



Universidade Estadual do Ceará

Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo

**Caracterização do nematóide de ovinos,
Haemonchus contortus, resistente e sensível a
anti-helmínticos benzimidazóis, no estado do
Ceará, Brasil**

**Fortaleza, Ceará
Dezembro de 2005**

**Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo**

**Caracterização do nematóide de ovinos,
Haemonchus contortus, resistente e sensível a
anti-helmínticos benzimidazóis, no estado do
Ceará, Brasil**

**Fortaleza, Ceará
Dezembro de 2005**

Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo

**Caracterização do nematóide de ovinos,
Haemonchus contortus, resistente e sensível a
anti-helmínticos benzimidazóis, no estado do
Ceará, Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade de Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias

Área de Concentração: Reprodução e Sanidade Animal

Orientadora: Claudia Maria Leal Bevilaqua

Fortaleza, Ceará
Dezembro de 2005

Universidade Estadual do Ceará
Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo

Título do Trabalho: Caracterização do nematóide de ovinos, *Haemonchus contortus*, resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis, no estado do Ceará, Brasil

Aprovada em 15/12/2005

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Claudia Maria Leal Bevilaqua
Presidente

Dr. Jacques Cabaret
Co-orientador/Examinador

Profa. Dra. Maria de Lurdes de
Azevedo Rodrigues
Examinadora

Dr. Luiz da Silva Vieira
Co-orientador/Examinador

Prof. Dr. Carlos Roberto Franke
Examinador

À minha família
À Claudia Maria Leal Bevilaqua
Aos amigos verdadeiros conquistados ou reconquistados
Aos membros do Laboratório de Doenças Parasitárias - UECE
Aos animais
Dedico

“Você não sabe o quanto eu caminhei pra chegar até aqui
Percorri milhões de milhas antes de dormir, eu não cochilei
Os mais belos montes escalei
Nas noites escuras de frio chorei
Meu caminho só meu Pai pode mudar ...”

Toni Garrido

AGRADECIMENTOS

Após 9 anos de convivência e preparações o ciclo se fecha. Em 1996, eu entrava no Laboratório de Doenças Parasitárias e iniciava a minha versão pesquisadora. Agora estou terminando Doutorado. Esta fase foi essencial para a minha formação como profissional e como pessoa. Neste período conheci várias pessoas e seres para os quais vão os meus sinceros agradecimentos a seguir.

Ao meu pai, Marlos Francisco de Freitas Melo. Através da sua presença como profissional e essencialmente como pai, ajudou-me a tornar este fato uma realidade. Foi fundamental na minha formação como profissional auxiliando da melhor forma para que os caminhos a serem percorridos fossem menos tortuosos. E isto se refletiu também na minha formação como pessoa, com o qual aprendi muito.

À minha família, em especial a minha mãe, Francisca Luiza Fonseca Lindoso Melo, a Maria Bernardete Eufrázio (Beta), aos meus irmãos Adélia Cristina Fonseca Lindoso Melo, Pedro Rafael Fonseca Lindoso Melo e Luis Gustavo Fonseca Lindoso Melo, e agregados, que foram presentes mesmo na minha ausência, pelo apoio e paciência nos momentos mais difíceis ajudando-me a concretizar meus sonhos que pareciam para muitos impossíveis.

A Dra. Claudia Maria Leal Bevilaqua. Nestes 9 anos de convivência, fomos aluna e professora, fomos amigas e fomos profissionais. Rimos e choramos, brigamos e nos reconciliamos, nos despedimos e nos reencontramos, perdemos e ganhamos. Neste pacto ou “casamento” firmado, nos sagramos campeãs. Ela foi e é fundamental para a minha formação como profissional, mas principalmente como pessoa. Com a sua filosofia e o “senta aí” eu aprendi muitas coisas que foram interessantes para o meu crescimento. Um ciclo se fecha com uma grande vitória e agora outro se abre, com certeza várias vitórias virão. O meu muito obrigado Claudia.

Ao Dr. Jacques Cabaret e sua equipe, Christine Sauv e, Anne Silvestre e Jacques Cortet, que me receberam no seu laboratório do INRA-França. Com eles aprendi e

continuo aprendendo. Seja com respeito a práticas laboratoriais e técnico-científicas ou com relação a amizade. Mas principalmente a respeito da “langue et culture française”. *Merci beaucoup.*

Aos membros da banca, Profa. Maria de Lurdes, Dr. Luis Vieira e Prof. Roberto Franke pelo assessoramento prestado no final deste trabalho. Em especial, quero citar novamente Profa. Maria de Lurdes e Dr. Luis Vieira, pois eles acompanharam de alguma forma o início, desenvolvimento e agora titulação da minha versão pesquisadora.

Praticamente iniciamos juntos e estou feliz por estar também concluindo junto esta fase. Obrigada pela companhia e ajuda Alexandre Rodrigues, Rita de Cássia e Edílson Soares.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, em especial Claudia Bevilaqua, Fátima Teixeira, Ricardo Figueiredo, Marcos Fábio Gadelha Rocha e a Ana Paula Rodrigues, como amiga e agora como professora do PPGCV.

A minha professora de francês, Maria da Imaculada L. M. Feitosa que me ajudou a ultrapassar o primeiro obstáculo da minha viagem para o estágio realizado no INRA.

Agora quero agradecer aos amigos verdadeiros conquistados e reconquistados. Vou iniciar pelos amigos que conquistei no ambiente de trabalho. Quero agradecer aos atuais e antigos membros do Laboratório de Doenças Parasitárias, afinal, dos 10 anos de história, eu estive presente em 9 anos, então as pessoas entraram, aprenderam, concluíram seus trabalhos, saíram, retornaram, visitaram e eu estava lá. Obrigada a todos aqueles que de alguma forma estiveram presentes na minha estada por este laboratório. Obrigada a Marília Dutra Girão, Marcelo Mota, Wilson Wolflan Silva, Luis Matos Batista, Iarle Feitosa Reis, Luciana Moura de Assis, Leandre Maciel Pessoa, Cícero Temístocles Coutinho Costa, Luciana Magalhães Melo, Alexis Arosemena, Marta Caetano, Ana Lourdes Camurça Fernandes Vasconcelos, Michelline do Vale Maciel, Fernanda Cristina Macedo Rondon e para a recém chegada Sthenia Santos Amora. Aos alunos de iniciação científica Iara Tércia,

Lorena Mayana Beserra de Oliveira, Roberta da Rocha Braga, Fabrício Rebouças em especial para Renata Simões Barros, Rafaella Albuquerque e Silva e José Alencar pela ajuda direta no trabalho aqui desenvolvido e pela amizade. Destes quero citar algumas pessoas que desempenharam papéis importantes. Marília, o meu muito obrigado, afinal você foi a pessoa que me apresentou a Dra. Claudia e com a qual foram desenvolvidos os primeiros trabalhos, na nossa superequipe de três pessoas, foi assim que o LABODOPAR iniciou. Eu continuei por aqui e em 1999 recebi para ajudar no meu mestrado o Iarle. Foi o meu primeiro IC durante o mestrado. Acho que aprendemos muito juntos pelo interior do Ceará. Como colega de laboratório, recebemos a Lucilene (Lu), para que ela pudesse desenvolver o seu trabalho de doutorado junto conosco. A Lu foi uma amiga muito presente durante o meu doutorado, ouviu as minhas “dores” nesta fase superdifícil da minha vida, até dentro do LABODOPAR, mas Lu nós conseguimos. Neste período recebi a Fernanda minha IC de início de doutorado, depois vieram as meninas Renata e Rafaella, com as quais desenvolvi os trabalhos experimentais realizados no Brasil. E no final do trabalho, recebemos a Sthenia. Uma amiga que tenho adorado conhecer melhor. Nos seus vários “não Carol” ajudou-me a finalizar este trabalho.

Em uma segunda fase de amigos, quero agradecer aqueles reconquistados. São os amigos que conquistei durante a minha graduação e mestrado. São os famosos amigos extracurriculares, que sabem que estão aqui mesmo sem estarem listados. Em especial, quero agradecer a Marília Dutra Girão, Isabele Caminha Freitas e Ana Patrícia Guimarães. São pessoas que vi constantemente fora da UECE durante todo o meu doutoramento. Seja todo final de semana, seja a cada quinze dias ou mensalmente. São pessoas com as quais dividi momentos muito felizes, mas também muito tristes. Início e término de experiências de vida. Com as quais conversei, gargalhei, mas também chorei muito. Das quais tive saudade enquanto estive ausente, com as quais queria estar quando estava presente.

Quero citar também os amigos conquistados durante esta fase, em especial Herberto Araújo Sousa (Beto). O meu amigo, que mais parece uma alma gêmea, o qual amo muito e ele sabe disso. Beijo no seu coração, meu amor.

Quero agradecer o apoio que me foi prestado por todos os meus amigos durante alguns momentos difíceis vivenciados durante este período em especial a Flávia Vieira. Ela me agregou valores tanto no aspecto pessoal, mas principalmente no modo de tratar o meu lado profissional.

Quero registrar meus agradecimentos a minha Tia Iara São Thiago, Tio João Luis, Tia Sílvia e a minha prima Jordana São Thiago Melo, pela torcida durante todos estes anos.

Aos funcionários do PPGCV, em especial Adriana Maria Sales Albuquerque, Alzenira de Andrade Ferreira e Ana Cristina Sabóia do Nascimento.

Aos funcionários da UECE, em especial aos que compõem o quadro da Prefeitura, que muito me ajudaram durante todos os trabalhos realizados.

Aos seres “irracionais” que tornaram os meus estudos possíveis, especialmente as ovelhas e aos parasitos resistentes e sensíveis ao oxfendazol.

Neste período de 9 anos ganhei os meus dois *babys*, Billy que hoje já tem esta idade e recentemente o Henry, obrigada por vocês me receberem com rabinho balançando em casa. Quero registrar ainda meu agradecimento a Nara, Sansão, Janaína e Janjão, meus bichinhos de estimação que também fizeram parte deste período, mas que não se encontram mais no meu convívio.

As instituições de pesquisa FUNCAP e CAPES, pelo financiamento da pesquisa e ainda pelas duas bolsas de doutorado destinadas a mim, para o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pela confiança depositada no nosso trabalho.

A Universidade Estadual do Ceará.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Ao INRA e seus funcionários.

Ao Núcleo de Genômica da Universidade Estadual do Ceará e seus membros em especial aos professores Raimundo Bezerra, Rodrigo Maggioni e ao técnico Michel Kamimura.

Ao Prof. Ronaldo de Oliveira Sales, ao Seu Pedro Rodrigues e a Universidade Federal do Ceará, pela cessão feita e ajuda destinada a realização deste trabalho.

E mais uma vez meu Pai, aqui eu estou te agradecendo. Obrigada meu Deus, por me dar esta oportunidade de estar aqui neste mundo, construindo e registrando uma história, resgatando outras. Obrigada por ter conhecido e poder conviver de alguma forma com todos os citados anteriormente.

