

## RESSALVA

Alertamos para ausência da capa, folha de rosto e páginas pré-textuais, não incluídas pelo(a) autor(a) no arquivo original.

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O Brasil apresenta o maior rebanho comercial de bovinos do mundo que em 2005 atingiu cerca de 207,2 milhões de animais, com um aumento de 1,3% em relação a 2004 (IBGE, 2008). Porém, esta produtividade é afetada pelo parasitismo por nematódeos gastrintestinais. Segundo AMARANTE (2001), nem sempre o parasitismo causa doença, pois os hospedeiros ou a maioria deles possuem mecanismos imunológicos que na maioria das vezes possibilitam manter a população de endoparasitas sob controle. Quando isso ocorre, pode-se afirmar que a relação hospedeiro-parasita encontra-se em equilíbrio.

Entretanto, essa relação pode ser quebrada por diversos fatores como condições climáticas desfavoráveis e o estado fisiológico dos animais. Na maioria das vezes o desequilíbrio é causado pela ação do próprio pecuarista, ao adotar medidas de manejo inadequadas ou ao utilizar incorretamente os anti-helmínticos. Um problema sério é a introdução de animais de regiões de clima temperado que não apresentam resistência contra algumas espécies de parasitas que são abundantes em regiões tropicais. O mesmo ocorre quando os animais são criados de forma intensiva, em áreas de alta produção de massa verde e, conseqüentemente altas lotações, o que provoca aumento da contaminação ambiental com os estágios de vida livre dos parasitas (AMARANTE, 2001).

O parasitismo gastrintestinal por nematódeos tem ocasionado grandes perdas econômicas na bovinocultura devido à redução da produtividade do rebanho. Este fato foi constatado por SOUTELLO et al. (2002) em estudo no qual animais não tratados com anti-helmíntico deixaram de ganhar cerca de 53 kg em um período de 18 meses. Da mesma forma, BIANCHIN et al. (2007) registraram ganho de peso médio de 33 kg a mais em bovinos tratados com endectocida em comparação com animais não tratados.

Os nematódeos gastrintestinais mais importantes em bovinos são: *Haemonchus placei*, *Haemonchus similis*, *Ostertagia ostertagi* e *Trichostrongylus axei*; parasitas do abomaso. No intestino delgado, encontram-se *Cooperia pectinata*, *Cooperia punctata*, *Strongyloides papillosus* e *Nematodirus* spp. No intestino grosso são comuns as espécies de *Oesophagostomum radiatum*, *Trichuris discolor* e *Trichuris globulosa*. Em ovinos e caprinos são encontrados parasitando o abomaso as espécies de *Haemonchus contortus* e *Ostertagia circumcincta*; no intestino delgado *Cooperia curticei*, *Cooperia surnabada*, *Trichostrongylus colubriformis*, *S. papillosus* e *Nematodirus spathiger*; e no intestino grosso *Oesophagostomum columbianum*, *Oesophagostomum venulosum* e *Trichuris ovis*. Geralmente, a prevalência desses parasitas e sua importância econômica são influenciadas pela estação do ano e condições climáticas da região (URQUHART, et al., 1996).

Além da utilização de anti-helmínticos, para o controle parasitário dos nematódeos gastrintestinais de ruminantes são empregadas várias práticas de manejo que visam reduzir a contaminação das pastagens, (AMARANTE, 2005). Este é o caso da integração de ovinos e bovinos, que tem por base a especificidade parasitária dos nematódeos gastrintestinais (AMARANTE et al., 1997). A procura por animais geneticamente resistentes as verminoses também tem sido avaliada em animais da raça Nelore, nos quais observou-se que a imunoglobulina E (IgE) sérica total pode servir como um marcador adicional para selecionar animais resistente (BRICARELLO et al., 2007).

Várias classes de anti-helmínticos são utilizadas no tratamento e na prevenção das helmintoses, tais como, imidazotiazóis, piperazinas, benzimidazóis, organofosforados, salicilanilidas e as lactonas macrocíclicas. As lactonas foram as últimas drogas a serem lançadas no mercado, as quais são endectocidas, ou seja, atuam não apenas em endo mas também em ectoparasitas.

Um dos principais grupos de anti-helmínticos é o das lactonas macrocíclicas, drogas potentes que foram introduzidas no mercado nos anos 80. Constituem a terceira geração de anti-helmínticos de amplo espectro com ação anti-helmíntica, inseticida e acaricida. Possuem dois grupos químicos as avermectinas (abamectina, ivermectina, doramectina e eprinomectina) e as milbemicinas (moxidectina), ambas diferem apenas pela alteração de radicais ligados aos seus anéis macrolídicos. Ambos grupos químicos são produzidos através da fermentação de actinomicetos da terra do gênero *Streptomyces*, e têm atividades biológicas semelhantes (SHOOP et al., 1995). São drogas de uso extensivo no controle parasitário de ruminantes - bovinos, ovinos e caprinos, dentre outros animais.

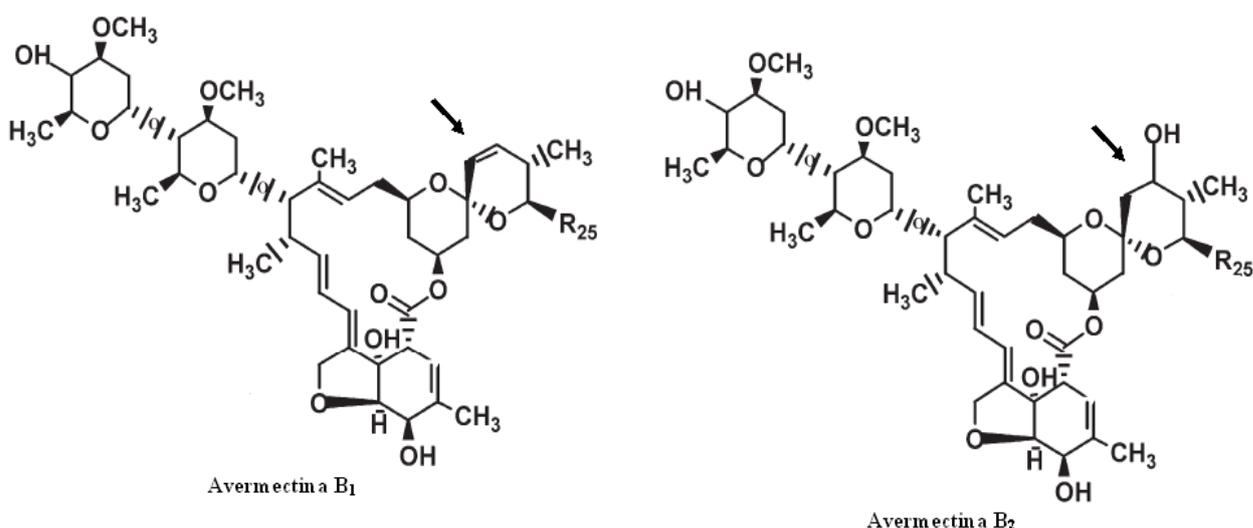
O mecanismo de ação das lactonas macrocíclicas ainda não foi totalmente elucidado. Acredita-se que os princípios ativos das avermectinas e milbemicinas têm um modo de ação comum contra os parasitas (SHOOP et al., 1995). Este modo de ação é baseado nas interações da droga com os canais receptores para a inibição da neurotransmissão nos invertebrados, que são atribuídos ao ácido gama amino butírico (GABA) e o glutamato, conhecidos por sua ação no bloqueio da atividade elétrica das células musculares e nervosas, pelo aumento da condução dos íons de cloro. Os receptores iônicos do glutamato estão localizados em sua maioria em células musculares e somáticas, na farínge e no útero, o que afeta a motilidade, a capacidade de alimentação e reprodução do parasita (MOTTIER e LANUSSE, 2001).

### ***Avermectinas***

As avermectinas foram descobertas em 1976, produzidas de uma mistura de oito

componentes diferentes da fermentação de *Streptomyces avermitilis*. Estes componentes naturais são denotados de A<sub>1a</sub>, A<sub>1b</sub>, A<sub>2a</sub>, A<sub>2b</sub>, B<sub>1a</sub>, B<sub>1b</sub>, B<sub>2a</sub>, B<sub>2b</sub>. Os componentes-A possuem um grupo metoxil na posição C-5, enquanto o grupo B tem uma função hidroxil.

O componente-1 é descrito com uma dupla ligação na posição C-22 e C-23, enquanto que os componentes-2 têm apenas uma ligação com o grupo hidroxil em C-23 (Figura 1) (SHOOP e SOLL, 2002).



**Figura 1.** Estrutura química das Avermectinas, componente 1 e 2, com uma dupla ligação na posição C-22 e C-23 (seta), e uma ligação com um grupo hidroxil em C-23 (seta), respectivamente. Fonte: SHOOP e SOLL (2002).

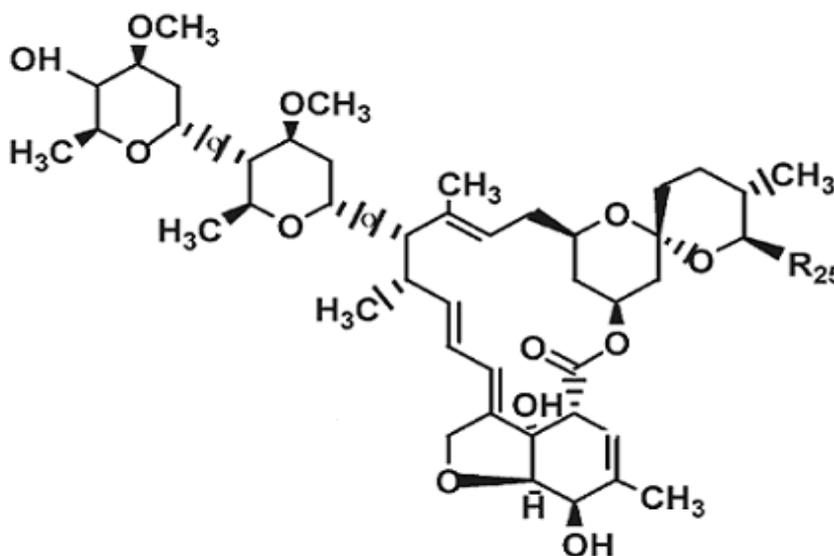
Durante a fermentação, a separação dos componentes A e B é impraticável e desnecessária, porque estes dois homólogos possuem atividades idênticas. Na literatura as avermectinas são freqüentemente citadas apenas para A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>, B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub>. As avermectinas do tipo B<sub>1a</sub> são as mais importantes por possuírem elevada eficácia contra um amplo espectro de parasitos. Na produção industrial, durante a formulação das avermectinas, a separação dos grupos B<sub>1a</sub> e B<sub>1b</sub> não é realizada, portanto, os produtos comerciais são na verdade uma mistura de não menos que 90% do grupo "A" e não mais do que 10% do grupo "B" (SHOOP e SOLL, 2002).

A segurança e a toxicidade das lactonas macrocíclicas depende da espécie animal e da dose terapêutica. Em bovinos da raça Murray Grey foram registrados altos níveis de avermectinas no tecido cerebral, conseqüentemente por uma deficiência da glicoproteína-P nestas espécies. A glicoproteína-P atua como uma proteína transmembrânica que transporta

certas drogas de dentro e fora das células, isto é, reduz a distribuição e a biodisponibilidade das drogas no tecido, e aumenta a eliminação da mesma (DANAHER et al., 2006).

A ivermectina semi-sintética derivada da mistura dos componentes B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> (Figura 2), foi a primeira lactona macrocíclica a ser comercializada, desde 1981, em mais de 60 países para uso animal, tendo revolucionado o controle parasitário. Indicada na dosagem de 200 µg/kg, por via subcutânea e oral e na de 500 µg/kg, por via tópica (pour-on), possui atividade contra nematódeos e artrópodes de bovinos, ovinos, caprinos, suínos, eqüinos, cães, gatos e do homem (SHOOP e SOLL, 2002).

Abamectina, também chamada de avermectina-B<sub>1a</sub>, é um produto natural das avermectinas, obtida da fermentação de *S. avermitilis*. A abamectina foi desenvolvida como produto injetável para a utilização em bovinos, com semelhante espectro de eficácia da ivermectina. Sua produção mais simples combina uma excelente potência e espectro contra nematódeos e artrópodes, na dosagem de 200 µg/kg (SHOOP et al., 1995).



