIBBONS, L.M. Revision of the genus **Haemonchus** Cobb, 1898. (Nematoda: Trichostrongylidae). **Syst. Parasit.**, 1(1): 3-24, 1979.

GORDON, H. McL. & WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J. Council Sci. Ind. Res. Australia**, 12: 50-2, 1939.

GRAY, S.J. & STERLING, K. The tagging of red cells and plasma proteins with radioactive chromium. **J. Clin. Invest.**, 29: 1604-7, 1950.

GUIMARÃES, M.P.; LIMA, W.S.; LEITE, A.C.R.; COSTA, J.O. Gastrointestinal nematode infection in beef cattle from the Savannah Region ("Cerrado") of Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, 35(6):845-51, 1983.

HALLIDAY, G.J.; DALTON, R.G.; ANDERSON, N.; MULLIGAN, W. Total body water and total solids in cattle affected with Ostertagiasis. **Brit. Vet. J.**, 121: 547-51, 1965.

HARNESS, E.; FITZSIMMONS, W.M.; SELLWOOD, S.A. Experimental **Haemonchus contortus** infection in calves. Blood picture at three levels of infection. **J. Comp. Path.**, **80**: 173-9, 1970.

HOLMES, P.H. Pathophysiology os nematode infections. **Int. J. Parasitol.**, **17**(2): 443-51, 1987.

HOLMES, P.H. & MAcLEAN, J.M. The pathophysiology of ovine oestertagiasis: a study of the changes in plasma protein metabolism following single infection. **Res. Vet. Sci.**, **12**: 256-71, 1971.

HOLMES, P.H.; DARGIE, J.D.; MacLEAN, J.M.; MULLIGAN, W. The anaemia in fascioliasis: studies with ^{51}Cr labelled red cells. **J. Comp. Path.**, **78**: 415-20, 1968.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **Laboratory training manual on the use of nuclear tecniques in animal parasitology.** Vienna, 1982. (Technical Report Series, 219).

KERBOEUF, D. Changes in pepsinogen, proteins and lipids in the serum during experimental haemonchosis in sheep. **Ann. Rech. Vet.**, **8**(3): 257-66, 1977.

KIEFFER, J. Perda de proteína plasmáticas pelo trato digestivo. In: ROCHA, A.F.G. **Medicina Nuclear.** Guanabara, Koogan, 1976. p. 283-88.

KUTTLER, K.L. & MARBLE, D.W. Serum protein changes in lambs with naturally acquired nematode infections. **Am. J. Vet. Res.**, 445-8, 1960.

Mc FARLANE, A.S. Metabolism of plasma proteins. In: Munro and Allison Eds. **Mammalian Protein Metabolism,** Academic Press, New York, London, 1964.

MATTEHWS, C.M.E. The theory of tracer experiments with ^{131}I-labelled plasma proteins. **Phys. Med. Biol.,** 2: 36-53, 1957.

MIRANDA, M.A. **Aspectos biométricos de alguns caracteres morfológicos de duas espécies do gênero Haemonchus** Cobb, 1898. Rio de Janeiro, Universidade Federal Rural, 1981. [Dissertação de Mestrado].

MULLIGAN, W. Radioisotope tecniques in pathophysiological studies of helminthiasis. In: URQUHART, G.M. & ARMOUR, J. **Helminth diseases of cattle sheep and horses in Europe.** Glasgow, The University Press, 1973. P. 127-31. (Proceedings of a Symposium held at the University of Glasgow, Veterinary School, Scotland).

PARKINS, J.J.; HOLMES, P.H.; BREMNER, K.C. The pathophysiology of ovine ostertagiasis: some nitrogen balance and digestibility studies. **Res. Vet. Sci., 14**: 21-8, 1973.

POLLYCOVE, M. & MORTIMER, R. The quantitative determination of iron kinetics and hemoglobin synthesis in human subjects. **J. Clin. Invest., 40**: 753-5, 1961.

ROBERTS, F.H.S. Reactions of calves to infestation with the stomach worm **Haemonchus placei** (Place, 1893) Ransom, 1911. **Aust. J. Agric. Res., 8**: 740-67, 1957.

ROBERTS, F.H.S. & O'SULLIVAN, P.J. Methods for counts and larval cultures for strongyle infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Aust. J. Agric. Res., 1**: 99-102, 1950.

ROWE, J.B.; ABBOTT, E.M.; DARGIE, J.D.; HOLMES, P.H. The effect of Haemonchosis and blood loss into the abomasum on N digestion in sheep. **Proc. Nutr. Soc., 41**: 74A, 1982.

ROWE, J.B.; NOLAN, J.V.; CHANEET, G. de; TELENI, E.; HOLMES, P.H. The effect of haemonchosis and blood loss into the abomasum on digestion in sheep. **Brit. J. Nutr., 59**: 125-39, 1988.

SAS User's guide statistics. 5. ed. Cary N.C., SAS Institute Inc., 1985.

SILVERMAN, P.H.; MANSFIELD , M.E.; SCOTT, H.L. **Haemonchus contortus** infection in sheep: effects of various levels of primary infections on non-treated lambs. **Am. J. Vet. Res.**, 31(5): 841-57, 1970.

SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. A general method of fitting non linear regressions. In: SNEDECOR, G.W. & COCHRAN , W.G. **Statistical Methods.** 6ª Ed., Iowa, 1967. p. 465-74.

SWENSON, M.J. Physiological properties and cellular and chemical constituints of blood. In: SWENSON, M.J. **Dukes physiology of domestic animals.** 20 ed. London , 1984. p. 15-40.

SYMONS, L.E.A. Anorexia: Occurence, pathophysiology and parasitic infections. **Adv. Parasitol.**, 24: 103-33, 1985.

SYMONS, L.E.A. & JONES, W.O. Intestinal protein synthesis in guinea pigs infectes with **Trichostrongylus colubriformis.** In: EKEN, A. & SUNDSTOL, F. **Energy metabolism of farm animals.** Oslo, The Agricultural University of Norway, 1982. p. 112-5.

SYMONS, L.E.A. & JONES, W.O. Protein metabolism V - **Trichostrongylus colubriformis**: changes of host body mass and protein synthesis in guinea-pigs with light to heavy infections. **Exp. Parasitol.**, **44**: 7-13, 1978.

SYMONS, L.E.A.; JONES, W.O.; STEEL, J.W. Protein metabolism: III Relationship between albumin metabolism and elevated liver protein synthesis in the guinea pig infected with **Trichostrongylus colubriformis**. **Exp. Parasitol.**, **35**: 492-502, 1974.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A. M. ; JENNINGS, F.W. **Veterinary Parasitology.** England , Longman Scientific & Technical, 1987. 286 p.

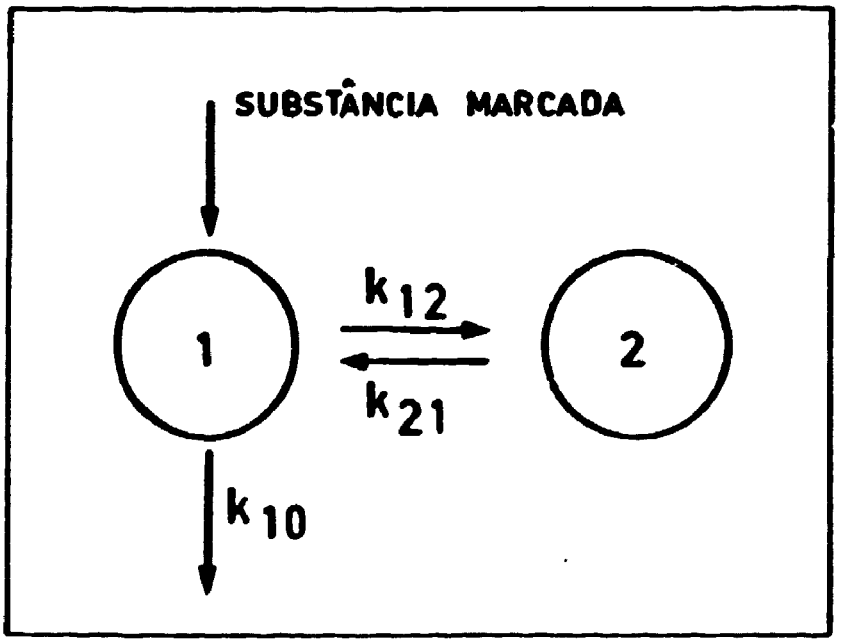
VEGLIA, F. The anatomy and life cycle of **Haemonchus contortus**. **Rep. Vet. Res. Un. S. Afr.**, **3**: 347-500, 1915/apud ref. nº 7 .