RESUMO

A resistência anti-helmíntica tem maior prevalência entre os nematóides de ovinos e caprinos. No Ceará, estudos demonstraram que esse problema está se disseminando, sendo detectado em aproximadamente 90% das propriedades de ovinos na região do baixo e médio Jaguaribe. *H. contortus* é o mais prevalente e de maior intensidade em populações parasitárias resistentes a anti-helmínticos em várias regiões do estado do Ceará e do mundo. Este trabalho teve como objetivo caracterizar as unidades produtoras de ovinos quanto ao aparecimento da resistência aos benzimidazóis, isolar uma cepa sensível e resistente aos benzimidazóis e fazer uma caracterização destas cepas. Para cada cepa foi determinado o poder infectante, patogenicidade, a fertilidade das fêmeas, a capacidade do desenvolvimento dos seus ovos até larvas de terceiro estágio sob diversas condições de meio, além da classificação da população quanto à morfologia do processo vulvar das fêmeas e avaliação global da aptidão das larvas de terceiro estágio em desenvolver uma nova infecção. Os fatores que apresentaram valor preditivo para o desenvolvimento da resistência foram tratamentos aplicados na época seca ($P=0,03$) e rotação de pastagem ($P=0,17$). Foram isoladas duas cepas, uma considerada sensível ($DE50 = 0,20$) e uma resistente ($DE50 = 1,63$). Durante a época seca (32°C), a cepa sensível desenvolveu-se melhor, enquanto na época chuvosa (23°C), a cepa resistente obteve melhor desempenho. Na primeira geração, a cepa resistente apresentou maior patogenicidade, demonstrada pela maior produção de ovos, hematofagismo e melhor estabelecimento das larvas de terceiro estágio. Na segunda geração, produzida com larvas desenvolvidas nas temperaturas que mimetizam as épocas seca e chuvosa, as larvas obtidas com 23°C demonstram uma maior patogenicidade. Acredita-se que nesta geração o genótipo não tenha influenciado as características de vida dos parasitos. A partir destes resultados conclui-se que existem influências do genótipo resistente ou sensível aos benzimidazóis e da temperatura sobre as características de vida do parasito *H. contortus* isolado no estado do Ceará.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

LISTA DE ANEXOS

INTRODUÇÃO	20
REVISÃO DE LITERATURA	24
1. <i>H. contortus</i>	24
1.1. Classificação taxonômica	24
1.2. Ciclo biológico	25
1.3. Características do ciclo de vida dos estágios parasitários	24
1.4. Hemonchose ovina	27
2. Resistência anti-helmíntica	27
2.1. Histórico da resistência anti-helmíntica no Brasil	27
2.2. Desenvolvimento da resistência anti-helmíntica	28
2.3. Diferenças fisiológicas entre os parasitos resistentes e sensíveis	30
3. Anti-helmínticos benzimidazóis e pró-benzimidazóis	31
3.1. Mecanismo de ação	31
3.2. Mecanismo de resistência aos fármacos benzimidazóis	32
4. Testes para detecção da resistência	33
4.1. Testes <i>in vivo</i>	33
4.1.1. Teste controlado	33
4.1.2. Teste de redução na contagem de ovos nas fezes	33
4.2. Testes <i>in vitro</i>	34
4.2.1. Teste de eclosão de ovos	34
4.2.2. Diagnóstico genético	34
4.2.2.1. Reação em cadeia pela polimerase alelo específica	35
5. Controle anti-helmíntico versus resistência anti-helmíntica	36
JUSTIFICATIVA	38
HIPÓTESE CIENTÍFICA	39
OBJETIVOS	40
Geral	40

Específicos	40
METODOLOGIA	41
1º Experimento: Caracterização das unidades produtoras de ovinos e estudo dos fatores promotores da resistência aos benzimidazóis	41
2º Experimento: Isolamento das cepas de <i>H. contortus</i>	42
3º Experimento: Caracterização ecológica de cepas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis	43
1. Animais e estabelecimento da infecção	43
1.1. Parâmetros parasitológicos e hematológicos	44
1.2. Diagnóstico da resistência ou sensibilidade	44
1.3. Influência da temperatura e umidade na taxa de desenvolvimento dos ovos até o estágio de L3	44
1.4. Caracterização da carga parasitária das cepas resistente e sensível de <i>H. contortus</i>	45
1.5. Determinação da oviposição das fêmeas de <i>H. contortus</i>	45
1.6. Avaliação global da adaptabilidade (<i>fitness</i>) de <i>H. contortus</i>	46
2. Análise estatística	46
RESULTADOS	47
DISCUSSÃO	57
CONCLUSÕES	65
PERSPECTIVAS	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
ANEXOS	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
®	Marca registrada
°C	Graus Celsius
µg/mL	Micrograma por mililitro
µL	Microlitro
AS-PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase Alelo Específica
cm	Centímetros
DE50	Dose efetiva para inibir 50% da eclosão de ovos
DNA	Ácido desoxirribonucléico
dNTP	Desoxiribonucleotídeos
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Agropecuária
g	Gramas
GLM	Modelo Linear Geral
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INRA	Institut National de la Recherche Agronomique
IPLANCE	Fundação Instituto de Planejamento do Ceará
kg	Quilograma
L3	Larva de terceiro estágio
mg/kg	Miligramas por quilograma
mg/mL	Miligramas por mililitro
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
mL	Mililitro
mL/kg	Mililitro por quilograma
mM	Milimolar
mm	Milímetros
OPG	Ovos por grama de fezes
PCR	Reação em cadeia pela polimerase
pmol	Picomol
RCOF	Redução na contagem de ovos nas fezes

rr	Homozigoto resistente
rS	Heterozigoto
SRD	Sem raça definida
β	Beta
SS:	homozigoto sensível
UP	Umidade ponderal
WAAVP.	World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Tab. 1. Resultados do teste de redução na contagem de ovos nas fezes (RCOF) de ovinos tratados com oxfendazol nas fazendas selecionadas para o isolamento da cepa no momento do primeiro (1º) e do segundo (2º) levantamento em municípios do Estado do Ceará.	48
Tab. 2. Resultado da DE50 da cepa de <i>H. contortus</i> resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis nos meses de agosto e outubro.	50
Tab. 3. Capacidade de desenvolvimento de ovo até larva de terceiro estágio nas temperaturas de 23°C e 32°C das cepas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis.	50
Fig. 1. Acompanhamento dos hematócrito em função do tempo nos animais infectados com as cepas de <i>H. contortus</i> resistente (R) e sensível (S) aos anti-helmínticos benzimidazóis.	51
Fig. 2. Evolução temporal do número médio de ovos por grama fezes eliminados pelas fêmeas de <i>H. contortus</i> resistente (R) e sensível (S) aos anti-helmínticos benzimidazóis.	52
Fig. 3. Evolução temporal do número médio de ovos por grama fezes eliminados pelas fêmeas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis provenientes de ovos desenvolvidos sob as temperaturas de 23°C e 32°C.	53
Fig. 4. Acompanhamento do microhematócrito em função do tempo nos animais infectados com as cepas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis provenientes de ovos desenvolvidos sob as temperaturas de 23°C e 32°C.	53
Tab. 4. Caracterização da carga parasitária dos ovinos inoculados com as cepas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis.	55
Tab. 5. Caracterização da carga parasitária dos ovinos inoculados com as cepas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis provenientes de ovos desenvolvidos sob as temperaturas de 23°C e 32°C.	55

Fig. 5. Comparação das características de vida das cepas de <i>H. contortus</i> resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis durante duas gerações.	56
Fig. 6. Tratamento anti-helmíntico estratégico para pequenos ruminantes preconizado pela EMBRAPA-CNPC para o nordeste brasileiro distribuídos na época chuvosa (Janeiro a Maio) e seca (Junho a Dezembro). As setas em preto indicam a época de dosificação recomendada. Adaptado de EMBRAPA (1994).	64
Fig. 7. Modificações sugeridas para o tratamento anti-helmíntico estratégico preconizado pela EMBRAPA-CNPC para o nordeste brasileiro distribuídos na época chuvosa (Janeiro a Maio) e seca (Junho a Dezembro). As setas em preto indicam a época de dosificação recomendada.	64

LISTA DE ANEXOS

Anexo I. Questionário aplicado nas propriedades rurais sobre manejo sanitário, formas de controle, utilização de anti-helmínticos, infra-estrutura e assistência médica veterinária.

Anexo II. Artigo intitulado “Desenvolvimento da resistência ao oxfendazol em propriedades rurais de ovinos na região do baixo e médio Jaguaribe, Ceará, Brasil” no periódico **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**.

Anexo III. Cópia do artigo submetido no periódico **Veterinary Parasitology** intitulado “Farm profile of benzimidazole resistance in small ruminants from Brazilian northeast semi-arid area”.

INTRODUÇÃO

O Brasil possui um rebanho ovino efetivo de mais de 14 milhões de cabeças. O Nordeste possui o maior rebanho, sendo 56,6% da população de ovinos do Brasil. Sendo que no Ceará, o número de cabeças de ovinos é de aproximadamente 1,8 milhão, correspondendo a 21,6 % e 12,2 % do rebanho nordestino e nacional, respectivamente (IBGE, 2003). Esta cultura é uma importante fonte de renda principalmente para os pequenos produtores rurais, através da exploração da carne, leite e pele (Pinheiro et al., 2000). No entanto, a ovinocultura sofre grandes perdas econômicas devido ao parasitismo por nematóides gastrintestinais (Girão et al., 1992; Coop & Kyriazakis, 2001), pois provoca diminuição na produção de carne, leite, além de elevada mortalidade do rebanho no período chuvoso (Pinheiro et al., 2000).

Vários levantamentos têm sido realizados a fim de determinar os nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos que ocorrem no Brasil, podendo-se citar na região nordeste *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris* spp, *Cooperia* spp, *Strongyloides papillosus*, *Skrjabinema ovis* e *Bunostomum trigonocephalum*. Dentre estes, o mais prevalente é *H. contortus* (Arosemena et al., 1999; Charles, 1989; Charles, 1995; Costa & Vieira, 1984; Silva, et al., 2003). Em estudos realizados somente em ovinos na região sudeste, observou-se a ocorrência de *H. contortus*, *T. colubriformis*, *C. curticei*, *S. papillosus* e *O. columbianum*, sendo os dois primeiros os mais prevalentes (Amarante, et al., 2004). Na região sul, *H. contortus*, *T. axei*, *T. colubriformis*, *Teladorsagia circumcincta*, *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia* spp, *Nematodirus spatigher*, *O. venulosum* e *Trichuris ovis* (Ramos et al., 2004) são os parasitos que ocorrem em ovinos, sendo também *H. contortus* o mais prevalente. Na região norte, os ovinos albergam *H. contortus*, *T. colubriformis*, *C. curticei*, *O. columbianum* e *Trichuris* spp, sendo novamente *H. contortus* o mais prevalente (Braga & Girardi, 1991).

