



Eficácia clínica da auto-hemoterapia como adjuvante no controle de nematódeos gastrointestinais em ovinos naturalmente infectados

Clinical effectiveness of autohemotherapy as an adjuvant in the control of gastrointestinal nematodes in naturally infected sheep

Luciane Holsback^{*1} , Camile Sanches Silva² , Petrônio Pinheiro Porto¹ , Emília Paiva Porto¹ , Ellen Souza Marquez¹ 

¹Universidade Estadual do Norte do Paraná (UENP), Bandeirantes, Paraná, Brasil

²Faculdade Novoeste, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil

*correspondente: lhsfertonani@uenp.edu.br

Resumo

Este estudo objetivou avaliar os efeitos da auto-hemoterapia como adjuvante no controle de nematódeos gastrointestinais em ovinos. Quatro grupos experimentais foram formados: G1, 10 animais que receberam sangue venoso autólogo; G2, 10 animais que receberam sangue venoso autólogo e vermífugo contendo levamisol; G3, 10 animais que receberam somente vermífugo contendo levamisol; e G4, 10 animais do grupo controle, que não receberam tratamento. Realizamos contagem de ovos nas fezes (ovos por grama, OPG) de estrongilídeos, cultivo de larvas, hemograma, leucograma e dosagem de proteína sérica antes do início do tratamento (D0) e nos dias 14 (D14) e 42 (D42). Houve uma diminuição significativa no OPG dos grupos que receberam levamisole (G2 e G3) do D14 até o final do período experimental. Ao final das avaliações, o OPG médio de G2 e G3 foi significativamente menor do que G1 e G4. O gênero de nematódeo mais comumente encontrado foi *Haemonchus* (88%) e o menos foi *Trichostrongylus* (1%). O teste de Redução na Contagem de Ovos nas Fezes (RCOF) de G2 e G3 no D14 foi 98,1% e 97,9%, respectivamente, entretanto, no G1, o RCOF foi zero nos dois dias avaliados. G1 e G2 mostraram aumento significativo na contagem de monócitos em D14 e D42. Houve um aumento significativo nos valores do hematócrito e hemoglobina em G2 e G3, entretanto, um aumento significativo no valor absoluto de hemácias foi observado somente em G2. Duas doses de auto-hemoterapia em intervalos de 21 dias, administradas isoladamente ou como adjuvante do levamisole, não é eficaz no controle de nematóides gastrintestinais em ovinos naturalmente infectados.

Palavras-chave: sangue autólogo total; RCOF; isoterapia; levamisol; pequeno ruminante.

Recebido

12 de agosto de 2021.

Aceito

28 de outubro de 2021.

Publicado

16 de novembro de 2021.

www.revistas.ufg.br/vet

Como citar - disponível no site,
na página do artigo.

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of autohemotherapy as an adjuvant in the control of gastrointestinal nematodes in sheep. Four experimental groups were formed: G1, 10 animals receiving autologous venous blood; G2, 10 animals receiving autologous venous blood and vermifuge containing levamisole; G3, 10 animals receiving only vermifuge containing levamisole; and G4, 10 animals as the control group receiving no treatment. We performed fecal egg count (eggs per gram, EPG) of strongyles, larval culture, hemogram, leukogram, and serum protein dosage prior to the start of treatment (D0), and on days 14 (D14) and 42 (D42). There was a significant decrease in the EPG of the groups receiving levamisole (G2 and G3) from D14 to the end of the experimental period. At the end of the evaluations, the mean EPG of G2 and G3 was significantly lower than that of G1 and G4. The most common nematode genus was *Haemonchus* (88%), and the least common was *Trichostrongylus* (1%). The Fecal Egg Count Reduction Test (FECRT) of G2 and G3 on D14 were 98.1% and 97.9%, respectively, however, in G1, the FECRT was zero on the two days when evaluation took place. G1 and G2 showed a significant increase in monocyte counts on D14 and D42. There was a significant increase in hematocrit and hemoglobin values in G2 and G3, however, a significant increase in the absolute value of red blood cells was observed only in G2. Two doses of autohemotherapy at 21-day intervals, administered alone or as an adjuvant to levamisole, is ineffective in controlling gastrointestinal nematodes in naturally infected sheep.

Keywords: autologous whole blood; FECRT; isotherapeutic; levamisole; small ruminant.

Introdução

O estado do Paraná tem 588.996 cabeças de ovinos. Aproximadamente 14,9% dos ovinos do Brasil encontram-se na região sul do e 3% estão no Paraná⁽¹⁾. O maior interesse consiste na criação de cordeiros para o abate, originados de criações de pequeno e médio porte e um número reduzido de matrizes. A ovinocultura gera aproximadamente R\$ 96 milhões por ano no Paraná⁽²⁾.

Pequenos ruminantes são afetados por vários problemas sanitários, sendo os nematódeos gastrointestinais (NGI) a principal barreira para seu desenvolvimento. O parasitismo causado pelas espécies de NGI se deve principalmente à família Trichostrongylidae^(3,4) e resulta em perdas para a economia nacional⁽⁵⁾.

Há várias alternativas para o controle dos NGI, como a seleção de raças resistentes⁽⁶⁾, fitoterapia e bioterapia^(7,8,9), fungos nematófagos^(10,11), vacinas contra nematódeos⁽¹²⁾ e forragens contendo taninos⁽¹³⁾.