VIEIRA BRESSAN, M.C.R.; GENNARI, S.M.; ROGERO, J.R.; Mac LEAN, J.M.; DUNCAN, J.L. Study of body water and water turnover in calves infected with **Haemonchus contortus**. (To be published)

APÊNDICE

Dos dados experimentais obtidos da marcação do ^{125}I-albumina foi realizada uma análise modelo bi-compartimental segundo BERMAN & WEISS, 1974 (1).

Os dados da curva intravascular, expressa em porcentagem de dose, ajustaram-se a uma soma de duas exponenciais. Isto sugere um modelo de dois compartimentos, esquematizados na figura abaixo



onde:

Compartimento 1 - corresponde ao compartimento de albumina intravascular.

Compartimento 2 - corresponde ao compartimento de albumina extravascular.

O modelo supõe que:

- No instante inicial toda substância radioativa (100% da dose ministrada) encontra-se no **compartimento 1.**

- A eliminação da substância radioativa de um compartimento obedece a um processo de primeira ordem, isto é, a quantidade de substância que sai do compartimento na unidade de tempo é proporcional à quantidade de substância presente nele.

Estas hipóteses implicam que o modelo matemático que descreve a evolução no tempo da substância marcada é um sistema de equações diferenciais lineares de primeira ordem com coeficientes constantes do tipo:

$$\text{(1)}\quad \begin{cases} \dfrac{dQp(t)}{dt} = -(k_{10} + k_{12})\, Qp(t) + K_{21}\, Qe(t) & \text{Condições iniciais: } Qp(t=0) = 100\% \\ \dfrac{dQe(t)}{dt} = -k_{21}\, Qe(t) + k_{12}\, Qp(t) & Qe(t=0) = 0 \\ \dfrac{dQs(t)}{dt} = -k_{10}\, Qp(t) & Qs(t=0) = 0 \end{cases}$$

onde:

Qp(t) - porcentagem da substância marcada existente no compartimento intravascular.

Qe(t) - porcentagem da substância marcada existente no extravascular.

$Q_e(t)$ - porcentagem (acumulada) da substância marcada eliminada.

k_{ij} - coeficiente ou constante de transferência e representa a fração da substância marcada contida no i-ésimo compartimento que é transferido na unidade de tempo para o j-ésimo compartimento (neste caso k_{12} e k_{21}).

k_{10} - coeficiente ou constante de eliminação e representa a fração da substância marcada contida no compartimento vascular que é transferida na unidade de tempo para o exterior do sistema.

O problema da determinação numérica dos coeficientes de transferência, à partir do conhecimento dos pontos experimentais das curvas intravascular e de excreção, ambas expressas em porcentagem de dose, foi resolvido pelo emprego do código SAAM25 (Simulation Analysis And Modeling) desenvolvido por BERMAN & WEISS, 1971[1].

Os resultados numéricos dos coeficientes de transferência encontram-se na Tabela 1.

Os coeficientes de transferência foram substituídos no sistema de equações diferenciais (1) e a solução foi obtida através do sistema CSMP (Continous Sistems Modeling Program)[2].

A simulação do modelo bi- comportamental foi feita até 350 horas, com a obtenção de solução de 10 em 10, totalizando 36 pontos.

Com os resultados obtidos construi-se um gráfico no qual foram traçadas as curvas:

Qp(t) versus t (curva de atividade intravascular x tempo).

Qe(t) versus t (curva de atividade extravascular x tempo).

Qs(t) versus t (curva de atividade excretada x tempo)

Qr(t) versus t (curva de atividade retida no organismo x tempo), onde

$Qr(t) = Qp(t) + Qe(t)$

e os pontos experimentais da curva de atividade intravascular da curva de atividade retida e da curva de excreção.

Todos os dados estão em porcentagem de dose.

Estas curvas foram obtidas com o SAS/GRAPH (3) e foram traçadas numa unidade "plotter" TK4662.

Os pontos experimentais e os simulados encontram-se na Tabela 2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BERMAN, M. & WEISS, M.F. User's manual for SAAM. (Simulation, analysis and modeling), version SAAM 25, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, 1974.

2. SYSTEM/360 Continuous System Modeling Program. User's manual, IBM. Technical Publication Department, White Plains, New York, 1972.

3. SAS/GRAPH. User's guide. Version 5, SAS Institute Inc., Cary, North Caroline, 1985.

T	QP	QE	QS	C1
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	6.0390E+01	3.7172E+01	2.4479E+00	9.7552E+01
2.0000E+01	4.3383E+01	5.2565E+01	4.0512E+00	9.5940E+01
3.0000E+01	3.5591E+01	5.8719E+01	5.2992E+00	9.4710E+01
4.0000E+01	3.2673E+01	6.0958E+01	6.3630E+00	9.3631E+01
5.0000E+01	3.1082E+01	6.1525E+01	7.3742E+00	9.2626E+01
6.0000E+01	3.0237E+01	6.1421E+01	8.3424E+00	9.1667E+01
7.0000E+01	2.9701E+01	6.1005E+01	9.2955E+00	9.0710E+01
8.0000E+01	2.9301E+01	6.0476E+01	1.0222E+01	8.9772E+01
9.0000E+01	2.8961E+01	5.9896E+01	1.1143E+01	8.8860E+01
1.0000E+02	2.8647E+01	5.9295E+01	1.2054E+01	8.7965E+01
1.1000E+02	2.8346E+01	5.8699E+01	1.2955E+01	8.7085E+01
1.2000E+02	2.8052E+01	5.8101E+01	1.3847E+01	8.6215E+01
1.3000E+02	2.7764E+01	5.7507E+01	1.4729E+01	8.5370E+01
1.4000E+02	2.7479E+01	5.6918E+01	1.5602E+01	8.4537E+01
1.5000E+02	2.7197E+01	5.6335E+01	1.6467E+01	8.3713E+01
1.6000E+02	2.6919E+01	5.5759E+01	1.7322E+01	8.2899E+01
1.7000E+02	2.6643E+01	5.5187E+01	1.8169E+01	8.2094E+01
1.8000E+02	2.6370E+01	5.4622E+01	1.9007E+01	8.1298E+01
1.9000E+02	2.6100E+01	5.4063E+01	1.9837E+01	8.0513E+01
2.0000E+02	2.5832E+01	5.3509E+01	2.0658E+01	7.9741E+01
2.1000E+02	2.5568E+01	5.2961E+01	2.1470E+01	7.8979E+01
2.2000E+02	2.5306E+01	5.2419E+01	2.2275E+01	7.8224E+01
2.3000E+02	2.5047E+01	5.1882E+01	2.3071E+01	7.7482E+01
2.4000E+02	2.4790E+01	5.1350E+01	2.3859E+01	7.6740E+01
2.5000E+02	2.4536E+01	5.0824E+01	2.4639E+01	7.6011E+01
2.6000E+02	2.4285E+01	5.0304E+01	2.5410E+01	7.4589E+01
2.7000E+02	2.4036E+01	4.9788E+01	2.6174E+01	7.3825E+01
2.8000E+02	2.3790E+01	4.9279E+01	2.6930E+01	7.3069E+01
2.9000E+02	2.3546E+01	4.8774E+01	2.7679E+01	7.2320E+01
3.0000E+02	2.3305E+01	4.8274E+01	2.8419E+01	7.1579E+01
3.1000E+02	2.3066E+01	4.7780E+01	2.9153E+01	7.0846E+01
3.2000E+02	2.2830E+01	4.7290E+01	2.9878E+01	7.0121E+01
3.3000E+02	2.2596E+01	4.6806E+01	3.0596E+01	6.9402E+01
3.4000E+02	2.2365E+01	4.6327E+01	3.1307E+01	6.8691E+01
3.5000E+02	2.2136E+01	4.5852E+01	3.2011E+01	6.7988E+01

T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
C1 = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