A patogenia causada por *H. contortus* é essencialmente de uma anemia hemorrágica aguda, devido ao hábito hematófago do verme (Fetterer & Rhoads, 1998), levando a um severo comprometimento do animal e a grandes perdas econômicas (Sangster et al., 1999).

O controle de nematóides gastrintestinais é largamente baseado no uso profilático e terapêutico de anti-helmínticos (Charles et al., 1989). Vários são os esquemas preconizados, entre eles pode-se citar o controle curativo, o controle tático, o tratamento supressivo e o tratamento estratégico que entre os citados é o mais indicado para o nordeste brasileiro. A filosofia deste controle é tratar os animais em períodos desfavoráveis ao desenvolvimento das fases de vida livre na pastagem (Pinheiro, 1983). No nordeste brasileiro são indicados quatro tratamentos anuais, dos quais três são realizados no período seco e um no chuvoso (EMBRAPA, 1994). No período seco existe pouca ou nenhuma larva na pastagem (Arosemena et al., 1999), por isso, os tratamentos realizados neste período visam interromper o ciclo de desenvolvimento das nematodioses gastrintestinais e, conseqüentemente, reduzir a contaminação da pastagem durante o período chuvoso (Berne et al., 1989).

Falhas no controle através dos anti-helmínticos são o primeiro sinal do aparecimento de resistência anti-helmíntica (Sangster, 2001). A primeira manifestação da resistência em uma população de nematóides é o aumento de indivíduos capazes de sobreviver a uma dose de anti-helmíntico que seria letal para a maioria dos nematóides de uma população sensível da mesma espécie. O aumento da resistência é o resultado de trocas gênicas causadas pelo cruzamento daqueles que sobreviveram a exposição à droga (Echevarria, 1996). A freqüência e intensidade do tratamento, aliada a maior ou menor disseminação dos alelos para resistência na população de parasitos, determinam a taxa de seleção da resistência (Prichard, 2001). Os principais fatores que levam a uma maior ou menor disseminação destes alelos são operacionais, genéticos, biológicos e ecológicos (Hennon, 1993).

Dentre os ruminantes, a resistência anti-helmíntica tem maior prevalência entre os nematóides de ovinos e caprinos. Este fato pode ser explicado em parte pela maior freqüência de tratamentos e ainda por diferenças fisiológicas entre

pequenos e grandes ruminantes (Geary et al., 1999). A resistência em nematóides de bovinos já foi relatada no Rio de Janeiro e em Minas Gerais, estados da região sudeste (Cardoso et al., 2002, Rangel et al., 2005) e em Santa Catarina, estado da região sul do Brasil (Souza, et al., 2002).

O primeiro relato de resistência a anti-helmínticos utilizados contra nematóides gastrintestinais de ovinos foi com o tiabendazol (Drudge et al., 1964). Este problema disseminou-se pelo mundo inteiro (Waller et al. 1995; Waller et al., 1996; Chartier et al., 1998). No Brasil, o primeiro relato de resistência a anti-helmínticos em ovinos foi no Rio Grande do Sul (Dos Santos & Gonçalves, 1967). No nordeste brasileiro, já foram feitos vários relatos de nematóides resistentes em ovinos e caprinos (Vieira et al., 1989; Charles et al., 1989; Barreto & Silva, 1999). No Ceará, existem relatos de resistência em nematóides de caprinos (Vieira & Cavalcante, 1999; Melo et al., 1998) e em ovinos (Melo et al., 1998; Bevilaqua & Melo, 1999). Estudos mais recentes demonstraram que esse problema está se disseminando, sendo detectado em aproximadamente 90% das propriedades de ovinos na região do baixo e médio Jaguaribe (Melo, 2001) uma importante área de produção da ovinocultura do estado do Ceará (IPLANCE, 1995). Este levantamento denunciou a existência de nematóides resistentes a duas ou mais drogas utilizadas no controle do parasitismo, correspondendo a 58,8% das fazendas de ovinos. A resistência somente ao oxfendazol, ivermectina ou levamisol foi de 88%, 59% e 41% das propriedades visitadas, respectivamente. O gênero *Haemonchus* foi o mais prevalente na população resistente a todos os anti-helmínticos testados (Melo et al., 2003).

H. contortus é o maior responsável pelo rápido desenvolvimento da resistência em nematóides de pequenos ruminantes (Sangster, 2001), sendo o mais prevalente e de maior intensidade em populações parasitárias resistentes a anti-helmínticos em outras regiões do estado do Ceará (Vieira & Cavalcante, 1999), do nordeste brasileiro (Charles et al., 1989), na região sul do Brasil (Farias et al., 1997) e na América Latina (Waller et al., 1996). Na África do Sul, a resistência devido a *H. contortus* tem inviabilizado a criação comercial de ovinos (Van Wyk et al., 1999). Provavelmente, esse nematóide desenvolve resistência mais rapidamente devido ao seu alto potencial biótico (Echevarria & Trindade, 1989), grande variabilidade

genética e por albergar o alelo que causa a diminuição da susceptibilidade a uma droga (Blackhall et al., 1998).

Na presença de nematóides resistentes, alguns métodos alternativos de controle e/ou profilaxia devem ser estabelecidos, baseados na estimulação do sistema imunológico dos hospedeiros, visando o não estabelecimento dos parasitos no hospedeiro. Entre eles pode-se citar a seleção de raças de animais naturalmente resistentes aos nematóides; desenvolvimento de vacinas contra estes parasitos; e suplementação da dieta destes animais. Comparando-se estes métodos o mais efetivo foi o controle baseado na seleção de animais naturalmente resistentes (Eady, et al., 2003).

REVISÃO DE LITERATURA

A seguir será apresentada uma breve revisão de literatura. Inicialmente serão expostos assuntos relacionados ao parasito *H. contortus*. Em seguida serão abordados os principais temas relacionados ao processo de desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, bem como seu diagnóstico, resistência aos benzimidazóis e alguns aspectos relacionados ao fármaco. Por fim, serão discutidos aspectos relacionados ao controle dos nematóides gastrintestinais e o seu impacto sobre a resistência anti-helmíntica.

1. *H. contortus*

O gênero *Haemonchus* possui várias espécies, sendo que *H. contortus* parasita geralmente pequenos ruminantes. Nestas espécies de animais, raramente encontra-se a espécie *H. similis*, no entanto *H. contortus* é a espécie dominante em termos de intensidade de infecção (Achi et al., 2003), pois estes animais mostram-se altamente susceptíveis, com alta taxa de estabelecimento da infecção e grande excreção de ovos pelas fêmeas (Jacquiet et al., 1998), em comparação com outras espécies de ruminantes.

1.1. Classificação taxonômica

Este parasito é classificado da seguinte forma:

- Filo Nematelminthes
- Classe Nematoda
- Ordem Strongylida
- Superfamília Trichostrongyloidea
- Família Trichostrongylidae
- Gênero *Haemonchus*
- Espécie *Haemonchus contortus* (Rudolf, 1803)

1.2. Ciclo biológico

H. contortus tem um ciclo evolutivo direto. As fêmeas são ovíparas prolíferas. Os ovos são eliminados nas fezes e em condições ideais (18 a 26°C e 80 a 100% umidade) se desenvolvem no pasto em terceiro estágio infectante (L3) em aproximadamente 5 dias. Em condições frias o desenvolvimento pode ser retardado por semanas ou meses. A temperatura ótima para a sobrevivência das larvas é de 18 a 26°C (Onyah & Arslan, 2005). Em baixas temperaturas as larvas sobrevivem por longos períodos devido ao seu baixo metabolismo e reservas energéticas. A umidade é também um fator importante para a sobrevivência da larva, em condições secas, como no semi-árido brasileiro, as larvas não sobrevivem (Arosemena et al., 1999). A irrigação pode influenciar na disponibilidade de L3, sendo encontradas em grande número em pastagens irrigadas durante o verão com temperaturas em torno de 24°C (Krecek et al., 1991). Após a ingestão e desembainhamento no rúmen, as larvas sofrem duas mudas. Exatamente antes da muda final eles desenvolvem a lanceta perfurante que lhes permite a obtenção do sangue dos vasos da mucosa do abomaso, local de fixação do parasito. Quando adultos, movem-se livremente na superfície da mucosa. O período pré-patente é de duas a três semanas (Soulsby, 1987).

1.3. Características do ciclo de vida dos estágios parasitários

Macroscopicamente, os adultos podem ser identificados devido a sua localização específica no abomaso e seu tamanho, que varia de 1,1 a 2,7 cm de comprimento. Microscopicamente, o macho apresenta um lobo dorsal assimétrico e espículos em ganchos. Nas fêmeas, observam-se os ovários brancos enrolando-se em espiral ao redor do intestino repleto de sangue. (Lichtenfels, et al., 1994). A fêmea apresenta três tipos de processos vulvares, lisa, botão e linguiforme, sendo o último ainda classificado em A, B, C e I (Le Jambre & Whitlock, 1968). Em ambos os sexos existem papilas cervicais e uma lanceta minúscula no interior da cápsula bucal.

Em infecções experimentais, observa-se que a taxa de estabelecimento em torno de 50% é a mais comum, no entanto pode variar de aproximadamente 6 a

83%, dependendo principalmente da dose de L3 inoculada e do período da infecção. Em doses maiores, o estabelecimento é menor, assim como com o decorrer da infecção, devido ao desenvolvimento de imunidade contra o parasito (Barger & Le Jambre, 1985; Barger et al., 1988; Coadwell & Ward, 1981; Fleming, 1988; Abbott et al., 1986). Além disso, alguns outros fatores relacionados à diminuição na disponibilidade de L3 podem ocasionar baixo estabelecimento da infecção. As perdas são geralmente devidas a falhas no desencapsulamento e conseqüente saída da bainha das L3, e mortalidade das larvas de 4^o e 5^o estágio (Smith, 1988). A relação do número de fêmeas com o número de machos adultos é em torno de 1:1 (Allonby & Urquhart, 1975; Abbott et al., 1986), mas em infecções mais prolongadas, observa-se que os espécimes machos são predominantes (Coadwell & Ward, 1981; Fleming, 1988). Após o estabelecimento inicial, a carga parasitária é controlada pela relação da quantidade de larvas ingeridas e a mortalidade dos adultos, isto é, a população é resultado de um equilíbrio dinâmico entre a taxa de ingestão de larvas e a taxa de mortalidade e reposição, ou *turnover*, dos parasitos adultos (Smith, 1988; Courtney et al., 1983), processo regulatório válido para *H. contortus*, no entanto, nem todos os tricostrongilídeos têm a população parasitária regulada pelo mesmo processo (Barger & Le Jambre, 1985).