**Figura 2.** Estrutura química da Ivermectina, mistura dos componentes B<sub>1</sub> e B<sub>2</sub> das avermectinas, ausência da dupla ligação no C-22 e C-23 e do grupo hidroxil no C-23. Fonte: SHOOP e SOLL (2002).

### **Milbemicinas**

Descoberta em meados de 1967, através da fermentação de actinomicetos, onde se encontrou o metabólito B-41, com elevada atividade acaricida. As milbemicinas diferem das avermectinas na posição do dissacarídeo C-13 (SHOOP e SOLL, 2002).

A moxidectina é a segunda geração pentacíclica das lactonas macrocíclicas dos compostos da classe das milbemicinas. Obtida de um derivado semi-sintético, resultado do produto da fermentação de *Streptomyces cyanogriseus noncyanogenus*, organismo isolado em 1983 na Austrália, endectocida de amplo espectro (endo- e ectoparasita) (ROCK et al., 2002).

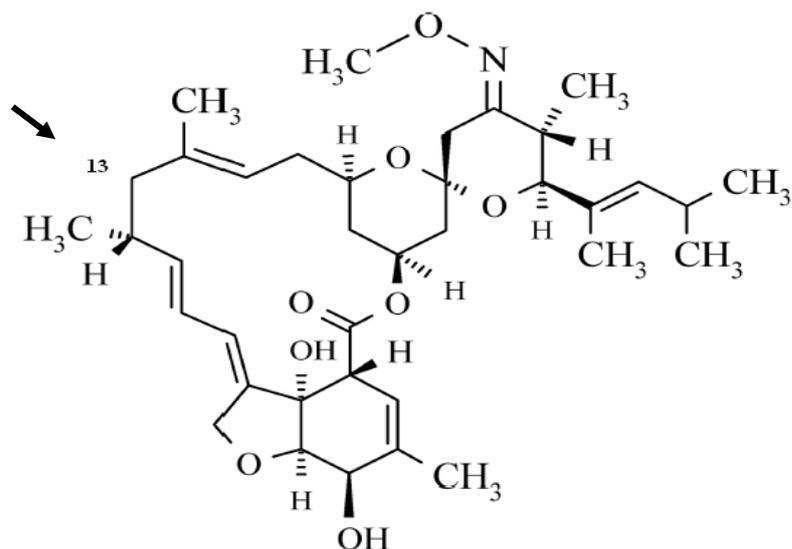
De estrutura similar a ivermectina, a moxidectina difere desta, por não possuir em sua estrutura um dissacarídeo C-13, presente na ivermectina (figura 3). O primeiro produto fabricado foi à formulação injetável para bovinos, lançado em 1990 na Argentina, na dosagem de 200 µg/kg. Subseqüentes formulações da moxidectina foram introduzidas no mercado para ovinos, eqüinos, suínos e cães (ROCK et al., 2002).

Desde então, a moxidectina é comercializada mundialmente para o controle parasitário de ruminantes na formulação injetável 1% e 10%, oral 0,1% e pour-on 0,5% (FORT DODGE, 2008).

A eficácia da moxidectina 1% foi demonstrada na formulação injetável, não aquosa, na dose de 0,2 mg/kg de peso vivo, com efeito terapêutico e atividade prolongada contra muitos nematódeos gastrintestinais de bovinos (SMITH et al., 2000; STROMBERG et al., 2000).

Apesar da moxidectina não ser registrada para a utilização em caprinos, sua segurança foi comprovada em cabras de todas as idades e na fase reprodutiva, desde que se tome o devido cuidado para evitar super-dosagem (MAVROGIANNI et al., 2004).

A moxidectina atua como agonista de elevada afinidade sobre a subunidade  $\alpha$  dos canais de cloro presente nas células dos nematódeos. Quando a droga se une de forma seletiva e irreversível aos receptores, aumenta a permeabilidade da membrana das células musculares e nervosas ao cloro, o que causa hiperpolarização. Como consequência, ocorre paralisia do parasita que não consegue se manter em seu hábitat (MOTTIER e LANUSSE, 2001).



**Figura 3.** Estrutura química da Moxidectina, ausência de um dissacarídeo na posição C-13 (seta). Fonte: ROCK et al., (2002).

### *Desenvolvimento da Resistência Anti-helmíntica*

A freqüente e inadequada utilização dos anti-helmínticos resultou em uma crescente seleção de populações de parasitas resistentes aos tratamentos químicos. A ocorrência de nematódeos de ovinos, caprinos e recentemente de bovinos com resistência às lactonas macrocíclicas tem sido registrada globalmente (COLES et al., 2006).

O desenvolvimento da resistência anti-helmíntica deveu-se ao aumento no uso dos anti-helmínticos, particularmente os da classe das lactonas macrocíclicas, na tentativa de maximizar a produção, resultando no inevitável surgimento de populações resistentes (COLES, 2005).

Mundialmente, o aparecimento da resistência aos antiparasitários se tornou uma séria ameaça para o controle das infecções por nematódeos. Esta resistência é resultado do uso intensivo, bem como das dosagens impróprias (sub ou super dosagem) sem embasamento epidemiológico, havendo assim, uma crescente seleção de populações de parasitas resistentes. Outro motivo importante para a seleção de nematódeos resistentes, é o tratamento dos animais quando há uma pequena proporção da população total de parasitas em “refugia”, o que provavelmente contribui para uma maior pressão de seleção de parasitas resistentes ao tratamento anti-helmíntico. Considera-se como parasitas em “refugia” aqueles que não são expostos ao tratamento anti-helmíntico, tais como os estágios de vida livre que se encontram na pastagem, ou mesmo aqueles presentes em animais que não receberam o tratamento (LOVE, 2003).

De acordo com PRICHARD et al. (1980), a resistência, que é hereditária, está presente quando há uma maior frequência de indivíduos dentro de uma população que são capazes de tolerar as doses de um composto que não seriam toleradas por uma população normal da mesma espécie. A resistência lateral ocorre quando a resistência parasitária a um composto químico resulta da seleção promovida por outro composto com um modo similar de ação. A resistência cruzada assemelha-se a resistência lateral, mas envolve compostos químicos com diferentes modos de ação. Resistência múltipla ocorre quando há indivíduos em uma população, que são resistentes a dois ou mais grupos de anti-helmínticos diferentes, como resultado da seleção de cada grupo, independentemente, ou como resultado da resistência cruzada (PRICHARD et al., 1980).

No processo de seleção de parasitas resistentes, a droga remove seletivamente os indivíduos susceptíveis de uma população geneticamente heterogênea. Isto provoca aumento no número de indivíduos portadores de genes que conferem resistência, os quais são herdados pelos descendentes. Após várias gerações, os genes que conferem resistência predominam, o que possibilita a sobrevivência de um número significativo de helmintos resistentes em uma determinada população, após o tratamento com anti-helmíntico (KÖHLER, 2001).

Já, o fenômeno da reversão da resistência (PRICHARD et al., 1980) é o decréscimo da frequência de indivíduos resistentes em uma população após a remoção do agente de seleção. Porém, uma vez a resistência tendo se instalado em uma população, a reversão ou a perda da resistência nunca foi observada (SANGSTER e DOBSON, 2002).

### ***Mecanismos Bioquímicos e Fisiológicos da Resistência às Lactonas Macroclílicas***

O desenvolvimento da resistência parasitária aos anti-helmínticos da classe das lactonas macroclílicas é consequência de um complexo fenômeno pré-adaptativo dos parasitas portadores de genes que conferem resistência e a capacidade de sobreviver à ação destas drogas. Bem como por fatores externos que envolvem mecanismo de ação, grau de eficácia do princípio ativo, frequência de tratamento, dosagem e formas de manejo animal.

Quando uma classe de anti-helmíntico é introduzida, a frequência de alelos que conferem resistência é baixa, indicando que na ausência de tratamento, estes alelos não têm influência no desempenho reprodutivo do parasita (WOLSTENHOLME et al., 2004).

Assim, a resistência anti-helmíntica ocorre sob três fases interligadas para o acúmulo de alelos de resistência. Primeiramente, o estabelecimento da resistência é em grande parte um evento aleatório influenciado pelo tamanho e diversidade da população de parasitas, seguida da taxa de mutação do(s) gene(s) em questão, e da relativa capacidade reprodutiva do

indivíduo com mutação gênica comparada com a presença de um gene tipo-selvagem/irrestrito. A frequência de alelo de resistência é normalmente baixa. Na segunda fase, a resistência se desenvolve em resposta a seleção promovida por uma droga que elimina os indivíduos suscetíveis, mas permite que indivíduos portadores de genes de resistência sobrevivam. Desta forma, o tratamento anti-helmíntico torna-se uma poderosa ferramenta para a seleção de alelos de resistência, através da seleção contínua e do aumento da frequência de alelos de resistência que estavam dispersos na população, antes mesmo desta característica ser observada a campo (WOLSTENHOLME et al., 2004).

Estudos realizados com parasitas resistentes às avermectinas demonstraram que os mesmos apresentam certa resistência a drogas da família das milbemicinas, dentre elas a moxidectina, devido ao fato dos endectocidas possuírem um mecanismo similar de ação (LE JAMBRE et al., 2000). Entretanto, PAIEMENT et al. (1999) sugeriram que a ivermectina e a moxidectina podem diferir em algum aspecto no seu modo de ação ou no mecanismo de resistência.

Os mecanismos genéticos que determinam a resistência estão envolvidos em uma série de modificações bioquímico-moleculares que determinam a diminuição do efeito da droga no parasita resistente. Dentre as bases farmacológicas e fisiológicas através da qual se gera o processo de resistência estão: a alteração do sistema enzimático necessário para a ação da droga, diminuição do número de receptores com afinidade ao fármaco, e a troca de estrutura e função das células que modificam a captação da droga ao sítio de ligação produzindo modificações no metabolismo do parasita (efluxo celular), alterando assim a capacidade de acúmulo intracelular do anti-helmíntico (MOTTIER e LANUSSE, 2001).

### ***Métodos de Diagnóstico da Resistência Anti-helmíntica***

O diagnóstico das infecções por nematódeos gastrintestinais em ruminantes domésticos inclui uma combinação de vários fatores. Dentre estes fatores inclui-se os sinais clínicos que cada gênero de nematódeo provoca no animal, associados à perda de peso, anorexia, diarreia e anemia, bem como a idade do animal, estação do ano, histórico de pastejo e o uso de anti-helmíntico (EYSKER e PLOEGER, 2000).

A capacidade de se detectar a resistência anti-helmíntica no seu estágio inicial em uma determinada população de parasitas, depende da aplicação de métodos práticos, viáveis e com alta sensibilidade em diagnosticar a resistência aos nematodocidas.

Com o intuito de avaliar e aperfeiçoar as técnicas para o diagnóstico de resistência anti-helmíntica, a Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária

(W.A.A.P.V.) reuniu pesquisadores com objetivo de desenvolver um guia de procedimentos detalhado de testes “in vivo” e “in vitro” para diagnosticar a ocorrência e o surgimento cada vez mais freqüente de populações de parasitas resistentes aos anti-helmínticos, particularmente para a detecção da resistência às lactonas macrocíclicas e de nematódeos de bovinos resistentes (COLES et al., 2006).

O teste “in vivo” mais utilizado para avaliar a eficácia e determinar a resistência às drogas anti-helmínticas baseia-se na redução média da contagem de ovos por grama de fezes (R-OPG) em um grupo tratado com anti-helmíntico em comparação com um grupo controle. Neste teste a resistência é considerada presente quando a porcentagem da R-OPG é inferior a 95% com base na média aritmética, e quando o limite inferior do intervalo de confiança (95%) é menor que 90% (COLES et al., 1992). Contudo, a R-OPG é um teste limitado, pois apenas mede a produção de ovos de fêmeas adultas, fato que nem sempre apresenta correlação com a carga parasitária e o número real de ovos eliminados.

O teste “in vivo” mais preciso para avaliar a eficácia e a resistência anti-helmíntica é o teste controlado, em que se compara a média do número de nematódeos obtida após a necropsia de animais de um grupo tratado com a média de um grupo controle. A diferença entre o número de parasitos serve como base para o cálculo da eficácia do produto testado, que poderá ser muito alta (acima de 98%), alta (90 a 98%), moderada (80 a 89%) ou insuficiente (menor que 80%) (WOOD et al., 1995). No entanto, por mais preciso que seja este procedimento, o mesmo não é aplicável para diagnósticos de rotina devido a sua complexidade e elevado custo (TORGERSON et al., 2005).