T	QP	QE	QS	CI
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	6.8712E+01	2.7907E+01	3.3814E+00	9.6619E+01
2.0000E+01	5.2795E+01	4.1373E+01	5.8324E+00	9.4167E+01
3.0000E+01	4.4550E+01	4.7643E+01	7.8070E+00	9.2193E+01
4.0000E+01	4.0137E+01	5.0331E+01	9.5315E+00	9.0485E+01
5.0000E+01	3.7643E+01	5.1238E+01	1.1119E+01	8.8881E+01
6.0000E+01	3.6110E+01	5.1263E+01	1.2627E+01	8.7373E+01
7.0000E+01	3.5062E+01	5.0856E+01	1.4082E+01	8.5918E+01
8.0000E+01	3.4260E+01	5.0239E+01	1.5501E+01	8.4499E+01
9.0000E+01	3.3586E+01	4.9525E+01	1.6889E+01	8.3110E+01
1.0000E+02	3.2980E+01	4.8768E+01	1.8252E+01	8.1748E+01
1.1000E+02	3.2412E+01	4.7998E+01	1.9590E+01	8.0409E+01
1.2000E+02	3.1868E+01	4.7226E+01	2.0906E+01	7.9094E+01
1.3000E+02	3.1340E+01	4.6460E+01	2.2200E+01	7.7800E+01
1.4000E+02	3.0824E+01	4.5704E+01	2.3472E+01	7.6527E+01
1.5000E+02	3.0318E+01	4.4958E+01	2.4724E+01	7.5276E+01
1.6000E+02	2.9821E+01	4.4224E+01	2.5955E+01	7.4045E+01
1.7000E+02	2.9333E+01	4.3501E+01	2.7165E+01	7.2834E+01
1.8000E+02	2.8853E+01	4.2790E+01	2.8356E+01	7.1643E+01
1.9000E+02	2.8381E+01	4.2090E+01	2.9528E+01	7.0471E+01
2.0000E+02	2.7917E+01	4.1402E+01	3.0680E+01	6.9319E+01
2.1000E+02	2.7460E+01	4.0725E+01	3.1814E+01	6.8185E+01
2.2000E+02	2.7011E+01	4.0059E+01	3.2929E+01	6.7070E+01
2.3000E+02	2.6570E+01	3.9404E+01	3.4026E+01	6.5973E+01
2.4000E+02	2.6135E+01	3.8759E+01	3.5104E+01	6.4895E+01
2.5000E+02	2.5708E+01	3.8126E+01	3.6166E+01	6.3833E+01
2.6000E+02	2.5287E+01	3.7502E+01	3.7209E+01	6.2789E+01
2.7000E+02	2.4874E+01	3.6889E+01	3.8236E+01	6.1763E+01
2.8000E+02	2.4467E+01	3.6286E+01	3.9246E+01	6.0753E+01
2.9000E+02	2.4067E+01	3.5692E+01	4.0240E+01	5.9759E+01
3.0000E+02	2.3673E+01	3.5109E+01	4.1217E+01	5.8782E+01
3.1000E+02	2.3286E+01	3.4534E+01	4.2178E+01	5.7821E+01
3.2000E+02	2.2905E+01	3.3970E+01	4.3124E+01	5.6875E+01
3.3000E+02	2.2531E+01	3.3414E+01	4.4054E+01	5.5945E+01
3.4000E+02	2.2162E+01	3.2868E+01	4.4968E+01	5.5032E+01
3.5000E+02	2.1800E+01	3.2330E+01	4.5868E+01	5.4130E+01

T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
CI = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

TABELA 2 - ANIMAL 3

T	QP	QE	QS	CI
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	7.0249E+01	2.7111E+01	2.6398E+00	9.7360E+01
2.0000E+01	5.5691E+01	3.9702E+01	4.6070E+00	9.5393E+01
3.0000E+01	4.8407E+01	4.5350E+01	6.2425E+00	9.3757E+01
4.0000E+01	4.4611E+01	4.7680E+01	7.7092E+00	9.2291E+01
5.0000E+01	4.2488E+01	4.8426E+01	9.0854E+00	9.0914E+01
6.0000E+01	4.1171E+01	4.8420E+01	1.0409E+01	8.9591E+01
7.0000E+01	4.0245E+01	4.8058E+01	1.1597E+01	8.8302E+01
8.0000E+01	3.9509E+01	4.7571E+01	1.2960E+01	8.7040E+01
9.0000E+01	3.8869E+01	4.6930E+01	1.4201E+01	8.5799E+01
1.0000E+02	3.8279E+01	4.6298E+01	1.5422E+01	8.4577E+01
1.1000E+02	3.7717E+01	4.5657E+01	1.6626E+01	8.3374E+01
1.2000E+02	3.7172E+01	4.5016E+01	1.7811E+01	8.2188E+01
1.3000E+02	3.6639E+01	4.4380E+01	1.8980E+01	8.1019E+01
1.4000E+02	3.6116E+01	4.3751E+01	2.0132E+01	7.9867E+01
1.5000E+02	3.5602E+01	4.3130E+01	2.1268E+01	7.8732E+01
1.6000E+02	3.5095E+01	4.2517E+01	2.2387E+01	7.7612E+01
1.7000E+02	3.4596E+01	4.1912E+01	2.3491E+01	7.6508E+01
1.8000E+02	3.4104E+01	4.1317E+01	2.4579E+01	7.5421E+01
1.9000E+02	3.3619E+01	4.0729E+01	2.5651E+01	7.4348E+01
2.0000E+02	3.3141E+01	4.0150E+01	2.6708E+01	7.3291E+01
2.1000E+02	3.2670E+01	3.9579E+01	2.7750E+01	7.2249E+01
2.2000E+02	3.2205E+01	3.9016E+01	2.8778E+01	7.1222E+01
2.3000E+02	3.1747E+01	3.8462E+01	2.9790E+01	7.0209E+01
2.4000E+02	3.1296E+01	3.7915E+01	3.0789E+01	6.9211E+01
2.5000E+02	3.0851E+01	3.7376E+01	3.1772E+01	6.8227E+01
2.6000E+02	3.0412E+01	3.6844E+01	3.2743E+01	6.7256E+01
2.7000E+02	2.9980E+01	3.6320E+01	3.3699E+01	6.6300E+01
2.8000E+02	2.9553E+01	3.5804E+01	3.4641E+01	6.5357E+01
2.9000E+02	2.9133E+01	3.5295E+01	3.5571E+01	6.4428E+01
3.0000E+02	2.8719E+01	3.4793E+01	3.6487E+01	6.3512E+01
3.1000E+02	2.8311E+01	3.4298E+01	3.7390E+01	6.2609E+01
3.2000E+02	2.7908E+01	3.3811E+01	3.8280E+01	6.1719E+01
3.3000E+02	2.7511E+01	3.3330E+01	3.9159E+01	6.0841E+01
3.4000E+02	2.7120E+01	3.2856E+01	4.0023E+01	5.9976E+01
3.5000E+02	2.6734E+01	3.2389E+01	4.0875E+01	5.9123E+01

T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
CI = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