A isoterapia foi inicialmente utilizada na década de 1930 por François Lamson, médico homeopata francês, para o tratamento de parasitoses intestinais. Este pesquisador utilizou grandes diluições de soro sanguíneo para tratar disenteria amebica, oxiúriasis,

ascariose e teníase. A auto-hemoterapia, que consiste em remover o sangue do animal e injetá-lo intramuscularmente, é considerada como um tratamento isoterápico por certos pesquisadores. Sugere-se que este método estimule o sistema de retículo endotelial e quadruplique o número de macrófagos no organismo. Em 1924, foi confirmado que este tratamento era valioso em numerosas dermatoses, particularmente em afecções pruriginosas e furunculose. Esta é a síntese da conclusão da tese de doutorado intitulada "A auto-hemoterapia nas dermatoses", escrita por Alberto Carlos David na Universidade do Porto, em 1924. Esta tese prova que a técnica é utilizada desde a primeira metade do século XIX e apresenta curas através de seu uso⁽¹⁴⁾.

Nas últimas décadas, a auto-hemoterapia tem sido pouco conhecida e praticada no campo veterinário por profissionais e proprietários de animais. Há poucos relatos sobre esta terapia em humanos e animais na literatura. No início do século passado, a auto-hemoterapia era indicada como tratamento para várias condições dermatológicas⁽¹⁵⁾. Posteriormente, a auto-hemoterapia tornou-se um tratamento padrão para numerosas doenças dermatológicas, incluindo urticária e eczema, na Europa, América do Norte e Japão^(16,17,18). Atualmente, a auto-hemoterapia tem sido usada para tratar doenças dermatológicas e outras doenças, principalmente por médicos alternativos, particularmente na Europa⁽¹⁹⁾ e na América Latina⁽²⁰⁾.

A auto-hemoterapia tem sido testada em cães como tratamento de trombocitopenia⁽²¹⁾, como adjuvante no tratamento de mastocitoma⁽²²⁾, parvovirose canina⁽²³⁾ e na papilomatose oral^(24,25). Em animais de produção a maioria dos relatos está relacionada ao tratamento da papilomatose em bovinos e caprinos^(26,27,28,29). Poucos relatos sobre o uso da auto-hemoterapia em humanos têm sido relacionados à prevenção de complicações pós-operatórias⁽³⁰⁾, como adjuvantes no tratamento de infecções herpéticas⁽³¹⁾ e em doenças alérgicas^(32,33).

Há vários relatos de eficácia clínica da auto-hemoterapia, no entanto, ela tem sido alvo de consideráveis controvérsias, levando os profissionais de saúde a não reconhecê-la. É uma terapia alternativa, sem provas científicas reconhecidas e, portanto, poucas pesquisas têm sido conduzidas nesta área.

Portanto, este estudo visou avaliar os efeitos da auto-hemoterapia como adjuvante no controle do NGI em ovinos, além de avaliar o perfil hematológico dos animais durante o tratamento.

Materias e Métodos

Este projeto foi aprovado em 11 de dezembro de 2013 pelo "Comitê de Ética do Uso de Animais" (CEUA) da Universidade Estadual do Norte do Paraná, Brasil (número de referência Secapee 1017/13).

Localização, grupos, períodos experimentais e exames de fezes:

O estudo foi realizado em uma propriedade rural no município de Ribeirão Claro (23°11'38"S 49°45'28" O), norte do Estado do Paraná, entre março e julho de 2014. Foram selecionadas 40 ovelhas adultas com valores de OPG ≥ 150 , o que corresponde ao OPG mínimo estabelecido para testes de resistência e eficiência anti-helmíntica em ovinos⁽³⁴⁾.

Quatro grupos experimentais foram formados após a randomização baseada nos valores do OPG; o grupo G1, composto de 10 ovelhas saudáveis e não prenhas (2-3 anos de idade), OPG médio 3310, que receberam sangue venoso autólogo; o grupo G2, composto de 10 ovelhas saudáveis e não prenhas (2-3 anos de idade), OPG médio 3240, que receberam sangue venoso autólogo e vermífugo comercial contendo solução oral de cloridrato de levamisol 5% (5 mg/Kg); O grupo G3, composto de 10 ovelhas saudáveis, não prenhas (2-3 anos de idade), OPG médio 3185, que receberam apenas o vermífugo comercial contendo solução oral de cloridrato de levamisol 5% (5 mg/Kg); e o grupo G4, grupo controle, sem tratamento, composto de 10 ovelhas saudáveis, não prenhas (2-3 anos de idade), OPG médio 3580, que receberam 10 mL de solução salina oral. Todos os grupos foram tratados simultaneamente. Os tratamentos (auto-hemoterapia e levamisol) foram realizados no dia 0 (D0) e 21 dias depois. D0 foi definido como o primeiro dia de tratamento seguido por dois períodos experimentais no dia 14 (D14) e no dia 42 (D42) (totalizando três períodos experimentais). Durante este período, as colheitas de fezes foram realizadas para contagem de OPG usando a técnica descrita por Gordon e Whitlock⁽³⁵⁾ a uma diluição de 1:25. Para identificar os gêneros de nematódeos, cultivo de larvas (coprocultura) foi realizado utilizando a técnica descrita por Roberts e Sullivan⁽³⁶⁾, sendo as larvas L3 recuperadas e identificadas utilizando os critérios apresentados por Keith⁽³⁷⁾. A porcentagem de redução na contagem de ovos nas fezes de nematódeos de cada gênero identificado no cultivo de larvas foi calculada a partir destes valores usando a fórmula do Teste de Redução na Contagem de Ovos nas Fezes (RCOF)⁽³⁸⁾:

$RCOF = 1 - (\text{média do OPG do grupo tratado no dia } x / \text{média do OPG do grupo controle no dia}) \times 100.$

No presente estudo, o RCOF não foi utilizado para estimar a resistência dos helmintos ao tratamento, mas para verificar o percentual de redução da carga parasitária dos animais e para identificar as espécies de NGI que apresentaram diminuição significativa devido aos tratamentos.