Com relação ao comprimento dos machos e das fêmeas, estes diminuem com o aumento do número de L3 ingeridas (Fleming, 1988). Observa-se também que o peso dos parasitos diminui, com o tamanho da carga parasitária, sendo em torno de 92 g em uma infecção de 1.000 adultos, passando para 43 g em uma infecção de 10.000 espécimes, mantendo a produção de ovos pelas fêmeas constantes (Allonby & Urquhart, 1975). Em infecções experimentais observou-se que a fecundidade das fêmeas varia de aproximadamente 800 a 7.000 ovos por fêmea por dia, variando de acordo com o tamanho da dose de L3 ingerida e conseqüente carga parasitária. Em infecções massivas, a fecundidade das fêmeas diminui (Fleming, 1988; Coyne et al., 1991).

Com relação ao processo vulvar, na espécie *H. contortus* em ovinos, o processo linguiforme é predominante, enquanto, em *H. placei* de bovinos, o processo do tipo botão predomina. De acordo com a região geográfica estudada, a frequência de ocorrência dos tipos de processos vulvares pode variar. Por essas

diferenças nesta frequência, considera-se que a espécie *H. contortus* tem seis subespécies, *H. contortus contortus*, *H. contortus cayugensis*, *H. contortus bangalorensis*, *H. contortus hispanicus*, *H. contortus kentuckiensis* e *H. contortus bahiensis* além de duas variedades, *H. contortus var. utkalensis* e *H. contortus var. kashmirensis* (Citado por Molina, 1991). Além de variar geograficamente e intraespecificamente, a frequência de ocorrência de cada processo muda de acordo com a estação do ano (Le Jambre & Whitlock, 1968; Le Jambre & Whitlock, 1976).

1.4. Hemonchose ovina

Em casos de severa infecção por *Haemonchus*, os mais óbvios sinais clínicos apresentados pelos animais são a progressiva perda de peso e anemia, caracterizada pela queda do volume globular. Os animais podem apresentar-se posteriormente edemaciados devido à anemia que se torna cada vez mais grave. Assim sendo, o animal pode apresentar o edema submandibular e ascite. Na infecção crônica, o animal apresenta uma baixa progressiva no volume globular e um pequeno ganho de peso, quando comparado com animais livres de parasitos. Durante a hemonchose hiperaguda o animal pode morrer subitamente como consequência de gastrite hemorrágica grave. Observa-se ainda hipoproteïnemia e hipoalbuminemia. Diarréia não é um sintoma comum em uma infecção por *H. contortus* (Soulsby, 1987). O impacto da patogenia da hemonchose sobre o hospedeiro pode ainda ser afetado pela dieta oferecida aos animais, àqueles que têm dietas pobres em proteína, apresentam sinais clínicos mais pronunciados, apesar de apresentar carga parasitária semelhante àqueles que têm uma dieta rica em proteína (Abbott, et al., 1986), portanto a doença pode ser intensificada devido à baixa qualidade alimentar dos animais (Allonby & Urquhart, 1975).

2. Resistência anti-helmíntica

2.1. Histórico da resistência anti-helmíntica no Brasil

Após o primeiro relato de resistência a anti-helmínticos em ovinos no Brasil (Dos Santos & Gonçalves, 1967), não faltaram relatos de nematóides resistentes a todos os fármacos comercialmente utilizados. Na região Sul, a resistência foi

detectada no Paraná (Cunha & Filho, 1999; Thomaz-Soccol et al., 2004), Santa Catarina (Ramos et al., 2002) e novamente no Rio Grande do Sul (Echevarria & Trindade, 1989; Echevarria et al., 1996). Na região Sudeste, foram observados relatos em São Paulo (Farias et al., 1997; Veríssimo et al., 2002). No nordeste, suspeitou-se de nematóides resistentes inicialmente em caprinos no Ceará (Vieira et al., 1989). Estudos posteriores indicaram resistência em Pernambuco, Bahia e Alagoas (Charles et al., 1989; Barreto & Silva, 1999; Barreto et al., 2002; Bispo et al., 2002). No Ceará, existem outros relatos de resistência em caprinos e ovinos (Vieira & Cavalcante, 1999; Melo et al., 1998; Bevilaqua & Melo, 1999; Melo, 2001). Ainda no Ceará, foi observada a presença de *H. contortus* resistente em ovinos provenientes do Paraná e Rio Grande do Sul (Vieira et al., 1992), o que facilitou a disseminação da resistência para todo o país.

2.2. Desenvolvimento da resistência anti-helmíntica

A resistência apresenta três componentes: estabelecimento, desenvolvimento e dispersão. O estabelecimento da resistência é amplamente influenciado pelo tamanho e diversidade da população e taxa de mutação do gene envolvido (Sutherst & Comins, 1979). Quanto mais elevados estes fatores, maior será a probabilidade da existência do alelo para a resistência (Geary et al., 1999). O desenvolvimento da resistência deve-se ao uso do agente seletivo, neste caso, o anti-helmíntico (Sutherst & Comins, 1979). A grande frequência de tratamentos seleciona para resistência diminuindo a vida útil do fármaco (Barnes & Dobson, 1990). Por último o processo de dispersão dos genes na população é realizado pela migração e fluxo gênico (Humbert et al., 2001). Logo, os processos de desenvolvimento e dispersão são influenciados pela biologia e manejo dos parasitos responsáveis pela resistência.

O aparecimento de cepas de nematóides resistentes a anti-helmínticos pode ser explicado pela teoria da evolução, que tem como ponto básico a seleção natural, ou seja, os indivíduos mais adaptados sobrevivem para se reproduzir (Griffiths et al., 1998). A população susceptível de nematóides contém uma subpopulação de indivíduos com capacidade genética para sobreviver ao tratamento que originará a próxima geração de nematóides desta população. O desenvolvimento da resistência

a uma droga geralmente acontece dentro de cinco a oito gerações após a introdução da nova classe de composto (Grant, 2001). Sendo aproximadamente um ano o intervalo máximo de uma geração de nematódeos gastrintestinais em ruminantes (Prichard et al., 1980).

Em nematóides gastrintestinais, existem três hipóteses que explicam o aparecimento de alelos para resistência aos benzimidazóis. A primeira hipótese baseia-se nas migrações e no fluxo gênico. As migrações introduzem diferentes freqüências gênicas provenientes da população de origem e através do fluxo gênico esses genes são incorporados ao conjunto gênico da nova população. Esse mecanismo provoca a dispersão de alelos de uma população para outra (Silvestre & Humbert, 2002). Na segunda hipótese, os alelos para resistência estão presentes na população por um longo período como um alelo raro (Roos et al., 1990), essa é uma das explicações para a grande prevalência da resistência aos benzimidazóis. A última hipótese seria a de mutações espontâneas (Humbert et al., 2001) que podem ser oriundas de uma variedade de fontes sendo os erros na replicação do DNA e lesões espontâneas os mais freqüentes (Griffiths et al., 1998), contudo todas os tipos de mutação espontânea causam uma mudança abrupta e hereditária do caráter.

Os fatores genéticos que determinam a taxa de seleção são: dominância dos alelos para resistência, o número e freqüência inicial dos genes envolvidos, a diversidade genética da população, a relativa adaptabilidade dos organismos resistentes e a oportunidade para recombinação genética (Sangster, 2001; Coles, 2005).

Em estudos realizados com *T. circumcincta*, determinou-se que a resistência aos benzimidazóis é uma característica onde a hereditariedade dos genes é incompletamente recessiva, com apenas uma mutação pontual no gene da β -tubulina (Elard et al., 1996, Dobson et al., 1996; Prichard, 2001).

Além dos fatores genéticos, outros podem influenciar na maior ou menor disseminação da resistência que são os operacionais, biológicos e ecológicos (Hennon, 1993).

Dentre os operacionais pode-se citar a subdosagem, freqüência de tratamentos e rotação rápida de princípio ativo (Hennon, 1993; Craig, 1993; Martin, 1987). Com a subdosagem, a droga atingirá somente os indivíduos sensíveis da população parasitária e os indivíduos resistentes sobrevivem dando origem a novas gerações (Craig, 1993). A grande freqüência de tratamentos seleciona para resistência diminuindo a vida útil do fármaco. A rápida rotação de princípio ativo seleciona nematóides resistentes a todas as drogas utilizadas nessa rotação (Barnes & Dobson, 1990).

O fator bioecológico que influencia no desenvolvimento da resistência é a quantidade de população de nematóides em refúgio, isto é, os estágios pré-parasitários de vida livre que se encontram na pastagem e escapam à exposição do anti-helmíntico. Logo quanto maior for o tamanho da população em refúgio, menor será a pressão de seleção e conseqüentemente o desenvolvimento da resistência será retardado (Prichard, 1990; Jackson, 1993).

2.3. Diferenças fisiológicas entre os parasitos resistentes e sensíveis

Alguns estudos têm sido realizados a fim de comparar características de vida entre indivíduos resistentes e sensíveis. O nematóide de vida livre *Caenorhabditis elegans* vem sendo utilizado como modelo para estudos de desenvolvimento e mecanismos da resistência (Geary & Thompson, 2001; Hashmi et al., 2001). Neste parasito, observa-se que os indivíduos resistentes apresentam disfunções na mobilidade, oviposição, músculo da faringe, entre outras características, que chegam a ser letal para esse parasito, mas parecem ser irrelevantes em outras espécies (Prichard, 2001).

Em contraste a estas observações, o parasito *H. contortus* selecionado para resistência, apresenta, simultaneamente, genes que influenciam outras características fisiológicas como a patogenicidade, poder infectante e sobrevivência dos estágios de vida livre (Hennon, 1993). Este fato foi novamente evidenciado em cepa resistente ao tiabendazol. Esta cepa mostrou-se superior na capacidade de estabelecer-se no animal, foi mais patogênica e produziu uma maior quantidade de ovos. Estas características elevam-se com o aumento da resistência. Neste estudo,

os fatores relacionados aos estágios de vida livre não foram afetados pelo grau de resistência (Maingi et al., 1990).

Em *T. circumcincta* não foi observada diferença entre os genótipos resistente e sensível na produção de ovos, taxa de desenvolvimento de ovos até L3, capacidade de estabelecimento destas larvas e sobrevivência dos adultos (Elard et al., 1998). No entanto apresentam diferenças quanto ao comprimento dos adultos, sendo os parasitos resistentes maiores que os sensíveis aos 60 dias de infecção, esperando-se que haja assim uma maior fertilidade das fêmeas (Leignel & Cabaret, 2001).