Uma grande variedade de testes “in vitro” foi desenvolvida para a detecção de populações de nematódeos resistentes aos principais grupos de anti-helmínticos, segundo o modo de ação dos fármacos e os diferentes estágios evolutivos do parasita. Tais como: Teste de eclosão de ovos; Teste de motilidade, migração e paralisia larval; Teste de desenvolvimento larval (comercializado na Austrália como DrenchRite®); Teste de desenvolvimento de nematódeos adultos; Teste bioquímico e Técnicas moleculares, que não são aplicáveis às drogas da classe das lactonas macrocíclicas (COLES et al., 2006). Porém, estas técnicas usualmente apresentam algum problema de precisão, reprodutibilidade, sensibilidade e interpretação, principalmente em relação às drogas pertencentes à classe das lactonas macrocíclicas (TAYLOR et al., 2002).

Outro diagnóstico ‘in vitro’ desenvolvido para detectar a resistência anti-helmíntica às lactonas macrocíclicas é o Ensaio da Inibição da Alimentação Larval, que emprega larvas de primeiro estágio (L<sub>1</sub>) de algumas espécies de trichostrongilídeos de ruminantes. Tem como

vantagem a rapidez em detectar populações de parasitas susceptíveis e resistentes, comparadas ao Teste de Desenvolvimento de Nematódeos Adultos (ÁLVAREZ-SÁNCHEZ et al., 2005).

Para as lactonas macrocíclicas, KOTZE et al. (2006) avaliaram a capacidade do teste 'in vitro' - Ensaio de Migração Larval modificado, em várias espécies de nematódeos de ovinos. O estudo possibilitou detectar a presença de 10% de *H. contortus* resistentes no meio de uma população susceptível. Entretanto o teste foi ineficiente para a detecção de *T. colubriformis* e *O. circumcincta* resistentes.

Segundo SAMSON-HIMMELSTJERNA (2006), protocolos de Reação em Cadeia da Polimerase-PCR (diagnóstico molecular) apresentam alta precisão e sensibilidade quando se investiga um único parasita. Porém, resultados significativos dependem de se testar um número representativo de indivíduos (por exemplo, 100). Conseqüentemente, são testes de elevado custo, o que representa uma desvantagem da tecnologia molecular. Um dos desafios mais importantes é desenvolver testes moleculares satisfatórios para uso de rotina que avaliem a resistência em uma população parasitária com base em um pool de amostra de DNA (SAMSON-HIMMELSTJERNA, 2006).

Outro entrave do diagnóstico molecular é que os testes precisam ser validados da mesma maneira que qualquer outro ensaio, antes dos resultados obtidos poderem ser considerados válidos (CONRATHS e SCHARES, 2006).

### ***Relatos de Resistência às Lactonas Macrocíclicas em Ruminantes Domésticos***

Apesar de haver poucos relatos de resistência anti-helmíntica em bovinos na literatura, isto não corresponde a realidade encontrada a campo, e também não quer dizer que os parasitas de bovinos têm menor biodiversidade genética para expressar resistência, quando comparados aos nematódeos de ovinos e caprinos. Esta menor expressão genética da resistência pode ser explicada pela freqüência de tratamentos a que os bovinos são submetidos em comparação aos constantes tratamentos que são realizados na ovinos e caprinocultura.

A ivermectina assim que lançada no mercado foi intensamente utilizada no controle de endo- e ectoparasitas de ruminantes, e até os dias atuais tem sido aplicada no combate parasitário mesmo quando já apresenta baixa eficácia, devido a falta de conhecimento por parte dos pecuaristas.

De acordo com os dados encontrados por SHOOP (1993), a constante utilização da ivermectina não resultou no desenvolvimento de resistência em parasitas de bovinos, eqüinos ou suínos, enquanto que o uso intensivo em ovinos e caprinos resultou no desenvolvimento de

um número limitado de espécies de nematódeos que se mostram resistentes ao tratamento. Realidade esta que já é bem diferente das recentes pesquisas que relatam populações de nematódeos gastrintestinais de ruminantes domésticos com resistência às recentes drogas da classe das lactonas macrocíclicas, ivermectina e moxidectina em todos os rebanhos do mundo.

Como exemplo, em bovinos foi observada a ocorrência da resistência as milbemicinas envolvendo vários gêneros de parasitas, especialmente *Cooperia* (FAMILTON et al., 2001).

#### *Resistência às Lactonas Macrocíclicas em Bovinos*

Inicialmente as formulações de ivermectina oral e injetável foram amplamente usadas no controle parasitário em bovinos na Nova Zelândia, o que ocasionou um alto grau de ineficácia desta droga em infecções com *Cooperia* spp. (VERMUNT et al., 1994).

Estudos posteriores na Nova Zelândia, aplicando-se o teste de R-OPG, demonstraram que cepas de *Cooperia* spp. resistentes a ivermectina exibiram resistência ao tratamento com a moxidectina e doramectina (resistência lateral). Torna-se assim imprudente a utilização destas drogas como alternativa de controle em populações de parasitas de bovinos resistentes a ivermectina (VERMUNT et al., 1996).

LOVERIDGE et al. (2003) também na Nova Zelândia ao testar a eficácia de outras lactonas macrocíclicas, como abamectina e eprinomectina em formulação tópica, encontraram a evidente presença de resistência envolvendo *C. oncophora*, e uma provável resistência de *Trichostrongylus longispicularis*. Foram observados eficácia de ambos os fármacos nas espécies de *O. ostertagi*, *T. axei* e *C. punctata*.

No Norte da Nova Zelândia a prevalência da resistência a ivermectina foi de 92% em 61 propriedades avaliadas 10 dias após o tratamento, com predomínio de 74% (61 propriedades) com resistência do gênero *Cooperia* e de *Ostertagia* em 7% (45 propriedades) (WAGHORN et al., 2006). A resistência às lactonas macrocíclicas também foi relatada por MASON e McKAY (2006) em cinco propriedades da Nova Zelândia com um percentual de redução de 86% para ivermectina (pour-on) e de 88% para a eprinomectina (pour-on), 14 dias após o tratamento, com resistência de *C. oncophora* a ambos fármacos, e uma possível resistência emergente de *Ostertagia* spp. à ivermectina.

No Reino Unido, COLES e STAFFORD (1998), baseados nas evidências de resistência anti-helmíntica na Nova Zelândia, fizeram o primeiro relato de resistência à ivermectina em bovinos do hemisfério norte, com R-OPG de 65% sete dias após o tratamento

Na Argentina, FIEL et al. (2000), ao avaliarem o tratamento com ivermectina (formulações aquosa e oleosa), doramectina e moxidectina, encontraram *H. placei*, *O.*

*ostertagi*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *T. longispicularis* e *C. oncophora* com resistência lateral e cruzada contra estas drogas.

Mais adiante, experimentos a campo com bovinos criados em diferentes propriedades na Argentina, confirmaram o desenvolvimento de *C. oncophora* e *Trichostrongylus* spp. com resistência as formulações aquosa e oleosa de ivermectina. Entretanto, a moxidectina apresentou eficácia de 95% nessas populações de parasitas, segundo o testes de R-OPG, e a doramectina alcançou apenas 85% de redução no OPG 14 dias após o tratamento (FIEL et al., 2001).

ANZIANI et al. (2001) relataram em bovinos criados na Argentina a resistência de *C. pectinata* aos diferentes princípios ativos das lactona macrocíclicas. Obtiveram através do teste de OPG, redução de 40%, 73% e 89% para ivermectina, doramectina e moxidectina, respectivamente. Os dados encontrados sugerem a ocorrência de resistência lateral entre ivermectina e doramectina e resistência cruzada com a moxidectina.

Em outro estudo, ANZIANI et al. (2004) citaram o primeiro relato de *Haemonchus* spp. com resistência simultânea às avermectinas (ivermectina) e aos benzimidazóis (ricobendazole) em bovinos criados na região central da Argentina. Nessa pesquisa os animais da propriedade avaliada vinham sendo tratados com estes anti-helmínticos nos últimos cinco anos (ANZIANI et al., 2004).

Na Argentina o caso de resistência múltipla envolvendo várias espécies de nematódeos de bovinos tem refletido nos emergentes níveis de resistência, observados em *C. oncophora* resistente às avermectinas (ivermectina) e aos benzimidazóis (febendazol). O alto índice de resistência observado foi devido a intensa utilização destas drogas no controle parasitário, assim como à ausência de “refugia”, e a freqüente circulação de bovinos infectados na mesma propriedade, aumentando a pressão de seleção para resistência (MEJIA et al., 2003).

Recentemente, SUAREZ e CRISTEL (2007) relataram a alarmante situação da resistência anti-helmíntica em rebanhos bovinos da província de Buenos Aires, Argentina, onde não havia histórico de resistência anti-helmíntica. Segundo o teste de R-OPG, foi encontrado 60% dos 25 rebanhos examinados com parasitas do gênero *Cooperia*. resistentes à ivermectina. Como observado anteriormente por outros autores, a situação da resistência anti-helmíntica nas criações de bovinos da Argentina está se agravando e se disseminando por todo o país.

Na Irlanda do Norte, estudos com o intuito de determinar a persistência da eficácia do tratamento da moxidectina e doramectina em bovinos naturalmente infectados com *C. oncophora*, demonstraram baixa eficácia da milbemicina (TAYLOR et al., 2001).

Baixas eficácias da moxidectina nas formulações injetável e tópico (pour-on) também foram observadas em infecções de *Cooperia* spp. e *Ostertagia* spp. de bovinos com redução de OPG de 92,5% e 90,7%, sete dias após o tratamento, e de 84,8% e 92,9% após 14 dias, respectivamente (WHANG et al., 1994).

Nos Estados Unidos, WILLIAMS e DeROSA (2003) demonstraram, através do teste controlado realizado com bovinos infectados experimentalmente com *Cooperia* spp., *O. ostertagi*, *T. colubriformis*, *O. radiatum*, que a moxidectina 0,5% pour-on não mostrou ser efetiva contra L<sub>4</sub> de *C. punctata*, porém demonstrou eficácia (>99%) contra estágios adultos de *Cooperia* spp. e *T. colubriformis*.

No Brasil, utilizando o teste de sensibilidade de cultivo 'in vitro', PAIVA et al. (2001) relataram a presença de isolados de *H. placei* e *C. punctata* de bovinos em Caraguatatuba, São Paulo com resistência à ivermectina.

Ao avaliar o tempo necessário para a redução de OPG superior a 90%, SOUTELLO et al. (2004) observaram, após o tratamento de bovinos com a moxidectina, uma redução de 93,8% após 24 horas, No entanto, a ivermectina não atingiu o índice de eficácia durante 28 dias do tratamento. A maior redução propiciada por esta droga foi de 65,3%, 36 horas após o tratamento. Este estudo demonstrou que a ação das drogas é relativamente rápida, desde que os parasitas não apresentem resistência, como observado para a ivermectina.

RANGEL et al. (2005), em Minas Gerais, Brasil, observaram pelo teste de R-OPG eficácia de 100% e 99% para moxidectina 1% e abamectina 1%, respectivamente, em bovinos infectados naturalmente com *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. Entretanto esses parasitas demonstraram resistência à ivermectina 1% e a doramectina 1%.

Dados semelhantes foram encontrados por BORGES et al. (2005) em bovinos de várias regiões do Brasil, onde registrou-se através do teste controlado a resistência de *H. placei*, *C. spatulata* e *C. punctata* à ivermectina em cinco propriedades analisadas. Em apenas duas propriedades a ivermectina foi eficaz contra *C. pectinata*, demonstrando assim, a grave situação de resistência anti-helmíntica em nematódeos de bovinos que esta se tornando um sério problema, a exemplo do que ocorre na ovinocultura.

No Rio Grande do Sul, Brasil, o grave desenvolvimento da resistência lateral em bovinos entre as lactonas macrocíclicas envolvendo *Trichostrongylus* spp. e *Cooperia* spp., foi confirmado através da R-OPG para as seguintes formulações: doramectina 1%, moxidectina 1%, ivermectina 1% e 3,1%, abamectina 1% e a combinação de abamectina 1,25% com ivermectina 2,25%. Também foi observado *Haemonchus* spp. com resistência à ivermectina e sensibilidade à abamectina, já o gênero *Oesophagostomum* foi resistente ao

tratamento com a doramectina. A baixa eficácia constatada entre as lactonas macrocíclicas aponta para um alerta por parte dos pesquisadores na importância de estudos técnicos de controle das parasitoses em bovinos, impedindo o agravamento da resistência anti-helmíntica (MELLO et al., 2006).