TABELA 2 - ANIMAL 4

T	QP	QE	QS	CI
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	7.3075E+01	2.4133E+01	2.7922E+00	9.7208E+01
2.0000E+01	5.8196E+01	3.6884E+01	4.9193E+00	9.5081E+01
3.0000E+01	4.9857E+01	4.3466E+01	6.6768E+00	9.3323E+01
4.0000E+01	4.5071E+01	4.6704E+01	8.2252E+00	9.1775E+01
5.0000E+01	4.2217E+01	4.8132E+01	9.6516E+00	9.0349E+01
6.0000E+01	4.0415E+01	4.8582E+01	1.1003E+01	8.8096E+01
7.0000E+01	3.9187E+01	4.8506E+01	1.2307E+01	8.7693E+01
8.0000E+01	3.8275E+01	4.8150E+01	1.3575E+01	8.6425E+01
9.0000E+01	3.7538E+01	4.7645E+01	1.4817E+01	8.5183E+01
1.0000E+02	3.6899E+01	4.7065E+01	1.6036E+01	8.3963E+01
1.1000E+02	3.6316E+01	4.6447E+01	1.7236E+01	8.2764E+01
1.2000E+02	3.5768E+01	4.5815E+01	1.8417E+01	8.1583E+01
1.3000E+02	3.5242E+01	4.5177E+01	1.9580E+01	8.0419E+01
1.4000E+02	3.4731E+01	4.4542E+01	2.0727E+01	7.9273E+01
1.5000E+02	3.4231E+01	4.3912E+01	2.1857E+01	7.8143E+01
1.6000E+02	3.3740E+01	4.3289E+01	2.2970E+01	7.7029E+01
1.7000E+02	3.3258E+01	4.2673E+01	2.4068E+01	7.5931E+01
1.8000E+02	3.2783E+01	4.2066E+01	2.5150E+01	7.4849E+01
1.9000E+02	3.2316E+01	4.1467E+01	2.6217E+01	7.3783E+01
2.0000E+02	3.1855E+01	4.0876E+01	2.7268E+01	7.2731E+01
2.1000E+02	3.1401E+01	4.0294E+01	2.8305E+01	7.1695E+01
2.2000E+02	3.0953E+01	3.9720E+01	2.9326E+01	7.0673E+01
2.3000E+02	3.0512E+01	3.9154E+01	3.0333E+01	6.9666E+01
2.4000E+02	3.0077E+01	3.8596E+01	3.1326E+01	6.8673E+01
2.5000E+02	2.9649E+01	3.8046E+01	3.2305E+01	6.7695E+01
2.6000E+02	2.9226E+01	3.7504E+01	3.3269E+01	6.6730E+01
2.7000E+02	2.8810E+01	3.6969E+01	3.4220E+01	6.5779E+01
2.8000E+02	2.8399E+01	3.6442E+01	3.5157E+01	6.4842E+01
2.9000E+02	2.7994E+01	3.5923E+01	3.6081E+01	6.3918E+01
3.0000E+02	2.7596E+01	3.5411E+01	3.6992E+01	6.3007E+01
3.1000E+02	2.7202E+01	3.4907E+01	3.7890E+01	6.2109E+01
3.2000E+02	2.6815E+01	3.4409E+01	3.8775E+01	6.1224E+01
3.3000E+02	2.6433E+01	3.3919E+01	3.9647E+01	6.0351E+01
3.4000E+02	2.6056E+01	3.3435E+01	4.0507E+01	5.9491E+01
3.5000E+02	2.5685E+01	3.2959E+01	4.1355E+01	5.8643E+01

T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
CI = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

TABELA 2 - ANIMAL 6

T	QP	QE	QS	CI
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	5.1909E+01	4.6291E+01	1.7993E+00	9.8200E+01
2.0000E+01	3.9343E+01	5.7730E+01	2.5272E+00	9.7073E+01
3.0000E+01	3.5882E+01	6.0242E+01	3.8760E+00	9.6124E+01
4.0000E+01	3.4760E+01	6.0467E+01	4.7729E+00	9.5227E+01
5.0000E+01	3.4237E+01	6.0113E+01	5.6507E+00	9.4349E+01
6.0000E+01	3.3870E+01	5.9612E+01	6.5175E+00	9.3482E+01
7.0000E+01	3.3545E+01	5.9079E+01	7.3757E+00	9.2624E+01
8.0000E+01	3.3234E+01	5.8540E+01	8.2257E+00	9.1774E+01
9.0000E+01	3.2928E+01	5.8004E+01	9.0680E+00	9.0932E+01
1.0000E+02	3.2626E+01	5.7471E+01	9.9025E+00	9.0097E+01
1.1000E+02	3.2326E+01	5.6944E+01	1.0729E+01	8.9270E+01
1.2000E+02	3.2030E+01	5.6422E+01	1.1549E+01	8.8451E+01
1.3000E+02	3.1736E+01	5.5904E+01	1.2360E+01	8.7639E+01
1.4000E+02	3.1444E+01	5.5391E+01	1.3165E+01	8.6835E+01
1.5000E+02	3.1156E+01	5.4882E+01	1.3961E+01	8.6038E+01
1.6000E+02	3.0870E+01	5.4379E+01	1.4751E+01	8.5249E+01
1.7000E+02	3.0587E+01	5.3880E+01	1.5533E+01	8.4466E+01
1.8000E+02	3.0306E+01	5.3385E+01	1.6309E+01	8.3691E+01
1.9000E+02	3.0028E+01	5.2895E+01	1.7077E+01	8.2923E+01
2.0000E+02	2.9752E+01	5.2410E+01	1.7838E+01	8.2162E+01
2.1000E+02	2.9479E+01	5.1929E+01	1.8592E+01	8.1408E+01
2.2000E+02	2.9209E+01	5.1452E+01	1.9339E+01	8.0661E+01
2.3000E+02	2.8941E+01	5.0980E+01	2.0079E+01	7.9921E+01
2.4000E+02	2.8675E+01	5.0512E+01	2.0812E+01	7.9187E+01
2.5000E+02	2.8412E+01	5.0049E+01	2.1539E+01	7.8460E+01
2.6000E+02	2.8151E+01	4.9589E+01	2.2259E+01	7.7740E+01
2.7000E+02	2.7893E+01	4.9134E+01	2.2972E+01	7.7027E+01
2.8000E+02	2.7637E+01	4.8683E+01	2.3679E+01	7.6320E+01
2.9000E+02	2.7383E+01	4.8237E+01	2.4380E+01	7.5620E+01
3.0000E+02	2.7132E+01	4.7794E+01	2.5074E+01	7.4926E+01
3.1000E+02	2.6883E+01	4.7355E+01	2.5761E+01	7.4238E+01
3.2000E+02	2.6636E+01	4.6921E+01	2.6442E+01	7.3557E+01
3.3000E+02	2.6392E+01	4.6490E+01	2.7117E+01	7.2882E+01
3.4000E+02	2.6149E+01	4.6063E+01	2.7786E+01	7.2213E+01
3.5000E+02	2.5909E+01	4.5641E+01	2.8449E+01	7.1550E+01

T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
CI = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