Análises Hematológica e Bioquímica:

Amostras de sangue total foram colhidas da veia jugular utilizando agulha descartável de 18G. Os primeiros 4 mL de sangue foram depositados em um tubo contendo K3EDTA para análise hematológica e os 6 mL restantes foram transferidos para um tubo com ativador de coágulo para análise química do soro. Todas as análises foram concluídas dentro de 8 h após a colheita do sangue. As amostras de sangue foram centrifugadas a $2000 \times g$ durante 10 minutos para extrair o soro, que foi congelado a -20°C para análise posterior.

As amostras de sangue foram analisadas utilizando um sistema BC-2800Vet-Mindray Auto Hematology (Mindray Headquartes, Shenzhen, China) e um software multiespecífico. Foram mensurados os seguintes parâmetros: contagem de hemácias, hemoglobina (Hb), hematócrito (HCT), contagem de leucócitos, porcentagem e número de neutrófilos, linfócitos, monócitos e eosinófilos. As lâminas de esfregaço de sangue foram preparadas no campo, imediatamente após a colheita, antes da transferência para os tubos. As lâminas foram coradas manualmente usando a coloração de Wright e a contagem diferencial de leucócitos foi determinada pela contagem de 100 leucócitos.

Os valores da proteína plasmática total (PPT) e da albumina foram determinados

usando os métodos biureto e verde bromocresol, respectivamente. As análises foram realizadas usando o instrumento PKL PPC Analisador químico automático (Paramedical, Salerno, Itália). Os valores da globulina foram calculados pela subtração do valor da PPT do valor da albumina.

Auto-hemoterapia

Dez mililitros de sangue foram colhidos por punção da veia jugular de cada animal dos grupos G1 e G2. Após tricotomia e desinfecção com solução de etanol a 70%, o sangue foi imediatamente inoculado (aplicação de sangue autólogo) intramuscularmente na região glútea. A auto-hemoterapia foi realizada em D0 e D21.

Análise dos dados e testes estatísticos:

Os testes estatísticos foram realizados usando GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software Inc., CA, EUA). O teste *Wilcoxon* foi usado para comparar as médias de OPGs dos grupos tratados e controle. A comparação entre as médias dos OPGs dos gêneros identificados após o crescimento das larvas foi realizada usando o teste *Mann-Whitney U*. As diferenças entre os valores médios das contagens de células obtidas no hemograma, leucograma e dosagens de proteínas plasmáticas foram analisadas usando o teste *t pareado*. A significância estatística foi fixada em $p < 0,05$.

Resultados e Discussão

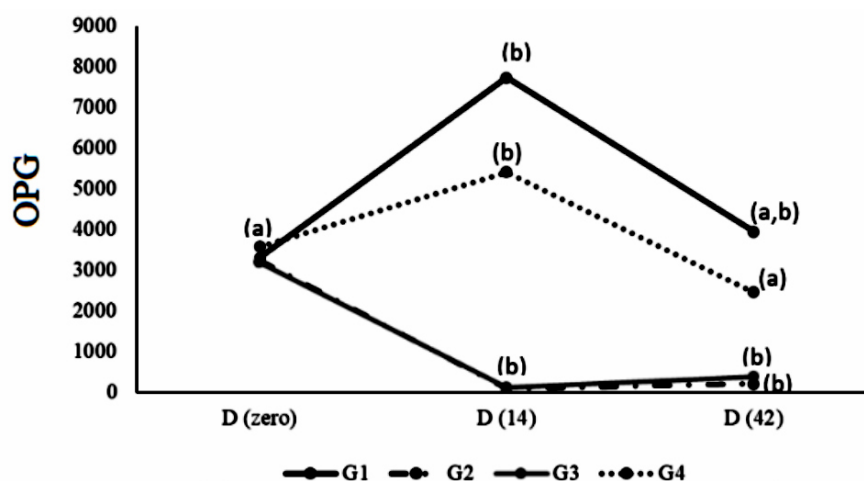
As médias dos OPGs dos dois grupos tratados com levamisol (G2 e G3) foi significativamente menor ($p < 0,005$) que do grupo controle (G4) e do grupo tratado apenas com auto-hemoterapia (G1). Embora não significativamente diferente, a média do OPG dos animais do grupo de auto-hemoterapia (G1) foi 40 (D14) a 60% (D42) maior que a do grupo controle (Tabela 1).

Tabela 1. Médias (\pm Erro Padrão da Média - EPM) dos OPGs dos animais dos grupos G1 (auto-hemoterapia), G2 (auto-hemoterapia + levamisol), G3 (levamisol) e G4 (controle, não tratado) no início do tratamento (D0) e nos dias 14 e 42.

Grupos	OPG		
	D (zero)	D (14)	D (42)
G1	3310 \pm 938	(a) 7731 \pm 1705	(a) 3950 \pm 1290
G2	3240 \pm 913	(b) 106 \pm 54	(b) 213 \pm 92
G3	3185 \pm 845	(b) 115 \pm 39	(b) 375 \pm 185
G4	3580 \pm 1117	(a) 5415 \pm 1562	(a) 2465 \pm 1366

Letras distintas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos no mesmo dia (coluna) calculado utilizando o Teste de *Mann-Whitney U*.

Os animais dos grupos auto-hemoterapia (G1) e controle (G4) tiveram aumentos significativos ($p=0,0078$ e $0,027$, respectivamente) nos OPGs 14 dias após o tratamento. Estes valores diminuíram quatro semanas depois e voltaram aos mesmos níveis que no início do experimento. Os dois grupos tratados com levamisol (G2 e G3) apresentaram diminuições significativas ($p=0,0039$ e $0,0020$, respectivamente) de seus OPGs até o final das avaliações (Figura 1).