Estudos realizados no Estado de São Paulo, Brasil confirmaram a resistência anti-helmíntica às avermectinas (ivermectina e ivermectina + abamectina) em novilhas naturalmente infectadas a pasto, pelo teste de R-OPG. Nesse estudo, apenas a moxidectina mostrou 100% de eficácia após sete dias do tratamento (PAES-OLIVEIRA et al., 2006). Em bovinos mestiços criados a pasto observou-se a presença de populações de parasitas resistentes à ivermectina, com redução de apenas 62,72% nas contagens médias de OPG, 10 dias após o tratamento (PIACENTI et al., 2006).

O estatus da resistência anti-helmíntica também foi estudado por SOUTELLO et al. (2007), na região noroeste do Estado de São Paulo. Segundo o teste de R-OPG, os resultados indicaram a presença de *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp. com resistência, especialmente à ivermectina, em 92% das propriedades de bovinos avaliadas, ao contrário da moxidectina que mostrou-se eficaz após o tratamento nas mesmas propriedades estudadas.

#### *Resistência às Lactonas Macrocíclicas em Ovinos e Caprinos*

Uma das principais causas postuladas sobre a resistência anti-helmíntica em ovinos, e as emergentes cepas de nematódeos gastrintestinais resistentes, deve-se ao fato de que em muitas regiões, estes animais são criados juntamente com os caprinos (PRICHARD, 1990), aumentando a taxa de lotação das pastagens e, conseqüentemente, a contaminação delas por larvas de nematódeos. Sendo assim, populações resistentes são selecionadas e desenvolvidas em caprinos, que podem ser transferidas para ovinos e vice-versa.

Desde 1980, a prevalência da resistência anti-helmíntica nas criações de ovinos e caprinos da Nova Zelândia tem aumentado a tal ponto que é comum a ocorrência de resistência para todas as classes de anti-helmínticos de amplo espectro. A menos que surjam novos anti-helmínticos, o controle parasitário ficará insustentável ao longo do tempo (LEATHWICK et al., 2001).

GOPAL et al. (1999) fizeram o primeiro relato a campo de resistência à ivermectina em cepas de *T. colubriformis* em ovinos e caprinos da Nova Zelândia. Mais adiante, naquele país, VICKERS et al. (2001) demonstraram a presença de *O. circumcincta* e *H. contortus* resistentes a ivermectina em ovinos alcançando um percentual de 63,6 e 61,6% de eficácia seis dias após o tratamento, respectivamente. Já a moxidectina atingiu 61% e 71,4% de

eficácia, 27 dias após o tratamento. Este foi o primeiro relato de resistência as lactonas macrocíclicas em mais de uma espécie de parasita ao mesmo tempo em ovinos.

No Paraguai, MACIEL et al. (1996), ao estudarem a prevalência da resistência anti-helmíntica nos nematódeos parasitas de ovinos, encontraram *H. contortus*, *Ostertagia* spp. e *Trichostrongylus* spp. resistentes as formulações oral e injetável de ivermectina, e o severo comprometimento desta droga, considerada na época a melhor do mercado. Os autores atribuíram a alta prevalência da resistência, ao comércio de ovinos e a transferência dos animais de uma região para outra.

No Uruguai a prevalência da resistência anti-helmíntica foi observada em 80% do rebanho ovino tratado com benzimidazóis e ivermectina (1,2%) em infecções de *Haemonchus* spp.. Observou-se ainda a emergente resistência às avermectinas em criações submetidas de quatro a sete tratamentos anti-parasitários ao ano (NARI et al., 1996).

Entretanto, o primeiro estudo conduzido no norte da Argentina para pesquisar a prevalência da resistência anti-helmíntica em várias criações de ovinos, mostrou que o quadro não é tão grave quanto o observado em outras regiões da América Latina. Registrou-se 46% das propriedades avaliadas (65) com populações de *H. contortus*, *Ostertagia* spp. e *Trichostrongylus* spp. com resistência aos benzimidazóis e em 6% resistência à ivermectina (EDDI et al. 1996).

Na Escócia, BARTLEY et al. (2005) evidenciaram a ocorrência de resistência anti-helmíntica à ivermectina e aos benzimidazóis. Também foi observado em ovinos criados na Escócia a emergente presença de múltipla resistência anti-helmíntica aos benzimidazóis e à ivermectina em infecções de *Ostertagia* spp. (SARGISON et al., 2007). Foi evidenciado ainda o problema associado ao diagnóstico pobre da resistência, que pode ser mascarado pelo início da imunidade do hospedeiro ao parasita, e pela insensibilidade do teste R-OPG em detectar situações onde a resistência está emergindo nas criações (SARGISON et al., 2007).

Na região sul do Brasil, ECHEVARRIA et al. (1996) encontraram em cerca de 13% dos rebanhos de ovinos avaliados, resistência a ivermectina, com maior índice de resistência para *Ostertagia* spp., seguida de *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp. Segundo os autores, a resistência anti-helmíntica na atividade ovina chegou a um estado crítico.

Em outro trabalho conduzido na região sul do Brasil, com a utilização do teste de R-OPG, CUNHA FILHO et al. (1999) verificaram em 10 rebanhos de ovinos a presença de 100% de parasitas resistentes a ivermectina, e 20% a moxidectina.

RAMOS et al. (2002) encontraram em 65 propriedades de Santa Catarina a presença de *Haemonchus* spp. com resistência anti-helmíntica a ivermectina em 77% dos rebanhos, e

resistência de *Trichostrongylus* spp. e *Ostertagia* spp. às drogas da classe dos benzimidazóis. Os autores observaram ainda que a resistência múltipla está presente na maioria do rebanho ovino catarinense.

Já ROSALINSKI-MORAES et al. (2007) encontraram em 100% dos rebanhos ovinos de Santa Catarina resistência a ivermectina e em 66,7% resistência à moxidectina, envolvendo os gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus*. A rápida expansão da resistência anti-helmíntica na região foi atribuída em parte pela negligência de apoio técnico aos criadores, e as condições climáticas que possibilita constantemente o desenvolvimento dos estágios imaturos de parasitas, conseqüentemente a infecção durante todo o ano.

O problema mais grave de resistência relatado segundo THOMAZ-SOCCOL et al. (2004) ocorreu no Paraná, onde todas as propriedades de ovinos avaliadas apresentaram alta prevalência de parasitas resistentes a ivermectina (78,6%), a moxidectina (23,6%) e também aos benzimidazóis. Naquele Estado, *H. contortus* e *T. colubriformis* foram os parasitas identificados. Mais recentemente no mesmo Estado, MILEZEWSKI et al. (2006) demonstraram que a resistência anti-helmíntica em rebanhos de caprinos é tão alarmante quanto a de ovinos.

Na região noroeste do Estado de São Paulo, ovinos mestiços naturalmente infectados apresentaram resistência ao tratamento anti-helmíntico com as drogas da classe das lactonas macrocíclicas. Conforme os dados obtidos pela R-OPG, obteve-se um percentual de redução de 89,3% para a moxidectina, 80,5% para a ivermectina e de apenas 60% para a doramectina, sete dias após o tratamento. A maior resistência a doramectina foi atribuída a sua intensa utilização no rebanho avaliado (SOUTELLO et al, 2006).

Resistência a moxidectina também foi observada em um rebanho ovino da região de Jaboticabal, São Paulo, infectado naturalmente por nematódeos gastrintestinais que apresentou R-OPG de 70,5%, sete dias após o tratamento. Já o tratamento com a associação simultânea de albendazole, levamisole e ivermectina mostrou 99,4% de eficácia. De acordo com o teste controlado, a associação dos diferentes princípios ativos foi 100% eficaz contra as espécies de *C. punctata*, *C. pectinata*, *C. spatulata*, *T. axei*, *O. columbianum*, *T. ovis*, *C. curticei* e *S. papillosus*. Para *H. contortus* a associação dos medicamentos obteve 93% de eficácia e a moxidectina atingiu 51,4% (BUZZULINI et al., 2007).

A resistência anti-helmíntica à ivermectina observada em caprinos é tão grave que nem mesmo a aplicação de 10 vezes acima da dose recomendada pelo fabricante, apresentou eficácia na eliminação de *H. contortus* (DeVANEY et al., 1992).

Na Etiópia, rebanhos de caprinos com resistência a ivermectina, infectados com *H. contortus* e *Trichostrongylus* spp. foram submetidos a manejo de pastagem integrado com ovinos e bovinos com o intuito de restabelecer a eficácia anti-helmíntica da droga. O estudo demonstrou que a ação endectocida da ivermectina pôde ser restabelecida no controle parasitário de nematódeos gastrintestinais quando explorado o fator “refugia”, desde que se mantenham práticas profiláticas de manejo e monitoramento das contagens de OPG com o tratamento apenas dos animais com altas contagens (SISSAY et al., 2006).

Em estudo utilizando a combinação do Ensaio de Migração Larval (EML) e a R-OPG para o diagnóstico de resistência em caprinos nos Estados Unidos da América, observou-se que os resultados obtidos através do EML - kit DrenchRite® com a ivermectina e moxidectina, pode ser utilizado em ambos no diagnóstico da resistência à moxidectina. Diagnosticou-se *H. contortus* e *T. colubriformis* com resistência à moxidectina em propriedades onde o anti-helmíntico era utilizado há menos de 2 a 3 anos (KAPLAN et al., 2007).

O desenvolvimento da resistência anti-helmíntica em ruminantes domésticos é difícil de ser detectada no seu estágio inicial, devido à baixa sensibilidade dos testes *in vivo* utilizados para o diagnóstico. Como as drogas anti-helmínticas permanecem como o principal meio de controle de infecções helmínticas, a pressão de seleção para desenvolvimento da resistência continuará a ocorrer. Portanto, a fim de minimizar a seleção de parasitas resistentes, é necessária a aplicação de anti-helmínticos dentro de um programa de controle parasitário, que contemple medidas de manejo que reduzam a necessidade em se utilizar drogas, como é o caso da criação de raças resistentes aos nematódeos gastrintestinais. É importante que os profissionais que atuam na área de sanidade animal e os pecuaristas tomem ciência dos riscos da utilização freqüente de anti-helmínticos.

O artigo apresentado no capítulo 2 foi redigido com base nas normas do periódico científico “Veterinary Parasitology”, e teve por objetivo caracterizar a resistência de nematódeos gastrintestinais de bovinos à moxidectina, em uma propriedade localizada na região noroeste do estado de São Paulo, na qual estudos coparassitológicos preliminares indicaram a presença de parasitas do gênero *Oesophagostomum* com resistência ao referido anti-helmíntico. Como na literatura não há nenhuma citação de *Oesophagostomum* spp. em bovinos com resistência à moxidectina, este trabalho focou a investigação da resistência envolvendo este parasita. Além disso, a eficácia da moxidectina também foi avaliada em outras espécies de nematódeos, já que os animais foram submetidos à infecção natural. Foi também avaliado para o diagnóstico de resistência anti-helmíntica à precisão dos dados obtidos através do teste de R-OPG comparados com os resultados do teste controlado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ-SÁNCHEZ, M.A.; GARCÍA, J.P.; BARTLEY, D.; JACKSON, F.; ROJO-VÁZQUEZ, F.A. The larval feeding inhibition assay for the diagnosis of nematode anthelmintic resistance. **Exp. Parasitol.**, v.110, p.56-61, 2005.
- AMARANTE, A.F.T.; BAGNOLA Jr, J.; AMARANTE, M.R.V.; BARBOSA, M.A. Host specificity of sheep and cattle nematodes in São Paulo state, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.73, p.89-104, 1997.
- AMARANTE, A.F.T. Controle de endoparasitoses dos ovinos. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba, SP **Anais...** Piracicaba, SP: FEALQ, p.461 - 473, 2001.
- AMARANTE, A.F.T. Controle da verminose ovina. **Rev. CFMV**, n.34, p.19-30, 2005.
- ANZIANI, O.S.; ZIMMERMANN, G.; GUGLIELMONE, A.A.; VAZQUEZ, R.; SUAREZ, V. Avermectin resistance in *Cooperia pectinata* in cattle in Argentina. **Vet. Rec.**, v.149, n.2, p.58-59, 2001.
- ANZIANI, O.S.; SUAREZ, V.; GUGLIELMONE, A.A.; WARNKE, O.; GRANDE, H.; COLES, G.C. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. **Vet. Parasitol.**, v.122, p. 303-306, 2004.
- BARTLEY, D. J.; JACKSON, E.; SARGISON, N.; JACKSON, F. Further characterisation of a triple resistant field isolate of *Teladorsagia* from a Scottish lowland sheep farm. **Vet. Parasitol.**, v.134, p.261-266, 2005.
- BIANCHIN, I.; CATTO, J.B.; KICHEL, A.N.; TORRES, R.A.A.; HONER, M.R. The effect of the control of endo- and ectoparasites on weight gains in crossbred cattle (*Bos taurus taurus* x *Bos taurus indicus*) in the central region of Brazil. **Trop. Anim. Health Prod.**, v.39, p.287-296, 2007.
- BRICARELLO, P.A.; ZAROS, L.G.; COUTINHO, L.L.; ROCHA, R.A.; KOOYMAN, F.N. J.; De VRIES, E.; GONÇALVES, J.R.S.; LIMA, L.G.; PIRES, A.V.; AMARANTE, A.F.T. Field study on nematode resistance in Nelore-breed cattle. **Vet. Parasitol.**, v.148, p.272-278, 2007.
- BUZZULINI, C.; SOBRINHO, A.G.S.; COSTA, A.J.; SANTOS, T.R.; BORGES, F.A.; SOARES, V.E. Eficácia anti-helmíntica comparativa da associação albendazole, levamisole e ivermectina à moxidectina em ovinos. **Pesq. Agropec. Bras.**, v.42, p.891-895, 2007.
- COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M.; GEERTS, S.; KLEI, T.R.; TAYLOR,