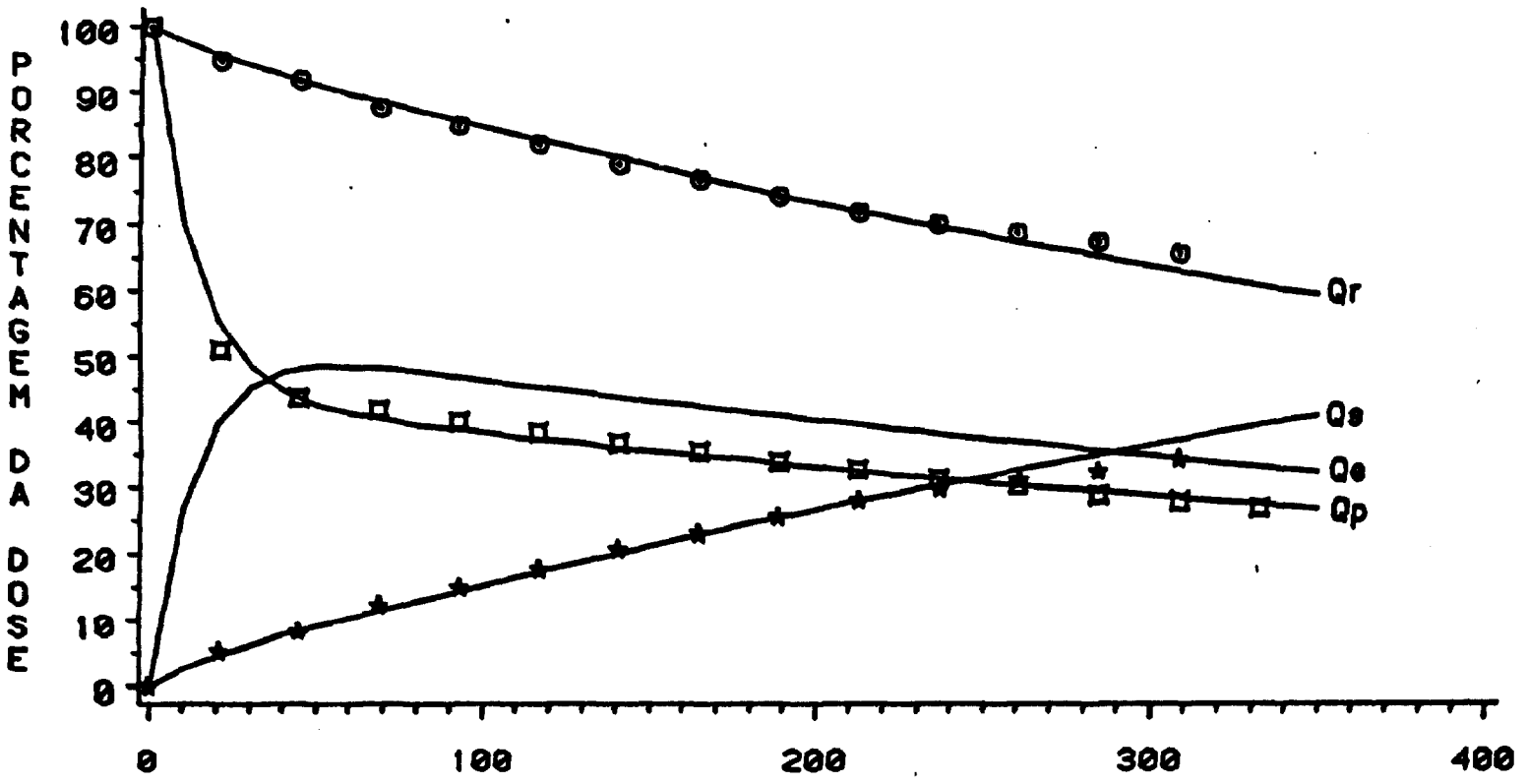
T	QP	QE	QS	CI
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	7.6922E+01	1.9244E+01	3.8340E+00	9.6166E+01
2.0000E+01	6.2762E+01	3.0265E+01	6.8685E+00	9.3121E+01
3.0000E+01	5.3946E+01	3.6643E+01	9.4105E+00	9.0589E+01
4.0000E+01	4.8335E+01	4.0022E+01	1.1642E+01	8.8358E+01
5.0000E+01	4.4650E+01	4.1676E+01	1.3674E+01	8.6326E+01
6.0000E+01	4.2124E+01	4.2304E+01	1.5571E+01	8.4429E+01
7.0000E+01	4.0299E+01	4.2327E+01	1.7375E+01	8.2625E+01
8.0000E+01	3.8898E+01	4.1953E+01	1.9109E+01	8.0891E+01
9.0000E+01	3.7759E+01	4.1454E+01	2.0787E+01	7.9213E+01
1.0000E+02	3.6782E+01	4.0799E+01	2.2419E+01	7.7581E+01
1.1000E+02	3.5908E+01	4.0081E+01	2.4011E+01	7.5989E+01
1.2000E+02	3.5102E+01	3.9332E+01	2.5566E+01	7.4433E+01
1.3000E+02	3.4342E+01	3.8571E+01	2.7087E+01	7.2912E+01
1.4000E+02	3.3615E+01	3.7809E+01	2.8575E+01	7.1424E+01
1.5000E+02	3.2914E+01	3.7053E+01	3.0033E+01	6.9967E+01
1.6000E+02	3.2234E+01	3.6306E+01	3.1460E+01	6.8540E+01
1.7000E+02	3.1571E+01	3.5571E+01	3.2857E+01	6.7142E+01
1.8000E+02	3.0924E+01	3.4849E+01	3.4226E+01	6.5773E+01
1.9000E+02	3.0291E+01	3.4141E+01	3.5567E+01	6.4432E+01
2.0000E+02	2.9673E+01	3.3446E+01	3.6881E+01	6.3119E+01
2.1000E+02	2.9067E+01	3.2765E+01	3.8167E+01	6.1832E+01
2.2000E+02	2.8474E+01	3.2097E+01	3.9428E+01	6.0572E+01
2.3000E+02	2.7894E+01	3.1443E+01	4.0662E+01	5.9337E+01
2.4000E+02	2.7325E+01	3.0803E+01	4.1872E+01	5.8127E+01
2.5000E+02	2.6768E+01	3.0175E+01	4.3057E+01	5.6942E+01
2.6000E+02	2.6222E+01	2.9560E+01	4.4217E+01	5.5782E+01
2.7000E+02	2.5687E+01	2.8957E+01	4.5354E+01	5.4645E+01
2.8000E+02	2.5164E+01	2.8367E+01	4.6468E+01	5.3531E+01
2.9000E+02	2.4651E+01	2.7789E+01	4.7559E+01	5.2440E+01
3.0000E+02	2.4148E+01	2.7222E+01	4.8629E+01	5.1371E+01
3.1000E+02	2.3656E+01	2.6667E+01	4.9675E+01	5.0323E+01
3.2000E+02	2.3174E+01	2.6124E+01	5.0701E+01	4.9298E+01
3.3000E+02	2.2702E+01	2.5591E+01	5.1706E+01	4.8293E+01
3.4000E+02	2.2239E+01	2.5070E+01	5.2690E+01	4.7309E+01
3.5000E+02	2.1785E+01	2.4559E+01	5.3654E+01	4.6344E+01

T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
CI = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

T	QP	QE	QS	CI
0.0	1.0000E+02	0.0	0.0	1.0000E+02
1.0000E+01	7.1200E+01	2.5714E+01	3.0868E+00	9.6913E+01
2.0000E+01	5.5561E+01	3.9056E+01	5.3834E+00	9.4616E+01
3.0000E+01	4.6950E+01	4.5901E+01	7.2486E+00	9.2751E+01
4.0000E+01	4.2095E+01	4.9031E+01	8.8739E+00	9.1126E+01
5.0000E+01	3.9250E+01	5.0389E+01	1.0362E+01	8.9638E+01
6.0000E+01	3.7480E+01	5.0752E+01	1.1767E+01	8.8233E+01
7.0000E+01	3.6289E+01	5.0591E+01	1.3119E+01	8.6881E+01
8.0000E+01	3.5411E+01	5.0155E+01	1.4434E+01	8.5566E+01
9.0000E+01	3.4703E+01	4.9577E+01	1.5720E+01	8.4280E+01
1.0000E+02	3.4090E+01	4.8929E+01	1.6981E+01	8.3019E+01
1.1000E+02	3.3530E+01	4.8248E+01	1.8222E+01	8.1778E+01
1.2000E+02	3.3003E+01	4.7554E+01	1.9443E+01	8.0557E+01
1.3000E+02	3.2496E+01	4.6859E+01	2.0644E+01	7.9356E+01
1.4000E+02	3.2004E+01	4.6168E+01	2.1827E+01	7.8173E+01
1.5000E+02	3.1523E+01	4.5484E+01	2.2992E+01	7.7007E+01
1.6000E+02	3.1051E+01	4.4808E+01	2.4140E+01	7.5859E+01
1.7000E+02	3.0587E+01	4.4142E+01	2.5271E+01	7.4729E+01
1.8000E+02	3.0130E+01	4.3484E+01	2.6385E+01	7.3615E+01
1.9000E+02	2.9681E+01	4.2836E+01	2.7482E+01	7.2517E+01
2.0000E+02	2.9238E+01	4.2198E+01	2.8563E+01	7.1437E+01
2.1000E+02	2.8803E+01	4.1569E+01	2.9627E+01	7.0372E+01
2.2000E+02	2.8373E+01	4.0950E+01	3.0676E+01	6.9323E+01
2.3000E+02	2.7950E+01	4.0339E+01	3.1709E+01	6.8290E+01
2.4000E+02	2.7534E+01	3.9738E+01	3.2727E+01	6.7272E+01
2.5000E+02	2.7123E+01	3.9146E+01	3.3730E+01	6.6269E+01
2.6000E+02	2.6719E+01	3.8562E+01	3.4718E+01	6.5281E+01
2.7000E+02	2.6321E+01	3.7988E+01	3.5691E+01	6.4308E+01
2.8000E+02	2.5928E+01	3.7421E+01	3.6649E+01	6.3350E+01
2.9000E+02	2.5542E+01	3.6864E+01	3.7593E+01	6.2406E+01
3.0000E+02	2.5161E+01	3.6314E+01	3.8523E+01	6.1475E+01
3.1000E+02	2.4786E+01	3.5773E+01	3.9440E+01	6.0559E+01
3.2000E+02	2.4417E+01	3.5240E+01	4.0342E+01	5.9657E+01
3.3000E+02	2.4053E+01	3.4714E+01	4.1231E+01	5.8767E+01
3.4000E+02	2.3694E+01	3.4197E+01	4.2107E+01	5.7891E+01
3.5000E+02	2.3341E+01	3.3687E+01	4.2970E+01	5.7028E+01