Letras distintas representam diferenças significativas ($p < 0.05$) entre os dias no mesmo grupo, calculado utilizando o teste *Wilcoxon*.

Figura 1. Evolução dos valores médios dos OPGs dos animais dos grupos G1(auto-hemoterapia), G2 (auto-hemoterapia + levamisol), G3 (levamisol) e G4 (controle, não tratado) no início do tratamento (D0) e nos dias 14 e 42.

Nossos resultados demonstraram que, no modelo experimental utilizado, a auto-hemoterapia não contribuiu para a diminuição dos níveis de infecção dos ovinos infectados por nematódeos gastrintestinais. Os animais receberam apenas duas aplicações de sangue autólogo via intramuscular (IM) em intervalos de 21 dias, porém, outros pesquisadores que tiveram sucesso com este tratamento, utilizaram aplicações semanais por um período maior do que nós utilizamos ^(22,25,29,39). O presente estudo foi o primeiro a avaliar o efeito da auto-hemoterapia no controle de NGI em ovinos.

O efeito psicobiológico que pode causar melhora ou agravamento dos sintomas clínicos em humanos tratados com placebo⁽⁴⁰⁾ não é observado em animais, pois eles não têm discernimento dos tratamentos a que são submetidos. Se alguma influência negativa do tratamento ocorreu, ela poderia ser atribuída ao estresse da contenção física e à aplicação do sangue autólogo, pois em humanos ela causa dor⁽⁴¹⁾. Os animais do grupo controle receberam soro fisiológico por via oral, portanto foram submetidos à mesma contenção física que os animais dos outros grupos.

Embora a injeção de sangue autólogo provavelmente causasse dor nos animais, suas consequências fisiológicas ainda não foram estimadas a médio ou longo prazo. Por esta razão, não podemos explicar a diferença entre as médias dos OPGs dos animais

do grupo controle e os animais tratados com auto-hemoterapia. Para esta investigação, os animais do grupo controle deveriam receber injeções de soro fisiológico para simular a dor causada pela auto-hemoterapia.

O teste de RCOF foi realizado para comparar as taxas de redução da contagem de ovos nas fezes dos animais dos três grupos tratados, assim como comparar as taxas de redução dos gêneros tricostrongilídeos identificados no cultivo larvar. Nós observamos taxas de RCOFs de 98,1 e 97,9% nos animais do G2 e G3, respectivamente no D14 e RCOFs de 91,4 e 84,8% nos animais do G2 e G3, respectivamente no D42. No grupo tratado apenas com auto-hemoterapia (G1) o RCOF foi zero nos dois dias avaliados (Tabela 2)

Tabela 2. Teste de redução na contagem de ovos nas fezes de *Haemonchus*, *Trichostrongylus* e *Strongyloides* (RCOF%) dos animais de G1 (auto-hemoterapia), G2 (auto-hemoterapia + levamisol) e G3 (levamisol) nos dias 14 e 42.

	G1		G2		G3	
	D14	D42	D14	D142	D14	D42
<i>Haemonchus</i>	0	0	97,40%	83,10%	97,10%	69,60%
<i>Cooperia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Trichostrongylus</i>	100%	100%	99,30%	82,90%	98,50%	79,90%
<i>Strongyloides</i>	85,50%	100%	99,60%	100%	100%	100%

O gênero mais freqüentemente observado na cultura de larvas foi *Haemonchus* (88%), seguido por *Cooperia* (2%) e *Trichostrongylus* (1%). O gênero *Oesophagostomum* não foi encontrado em nenhum dos dias experimentais. O gênero *Strongyloides* foi responsável por 9% dos nematódeos identificados pela morfologia dos ovos no exame de Gordon e Whitlock.

Não havia larvas de *Cooperia* no grupo controle em D14 e D42; portanto, não foi possível avaliar o RCOF de *Cooperia* nos grupos tratados. Embora não tenha havido redução na contagem de ovos de todos os nematoideos nos animais tratados com auto-hemoterapia (G1), os gêneros *Trichostrongylus* e *Strongyloides* quantificados em D0 pela coprocultura estavam ausentes em D42 (Tabela 3).

Tabela 3. Contagens de ovos por grama de fezes (OPG) de *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Cooperia* e *Strongyloides* dos animais dos grupos G1 (auto-hemoterapia), G2 (auto-hemoterapia+ levamisol), G3 (levamisol) e G4 (controle, não tratado) no início do tratamento (D0) e nos dias 14 e 42.

OPG dos gêneros	G1			G2			G3			G4		
	D0	D14	D42	D0	D14	D42	D0	D14	D42	D0	D14	D42
<i>Haemonchus</i>	3145	7393	3832	3240	96	204	3058	107	368	3222	3635	1208
<i>Cooperia</i>	66	151	119	0	3	2	127	6	0	179	0	0
<i>Trichostrongylus</i>	99	0	0	0	1	6	0	2	8	179	151	37
<i>Strongyloides</i>	0	188	0	0	6	0	0	0	0	0	1630	1220

Os animais dos grupos tratados com auto-hemoterapia não apresentaram diferenças significativas no leucograma, exceto aumento de monócitos em D14 ($p = 0,0085$) e D42 ($p = 0,0011$) após o tratamento. Embora tenha sido observado o mesmo nos outros grupos, este aumento de monócitos em G1 foi de 400%, enquanto em G2, G3 e G4 foram 97,5, 217 e 256% respectivamente no final do período experimental (D42) (dados não mostrados). Pavão et al.⁽⁴⁷⁾ também não encontraram alterações na contagem de neutrófilos e linfócitos, mas um leve aumento (1-4%) de monócitos em camundongos infectados com *Trypanosoma cruzi* e submetidos à auto-hemoterapia.