- M. A.; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet. Parasitol.**, v.44, n.1-2, p.35-44, 1992.
- COLES, G.C.; STAFFORD, K.A Ivermectin-resistant *Cooperia* species from calves on a farm in Somerset. **Vet. Rec.**, v.7, p.255-256, 1998.
- COLES, G.C. Anthelmintic resistance – looking to the future: a UK perspective. **Res. Vet. Sci.**, v.78, p.99-108, 2005.
- COLES, G.C.; JACKSON, F.; POMROY, W.E.; PRICHARD, R.K.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M.A.; VERCRUYSSSE, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet. Parasitol.**, v.136, p.167-185, 2006.
- CONRATHS, F.J.; SCHARES, G. Validation of molecular-diagnostic techniques in the parasitological laboratory. **Vet. Parasitol.**, v.136, p.91-98, 2006.
- CUNHA FILHO, L.F.C.; YAMAMURA, M.H.; PEREIRA, A.B.L. Resistência a anti-helmínticos em ovinos da região de Londrina. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 2. SIMPÓSIO DE CONTROLE INTEGRADO DE PARASITOS DE BOVINOS, 1, Salvador, BA. **Anais...** Salvador: CBPV, 1999, p.153.
- DANAHER, M.; HOWELLS, L.C.; CROOKS, S.R.H.; CERKVENIK-FLAJS, V.; O'KEEFFE, M. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. **J. Chromatogr. B.**, v.844, p.175-203, 2006.
- DeVANEY, J.A.; CRAIG, T.M.; ROWE, L.D. Resistance to ivermectina by *Haemonchus contortus* in goats and calves. **Int. J. Parasitol.**, v.22, p.369-376, 1992.
- ECHEVARRIA, F.; BORBA, M.F.S.; PINHEIRO, A.C.; WALLER, P.J.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin América: Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.62, p.199-206, 1996.
- EDDI, C.; CARACOSTANTOGOLO, J.; PEÑA, M.; SCHAPIRO, J.; MARANGUNICH, L.; WALLER, P.J.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Argentina. **Vet. Parasitol.**, v.62, p.189-197, 1996.
- EYSKER, M.; PLOEGER, H.W. Value of present diagnostic methods for gastrointestinal nematode infections in ruminants. **Parasitology**, v.120, p.109-119, 2000.
- FAMILTON, A.S.; MASON, P.; COLES, G.C. Anthelmintic-resistant *Cooperia* species in cattle. **Vet. Rec.**, v.149, p.719-720, 2001.
- FIEL, C.A.; SAUMELL, C.A.; STEFFAN, P.E.; RODRIGUEZ, E.M.; SALABERRY, G.

- Resistencia de los nematodos trichostrongylideos – *Cooperia* y *Trichostrongylus* – a tratamientos con avermectinas en bovinos de la Pampa Húmeda, Argentina. **R. Med. Vet.**, v.81, p.310-315, 2000.
- FIEL, C.A.; SAUMELL, C.A.; STEFFAN, P.E.; RODRIGUEZ, E.M. Resistencia of *Cooperia* to ivermectin treatment in grazing cattle of the Humid Pampa. **Vet. Parasitol.**, v.97, n.3, p.211–217, 2001.
- FORT DODGE. Saúde animal. Disponível em: <<http://www.fortdodge.com.br>>. Acesso em: 15 mai 2008.
- GOPAL, R.M.; POMROY, W.E.; WEST, D.M. Resistance of field isolates of *Trichostrongylus colubriformis* and *Ostertagia circumcincta* to ivermectina. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.781-786, 1999.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.org.br>>. Acesso em: 05 mar. 2008.
- KAPLAN, R.M.; VIDYASHANKAR, A.N.; HOWELL, S.B.; NEISS, J.M.; WILLIAMSON, L.H.; TERRILL, T.H. A novel approach for combining the use of in vitro and in vivo data to measure and detect emerging moxidectina resistance in gastrointestinal nematodes of goats. **Int. J. Parasitol.**, v.37, p.795-804, 2007.
- KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **Int. J. Parasitol.** v.31, p.336-345, 2001.
- KOTZE, A.C., LE JAMBRE, L.F., O'GRADY, J. A modified larval migration assay for detection of resistance to macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*, and drug screening with Trichostrongylidae parasites. **Vet. Parasitol.**, v.137, p.294-305, 2006.
- LEATHWICK, D.M.; POMROY, W.E.; HEATH, A.C.G. Anthelmintic resistance in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.49, p.227-235, 2001.
- LE JAMBRE, L.F.; GILL, J.H.; LENANE, I.J.; BAKER, P. Inherent of avermectin resistance in *Haemonchus contortus*. **Int. J. Parasitol.**, v.30, n.2, p.105-111, 2000.
- LOVE, S. Combinations of sheep drenches, resistance and refugia. **NSW Agric.**, p.1-3, 2003.
- LOVERIDGE, B.; McARTHUR, M.; McKENNA, P.B.; MARIADASS, B. Probable multigeneric resistance to macrocyclic lactone anthelmintics in cattle in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.51, n.3, p.139-141, 2003.
- MACIEL, S.; GIMÉNEZ, A.M.; GAONA, C.; OWALLER, P.J.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Paraguay. **Vet. Parasitol.**, v.62, p.207-212, 1996.
- MASON, P.C.; McKAY, C.H. Field studies investigating anthelmintic resistance in young

- cattle on five farms in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.54, n.6, p.318-322, 2006.
- MAVROGIANNI, V.S.; FTHENAKIS, G.C.; PAPADOPOULOS, E.; SKOUFOS, J.; CHRISTODOULOPOULOS, G.; TZORA, A. Safety and reproductive safety of moxidectina in goats. **Small Rumin. Res.**, v.54, p.33-41, 2004.
- MEJÍA, M.E.; FERNÁNDEZ IGARTÚA, B.M.; SCHMIDT, E.E.; CABARET, J. Multispecies and multiple anthelmintic resistance on cattle nematodes in a farm in Argentina: the beginning of high resistance. **Vet. Res.**, v.34, n.4, p.461-467, 2003.
- MELLO, M.H.A.; DEPNER, R.; MOLENTO, M.B.; FERREIRA, J.J. Resistência lateral às macrolactonas em nematodas de bovinos. **Arch. Vet. Sci.**, v.11, p.8-12, 2006.
- MILEZEWSKI, V.; SOTOMAIOR, C.; MORAES, F.R.; SCHWARTZ, M.G.; CALDAS, J.S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos e caprinos do Estado do Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14., 2006, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006. p. 289.
- MOTTIER, L.; LANUSSE, C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos antihelmínticos. **Rev. Med. Vet.**, v.82, n.2, p.74-85, 2001.
- NARI, A.; SALLES, J.; GIL, A.; WALLER, P. J.; HANSEN, J. W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Uruguay. **Vet. Parasitol.**, v.62, p.213-222, 1996.
- PAES-OLIVEIRA, F.; SOUTELLO, R.V.G.; ZOCOLLER-SENO, M.C.; FAVERO, N.C.; CONDI, G.K.; BORASCHI, C.S.S.; FONZAR, J.F.; FONZAR-NETO, O.; CORREA, B.S.; OLIVEIRA, F.P. Eficiência anti-helmíntica de diferentes formulações de endectocidas em novilhas naturalmente infectadas. In: 14º CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA e 2º SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES. Ribeirão Preto, SP-BR, 3-6 de Setembro, 2006, **Anais...** Ribeirão Preto, 2006, p.291.
- PAIEMENT, J.; LEGER, C.K.; RIBEIRO, P.; PRICHARD, R. *Haemonchus contortus*: effects of glutamate, ivermectin and moxidectin on inulin uptake activity in unselected and ivermectin-selected adults. **Exp. Parasitol.**, v.92, n.3, p.193-198, 1999.
- PAIVA, F.; SATO, M.O.; ACUÑA, A.H.; JENSEN, J.R.; BRESSAN, M.C.R. V. Resistência a ivermectina constatada em *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* em bovinos. **Hora Vet.**, v.120, p.29-34, 2001.
- PIACENTI, A.K.; AMARAL, M.T.; LIMA, M.M. Resistência de nematodas gastrointestinais de bovinos a ivermectina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA

- VETERINÁRIA e 2º SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 14., 2006, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: CBPV, 2006, p.283.
- PRICHARD, R.K.; HALL, C.A.; KELLY, J.D.; MARTIN, I.C.A.; DONALD, A.D. The problem of anthelmintic resistance in nematodes. **Aust. Vet. J.**, v.56, p.239-251, 1980.
- PRICHARD, R.K. Anthelmintic resistance in nematodes: Extent, recent understanding and future directions for control and research. **Int. J. Parasitol.**, v.20, n.4, p.515-523, 1990.
- RAMOS, C.I.; BELLATO, V.; ÁVILA, V.S.; COUTINHO, G.C.; SOUZA, A.P. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no estado de Santa Catarina, Brasil. **Cienc. Rural**, v.32, n.3, p.473-477, 2002.
- RANGEL, V.B.; LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R.; SANTOS JR, E.J. Resistência de *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. às avermectinas em bovinos de corte. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, n.2, p.186-190, 2005.
- ROCK, D.W.; DeLAY, R.L.; GLIDDON, M.J. Chemistry, Pharmacology and Safety: Moxidectin. In: REW, R.S.; VERCRUYSSSE, J. **Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy**. CABI Publishing, Wallingford, UK, 2002. cap.1.4, p. 75-96.
- ROSALINSKI-MORAES, F.; MORETTO, L.H.; BRESOLIN, W.S.; GABRIELLI, I.; KAFER, L.; ZANCHET, I. K.; SONAGLIO, F.; THOMAZ-SOCCOL, V. Resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos da região da associação dos municípios do Alto Irani (AMAI) oeste de Santa Catarina. **Cienc. Anim. Bras.**, v.8, n.3, p.559-565, 2007.
- SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.V. Molecular diagnosis of anthelmintic resistance. **Vet. Parasitol.**, v.136, p.99-107, 2006.
- SANGSTER, N.; DOBSON, R.J. Anthelmintic resistance in the biology of nematodes (ed. Lee, D.L.), Harwood, p.531-567, 2002.
- SARGISON, N.D.; JACKSON, F.; BARTLEY, D.J.; WILSON, D.J.; STENHOUSE, L.J.; PENNY, C.D. Observations on the emergence of multiple anthelmintic resistance in sheep flocks in the south-east of Scotland. **Vet. Parasitol.**, v.145, p.65-76, 2007.
- SISSAY, M.M.; ASEFA, A.; UGGLA, A.; WALLER, P.J. Anthelmintic resistance of nematode parasites of small ruminants in eastern Ethiopia: Exploitation of refugia to restore anthelmintic efficacy. **Vet. Parasitol.**, v.135, p.337-346, 2006.
- SHOOP, W.L. Ivermectin resistance. **Parasitol. Today.**, v.9, p.154-159, 1993.
- SHOOP, W.L.; MROZIK, H.; FISHER, M.H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Vet. Parasitol.**, v.95, p.139-156, 1995.
- SHOOP, W.; SOLL, M. Chemistry, Pharmacology and Safety of the Macrocyclic Lactones. In: REW, R.S.; VERCRUYSSSE, J. **Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy**.