3. Anti-helmínticos benzimidazóis e pró-benzimidazóis

3.1. Mecanismo de ação

O primeiro anti-helmíntico benzimidazol lançado no mercado foi o tiabendazol. A partir dos anos 60 e 70 várias pesquisas promoveram o desenvolvimento de uma série de benzimidazóis (albendazol, febendazol, mebendazol, oxfendazol, oxibendazol e outros) e pró-benzimidazóis (febantel, tiofanato, netobimim) que pertencem a mesma classe (Lacey, 1988). Afinal os pró-benzimidazóis sofrem transformação para benzimidazóis através do rúmen e do metabolismo hepático (Bogan & Armour, 1987). Essas drogas têm ação contra helmintos (Hennon, 1993), tendo como mecanismo de ação principal uma potente inibição da formação de microtúbulos do parasito (Martin, 1997) que tem como funções a formação do fuso mitótico, motilidade e secreção celular, absorção de nutrientes e transporte celular (Lacey, 1988; Jasmer et al., 2000; Bruce, 1987). Devido ao papel crucial desempenhado pelos microtúbulos em alguns dos processos celulares, esta destruição induzida pela droga levará a morte desse organismo (Köhler, 2001), pois ocorrerá uma interrupção do equilíbrio tubulina/microtúbulo, levando a uma cascata de mudanças bioquímicas e fisiológicas que podem ser diretas ou indiretas resultando na perda da homeostasia celular (Lacey, 1988). Secundariamente pode inibir a enzima fumarato redutase no transporte de glicose, alterando os mecanismos energéticos do parasito (Lanusse, 1996). Foi observado ainda que ocorre

interrupção e/ou diminuição da produção de ovos dos nematóides (Martin et al., 1997).

3.2. Mecanismo de resistência aos fármacos benzimidazóis

Os mecanismos de resistência podem ser específicos ou inespecíficos. Os mecanismos específicos estão associados à ação da droga anti-helmíntica, enquanto os inespecíficos referem-se as alterações no receptor da droga ou na modulação da concentração do fármaco (Wolstenholme et al., 2004).

A resistência aos anti-helmínticos benzimidazóis tem sido associada com modificações relacionadas à tubulina (Gutteridge, 1993). As moléculas do fármaco ligam-se à tubulina alterando o equilíbrio tubulina/microtúbulo, assim os parasitos resistentes caracterizam-se pela diminuição dos sítios de alta afinidade à droga nas subunidades protéicas dos microtúbulos (Lacey, 1988). Microtúbulos são organelas citoplasmáticas que formam o citoesqueleto da célula, movimentam partículas celulares e formam o fuso mitótico durante a divisão celular (Martin, 1997). Acredita-se ainda que a modulação da concentração da droga mediada pelas p-glicoproteínas no receptor alvo pode ser um outro potencial mecanismo de resistência (Kerboeuf et al., 2003), assim como acontece para as lactonas macrocíclicas. As p-glicoproteínas são proteínas transmembranárias que têm um papel protetor contra xenobióticos potencialmente tóxicos ingeridos na dieta (Schwab et al., 2003). Estas proteínas que são produtos do gene MDR1, aparentemente removem seus substratos da dupla camada de lipídeos da membrana para o espaço extracelular, agindo como bombas de efluxo de xenobióticos (Molento & Prichard, 1999).

Estudos de populações de *H. contortus* resistente e sensível aos benzimidazóis indicaram a existência de diferenças específicas do DNA genômico destas populações (Roos et al., 1990). Kwa et al. (1994) demonstraram que a resistência aos benzimidazóis envolve uma mutação no aminoácido 200 e 167 (Silvestre & Cabaret, 2002) (Fenilalanina/Tirosina) do gene isotipo 1 β -tubulina, que parece ser o maior implicado no mecanismo da resistência anti-helmíntica aos benzimidazóis (Samson-Himmelstjerna & Blackhall, 2005).

4. Testes para detecção da resistência

4.1. Testes *in vivo*

Os testes *in vivo* são largamente utilizados para monitorar a resistência em nematóides. Porém esses testes são onerosos e geralmente se caracterizam pela baixa qualidade devido à variação interanimal (Craven et al., 1999). No entanto são necessários para se estudar três aspectos fundamentais da farmacologia da droga: o papel da farmacodinâmica no hospedeiro, a interação do parasito e o hospedeiro, além da farmacologia bioquímica da droga, ou seu modo de ação (Lacey, 1988). Estes fatores não podem ser considerados nos testes *in vitro*.

4.1.1. Teste controlado

Neste teste, a eficácia do anti-helmíntico é determinada pela comparação da população de parasitos no grupo tratado com a do grupo não tratado. Este teste é o método mais confiável para avaliar a atividade anti-helmíntica. Animais parasitados são aleatoriamente separados em medicados e não medicados, grupo controle. Após a dosificação dos animais do grupo medicado é dado um intervalo entre o tratamento e o sacrifício dos animais. Estes são necropsiados e a carga parasitária é identificada e contada. Os adultos são diferenciados dos estágios larvais e se possível das larvas hipobióticas (Wood et al., 1995).

4.1.2. Teste de redução na contagem de ovos nas fezes

Animais parasitados são distribuídos aleatoriamente em grupo tratado e não-tratado, controle. São necessários, no mínimo, dez animais para cada grupo a fim de permitir interpretação confiável dos resultados. Após 10 a 14 dias do tratamento, faz-se coleta de fezes de todos os animais e contagem de ovos nas fezes, comparando-se o percentual de redução na eliminação de ovos nas fezes nos dois grupos (Coles, et al., 1992). Apesar de ser largamente utilizado para monitorar resistência em nematóides caracteriza-se por baixa qualidade, pois nem sempre existe uma boa correlação entre a oviposição e o número de parasitos adultos no hospedeiro, com

exceção do nematóide *H. contortus* devido a sua alta prolificidade (Taylor, et al., 2002).

4.2. Testes *in vitro*

A maioria dos testes *in vitro* é de fácil execução e aplicação, além de poder ser realizado em larga escala (O'Grady & Kotze, 2004). Dentre os testes *in vitro*, o mais utilizado é o de eclosão de ovos (Craven et al., 1999).

4.2.1. Teste de eclosão de ovos

Este teste baseia-se na atividade ovicida do fármaco servindo de modelo para o desenvolvimento de outros testes *in vitro*. O tiabendazol é o composto padrão classicamente utilizado por ser mais solúvel que os demais compostos benzimidazóis. Realiza-se a incubação dos ovos em soluções contendo o anti-helmíntico em diferentes concentrações finais que variam de 0 a 2 µg/mL. Ao final de 48 horas, realiza-se a leitura do teste, classificando os achados em ovos ou larvas. Quando a DE50 (dose efetiva para inibir 50% da eclosão de ovos) for superior ou igual a 0,1µg/mL considera-se a presença de resistência na população de nematóides testada (Coles et al., 1992).

O teste de eclosão de ovos é indicado pela World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) para detectar resistência aos benzimidazóis (Coles et al., 1992). Este teste estima melhor o nível de resistência e possibilita a mensuração dos efeitos dos anti-helmínticos nos processos fisiológicos dos nematóides. Comparado ao teste de redução na contagem de ovos nas fezes, apresenta menor custo e fácil execução (Várady & Corba, 1999), contudo a impossibilidade da realização de culturas pós-tratamento, inviabiliza a determinação do parasito responsável pela baixa eficácia do anti-helmíntico.

4.2.2. Diagnóstico genético

A utilização de técnicas moleculares para o diagnóstico de nematóides resistentes aos anti-helmínticos está restrita aos benzimidazóis (Taylor et al., 2002).

Estas técnicas oferecem algumas vantagens no diagnóstico, são altamente específicas, sensíveis, utilizam pequenas quantidades de DNA, e têm um potencial para identificação das espécies dos parasitos (Sangster et al., 2002). Contudo, o número de parasitos necessários a serem testados, é uma grande limitação. Para a detecção de nematóides resistentes, quando a sua prevalência é menor que 1% numa população de organismos diplóides, é necessário a genotipagem de no mínimo 150 indivíduos (Sangster et al., 2002). Esta técnica é um grande avanço para a detecção e monitoramento da resistência, no entanto os seus altos custos impedem que seja utilizada como rotina laboratorial no lugar dos métodos clássicos, que são os testes *in vitro* de eclosão de ovos e desenvolvimento larvar e *in vivo*, de redução na contagem de ovos nas fezes.

4.2.2.1. Reação em cadeia pela polimerase alelo específica

A resistência aos benzimidazóis é diagnosticada utilizando-se a amplificação do fragmento do isotipo 1 da β -tubulina. Emprega-se a Reação em Cadeia pela Polimerase Alelo Específica (AS-PCR) para detectar esta mutação em parasitos adultos de *H. contortus* (Kwa et al., 1994) e para larvas e adultos de *T. circumcincta* (Elard et al., 1999). No entanto, o método de genotipagem só poderia ser realizado em vermes adultos após necropsia dos animais ou em larvas, se a infecção fosse monoespecífica. Posteriormente este método foi modificado permitindo a identificação das três espécies de nematóides mais prevalentes em ovinos e caprinos, *T. circumcincta*, *T. colubriformis* e *H. contortus* (Silvestre & Humbert, 2000). Esta ferramenta molecular pode estimar cada genótipo (rr: homozigoto resistente; rS: heterozigoto; e SS: homozigoto sensível). Desta forma o nível de resistência aos benzimidazóis numa população de nematóides pode ser definida pela proporção de homozigotos mutantes (rr) (Humbert et al., 2001).

A presença do aminoácido fenilalanina ou tirosina na posição 200 do gene da β -tubulina, caracteriza a cepa sensível e resistente aos benzimidazóis, respectivamente (Elard et al., 1999). Esse método é baseado no uso da reação em cadeia pela polimerase (PCR) a qual amplifica produtos dos alelos específicos. Esse sistema gera três fragmentos: um alelo não específico e dois alelos específicos para sensibilidade e resistência aos benzimidazóis que são separados pela eletroforese

em gel agarose. Essa caracterização possibilitará estimar a proporção de cada genótipo na população de nematóides (Humbert et al., 2001). E assim, quantificar o número de indivíduos resistentes numa população. A real vantagem deste método de diagnóstico é a possibilidade de detecção do primeiro indivíduo resistente, por isso essa técnica pode ser uma boa alternativa de diagnóstico (Elard et al., 1999) e monitoramento da resistência (Sangster, 1999).

5. Controle anti-helmíntico versus resistência anti-helmíntica

Os diferentes esquemas de tratamento são utilizados a fim de reduzir ou eliminar os efeitos adversos do parasitismo. No controle curativo, os animais são tratados somente quando ocorrem os sintomas clínicos evidentes ou mesmo morte pelo parasitismo. O controle tático é utilizado sempre que as condições ambientais favoreçam o surgimento de verminose (Pinheiro, 1983). Neste caso o desenvolvimento da resistência é retardado, mas existe uma importante perda de produção pelos animais além de alta contaminação do meio-ambiente com os estágios infectantes dos nematóides.

O tratamento supressivo consta de vermifugar os animais a cada 2 ou 4 semanas. É empregado em animais jovens de grande valor genético ou econômico (Pinheiro, 1983). Embora seja eficiente no controle do parasitismo, precipita o rápido aparecimento da resistência anti-helmíntica.

Dos esquemas de controle, o estratégico é o mais utilizado. São aplicados tratamentos estratégicos antes que ocorra um aumento significativo da população de parasitos em épocas do ano predeterminadas (Pinheiro, 1983).

Os tratamentos estratégicos devem ser realizados com um anti-helmíntico de alta eficácia (EMBRAPA, 1994). Um dos grandes riscos deste controle refere-se à pequena ou nenhuma população de nematóides em refúgio durante a época seca, período onde ocorre a predominância das dosificações. Estes fatos possibilitam que a resistência anti-helmíntica desenvolva-se rapidamente (Sangster, 2001).