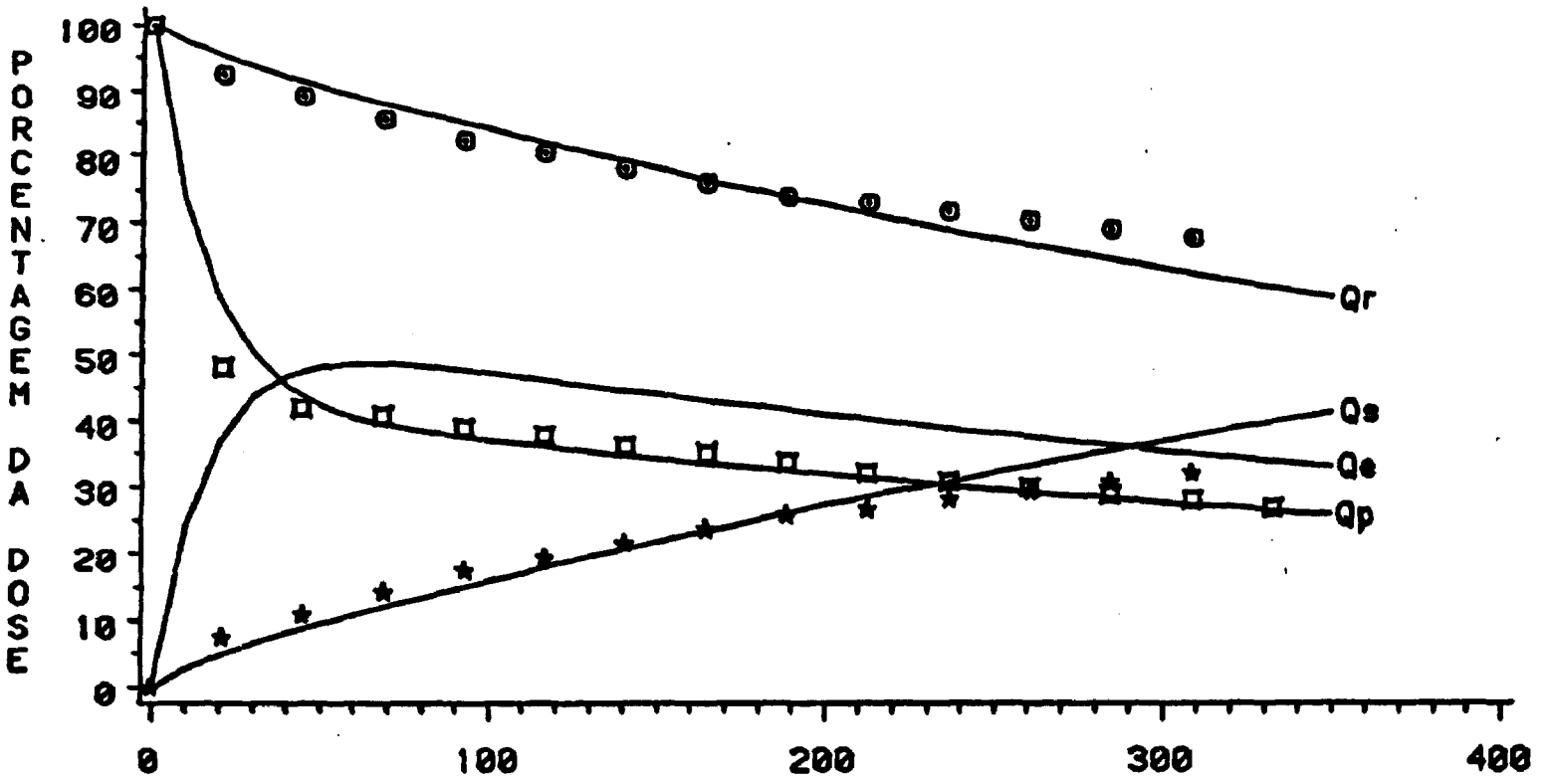
T = HORAS APOS INJECAO
QP = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO INTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QE = ATIVIDADE NO COMPARTIMENTO EXTRAVASCULAR (% DA DOSE)
QS = ATIVIDADE EXCRETADA (% DA DOSE)
CI = ATIVIDADE NO CORPO INTEIRO (% DA DOSE)

ANIMAL 3 – INFESTADO



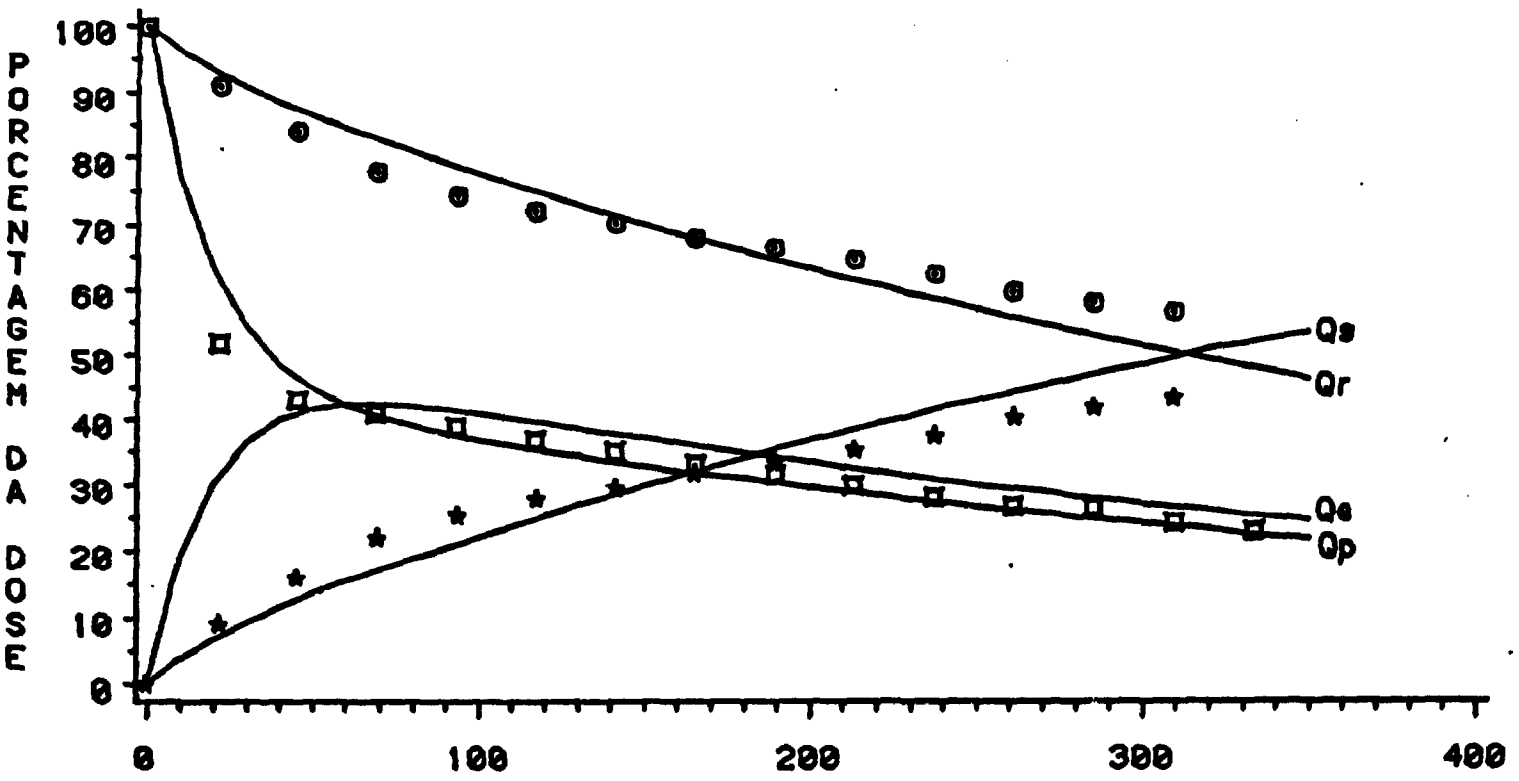
Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
□ □ – Qp observada
● ● – Qr observada