- CABI Publishing, Wallingford, UK, 2002, p.448.
- SMITH, L.; SCHOLL, P. L.; DeLAY, R. Dose confirmation study of a 1% moxidectin nonaqueous injectable formulation against L<sub>4</sub> larval and adult stages of *Dictyocaulus viviparus*, *Haemonchus placei* and *Trichostrongylus axei* in cattle in Wisconsin. In: PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF VETERINARY PARASITOLOGISTS. 2000, Salt Lake City, UT, resumo.25, 2000, p.40.
- SOUTELLO, R.V.G., CONDI, G.K., PAES, F., FONZAR, J.F. Influência do parasitismo e da suplementação proteica no desenvolvimento ponderal de novilhos mestiços Angus-Nelore e da raça Guzerá. **Cienc. Agr. Saúde**, v.2, p.21-27, 2002.
- SOUTELLO, R.V.G.; SUGISAWA, L.; TANAKA, D.F.; OLIVEIRA, F.P.; CONDI, G.K.; PEGAIANI, J.C.; FONZAR, J.F.; TANAKA, K.I.C.; COELHO, R.V. Tempo para redução de OPG em bovinos sob ação de diversas categorias de anti-helmínticos. In: 13º CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 2004, Ouro Preto, MG. **Anais...** Ouro Preto: CBPV, 2004, p.294.
- SOUTELLO, R.G.V.; PAES-OLIVEIRA, F.; CONDI, G.K.; AMARANTE, A.F.T.; BRAZ, M.A.; TRENTIN, C.M. Eficácia de diversos anti-helmínticos em borregos mestiços meio sangue dorper-santa inês naturalmente infectados a pasto. In: 14º CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA e 2º SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES. Ribeirão Preto, SP-BR, 3-6 de Setembro, 2006, **Anais...** Ribeirão Preto:CBPV, 2006, p.261.
- SOUTELLO, R.G.V.; SENO, M.C.Z.; AMARANTE, A.F.T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.148, 0.360-364, 2007.
- STROMBERG, B. E.; AVERBACK, G. A.; ANDERSON, J. F.; SCHOLL, P. J. Persistent efficacy of moxidectin injectable solution against artificially induced nematode infections in cattle. In: PROCEEDINGS OF THE AMERICAN ASSOCIATION OF VETERINARY PARASITOLOGISTS.2000, Salt Lake City, UT, resumo.26, 2000, p.40.
- SUAREZ, V.H.; CRISTEL, S.L. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. **Vet. Parasitol.**, v144, p.111-117, 2007.
- TAYLOR, S.M.; LE STANG, J.P.; KENNY, J. Persistent efficacy of doramectin and moxidectina against *Cooperia oncophora* infections in cattle. **Vet. Parasitol.**, v.96, p.323-328, 2001.
- TAYLOR, M.A.; HUNT, K.R.; GOODYEAR, K.L. Anthelmintic resistance detection methods. **Vet. Parasitol.**, v.103, p.183-194, 2002.

- THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, F.P.; SOTOMAIOR, C.; CASTRO, E.A.; MILCZEWSKI, V.; MOCELIN, G; PESSOA E SILVA, M.C. Resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Bras. Arch. Biol. Technol.**, v.47, n.1, p.41-47, 2004.
- TORGERSON, P.R.; SCHNYDER, M.; HERTZBERG, H. Detection of anthelmintic resistance: a comparasion of mathematical techniques. **Vet. Parasitol.**, v.128, p.291-298, 2005.
- URQUHART, G.M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2º ed. (cidade): Guanabara Koogan, 1996. 261 p.
- VERMUNT, J.J.; WEST, D.M.; POMROY, W.E.; BENTALL, H.P. Inefficacy of ivermectina against *Cooperia* spp. Infection in cattle. **N. Z. Vet. J.**, v.42, p.192-193, 1994.
- VERMUNT, J.J.; WEST, D.M.; POMROY, W.E. Inefficacy of moxidectin and doramectin against ivermectin-resistant *Cooperia* spp. of cattle in New Zeland. **N. Z. Vet. J.**, v. 44, n.5, p. 188-193, 1996.
- VICKERS, M.; VENNING, M.; MCKENNA, P.B.; MARIADASS, B. Resistance to macrocyclic lactone anthelmintics by *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* in sheep in New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.49, n.3, p.101-105, 2001.
- WAGHORN, T.S.; LEATHWICK, D.M.; RHODES, A.P.; JACKSON, R.; POMROY, W.E.; WEST, D.M.; MOFFAT, J.R. Prevalence of anthelmintic resistance on 62 beef cattle farms in the North Island of New Zealand. **N. Z. Vet. J.**, v.54, n.6, p.278-282, 2006.
- WHANG, E.M.; BAUER, C.; KOLLMANN, D.; BÜRGER, J. Efficacy of two formulations ('injectable' and 'pour on') of moxidectin against gastrointestinal nematode infections in grazing cattle. **Vet. Parasitol.**, v.51, p.271-281, 1994.
- WILLIAMS, J.C.; DeROSA, A. Dose confirmation of moxidectin 0,5% pour-on against adults and fourth-stage larvae of various *Cooperia* spp. and *Trichostrongylus colubriformis* in Louisiana. **Vet. Parasitol.**, v.114, p.295-303, 2003.
- WOLSTENHOLME, A. J.; FAIRWEATHER, I.; PRICHARD, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V.; SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminthes. **Trends Parasitol.**, v.20, n.10, p.469-476, 2004.
- WOOD, I.B.; AMARAL, N.K.; BAIRDEN, K.; DUNCAN, J.L.; KASSAI, T.; MALONE, J.B.; PANKAVICH, J.A.; REINECKE, R.K.; SLOCOMBE, O.; TAYLOR, S.M.; VERCRUYSSSE, 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). **Vet. Parasitol.**, v.58, n.3, p. 181–213, 1995.

## NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS DE CORTE COM RESISTÊNCIA À MOXIDECTINA

Condi, G. K.<sup>a</sup>, Soutello, R.G.V.<sup>b</sup>, Amarante, A.F.T.<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>UNESP - Universidade Estadual Paulista, Departamento de Parasitologia, Instituto de Biociências, Caixa Postal 510, Botucatu, CEP 18618-000, SP, Brazil.

<sup>b</sup>Faculdade de Ciências Agrárias de Andradina, CEP 16901-160, SP, Brazil.

\*Corresponding author. Tel: +55 14 3811 6239; fax: +55 14 3815 3744

E-mail address: amarante@ibb.unesp.br

### Resumo

O Brasil apresenta o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, porém, esta produtividade é afetada pelo parasitismo por nematódeos gastrintestinais. Para o controle desses parasitas são empregadas drogas anti-helmínticas, dentre elas as lactonas macrocíclicas, últimas drogas lançadas no mercado. No entanto, o uso freqüente de anti-helmínticos tem contribuído para o surgimento de populações de parasitas resistentes. O presente estudo objetivou avaliar a eficácia da moxidectina em uma propriedade onde existia a suspeita da presença de *Oesophagostomum* spp. com resistência à moxidectina. Avaliou-se também a precisão do teste de redução da contagem de ovos nas fezes (R-OPG) em comparação com os dados obtidos pelo teste controlado (necropsia dos animais após o tratamento). No trabalho foram utilizados 20 bovinos jovens, os quais foram mantidos juntos com os bovinos da propriedade com suspeita de resistência à moxidectina. Os animais antes de serem colocados na propriedade foram tratados com fosfato de levamisol, a fim de

entrarem livres de infecções por nematódeos. Os animais se infectaram naturalmente com as espécies de parasitos presentes na fazenda e quando as contagens de ovos por grama de fezes (OPG) foram superiores a 250, os animais foram distribuídos em dois grupos, por sorteio. Um grupo (n=10) foi tratado com moxidectina 1% (0,2 mg/kg; Cydectin®, Fort Dodge) e o outro foi o controle (n=10). Amostras fecais de cada animal foram colhidas no dia do tratamento, três, sete, 10 e 14 dias depois da aplicação para a determinação do número de OPG e para realização de coproculturas. Decorridos 14 dias do tratamento, todos os animais foram sacrificados para obtenção, quantificação e identificação dos nematódeos gastrintestinais. Os dados obtidos indicaram a presença de resistência anti-helmíntica com R-OPG de 88%; 85%, 88% e 92% nos dias três, sete, 10 e 14, respectivamente. Nas avaliações coproparasitológicas observou-se os seguintes nematódeos com resistência à moxidectina: *Cooperia* spp. e *Oesophagostomum* spp. Com relação ao teste controlado (necropsia) a moxidectina 1% apresentou 100% de eficácia contra os gêneros de *Haemonchus* spp. e *Trichostrongylus* spp.; e eficácia de apenas 65,2% em *Cooperia* spp. (*C. punctata* e *C. pectinata*); 44,8% em *Oesophagostomum radiatum* e de 81,4% em *Trichuris* spp. Os dois métodos empregados mostraram-se eficientes para o diagnóstico da resistência, no entanto, o método que envolveu a necropsia mostrou-se mais preciso. Este é o primeiro relato, envolvendo necropsia de bovinos, em que é relatada a presença de *Oesophagostomum radiatum* e *Trichuris* spp. com resistência à moxidectina em bovinos.

Palavras-chave: Anti-helmínticos; moxidectina; *Oesophagostomum*; *Trichuris*; *Cooperia*

## 1. Introdução

Como resultado da utilização freqüente e inadequada dos anti-helmínticos, tem havido o surgimento crescente de populações de nematódeos gastrintestinais de ruminantes com resistência a tais produtos (Coles et al., 2006).

Na Nova Zelândia, parasitas do gênero *Cooperia* são comumente citados em casos de resistência anti-helmíntica em bovinos. Naquele país, registrou-se a ocorrência de *Cooperia oncophora* resistente à ivermectina e eprinomectina em cinco propriedades avaliadas (Mason e McKay, 2006). Em outro estudo realizado na Ilha Norte, resistência à ivermectina foi registrada em 92% das propriedades avaliadas, ao albendazol em 76% das propriedades e resistência a associação ivermectina e albendazol em 74%. Por outro lado, resistência ao levamisol foi evidente em apenas 6% das propriedades. O parasita com maior prevalência nas populações resistentes foi *Cooperia* spp. Além desse parasita, os autores registraram *Ostertagia* spp. com resistência à ivermectina em 9% das propriedades, ao albendazol em 35% e ao levamisol em 9% (Waghorn et al., 2006). A exemplo da Nova Zelândia, na Argentina *Cooperia* spp. é o principal gênero envolvido nos casos de resistência à ivermectina em bovinos (Suarez e Cristel, 2007). Naquele país também há registro, em criações de bovinos, de *Ostertagia* com resistência aos benzimidazóis (Suarez e Cristel, 2007) e de *Haemonchus* spp. com resistência simultânea à ivermectina e benzimidazóis (Anziani et al., 2004).

Nos estados de São Paulo (Soutello et al., 2007) e Santa Catarina (Souza et al., 2008), Brasil, foi encontrada elevada freqüência de *Haemonchus* spp. e *Cooperia* spp. com resistência à ivermectina e em algumas propriedades, também nematódeos com resistência ao albendazol e ao levamisol.

O último grupo de anti-helmíntico a ser lançado no mercado foi o das lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas). Em bovinos a moxidectina, que é uma

milbemicina, apresenta elevada eficácia contra *Cooperia oncophora*, *Cooperia punctata*, *Cooperia spatulada*, *Cooperia surnabada*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Oesophagostomum radiatum* e *Trichuris discolor* (Reinemeyer e Cleale, 2002; Willians e DeRosa, 2003). Entretanto, recentemente Soutello et al. (2007) relataram a suspeita da presença de *Oesophagostomum* spp. com resistência ao referido anti-helmíntico em uma propriedade de criação de bovinos localizada na região noroeste do estado de São Paulo. No presente trabalho objetivou-se caracterizar a resistência de nematódeos gastrintestinais de bovinos à moxidectina na referida propriedade. E, foi também avaliada à precisão, para o diagnóstico de resistência, do teste de R-OPG em comparação com os resultados do teste controlado (necropsia).