Existem métodos alternativos de controle como o método FAMACHA©, idealizado para identificar, através da coloração da membrana conjuntiva, animais capazes de suportar uma infecção por *H. contortus*. Logo, torna-se possível tratar somente os animais que sofrem de parasitismo severo, deixando sem tratamento aqueles que não apresentam anemia clínica. Desta forma a pressão de seleção para a resistência aos anti-helmínticos será menos intensa (Van Wyk et al., 1997; Vatta et al., 1999).

No nordeste brasileiro, foi realizado um estudo comparativo da eficácia a campo do método estratégico e do método FAMACHA ©. Observou-se que além de não evitar perdas produtivas, o método estratégico propiciou o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, contrariamente ao método FAMACHA ©, que não interferiu na produtividade dos animais e possibilitou o retardamento da resistência anti-helmíntica e a melhora da eficácia de fármacos considerados ineficazes para o controle do parasitismo na propriedade em que foi testado (Reis, 2004).

JUSTIFICATIVA

A ovinocaprinocultura é uma importante atividade econômica para o nordeste brasileiro. O parasitismo por nematóides gastrintestinais corresponde a mais de 80% das doenças que acometem os rebanhos do estado do Ceará sendo um dos fatores limitantes dessa atividade. Cerca de 90% das propriedades da região do médio e baixo Jaguaribe, Ceará apresenta nematóides resistentes a algum tipo de anti-helmíntico. O parasito *H. contortus* é o principal causador do aparecimento de resistência. Assim sendo, o seu monitoramento e prevenção são medidas básicas a fim de reduzir a população de nematóides resistentes. Por isso, torna-se necessário a caracterização das cepas de *H. contortus* resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis isoladas no Ceará. Essas informações são essenciais para maximizar o controle e retardar o desenvolvimento de nematódeos resistentes a anti-helmínticos nos rebanhos de pequenos ruminantes do Ceará e do Brasil.

HIPÓTESE CIENTÍFICA

A mutação que torna o parasito *H. contortus* resistente a ação dos anti-helmínticos benzimidazóis, provoca outras alterações nas características do nematóide, podendo ter efeitos deletérios sobre a sobrevivência dos parasitos resistentes e conseqüentemente para a manutenção dos seus alelos na população.

OBJETIVOS

Geral

Contribuir para o controle da hemonchose ovina através do conhecimento das consequências da resistência à anti-helmínticos benzimidazóis nas características de vida de nematóides gastrintestinais de ovinos e impacto sobre o seu controle.

Específicos

- *Isolamento de cepa sensível e resistente aos benzimidazóis.*

- *Determinar o perfil de fazendas com a presença de resistência aos benzimidazóis.*

- *Caracterização ecológica da cepa do parasito *H. contortus* resistente e sensível à anti-helmínticos benzimidazóis:*
 - Determinação do poder infectante e patogenia;
 - Determinação da fertilidade das fêmeas;
 - Determinação do desenvolvimento dos ovos até larvas de terceiro estágio sob diversas condições de meio;
 - Classificação da população quanto à morfologia do processo vulvar das fêmeas;
 - Avaliação global da aptidão das larvas de terceiro estágio em desenvolver uma nova infecção.

METODOLOGIA

1º Experimento: Caracterização das unidades produtoras de ovinos e estudo das características de manejo na presença da resistência aos benzimidazóis

O objetivo deste experimento foi determinar um perfil característico das unidades produtoras de ovinos relacionadas à presença de resistência anti-helmíntica aos benzimidazóis na região estudada. Inicialmente foi realizado um levantamento em 25 fazendas de ovinos e caprinos localizadas na região do baixo e médio Jaguaribe, a fim de realizar a caracterização das propriedades pertencentes a esta área no diz respeito ao manejo sanitário, formas de controle, utilização de anti-helmínticos, infra-estrutura e assistência médica veterinária. Estes dados foram coletados por meio da aplicação de um questionário com os responsáveis técnicos de cada propriedade (Anexo 1).

Nestas propriedades foram ainda realizados testes para o diagnóstico de resistência ou sensibilidade a anti-helmíntico oxfendazol (Systamex®), usado na dose de 5 mg/kg de peso vivo. O método utilizado foi o teste de redução da contagem de ovos nas fezes (Coles, et al., 1992). Em cada propriedade, foram selecionados aleatoriamente 24 fêmeas de ovinos que foram divididos em dois lotes de animais, um tratado e outro controle, não tratado. Amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal de cada animal no dia do tratamento e 10 a 14 dias após. Com estas amostras, foram realizados exames coprológicos individuais, pela técnica de McMaster modificada, descrita por Ueno e Gonçalves (1998). Os resultados dos exames coprológicos foram expressos em número de ovos por grama de fezes (OPG). Coproculturas foram realizadas em *pool*, misturando amostras fecais dos animais de cada grupo experimental, segundo a técnica de Roberts e O'Sullivan (1950). Um mínimo de 100 larvas de L3 foi identificado, de acordo com Georgi e Georgi (1990), nas culturas de cada grupo.

2º Experimento: Isolamento das cepas de *H. contortus*

Através dos resultados de caracterização das propriedades e da resistência ou sensibilidade ao oxfendazol, foram selecionadas seis propriedades. Estas propriedades eram representativas das demais e possuíam ou não nematóides resistentes. Assim sendo, as cepas estudadas neste trabalho foram isoladas a partir de propriedades localizadas nos municípios de Limoeiro do Norte, Jaguaribe e Aracati. Estas localidades pertencem a região do médio e baixo Jaguaribe, Estado do Ceará. O diagnóstico de resistência ou sensibilidade foi novamente determinado através do teste de redução da contagem de ovos nas fezes (Coles et al., 1992). As propriedades foram então divididas em dois grupos, cepas resistentes (5 propriedades) e cepa sensível ao oxfendazol (uma propriedade).

Com as fezes de 12 ovinos de cada fazenda, foram realizadas coproculturas em *pool* para obtenção de L3 (Roberts & O'Sullivan, 1950) que foram utilizadas para inoculação de animais experimentais e isolamento das cepas de *H. contortus*. Ovinos com 30 dias de idade foram tratados oralmente com anti-helmínticos à base de ivermectina (Ivomec®) e levamisol (Ripercol®), com intervalo de três dias entre as duas dosificações, a fim de se tornarem livres de parasitos. A partir do último tratamento, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas. Uma semana após, cada animal foi inoculado por via oral com 5.000 L3 provenientes das fazendas selecionadas, sendo um ovino com a cepa resistente e outro com a sensível. Em seguida, foram acompanhados com exames coprológicos individuais (Ueno & Gonçalves, 1998) até o 25º dia pós-tratamento. A cepa resistente foi composta por 1.000 L3 de cada propriedade e a cepa sensível com 5.000 L3 de uma propriedade.

Trinta dias após a inoculação, o animal que albergava a cepa resistente foi tratado com anti-helmíntico à base de oxfendazol (Systamex®), na dose de 5 mg/kg de peso vivo. O animal portador da cepa sensível não foi tratado.

Foram realizadas coproculturas com as fezes provenientes destes animais para obtenção de L3 das duas cepas. Estas L3 foram transportadas para o Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)/Tours/França para novo estabelecimento de infecção em dois ovinos livres de parasitos.

O procedimento de estabelecimento das novas infecções experimentais foi o mesmo descrito anteriormente. O animal portador da cepa resistente foi tratado com Panacur®, composto benzimidazol. Cinco dias após o tratamento, os ovinos foram sacrificados e os abomasos foram coletados através de necropsia. Foi realizada somente a recuperação das fêmeas adultas de *H. contortus* que foram finamente cortadas para a obtenção de ovos que se desenvolveram em fezes de animais livres de parasitos até o estágio de larva infectante. Após dez dias, as L3 recuperadas foram novamente inoculadas em dois ovinos livres de parasitos, um animal para cada cepa. Estes ovinos foram acompanhados individualmente com exames coprológicos para a certificação do estabelecimento da infecção monoespecífica de *H. contortus*. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas e serviram de doadores de L3 de *H. contortus* sensível e resistente aos benzimidazóis. Foram realizadas coletas de fezes diárias para a confecção de coproculturas. As L3 recuperadas pelo método de Baerman (Ueno & Gonçalves, 1998) foram inoculadas em 20 ovinos para realização da caracterização ecológica.

3º Experimento: Caracterização ecológica de cepas de *H. contortus* resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis

1. Animais e estabelecimento da infecção

A fim de estabelecer a infecção para a caracterização ecológica, 20 ovinos machos, da raça Préalpes, com três meses de idade foram pesados e tratados com anti-helmínticos à base de levamisol (Levamisole, 5 mg/ kg) e netobimim (Hapadex®, 7,5 mg/kg). A prevenção de eimeriose foi feita através da aplicação de diclazuril, Vecoxan®, 1 mg/kg. Em seguida, os animais foram divididos em dois grupos de 10, um grupo para cada cepa. Uma semana após, a infecção foi iniciada com a inoculação de 1.000 L3 por animal. Foi feita coleta de sangue para realização de microhematócrito. As inoculações foram continuadas semanalmente com 500 L3 a partir de 21 dias do início da infecção até o dia 70. No início do experimento, determinou-se um valor crítico de hematócrito, 29 %, cujo nível não deveria ser ultrapassado para não levar à morte por anemia. Cada animal recebeu aproximadamente 3.500 L3.

1.1. Parâmetros parasitológicos e hematológicos

A partir do 15^o dia pós-inoculação foram realizados exames coprológicos individuais pela técnica de Mc Master (Ueno & Gonçalves, 1998) para estabelecer o dia de início da ovipostura. Semanalmente, os animais foram acompanhados individualmente através de dois exames coprológicos para observação do desenvolvimento da infecção e microhematócrito. Através destes parâmetros, foi determinada a influência exercida por cada cepa sobre a patogenia determinada pelo parasito sobre os animais.

1.2. Diagnóstico da resistência ou sensibilidade

Após o estabelecimento da infecção por *H. contortus* nos ovinos, foi realizado o teste de eclosão de ovos (Coles et al., 1992) com um *pool* de fezes dos animais de cada grupo para determinação da DE50 (dose efetiva para inibir 50% da eclosão de ovos) de tiabendazol e diferenciação das duas cepas inoculadas. Segundo este teste, considera-se presença de resistência, quando a DE50 é superior a 0,1 µg/ml.

1.3. Influência da temperatura e umidade na taxa de desenvolvimento dos ovos até o estágio de L3

A metodologia utilizada seguiu a descrita por Rossanigo & Gruner (1995). Em quatro dias diferentes foram realizadas coproculturas individuais com 1 a 3,5 g de fezes de cada animal com três réplicas.

Estas fezes foram desumidificadas até 35% e 65% de umidade ponderal (UP). As fezes contendo 35% de UP foram incubadas a 32°C e as fezes contendo 65% de UP foram incubadas a 23°C. Estas temperaturas e umidades simulam as médias obtidas no nordeste brasileiro durante os períodos seco e chuvoso, respectivamente.