ANIMAL 4 – INFESTADO



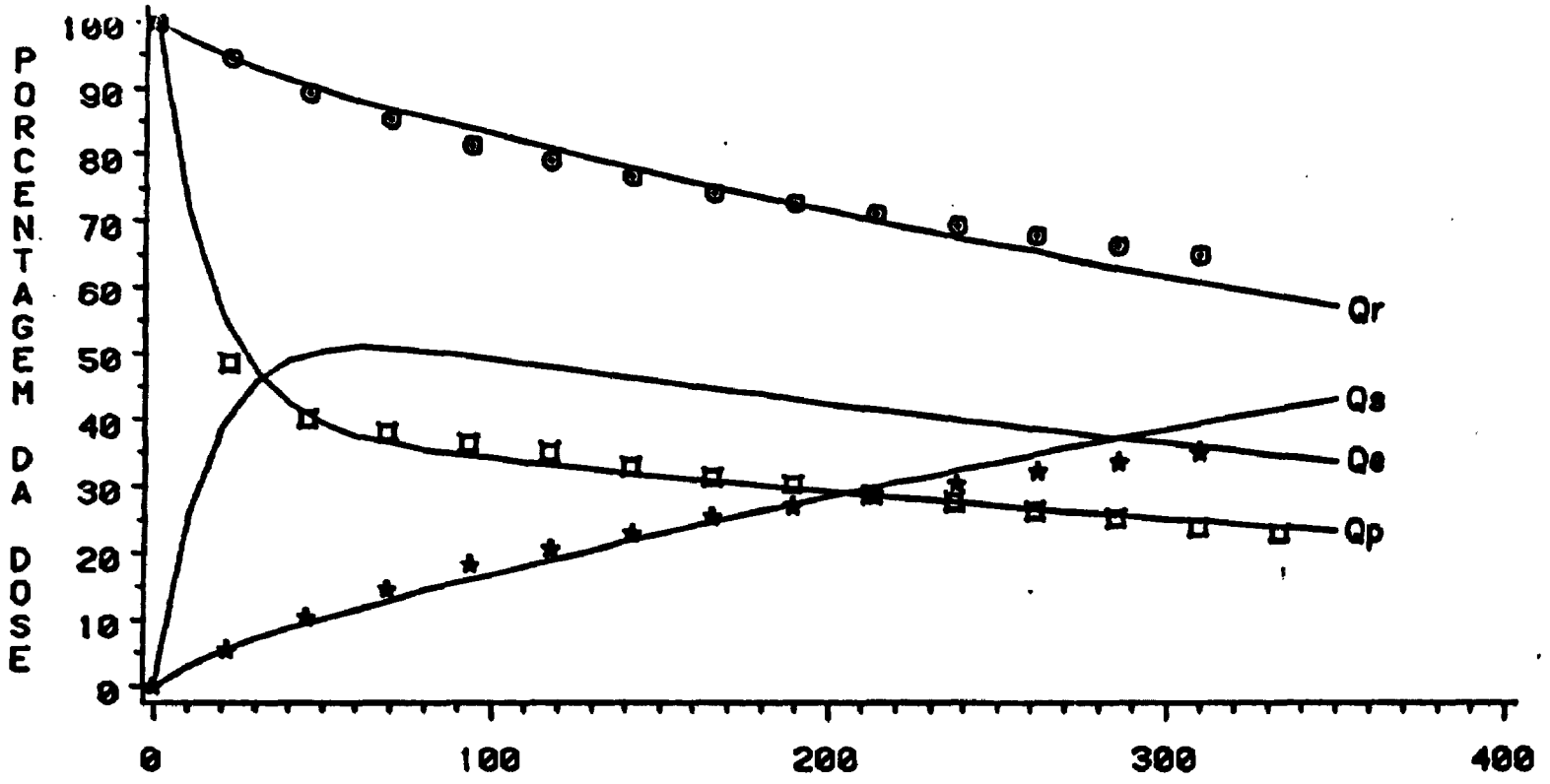
Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
□ □ – Qp observada
● ● – Qr observada

ANIMAL 7 – INFESTADO



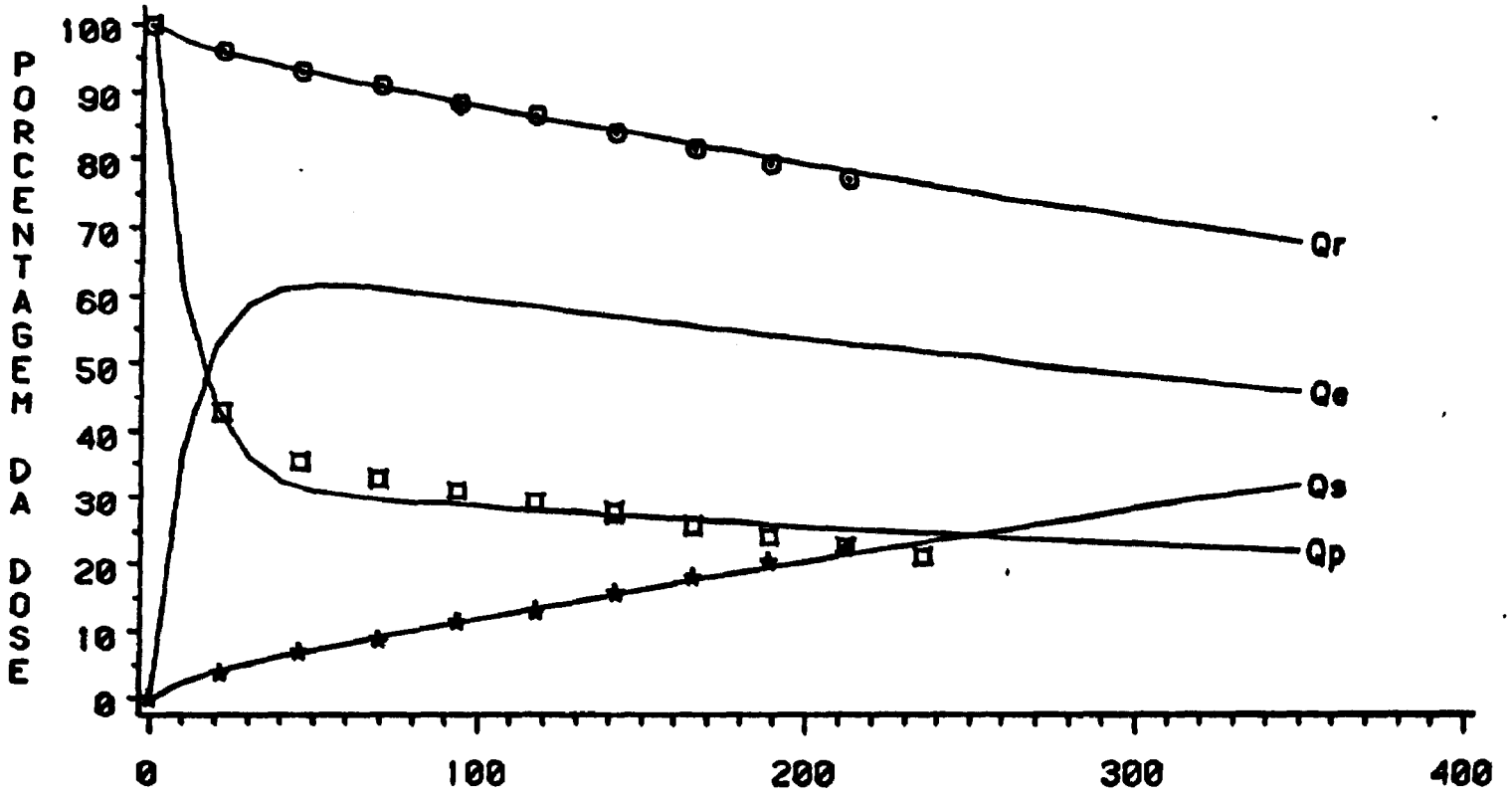
Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
□ □ – Qp observada
○ ○ – Qr observada