A resposta imune adquirida na resistência contra infecções por nematódeos gastrointestinais em ovinos tem sido associada à atividade de linfócitos Th_2CD4^+ , eosinofilia e aumento do número de células inflamatórias na mucosa, tais como eosinófilos, mastócitos e leucócitos⁽⁴²⁾. Neutrófilos, eosinófilos e células que apresentam antígenos também participam da imunidade inata contra larvas de *Strongyloides stercoralis*. Além disso, foi demonstrado que os eosinófilos têm a capacidade de quimiotaxia ao microambiente parasitário, matam o parasita e depois apresentam os antígenos às células T para induzir imunidade adaptativa à infecção^(43,44,45).

O levamisol atua sobre o sistema imunológico de forma semelhante ao hormônio timopietina produzido no timo, estimulando a ação das células T, a resposta aos antígenos, a produção de interferons, aumentando a atividade fagocitária de macrófagos e neutrófilos, estimulando a citotoxicidade mediada pelas células, a produção de linfocinas e a função das células supressoras⁽⁴⁷⁾. Está relacionada à atividade imunomoduladora em indivíduos imunocomprometidos e ao aumento da eficácia nas vacinações^(48,49). Qureshi et al.⁽⁵⁰⁾ e Mojzisoova et al.⁽⁴⁹⁾ demonstraram maior

atividade e proliferação de linfócitos em búfalos e cães tratados com levamisol. Entretanto, em nossas pesquisas não observamos nenhuma alteração na contagem de neutrófilos e linfócitos em animais tratados com levamisol. Holsback et al.⁽⁸⁾ relataram um aumento significativo na contagem de linfócitos sete dias depois que ovinos foram tratados com este medicamento na mesma dose usada neste estudo e atribuíram este aumento ao efeito imunomodulador do levamisol.

Houve aumento significativo nos valores de HCT e Hb somente nos animais dos grupos tratados com levamisol (Tabela 4). Entretanto, um aumento significativo ($p = 0,012$) no valor absoluto de hemácias foi observado somente nos animais do G2. Holsback et al.⁽⁸⁾ relataram um retorno aos valores normais de RBC, Hb, HCT e PPT em ovinos tratadas com levamisol.

Todas as dez ovelhas do G1 iniciaram o experimento com diferentes graus de anemia⁽⁵¹⁾, mas ao final do experimento apenas quatro ovelhas tinham contagens abaixo de 8 milhões de hemácias/ μL de sangue (dados não mostrados), embora o valor médio estivesse abaixo do valor normal mínimo para a espécie (Tabela 4). Bambo et al.⁽²⁴⁾ e Faria et al.⁽⁵²⁾ avaliaram o efeito da auto-hemoterapia em cães e não observaram aumento significativo na contagem de HBC, HCT e Hb após múltiplas sessões de tratamento.

Tabela 4. Média \pm erro padrão da média ($\sigma\bar{x}$) da contagem de hemácias (RBC), hemoglobina (Hb), hematócrito (HCT), leucócitos e proteína plasmática total (PPT) dos animais nos grupos G1 (auto-hemoterapia), G2 (auto-hemoterapia + levamisol), G3 (levamisol) e G4 (controle, não tratado) no início do tratamento (D0) e nos dias 14 e 42

	RBC ($9-15 \times 10^6$)	Hb (g/dL) (9,0 - 15,0)	HCT (%) (28-40%)	LEUCÓCITOS (4-12.000)	PPT (5,4-9,0)
G1					
D zero	6,6 \pm 0,32 (a)	9,2 \pm 0,49 (a)	28 \pm 1,26 (a)	6.572 \pm 581,7 (a)	5,89 \pm 0,20 (a)
D14	7,2 \pm 0,70 (a)	8,8 \pm 0,68 (a)	26 \pm 1,72 (b)	7.811 \pm 958,4 (a)	5,78 \pm 0,22 (a)
D42	6,7 \pm 0,84 (a)	9,4 \pm 1,15 (a)	26 \pm 2,95 (b)	6.181 \pm 523,6 (a)	5,79 \pm 0,36 (a)
G2					
D zero	7,2 \pm 0,28 (a)	10,0 \pm 0,47 (a)	30 \pm 1,04 (a)	8.078 \pm 933,9 (a)	6,56 \pm 0,24 (a)
D14	8,5 \pm 0,96 (a)	11,2 \pm 0,28 (a,b)	32 \pm 1,06 (a)	5.661 \pm 831,9 (a)	6,56 \pm 0,18 (a)
D42	9,4 \pm 0,52 (b)	12,3 \pm 0,71 (b)	35 \pm 1,44 (b)	7.450 \pm 800,6 (a)	6,38 \pm 0,14 (a)
G3					
D zero	8,2 \pm 0,32 (a)	10,6 \pm 0,48 (a)	32 \pm 1,06 (a)	7.300 \pm 373,8 (a)	6,60 \pm 0,16 (a)
D14	7,4 \pm 0,71 (a)	12,0 \pm 0,19 (b)	35 \pm 0,56 (b)	7.595 \pm 561,9 (a)	6,50 \pm 0,22 (a)
D42	8,5 \pm 0,55 (a)	11,6 \pm 0,50 (a,b)	32 \pm 1,34 (a,b)	7.145 \pm 968,5 (a)	6,24 \pm 0,14 (a)
G4					
D zero	7,7 \pm 0,57 (a)	11,0 \pm 0,58	31 \pm 1,33 (a)	6.665 \pm 550,9 (a)	6,10 \pm 0,18 (a)
D14	7,4 \pm 0,79 (a)	9,4 \pm 0,72	28 \pm 2,08 (b)	7.210 \pm 769,4 (a)	6,10 \pm 0,23 (a)
D42	7,1 \pm 0,43 (a)	9,5 \pm 0,93	28 \pm 2,15 (b)	7.381 \pm 586,2 (a)	5,75 \pm 0,33 (a)