A taxa de desenvolvimento dos ovos até o estágio de L3 foi determinada através da relação entre o número total de ovos encontrados em cada réplica de cada animal e o número de L3 que foram capazes de se desenvolver sob as condições impostas.

1.4. Caracterização da carga parasitária das cepas resistente e sensível de *H. contortus*

No 130º dia pós-infecção os animais foram sacrificados. Após necropsia, os abomasos foram coletados. O volume deste órgão foi dividido em conteúdo, lavado e digestão da mucosa do abomaso. O volume do lavado e digestão da mucosa foi examinado por completo. No conteúdo, somente 10% do volume foi examinado, sendo feita uma correção para o volume inicial a fim de estimar o número total de parasitos recuperados. Em um dos animais do grupo da cepa sensível, a amostra examinada do conteúdo foi de 20%, pois em 10% não havia o mínimo de 100 parasitos, necessários para a confiabilidade da caracterização da carga parasitária.

Os espécimes de *H. contortus* foram classificados em macho ou fêmea, e em seguida, em juvenil ou adulto. Os outros achados foram classificados como outros estádios. As fêmeas foram separadas de acordo com o processo vulvar: liso, botão e linguiforme. De cada animal, 20 fêmeas do tipo linguiforme foram divididas nos subtipos A, B, C e I (Le Jambre & Whitlock, 1968).

1.5. Determinação da oviposição das fêmeas de *H. contortus*

Em três dias diferentes durante a semana anterior ao sacrifício dos ovinos, foram realizados exames coprológicos individuais para a estimativa do OPG. A partir destes dados, foi determinada uma média por grupo. Esta média foi relacionada com o número médio de fêmeas recuperadas em cada grupo experimental obtendo-se o número médio de ovos por grama de fezes produzidos pelas fêmeas dos genótipos sensível e resistente.

1.6. Avaliação global da adaptabilidade *H. contortus*

Dezoito ovinos de ambos os sexos de aproximadamente 3 meses foram subdivididos em 6 grupos. Primeiramente foram formados dois grupos com 9 animais que foram inoculados com as cepas resistente ou sensível. Estes grupos foram subdivididos em 3 grupos de 3 animais. No primeiro subgrupo, os animais foram inoculados com L3 provenientes dos ovos desenvolvidos sob a temperatura

de 32°C, na dose de 2.500 L3 por animal. Nos dois outros subgrupos, os animais foram inoculados com L3 provenientes dos ovos desenvolvidos sob a temperatura de 23°C, nas doses de 2.500 e 5.000 L3 por animal. Estes eventos foram realizados para as duas cepas. Os outros procedimentos descritos anteriormente para a primeira geração, foram repetidos para a segunda geração de uma forma semelhante, sendo estudados os parâmetros parasitológicos e hematológicos, caracterização da carga parasitária e determinação da oviposição das fêmeas. A segunda inoculação com L3 provenientes dos ovos desenvolvidos sob a temperatura de 32°C, não foi realizada por falta de larvas suficientes.

2. Análise estatística

Os dados de eficácia do oxfendazol nas fazendas foram analisados pelo programa estatístico RESO (1989) o qual segue as instruções da WAAVP (Coles et al., 1992). As condições para que uma fazenda seja classificada como resistente são: a percentagem de redução da contagem de ovos deve ser inferior a 95% e o limite inferior do intervalo de confiança a 95% menor do que 90%. Caso as duas condições não sejam atendidas, declara-se suspeita de resistência.

O cálculo da DE 50 foi realizado através do método de probits.

Os dados dos questionários e da caracterização ecológica foram submetidos a Modelo Linear Geral (GLM). Todos os dados foram analisados a um nível mínimo de significância de 5%.

RESULTADOS

1º Experimento: Caracterização das unidades produtoras de ovinos e estudo das características de manejo na presença da resistência aos benzimidazóis

O rebanho de ovinos e caprinos variou de 70 a 1.200 e 80 a 500 animais, com rebanhos médios de 176 e 220 cabeças, respectivamente. Em 92% dessas propriedades, utilizou-se o regime semi-intensivo de criação, com a finalidade de comercialização de carne. Somente em 28% das propriedades existiu o acompanhamento técnico de um médico veterinário, sendo em média 8 visitas por ano. As doenças mais frequentemente citadas foram a linfadenite, miíase e pododermatite. Em 52% das criações a rotação de pastagem é realizada.

Em todas as fazendas usou-se algum tipo de vermífugo, com predominância de produtos benzimidazóis (52%). Geralmente, utiliza-se de 2 a 3 princípios ativos durante o mesmo ano e a sua eficácia é subjetivamente considerada boa pelos proprietários. Em média fazem-se três vermifugações ao ano, sendo no mínimo um e no máximo cinco tratamentos realizados durante o ano. Em 12% das propriedades, estes tratamentos são realizados principalmente no período chuvoso. Em 48%, principalmente no período seco e em 40%, são igualmente distribuídos durante os dois períodos.

Dentre os fatores analisados, foi observado que a prática de tratar os animais na estação seca ($P = 0,03$) e a realização de rotação de pastagem ($P = 0,17$) tem relação com o desenvolvimento da resistência nos rebanhos estudados. Apesar da rotação de pastagem não ter significância estatística, juntamente com o tratamento na época seca, tem um valor preditivo para o desenvolvimento da resistência.

2º Experimento: Isolamento das cepas de *H. contortus*

Das 25 propriedades de ovinos e caprinos, foram selecionadas apenas 6, sendo todas destinadas à criação de ovinos, espécie alvo do estudo. Estas propriedades estão localizadas nos municípios de Limoeiro do Norte (2), Aracati (1)

e Jaguaribe (3), e são representativas das unidades produtoras de ovinos da região estudada. Nestes municípios, a pluviosidade varia entre 800 e 1.000 mm, com chuvas irregularmente distribuídas durante o ano.

Estas propriedades foram escolhidas de acordo com a presença ou não de nematóides resistentes a anti-helmínticos benzimidazóis. Assim sendo, no momento da realização do levantamento para a caracterização das unidades produtoras de ovinos e determinação da presença de resistência anti-helmíntica, das seis propriedades visitadas, quatro (67%) apresentavam nematóides resistentes ao oxfendazol, com o percentual de redução do número de ovos nas fezes variando de 0 a 100%. Quando da realização do isolamento da cepa, a frequência da resistência aumentou para 83%, correspondendo a 5 propriedades e o percentual de redução variou de 0 a 97%. Vale salientar que nas fazendas que anteriormente apresentavam nematóides sensíveis ocorreu um rápido desenvolvimento de resistência ao oxfendazol. Enquanto, em uma única fazenda onde a eficácia do fármaco era de 91%, houve um aumento do percentual de eficácia para 97% (Tabela 1), sendo considerada assim uma fazenda com nematóides sensíveis ao oxfendazol.

Tab. 1. Resultados do teste de redução na contagem de ovos nas fezes (RCOF) de ovinos tratados com oxfendazol nas fazendas selecionadas para o isolamento da cepa no momento do primeiro (1º) e do segundo (2º) levantamento em municípios do Estado do Ceará.

Localização da fazenda	RCOF (%)	
	1º	2º
Limoeiro do Norte	0	0
Limoeiro do Norte	66	0
Aracati	91	97
Jaguaribe	94	52
Jaguaribe	99	26
Jaguaribe	100	27

Através dos questionários aplicados foi observado que em todas as propriedades utilizava-se algum tipo de anti-helmíntico aproximadamente 3 vezes ao

ano, sendo no mínimo um e no máximo cinco tratamentos anuais. Os produtos mais utilizados são os benzimidazóis, seguidos das avermectinas (ivermectina) e dos imidotiazóis (levamisol). Em 50% das propriedades, a dosificação era repetida após 15 dias. Em três propriedades, utilizavam-se no mínimo dois princípios ativos diferentes em um mesmo ano. Nas outras fazendas, somente um princípio ativo, o benzimidazol ou levamisol, foi empregado em 33,3% e 16,6%, respectivamente, o qual foi administrado seguidamente durante os dois anos de acompanhamento. O cálculo da dose era feito através de estimativa visual individual do peso dos animais. Em todas as fazendas, os proprietários consideravam que, após o tratamento, os animais apresentavam melhora no estado físico geral.

Com relação a época, os tratamentos eram realizados, em ordem decrescente, nos meses de janeiro (66,6%), agosto (50%), março, julho, outubro e novembro (33,3%), e nos meses de abril, junho, setembro e dezembro (16,6%). A época seca nesta região vai de junho a dezembro.

O gênero *Haemonchus* foi o mais prevalente na população resistente em 100% das propriedades.

3º Experimento: Caracterização ecológica de cepas de *H. contortus* resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis

1. Diagnóstico da resistência ou sensibilidade

Após o isolamento da cepa de *H. contortus*, a DE50 confirmou a resistência da cepa sintética e detectou a presença de nematóides resistentes dentro da cepa considerada sensível pelo teste *in vivo*. Dois meses após, foi realizado um novo teste e observou-se que houve um decréscimo da DE50 na cepa resistente, e a DE50 da cepa sensível, praticamente não variou (Tabela 2).

Tab. 2. Resultado da DE50 da cepa de *H. contortus* resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis nos meses de agosto e outubro.

Cepa	DE50 ($\mu\text{g/ml}$)	
	Agosto	Outubro
Resistente	1,63	0,56
Sensível	0,20	0,16

2. Influência da temperatura e umidade na taxa de desenvolvimento dos ovos até o estágio de L3

O desenvolvimento dos ovos em larvas da cepa sensível, quando comparado com os da resistente, foi significativamente melhor ($P < 0,05$) na temperatura de 32°C . Enquanto na temperatura de 23°C , a cepa resistente apresentou um melhor desempenho ($P < 0,05$) (Tabela 3).

Tab. 3. Capacidade de desenvolvimento de ovo até larva de terceiro estágio nas temperaturas de 23°C e 32°C das cepas de *H. contortus* resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis.

Cepas	Temperaturas	
	23°C	32°C
Resistente	62,5% ^a	2,8% ^a
Sensível	43,4% ^b	5,3% ^b

*Letras diferentes nas linhas indica diferença estatística ($P < 0,05$)

3. Patogenia

1ª geração

Nos dois grupos de animais houve 4 mortes, sendo 1 animal do grupo sensível e 3 do resistente. Os sintomas apresentados foram semelhantes aos da enterotoxemia e da listeriose.

Através do hematócrito, pode-se observar que os parasitos da cepa resistente apresentaram um nível significativamente maior de hematofagismo quando comparadas com a cepa sensível ($P < 0,05$). Isto foi observado a partir de aproximadamente o dia 40 pós-infecção permanecendo até o final do experimento. No início do experimento os animais apresentavam o valor de 40% de microhematócrito e no final de aproximadamente 20% e 25% para as cepas resistente e sensível, respectivamente (Figura 1).