ANIMAL 8 – INFESTADO



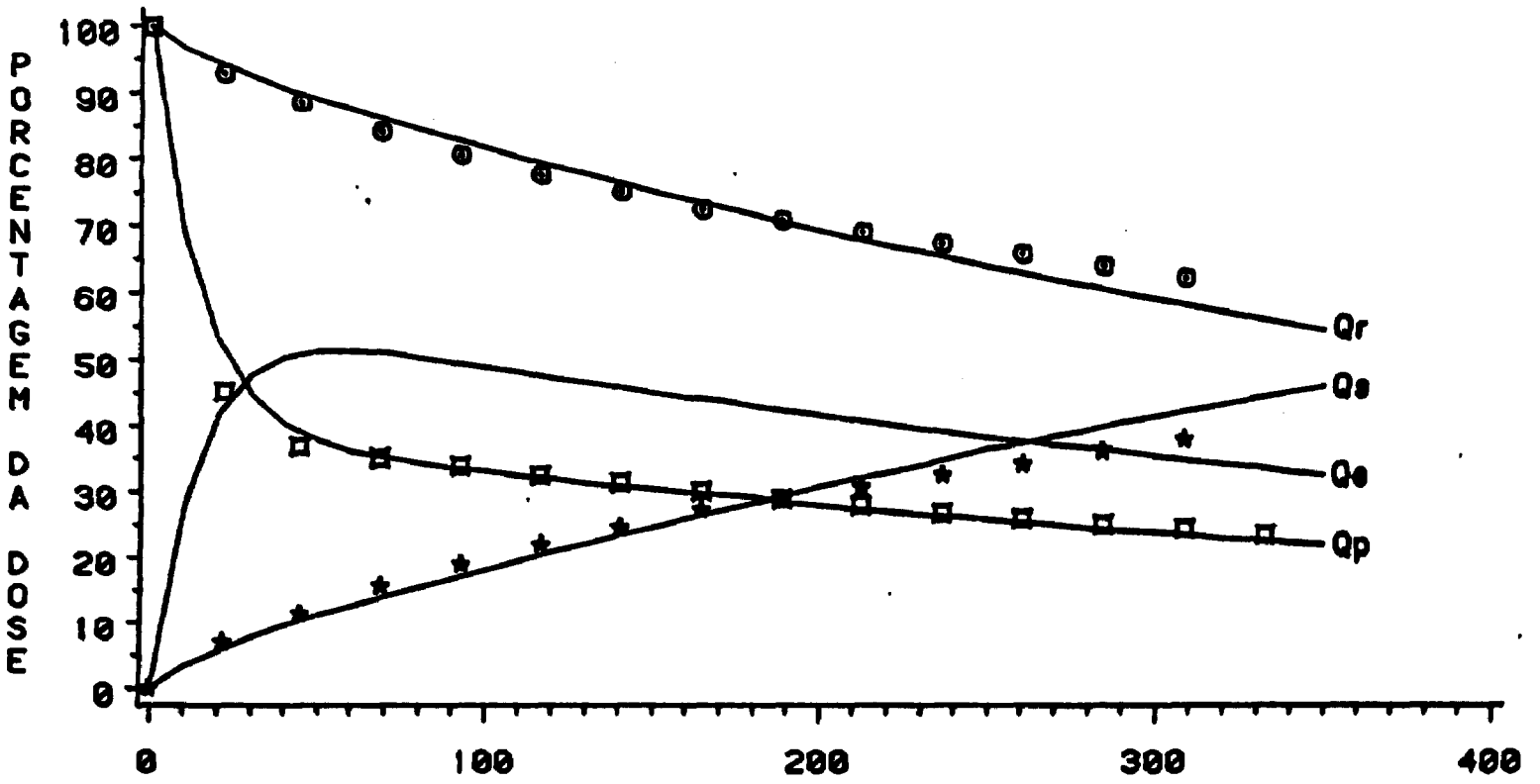
Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
¤ ¤ – Qp observada
● ● – Qr observada

ANIMAL 1 – CONTROLE



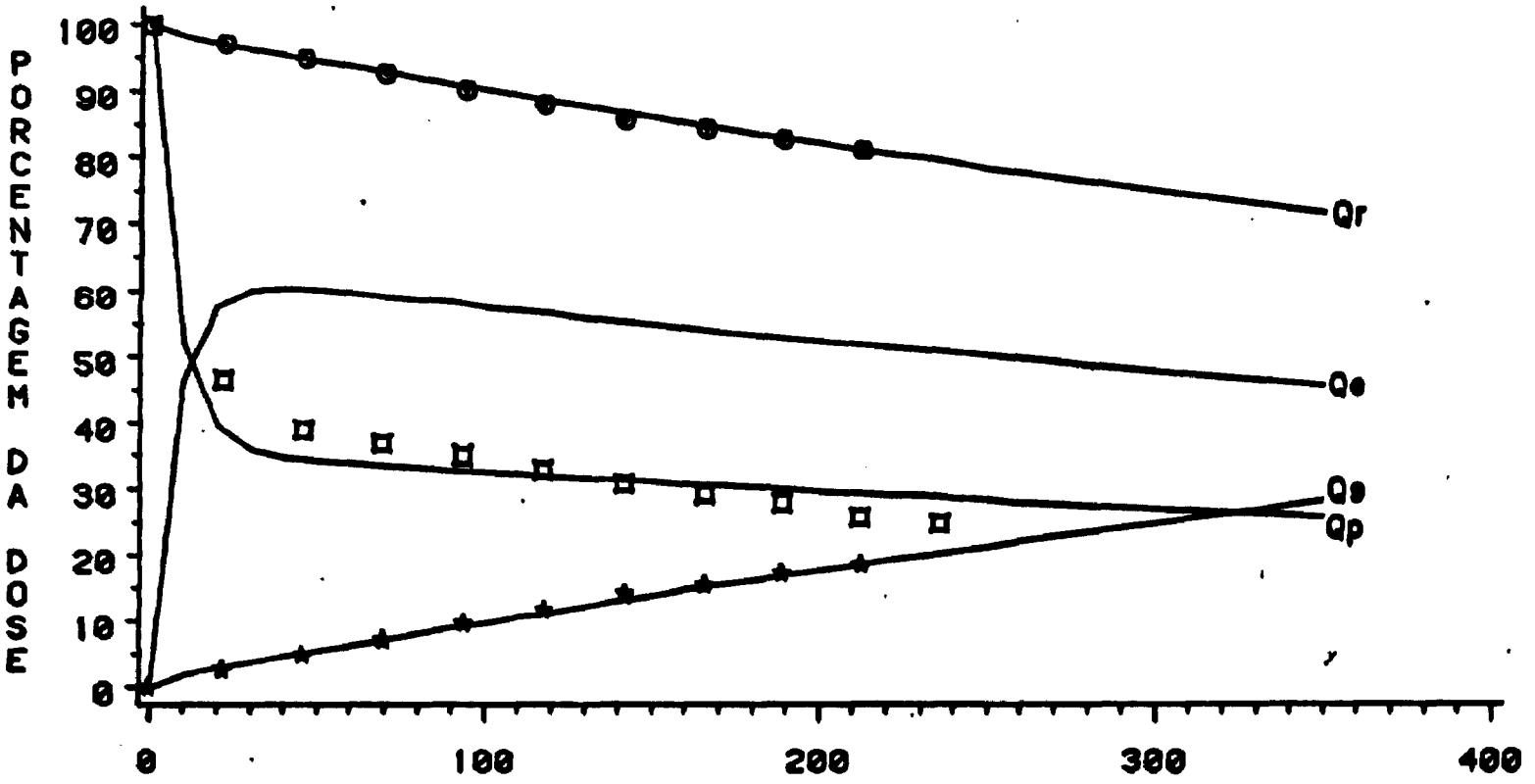
Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
□ □ – Qp observada
● ● – Qr observada

ANIMAL 2 – CONTROLE



Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
□ □ – Qp observada
o o – Qr observada

ANIMAL 6 – CONTROLE



Qp – atividade plasmática
Qe – atividade extravascular
— – Curvas simuladas
★ ★ – Qs observada
Qr – atividade retida
Qs – atividade excretada
¤ ¤ – Qp observada
● ● – Qr observada