## **2. Material e Métodos**

### *2.1. Descrição da propriedade e histórico de utilização de anti-helmínticos*

O trabalho foi realizado de abril a junho de 2007, em uma propriedade localizada no município de Castilho, região noroeste do Estado de São Paulo, Brasil. A propriedade conta com 1.210 hectares de área, formada por *Brachiaria decumbens*, *Brachiaria humidicula* e *Panicum maximum*, destinada à criação de bovinos de corte da raça Nelore (cria, cria e engorda). Na época de realização do estudo também eram criados aproximadamente 100 ovinos e 80 eqüinos.

Os anti-helmínticos da classe das lactonas macrocíclicas foram utilizados na fazenda desde o início da década de 80. Inicialmente utilizou-se a ivermectina e depois a abamectina, principalmente no momento da castração de animais e em lotes adquiridos de outras propriedades, no momento da chegada na propriedade. Porém, naquela época o levamisol sempre foi o anti-helmíntico utilizado com maior frequência. Em 1992 realizou-se uma avaliação comparativa do desempenho de animais após o tratamento com moxidectina

(Cydectin®, Fort Dodge), ivermectina e levamisol em duas propriedades da região. Como os animais tratados com o primeiro anti-helmíntico apresentaram ganho de peso superior, passou-se a utilizar Cydectin® em todos os animais da propriedade, o que aconteceu por aproximadamente cinco anos. Posteriormente, devido aos custos elevados, optou-se por administrar levamisol nas vacas de cria, enquanto as demais categorias de bovinos permaneceram sendo tratadas com moxidectina.

Em resumo, as aplicações de anti-helmínticos têm sido realizadas da seguinte maneira:

- Matrizes: levamisol uma vez por ano, por ocasião do diagnóstico de gestação (maio a julho);
- Bezerros antes da desmama: Cydectin® aos três ou quatro meses de idade, em fevereiro;
- Garrotes e novilhas: Cydectin®, duas vezes por ano (início de maio e setembro);
- Touros: Cydectin® antes e depois da estação de monta, junto com o exame andrológico (abril e setembro);
- Na castração: Abamectina (normalmente em março);
- Na entrada em confinamento Cydectin®: (Junho, Julho ou Agosto);
- Animais adquiridos são tratados com Cydectin® na chegada à propriedade.

Além destas aplicações, podem ser incluídos alguns tratamentos táticos com Cydectin®, dependendo do lote.

Os ovinos ficam em alguns pastos próximos ao curral compartilhando com os bovinos. Eles não têm acesso à grande maioria dos pastos utilizados pelos bovinos. Há mais de 10 anos é também utilizado Cydectin® nas everminações dos ovinos, duas vezes por ano.

## *2.2. Descrição do experimento*

Para este estudo, foram adquiridos em outras propriedades, inicialmente, 30 bovinos (*Bos taurus*) mestiços de raças européias, machos inteiros, desmamados, com idade de oito a 12 meses, peso médio de 118 kg, os quais foram identificados com brincos numerados.

Antes de entrarem na propriedade, os bezerros foram pesados e tratados com fosfato de levamisol (4,7 mg/kg; Ripercol® 150F - Fort Dodge), a fim de serem introduzidos livres de infecções por nematódeos. Dessa forma, os animais se reinfecaram naturalmente apenas com as espécies de parasitos presentes nas pastagens da propriedade. Amostras fecais dos animais foram avaliadas para confirmação da eficácia deste tratamento.

Os animais foram colocados juntos com outros 200 bovinos da propriedade que tinham de oito a 15 meses de idade. Durante o estudo, dois piquetes foram utilizados, cada um dos piquetes com aproximadamente 48,4 hectares de área, com aguada natural. Os animais foram mantidos sempre a pasto, suplementados com mistura mineral e protéica. Antes do início do experimento foram vacinados contra febre-aftosa (Aftobov® - Intervet) e clostridioses (Polisinto-vac® - Fort Dodge).

Após a permanência dos animais por 40 dias nos piquetes contaminados da propriedade, realizou-se, semanalmente, a colheita de amostras fecais diretamente do reto, para a determinação da contagem de ovos por gramas de fezes (OPG); e também para a realização de coproculturas destinadas à obtenção e identificação de larvas infectantes (Ueno e Gonçalves, 1998).

Dos 30 animais, foram selecionados os 20 que apresentaram contagens mais elevadas de OPG (superior a 250 OPG). No dia do tratamento (dia 0), os animais foram classificados em pares e em ordem crescente de número de OPG. Por sorteio, um animal de cada par foi alocado no grupo tratado e o outro no grupo controle. Estes grupos apresentaram, respectivamente, médias de peso de 120,1 kg  $\pm$  25,64 e 116,6 kg  $\pm$  21,34.

Os animais de um dos grupos foram tratados com moxidectina 1%, por via subcutânea na região cervical, de acordo com as recomendações do fabricante (0,2 mg/kg; Cydectin®, Fort Dodge). Os animais do outro grupo, controle, receberam o mesmo volume de um placebo (solução fisiológica). Após o tratamento, os animais foram mantidos juntos a pasto até um dia

antes do abate, quando foram recolhidos em um curral e aí permaneceram por 24 h com acesso apenas à água potável, sem alimentação sólida. Doze horas antes do abate foi também suspenso o fornecimento de água.

Amostras fecais de cada animal foram colhidas no dia do tratamento e novamente 3, 7, 10 e 14 dias após. As amostras foram processadas individualmente para a quantificação de OPG e para realização de coproculturas.

Decorridos 14 dias do tratamento, todos os animais dos dois grupos foram sacrificados para a remoção do trato gastrointestinal. A colheita do material destinado às análises parasitológicas foi realizada de acordo com as descrições de Ueno e Gonçalves (1998). Amostras com 5% do conteúdo de cada órgão foram armazenadas em frascos identificados e preservadas em formol a 10%. Este material, posteriormente, foi processado para a quantificação e a identificação das espécies de nematódeos. A identificação em espécie dos exemplares de *Cooperia* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Oesophagostomum* spp. foi realizada de acordo com Ueno e Gonçalves (1998). Os exemplares de *Trichuris* spp. foram identificados de acordo com Vicente et al. (1997) e os de *Haemonchus* spp. de acordo com Achi et al. (2003). As fêmeas adultas do gênero *Cooperia* foram examinadas para verificação da presença de ovos no interior do útero.

A redução da contagem do OPG (R-OPG) do grupo tratado em relação ao grupo controle foi calculada pela fórmula:  $R-OPG = 100(1 - \text{média aritmética de OPG do grupo tratado} / \text{média aritmética de OPG do grupo controle})$ . Na análise estatística foi utilizado o programa RESO, conforme preconizado pela Associação Mundial para o Desenvolvimento da Parasitologia Veterinária (Coles et al., 1992). A presença de resistência anti-helmíntica foi confirmada quando a porcentagem de R-OPG foi menor que 95%, e quando o limite inferior do intervalo de confiança foi menor que 90%. O mesmo procedimento foi adotado para a análise dos resultados obtidos após a necropsia parasitológica.

O coeficiente de correlação de Spearman entre as cargas parasitárias e as contagens de OPG foi determinado com a utilização do programa estatístico Minitab (versão 11.21). O mesmo programa foi empregado na análise de qui-quadrado relacionada com a presença de ovos no útero das fêmeas de *Cooperia* spp.

### 3. Resultados

Os resultados do teste de R-OPG indicaram a presença de resistência à moxidectina, uma vez que o percentual de redução de OPG nos dias avaliados, após o tratamento, foram menores que 95%, com limite inferior do intervalo de confiança abaixo de 90% (Tabela 1).

No dia do tratamento (dia zero) foram detectados os seguintes nematódeos (média aritmética de 10 coproculturas individuais por grupo): 55,11% *Cooperia* spp., 32,78% *Haemonchus* spp. e 12,11% *Oesophagostomum* spp. no grupo controle e 35,48% *Cooperia* spp., 57,08% *Haemonchus* spp. e 7,44% *Oesophagostomum* spp. no grupo tratado

Do sétimo dia ao 14º dia após o tratamento, os gêneros *Cooperia* e *Oesophagostomum* mostraram-se resistentes à moxidectina, com base nos exames fecais (Tabela 1). Os gêneros de nematódeos que ocorreram nas coproculturas do grupo tratado, após a administração de moxidectina, foram: *Cooperia* com percentual que variou de 34% (10 dias após o tratamento) a 80,7% (3 dias após o tratamento), e *Oesophagostomum*, que variou de 18,7% (3 dias após o tratamento) a 65,3% (10 dias após o tratamento). Em alguns animais do grupo tratado foram detectadas larvas de *Haemonchus* spp., porém a média do grupo foi sempre baixa, com o máximo de 0,7%, 10 dias após o tratamento.

Ovos de *Trichuris* spp. não foram detectados nos exames de fezes, porém, após a necropsia, demonstrou-se que os animais estavam parasitados por nematódeos desse gênero.

Com relação à média dos exemplares de nematódeos obtidos na necropsia (teste controlado), a moxidectina apresentou 100% de eficácia contra os gêneros *Haemonchus* e

*Trichostrongylus*; e eficácia de apenas 65,2% contra *Cooperia* spp.; 44,8% contra *Oesophagostomum radiatum* e de 81,4% contra *Trichuris* spp. (Tabela 3).

De todos os animais do grupo controle, foi possível recuperar e mensurar os espículos de 150 exemplares adultos do gênero *Haemonchus*. Desses, 71,33% foram identificados como *Haemonchus placei*, 3,33% como *Haemonchus similis* e 22,0% como *Haemonchus contortus*. Os comprimentos médios ( $\pm$  desvio padrão) dos espículos, ganchos direitos e ganchos esquerdos, foram, respectivamente de  $460,8 \pm 25,9 \mu\text{m}$ ,  $53,4 \pm 3,7 \mu\text{m}$  e  $25,9 \pm 4,9 \mu\text{m}$  em *H. placei*; de  $449,3 \pm 14,2 \mu\text{m}$ ,  $47,7 \pm 4,3 \mu\text{m}$  e  $21,7 \pm 1,7 \mu\text{m}$  em *H. contortus*; e de  $345,8 \pm 11,6 \mu\text{m}$ ,  $70,3 \pm 2,7 \mu\text{m}$  e  $54,8 \pm 2,3 \mu\text{m}$  em *H. similis*. Outros cinco exemplares (3,33%), por apresentarem medidas intermediárias entre *H. placei* e *H. contortus*, não foram identificados em espécie.

Foram recuperados 19 exemplares do gênero *Trichostrongylus*, todos no grupo controle: 18 *T. axei* e um *T. colubriformis*. Neste gênero a eficácia da moxidectina foi de 100%.

Em relação ao gênero *Cooperia*, 3927 exemplares machos foram identificados no grupo controle. Desses, 3242 eram da espécie *Cooperia punctata* e 685 da espécie *Cooperia pectinata*. No grupo tratado foram identificados 1074 exemplares de *C. punctata* e 124 de *C. pectinata*. Portanto, foi possível registrar a presença de resistência anti-helmíntica envolvendo essas duas espécies de *Cooperia*.

Foram identificados 69 exemplares machos de *O. radiatum*, sendo 40 no grupo controle e 29 no grupo tratado. Portanto, esta espécie também apresentou resistência à moxidectina.

O gênero de *Trichuris* também demonstrou resistência ao tratamento com a moxidectina. No grupo tratado não foram recuperados exemplares machos adultos. Já no

grupo controle foram encontrados 10 exemplares machos adultos: três foram identificados como *Trichuris globulosa* e sete como *Trichuris discolor*.

Em relação à presença de ovos no interior do útero de *Cooperia* spp., no grupo controle, 4305 (98,5%) exemplares apresentaram útero com ovos e 67 (1,7%), sem ovos. Já no grupo tratado foram registradas 800 (48,2%) fêmeas adultas com ovos e 859 (51,8%) fêmeas adultas sem ovos. A diferença entre os grupos em relação à fecundidade das fêmeas foi significativa (qui-quadrado = 2336;  $P < 0,0001$ ).

No grupo controle o coeficiente de correlação entre a carga parasitária e a contagem de OPG foi de 0,652 ( $P < 0,05$ ) e no grupo tratado a correlação foi de 0,503 ( $P > 0,05$ ).

#### 4. Discussão

Este é o primeiro relato, envolvendo necropsia de bovinos, em que é registrada a presença de *O. radiatum* e de *Trichuris* spp. com resistência à moxidectina em bovinos. Observou-se também a resistência de duas espécies de *Cooperia*: *C. punctata* e *C. pectinata*.