* Letras distintas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os dias no mesmo grupo (coluna), calculado pelo teste "t pareado"

Observamos valores variáveis e não relacionados de hemograma, leucograma, PPT, OPG e RCOF, portanto, não podemos inferir nenhum benefício ou danos da auto-hemoterapia no controle de NGI em ovinos. Acreditamos que os animais dos dois grupos não tratados (G1 e G4) foram favorecidos com cargas menores de contaminação nas pastagens provavelmente geradas pelos animais tratados com levamisol, uma vez que todos os animais foram alojados no mesmo piquete durante os 42 dias deste estudo.

Conclusões

Concluiu-se neste estudo que o tratamento com duas doses de auto-hemoterapia em intervalos de 21 dias, administrado sozinho ou como coadjuvante do levamisol, não foi capaz de controlar infecções parasitárias causadas por NGI em ovinos naturalmente infectados e não influenciou em células da linhagem mielóide e linfóide e nas proteínas do sangue, e, portanto, não produziu efeitos benéficos ou prejudiciais nos ovinos.

Apesar dos relatos de melhora clínica nos animais tratados, este estudo não identificou nenhuma melhora nos animais durante o período de avaliação de 42 dias. Um período de estudo mais prolongado e injeções em intervalos menores podem esclarecer os benefícios da auto-hemoterapia no controle da verminose em ovinos.

Conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

Referências

1. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; Censo Agropecuário 2019. [cited 2021 jul 20]. Available from: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9107-producao-da-pecuaria-municipal.html?=&t=resultados>.
2. DERAL – Departamento de Economia Rural, Divisão de Conjuntura Agropecuária. Boletim semanal, 03/2021-22 de janeiro de 2021. cited 2021 aug 2]. Available from: <https://www.agricultura.pr.gov.br/Pagina/Conjuntura-Boletim-Semanal-032021>
3. Echevarria F, Borba MFS, Pinheiro AC, Waller PJ, Hansen JW. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of the sheep in Southern Latin America: Brazil. *Veterinary Parasitology*. 1996;62:199-206. English. Available in: [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00906-X](https://doi.org/10.1016/0304-4017(95)00906-X)
4. Arosemena NAE, Bevilaqua CML, Melo ACF, Girão MD. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid areas in Brazil. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 1999;11: 873-876. English. Available in: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=FR2000000679>
5. Rashid M, Rashid MI, Akbar H, Ahmad L, Hassan MA, Ashraf K, Saeed K, Gharbi MA systematic review on modelling approaches for economic losses studies caused by parasites and their associated diseases in cattle. *Parasitology*. 2019;146:129-141. English. Available in: <https://doi.org/10.1017/S0031182018001282>
6. Estrada-Reyes ZM, Tsukahara Y, Amadeu RR, Goetsch A., Gipson TA, Sahlou T, Puchala R., Wang Z, Hart

- SP, Mateescu RG. Signatures of selection for resistance to *Haemonchus contortus* in sheep and goats. BMC Genomics, 2019;20:735. English. Available in: <http://dx.doi.org/10.1186/s12864-019-6150-y>.
7. Dos Anjos C, Silva BT, Fertoni LHS, Silva CS, Matsumoto LS, da Silva RMG, Mello-Peixoto ECT. Pomegranate extracts on larval inhibition of *Haemonchus* spp and *Cooperia* spp obtained from cattle. Bioscience Journal. 2006;32(5):1277-1285. English. Available in: <https://doi.org/10.14393/BJ-v32n5a2016-30217>
8. Holsback L, Porto PP, Marquez ES, Porto EP. Phyto-biotherapy to control gastrointestinal nematodes of sheep. Semina: Ciências Agrárias. 2013.34(6):3841-3850. English. Available in: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445744138013>
9. Castro LLD, Sprenger LK, Madrid IM, Oliveira FC, Oliveira PA, Castro LM, Berne MEA, Leite FPL. Efeito *in vitro* e *in vivo* de extratos de *Eugenia uniflora* em nematódeos gastrintestinais de ovinos. Ciência Animal Brasileira. 2019;20:1-12. Portuguese. Available in: <https://doi.org/10.1590/1089-6891v20e-49037>
10. Vilela VLR, Feitosa TF, Braga FR, Santos AD, Bezerra RA, Silva GLL, Athayde ACR, Araujo JV. Use of *Duddingtonia flagrans* in the control of gastrointestinal nematodes of feedlot goats. Semina: Ciências Agrárias. 2020;41:915. English. Available in: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2020v41n3p915>
11. Holsback L, Lima HE, Porto PP, Marquez ES, Zacarias FGS, Porto EP. Biological control of nematodes by nematode trapping fungi *Duddingtonia flagrans* in naturally infected sheep in Southern Brazil. German Journal of Veterinary Research. 2021; eISSN:2703-1322:17-26. English. Available in: <https://doi.org/10.51585/gjvr.2021.2.0010>
12. Meeusen E. Rational design of nematode vaccines; natural antigens. International Journal for Parasitology. 1996;26(8-9):813-818. English. Available in: [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(96\)80046-4](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(96)80046-4)
13. Butter NL, Dawson JM, Wakelin D, Buttery PJ. Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. The Journal Agricultural Science. 2000;134: 89-99. English. Available in: <https://doi.org/10.1017/S0021859699007315>
14. David AC. A auto-hemoterapia nas dermatoses (Tese online). Portugal: Faculdade de Medicina do Porto; 1924. English. Available in: http://repositorio-aberto.up.pt/bitstream/10216/17607/3/210_2_FMP_TD_1_01_P.pdf
15. Shakman, S.H. Autohemotherapy Reference Manual. Definitive Guide and Historical Review from Bloodletting to Stemcells. Institute of Science www.InstituteOfScience.com; United States of America; 2010. p. 177-179. English.
16. Gottheil WS, Satenstein DL: The autoserum treatment in dermatology. JAMA. 1914, English. 63:1190-1194. 10.1001/jama.1914.02570140044014 English. Available in: <https://doi.org/10.1001/jama.1914.02570140044014>
17. Mori O, Hashimoto T. Autologous whole blood intramuscular injection as a cure for chronic urticaria: report of a patient in whom intradermal injection of autologous serum continued to cause a weal-and-flare response. British Journal of Dermatology. 1999;140(6):1192-1193. English. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10354108/>
18. Staubach P, Onnen K, Vonend A, Metz M, Siebenhaar F, Tschentscher I, Opper B, Magerl M, Lütke R, Kromminga A, Maurer M. Autologous whole blood injections to patients with chronic urticaria and a positive autologous serum skin test: A placebo-controlled trial. Dermatology. 2006; 212:150-9. English. Available in: <https://doi.org/10.1159/000090656>
19. Schäfer T. Epidemiology of complementary alternative medicine for asthma and allergy in Europe and Germany. Annals of Allergy, Asthma & Immunology. 2004;93:S5-S10. English. Available in: [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61481-0](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61481-0)
20. Cortés-Ros OM, Oliveira AS, Figueiredo FNM, Batista MRC, García LP, Olivares AMO. Tratamiento de la Psoriasis vulgar com auto-hemoterapia menor. Hospital “Celia Sánchez Manduley”. 2016-2018. Multimed Revista Médica. 2019;23(4):758-774. Spanish. Available in: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-48182019000400758&lng=es&nrm=iso&tlng=es
21. dos Anjos DA, Assis MF, Martins RR, Tomacheuski RM, Taffarel MO. Evaluation of hemoacupuncture in the treatment of dogs with thrombocytopenia. Journal of Veterinary Science and Public Health.

2020;7(2): 112-118. English. Available in: <https://doi.org/10.4025/revcivet.v7i2.42405>

22. Quessada AM, Carvalho CJS, Oliveira RN, Costa PM, Barbosa SRV, Sousa e Silva SMM. Auto-hemoterapia como adjuvante no tratamento de mastocitoma em cão: relato de caso. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*. 2010;17(3/4):108-110. Portuguese. Available in: <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2014.153>

23. Borges OMM, Souza AP, Mendes RS, Araújo KN, Torres LM, Dantas AKFP. Clinical Effectiveness of Autohemotherapy as an Adjuvant Treatment of Canine Parvovirus. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2014;42:1224. English. Available in: <http://www.ufrgs.br/actavet/42/PUB%201224.pdf>

24. Bambo O, Cardoso JMM, Dimande A, Mapatse M, Santos IFC. Auto-hemoterapia no tratamento da papilomatose oral canina – Relato de caso. *MedVep Dermato – Revista de Educação Continuada em Dermatologia e Alergologia Veterinária*. 2012;2(2):39-43. Portuguese. Available in: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/vti-11395>

25. Borges OMM, Araújo CLM, Ramalho GC, Silva RMN, Tanikawa A, Souza AP. Effects of Autohemotherapy on Hematologic Parameters and Morphology of Canine Oral Papillomatosis. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2017;45(1):211. English. Available in: http://www.ufrgs.br/actavet/45-suple-1/CR_211.pdf

26. Dhule SJ. Auto-hemotherapy for Management of Caprine Papillomatosis. *Intas Polivet*. 2013; 14(II):425-426. English. Available in: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ipo&volume=14&issue=2&article=091>

27. Ranjan R, Ghumman SPS, Bhatt GR, Singh RS. Efficacy of Autogenous Vaccine and Auto-hemotherapy in Bovine Cutaneous Papillomatosis. *Intas Polivet*. 2013;14(II):411-414. English. Available in: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ipo&volume=14&issue=2&article=086>

28. Kavithaa NV, Rajkumar NV, Jiji RS. Papillomatosis in Jersey cows and its different medical treatment. *International Journal of Science, Environment*. 2014;3(2):692-694. English. Available in: <https://www.ijset.net/journal/297.pdf>

29. Nehru PA, Sunandhadevi S, Rama T, Muniyappan N. Efficacy of Auto-Hemotherapy in Bovine Teat Papillomatosis: A Case Report. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2017;5(8):350. English. Available in: <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2017/5.8.350.351>

30. Mettenleiter MW. Autohemotransfusion in preventing postoperative lung complications. *American Journal of Surgery*. 1936;XXXII(2): 321-323. English. Available in: [https://doi.org/10.1016/S0002-9610\(36\)90155-1](https://doi.org/10.1016/S0002-9610(36)90155-1)

31. Olwin JH, Ratajczak HV, House RV. Successful Treatment of Herpetic Infections by Autohemotherapy. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 1997;3(2):155-158. English. Available in: <https://doi.org/10.1089/acm.1997.3.155>

32. Malka S, Hullet AC, Borges MS, Lozano AP. International Perspectives on Controversial Practices in Allergic Diseases. The South American Experience. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. 1996;14:271-287. English. Available in: <https://doi.org/10.1007/BF02802219>