Eficácia reduzida da moxidectina nos estágios larvais ( $L_4$ ) de *C. punctata* foi relatada nos Estados Unidos (Willians e DeRosa, 2003). No mesmo país eficácia relativamente reduzida da moxidectina, também foi relatada por Ranjan e Delay (2004) em *C. oncophora* (90%), *C. surnabada* (89%) e em *Strongyloides papillosus* (79%). Na Irlanda do Norte (Taylor et al., 2001) e na Bélgica (Geurden et al., 2004) também observaram eficácia reduzida contra infecções por *C. oncophora*. A presença de *Cooperia* spp. com resistência à moxidectina, ivermectina e doramectina em bovinos também foi relatada na Nova Zelândia (Vermunt et al., 1996). Esses resultados indicam que as espécies de *Cooperia* apresentam maior capacidade para desenvolver resistência à ação da moxidectina do que as demais espécies de nematódeos.

Em ovinos criados em regiões tropicais ou sub-tropicais, *Haemonchus* spp. é o principal parasita envolvido em casos de resistência à moxidectina (Thomaz-Soccol et al., 2004; Silva et al., 2008). Em contraste, no presente estudo, a moxidectina mostrou-se eficaz nos parasitas desse gênero.

Os testes “in vivo” de redução da contagem de ovos por grama de fezes (R-OPG) e o teste controlado (determinação da carga parasitária após a necropsia) são empregados como métodos de diagnóstico de resistência anti-helmíntica (Taylor, et al., 2002). No presente estudo, os dois métodos se mostraram eficientes para o diagnóstico da resistência. No entanto, o método que envolveu a necropsia mostrou-se mais preciso, principalmente para a identificação de espécies resistentes. Além disso, um dos problemas da R-OPG é a impossibilidade de avaliar a supressão na produção de ovos após o tratamento, fato constatado com as fêmeas de *Cooperia* spp. no grupo tratado com moxidectina. Esse fenômeno foi relatado também em cabras infectadas com *O. circumcineta*, com inibição na eliminação de ovos por 10-14 dias após o tratamento com ivermectina (Jackson, 1993). Ao provocar inibição na eliminação de ovos, pode-se superestimar a eficácia do anti-helmíntico, razão pela qual, recomenda-se colher amostras 10-14 dias após o tratamento (Coles et al., 1992). Porém, os resultados do presente estudo indicam que, quando estiver sendo empregado o teste de R-OPG, talvez seja necessário um período até mesmo superior a 14 dias para que se determine com precisão a resistência à moxidectina.

Neste trabalho confirmou-se a suspeita relatada por Soutello et al. (2007) de que o rebanho estudado era portador de *Oesophagostomum* spp. resistente. Confirma também o fato de que a resistência anti-helmíntica deixou de ser um problema restrito às criações de pequenos ruminantes e que atualmente é motivo de preocupação na bovinocultura. Ressalta-se ainda que se faz necessário o desenvolvimento de alternativas de controle da verminose que sejam menos dependentes da utilização de anti-helmínticos, como por exemplo a seleção de

animais resistentes (Bricarello et al., 2007). Além disso, faz-se necessário o desenvolvimento de métodos diagnósticos mais sensíveis que permitam a detecção da resistência quando a frequência dos genes que determinam essa característica ainda esteja baixa na população de parasitas.

### **Agradecimentos**

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida à primeira autora.

### **5. Referências Bibliográficas**

- Achi, Y.L., Zinsstag, J., Yao, K., Yeo, N., Dorchies, P., Jacquet, P., 2003. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. *Vet. Parasitol.* 116, 151-158.
- Anziani, O.S., Suarez, V., Guglielmone, A.A., Warnke, O., Grande, H., Coles, G.C., 2004. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. *Vet. Parasitol.* 122, 303-306.
- Bricarello, P.A., Zaros, L.G., Coutinho, L.L., Rocha, R.A., Kooyman, F.N.J., De Vries, E., Gonçalves, J.R.S., Lima, L.G., Pires, A.V., Amarante, A.F.T., 2007. Field study on nematode resistance in Nelore-breed cattle. *Vet. Parasitol.* 148, 272-278.
- Coles, G.C., Bauer, C., Borgsteede, F.H.M., Geerts, S., Klei, T.R., Taylor, M. A., Waller, P. J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 44, 35-44.
- Coles, G.C., Jackson, F., Pomroy, W.E., Prichard, R.K., Von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M.A., Vercruyse, J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.* 136,167-185.

- Geurden, T., Claerebout, E., Deroover, E., Vercruyse, J., 2004. Evaluation of the chemoprophylactic efficacy of 10% long action injectable moxidectin against gastrointestinal nematode infections in calves in Belgium. *Vet. Parasitol.* 120, 331-338.
- Jackson, F., 1993. Anthelmintic resistance – the state of play. *Brit. Vet. J.* 149, 123-138.
- Mason, P.C., McKay, C.H., 2006. Field studies investigating anthelmintic resistance in young cattle on five farms in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 54, 318-322.
- Ranjan, S., DeLay, R., 2004. Therapeutic and persistent efficacy of moxidectin 1% nonaqueous injectable formulation against natural and experimentally induced lung and gastrointestinal nematodes in cattle. *Vet. Parasitol.* 120, 305-317.
- Reinemeyer, C.R., Cleale, R.M., 2002. Dose confirmation studies of moxidectin 1% non-aqueous injectable and moxidectin 0.5% pour-on formulations against experimentally induced infections of larval and adult stage *Oesophagostomum radiatum* and *Trichuris discolor* in cattle. *Vet. Parasitol.* 108, 75-83.
- Silva, B.F., Amarante, M.R.V., Kadri, S.M., Carrijo-Mauad, J.R., Amarante, A.F.T., 2008. Vertical migration of *Haemonchus contortus* third stage larvae on *Brachiaria decumbens* grass. *Vet. Parasitol.* doi: 10.1016/j.vetpar.2008.08.009.
- Soutello, R.G.V., Seno, M.C.Z., Amarante, A.F.T., 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 148, 360-364.
- Souza, A. P., Ramos, C. I., Bellato, V., Sartor, A. A., Schelbauer, C. A., 2008. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. *Cienc. Rural.* 38, 1363-1367.
- Suarez, V.H., Cristel, S.L., 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematode in the western Pampeana Region of Argentina. *Vet. Parasitol.* 144, 111-117.
- Taylor, S.M., Le Stang, J.P., Kenny, J., 2001. Persistent efficacy of doramectin and moxidectin against *Cooperia oncophora* infections in cattle. *Vet. Parasitol.* 96, 323-328.

- Taylor, M.A., Hunt, K.R., Goodyear, K.L., 2002. Anthelmintic resistance detection methods. *Vet. Parasitol.* 103, 183-194.
- Thomaz-Soccol, V., Souza, F.P., Sotomaior, C., Castro, E.A., Milczewski, V., Mocelin, G, Silva, M.C.P., 2004. Resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). *Braz. Arch. Biol. Technol.* 47, 41-47.
- Ueno, H., Gonçalves, P.C., 1998. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. 4 ed. 143pp. Tokyo: Japan International Cooperation Agency.
- Vermunt, J.J., West, D.M., Pomroy, W.E., 1996. Inefficacy of moxidectin and doramectin against ivermectin-resistant *Cooperia* spp. of cattle in New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 44, 188-193.
- Vicente, J.J., Rodrigues, H.O., Gomes, D.C., Pinto, R.M., 1997. Nematóides do Brasil. Parte V: Nematóides de mamíferos. *Rev. Bras. Zool.* 14, 1-452.
- Waghorn, T.S., Leathwick, D.M., Rhodes, A.P., Jackson, R., Pomroy, W.E., West, D.M., Moffat, J.R., 2006. Prevalence of anthelmintic resistance on 62 beef cattle farms in the North Island of New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 54, 278-282.
- Williams, J.C., DeRosa, A., 2003. Dose confirmation of moxidectin 0.5% pour-on against adults and fourth-stage larvae of various *Cooperia* spp. and *Trichostrongylus colubriformis* in Louisiana. *Vet. Parasitol.* 114, 295-303.

Tabela 1. Contagens de ovos de strongilídeos por grama de fezes (OPG), larvas infectantes identificadas nas coproculturas e sumário da análise estatística dos resultados de bovinos tratados com moxidectina (200 µg/kg) e de bovinos do grupo controle (10 animais em cada grupo).

Animais	Dias Após O Tratamento											
	Dia 0		Dia 3		Dia 7		Dia 10		Dia 14		Controle	Tratado
	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado	Controle	Tratado		
1	1150	1200	400	250	950	700	1800	1250	3450	700		
2	800	800	1600	0	750	50	350	350	2600	0		
3	650	750	1100	50	3250	100	3500	50	1950	0		
4	500	500	600	0	3100	300	2750	0	2100	100		
5	450	450	1000	150	1500	50	1750	0	2050	200		
6	450	400	250	100	450	250	950	0	900	50		
7	350	350	200	0	600	0	1050	0	1200	0		
8	350	300	50	50	100	0	50	0	600	0		
9	250	250	350	50	250	200	100	0	700	100		
10	250	250	100	0	350	50	1450	0	4300	350		
Média Aritmética			565	65	1130	170	1375	165	1985	150		
<b>% Redução</b>			<b>88</b>	<b>85</b>	<b>88</b>	<b>85</b>	<b>88</b>	<b>88</b>	<b>92</b>	<b>92</b>		
Intervalo de Conf. Sup. (95%)			96	96	95	95	98	98	97	97		
Intervalo de Conf. Inf. (95%)			68	68	56	56	35	35	78	78		
<b>Larvas Infectantes</b>												
<i>Cooperia</i> spp.	55,1% (±16,6)	35,5% (±14,1)	32,4% (±17,9)	80,7% (±24,9)	37,3% (±26,09)	56,0% (±32,3)	46,8% (±21,60)	34,0% (±33,76)	67,8% (±28,24)	50,0% (±45,3)		
<i>Haemonchus</i> spp.	32,8% (±14,0)	57,0% (±16,9)	47,0% (±24,2)	0,6% (±1,5)	19,7% (±16,12)	0,2% (±0,71)	21,6% (±25,68)	0,7% (±1,89)	22,7% (±28,29)	0,0% (±0,0)		
<i>Oesophagostomum</i> spp.	12,1% (±11,3)	7,5% (±6,3)	20,6% (±15,7)	18,7% (±25,4)	43,0% (±29,75)	43,8% (±32,68)	31,6% (±20,31)	65,3% (±32,97)	9,5% (±7,42)	50,0% (±45,3)		
<b>Eficácia do produto*</b>												
<i>Cooperia</i> spp.			Resistente									
<i>Haemonchus</i> spp.			Susceptível									
<i>Oesophagostomum</i> spp.			Baixa Resistência									

Análise realizada com a utilização do programa RESO.

Tabela 2. Estimativa da carga parasitária total de nematódeos gastrintestinais em bovinos naturalmente infectados do grupo controle (n=10) e do grupo tratado (n=10) com moxidectina (200 µg/kg) 14 dias após o tratamento. Classificação de nematódeos por gênero e percentual de eficácia do produto.

GRUPOS	Parasitas				
CONTROLE	<i>Cooperia</i> spp.	<i>Haemonchus</i> spp.	<i>Trichostrongylus</i> spp.	<i>Oesophagostomum</i> spp.	<i>Trichuris</i> spp.
1	27180	2240	60	800	20
2	18740	1640	40	360	100
3	30880	2040	80	360	60
4	40620	1820	60	120	20
5	18240	1180	60	120	160
6	14060	380	100	240	120
7	11300	1300	60	180	120
8	5120	140	160	140	40
9	700	360	60	20	0
10	10060	720	80	200	220
Média	17690	1182	76	254	86
Desvio					
Padrão	12247,98	753,09	33,73	219,30	70,58
TRATADO					
1	13060	0	0	240	20
2	2300	0	0	140	0
3	11120	0	0	40	0
4	2560	0	0	140	0
5	20120	0	0	380	0
6	680	0	0	200	20
7	860	0	0	80	0
8	640	0	0	20	0
9	4560	0	0	140	80
10	5660	0	0	20	40
Média	13060	0	0	240	20
Desvio					
Padrão	6551,95	0	0	112,35	26,33
Eficácia (%)	65,20	100	100	44,88	81,40
IC(inf., sup.)	19, 85	-	-	-21, 75	37, 95
Conclusão	Resistente	Susceptível	Susceptível	Resistente	Resistente

IC (inf., sup.): Intervalo de confiança inferior e superior.