33. Ziment I. Unconventional Therapy in Asthma. *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. 1996;14:289-320. English. Available in: <https://doi.org/10.1007/BF02802220>

34. Coles GC, Jackson F, Pomroy WE, Prichard RK, von Samson-Himmelstjerna G, Silvestre A, Taylor MA, Vercruysse J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*. 2006;136:167-185. English. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.11.019>

35. Gordon HMCL, Whitlock HV. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research*. 1939;12(1): 50-52. English. Available in: <https://publications.csiro.au/rpr/download?pid=procite:21259a33-8a8e-4add-9315-f8338091a3e6&dsid=DS1>

36. Roberts FHS, Sullivan PJ. Methods for egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*. 1950;1(1): 99-102. English. Available in: <https://doi.org/10.1071/AR9500099>

37. Keith RK. The differentiation of the infective larval of some common nematode parasites of cattle. *Australian Journal of Zoology*. 1953;1(2):223-230. English. Available in: <https://doi.org/10.1071/ZO9530223>

38. Wood IB, Amaral NK, Bairden K, Duncan JL, Kassai T, Malone JB, Pankavich JA, Slocombe O, Taylor SM, Vercruyse J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Veterinary Parasitology*. 1995;58:181-213. English. Available in: [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017\(95\)00806-2](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4017(95)00806-2)
39. Junior FC, Bambo OR, Cardoso JMM, Laisse CJM, Gallina MF, Zadra VF, Rahal SC, Santos IFC. Combinação de auto-hemoterapia e sulfato de vincristina no tratamento de tumor venéreo transmissível em cadelas em Moçambique. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2021;49(1): 659. Portuguese. Available in: <https://www.seer.ufrgs.br/ActaScientiaeVeterinariae/article/viewFile/111725/pdf>
40. Stewart-Williams S, Podd, J. The placebo effect: dissolving the expectancy versus conditioning debate. *Psychological Bulletin*. 2004;130(2):324-340. English. Available in: <https://doi.org/10.1037/0033-2909.130.2.324>
41. Abdallah MA, Elzamk M, Sallam MA. Autologous serum injection versus autologous blood in the treatment of chronic autoreactive urticaria. *Journal of the Egyptian Women's Dermatologic Society*. 2019;9:26-31. English. Available in: <https://doi.org/10.1097/01.EWX.0000407617.33366.0f>
42. Amarante AFT, Amarante MRV. Breeding sheep for resistance to nematode infections. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2003;2:147-161. English. Available in: <https://medwelljournals.com/abstract/?doi=javaa.2003.147.161>
43. Galioto AM, Hess JA, Nolan TJ, Schad GA, Lee JJ, Abraham D: Role of eosinophils and neutrophils in innate and adaptive protective immunity to larval *Strongyloides stercoralis* in mice. *Infection and Immunity*. 2006;74:5730-5738. English. Available in: <https://doi.org/10.1128/IAI.01958-05>
44. Stein LH, Redding KM, Lee JJ, Nolan TJ, Schad GA, Lok JB, Abraham D: Eosinophils utilize multiple chemokine receptors for chemotaxis to the parasitic nematode *Strongyloides stercoralis*. *Journal of Innate Immunity*. 2009;1:618-630. English. Available in: <https://doi.org/10.1159/000233235>
45. Padigel UM, Hess JA, Lee JJ, Lok JB, Nolan TJ, Schad GA, Abraham D: Eosinophils act as antigen-presenting cells to induce immunity to *Strongyloides stercoralis* in mice. *The Journal of Infectious Diseases*. 2007;196:1844-1851. English. Available in: <https://doi.org/10.1086/522968>
46. Pavão BP, Demarque KC, Batista MM, Oliveira GM, Silva CF, Silva FHG, Caputo LFG, Cascabulho CM, Barcinski MA, Soeiro MNC. Impact of autologous whole blood administration upon experimental mouse models of acute *Trypanosoma cruzi* infection. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*. 2018; 24:25. English. Available in: <https://doi.org/10.1186/s40409-018-0157-8>
47. Symoens J, Schuermans Y. Levamisole. *Clinics in Rheumatic Diseases*. 1979;5(2): 603-629. English. Available in: [https://doi.org/10.1016/S0307-742X\(21\)00086-2](https://doi.org/10.1016/S0307-742X(21)00086-2)
48. Brunner CJ, Muscopolat CC. Immunomodulatory effects of levamisole. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1980;176:1159-1162. English. Available in: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7216893/>
49. Mojžišova J, Hromada R, Pauli S, Ondrašovič M, Bajova V. Immune response and immunomodulatory effect of levamisole in immunosuppressed dogs vaccinated against parvovirus. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 2004;48:93-97. English. Available in: <https://jvetres.piwet.pulawy.pl/files/archive/20042/20042093098.pdf>
50. Qureshi Z.I., Lodhi L.A., Samad H.A., Naz N.A. & Nawaz M. Haematological profile following immunomodulation during late gestation in buffaloes (*Bubalis bubalus*). *Pakistan Veterinary Journal*. 2001;21:148-151. English. Available in: http://pvj.com.pk/pdf-files/21_3/148-151.pdf
51. Kramer JW. Normal haematology of cattle, sheep, and goat. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC (Eds). *Schalm's Veterinary Haematology* 5.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 2000. p.1075-1084.
52. Faria BP, Rodrigues PR, Calazans RA, Costa PC. Auto-hemoterapia em cães. *Enciclopédia Biosfera*. 2014;10(19):184-195, 2014. Portuguese. Available in: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014b/AGRARIAS/autohemoterapia.pdf>