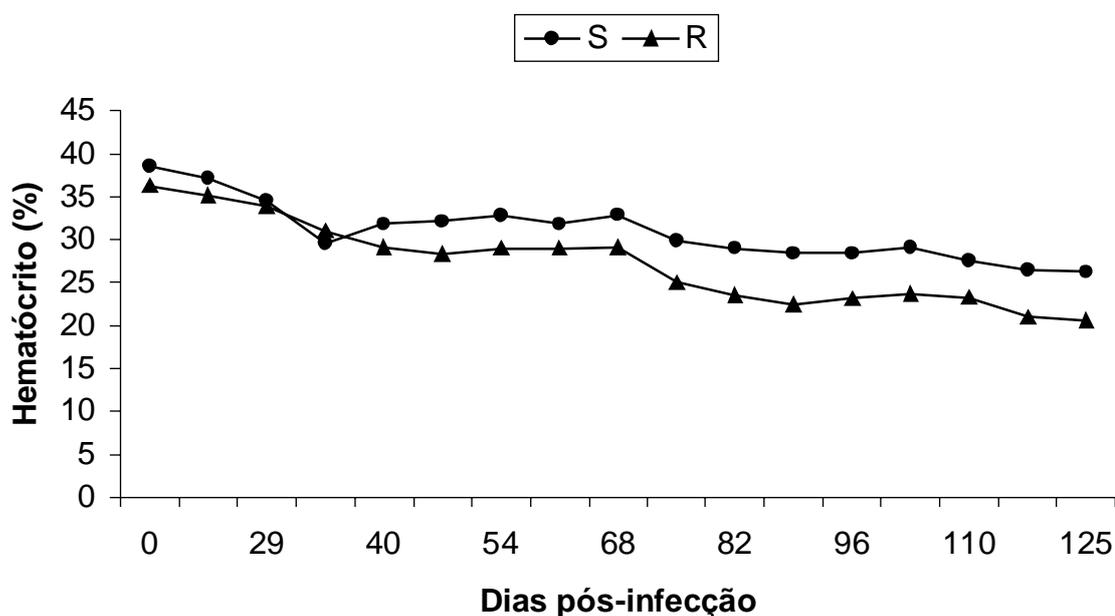


Fig. 1. Acompanhamento dos hematócritos em função do tempo nos animais infectados com as cepas de *H. contortus* resistente (R) e sensível (S) aos anti-helmínticos benzimidazóis.

Apesar do estabelecimento dos parasitos da cepa resistente ter sido superior ($P < 0,05$) (Tabela 4), a produção de ovos por fêmea foi semelhante nas duas cepas, sem diferença significativa. No entanto, entre os dias 33 e 85 pós-infecção as fêmeas da cepa resistente produziram mais ovos, mas a partir deste dia houve oscilações entre as duas cepas e no final do experimento a produção de ovos praticamente igualou-se, assim como ocorreu no início do experimento (Figura 2).

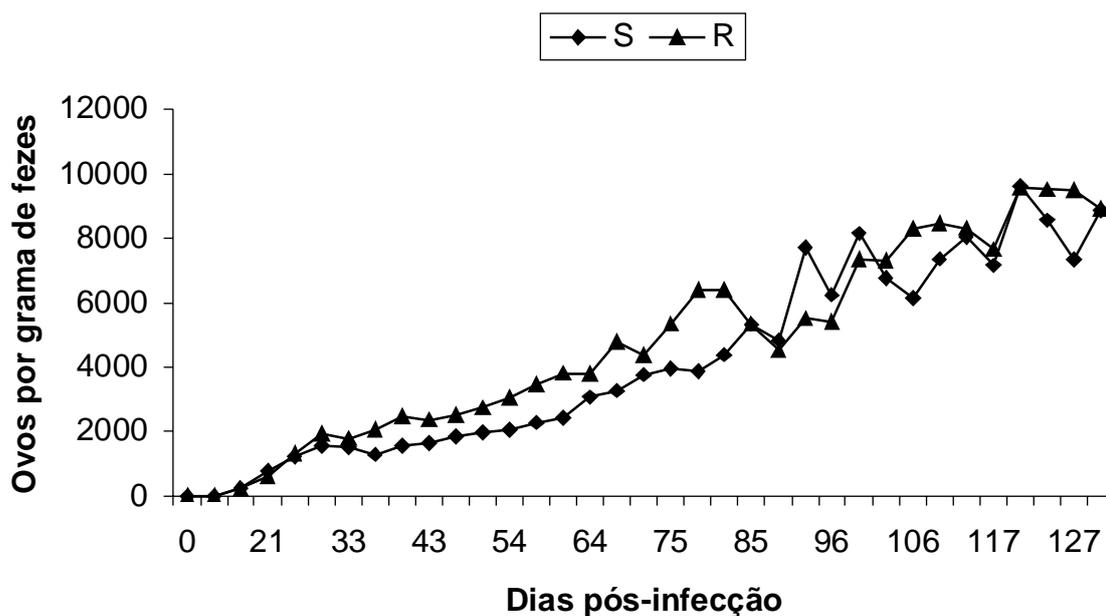


Fig. 2. Evolução temporal do número médio de ovos por grama fezes eliminados pelas fêmeas de *H. contortus* resistente (R) e sensível (S) aos anti-helmínticos benzimidazóis.

2ª geração

Nesta geração, o estabelecimento foi superior na cepa sensível ($P < 0,05$). Com relação ao inoculo, a taxa de estabelecimento foi semelhante nos duas quantidades utilizadas. No tocante a temperatura, as larvas desenvolvidas sob a temperatura de 23°C foram àquelas que obtiveram maiores taxas de estabelecimento, produção de ovos por fêmea e elevado hematofagismo ($P < 0,05$) tanto na cepa resistente quanto na cepa sensível (Figura.3 e 4).

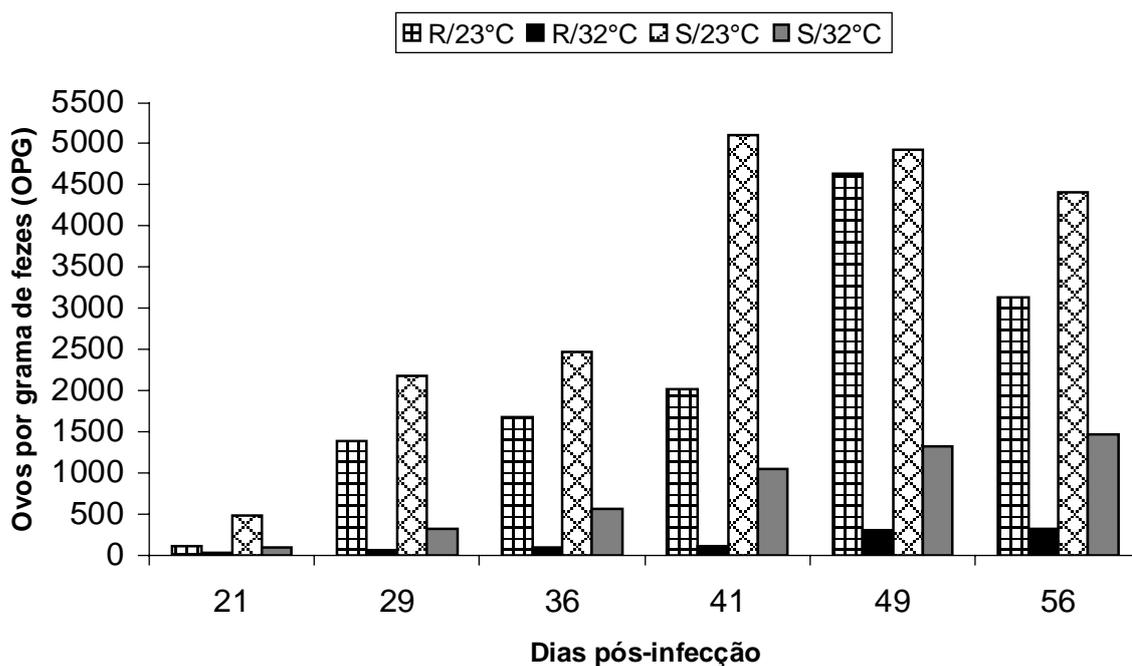


Fig. 3. Evolução temporal do número médio de ovos por grama fezes eliminados pelas fêmeas de *H. contortus* resistente (R) e sensível (S) aos anti-helmínticos benzimidazóis provenientes de ovos desenvolvidos sob as temperaturas de 23°C e 32°C.

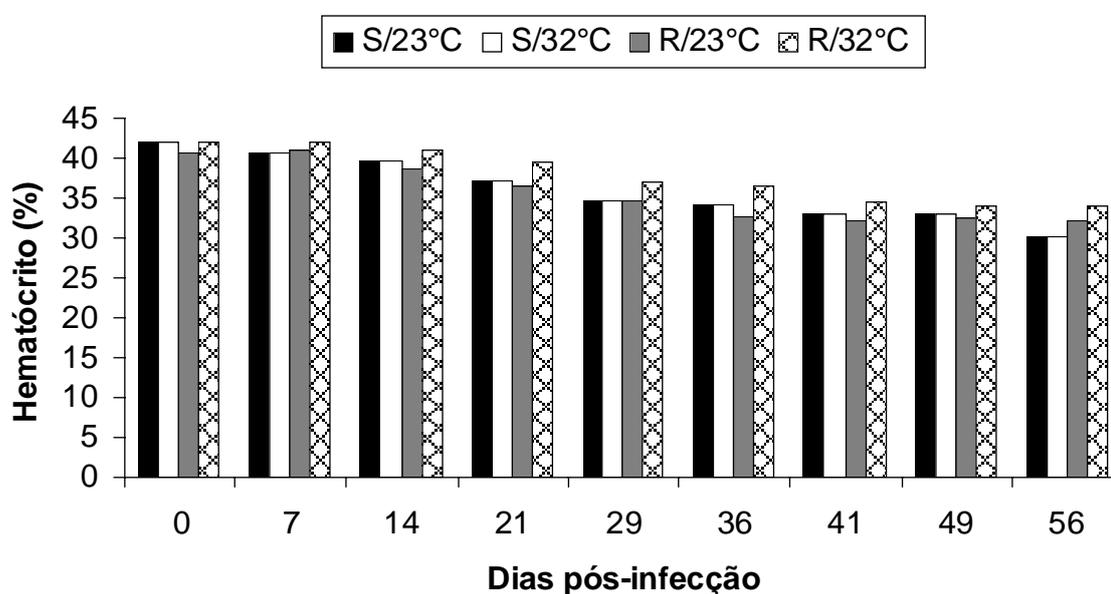


Fig. 4. Acompanhamento do microhematócrito em função do tempo nos animais infectados com as cepas de *H. contortus* resistente (R) e sensível (S) aos anti-helmínticos benzimidazóis provenientes de ovos desenvolvidos sob as temperaturas de 23°C e 32°C.

4. Caracterização da carga parasitária das cepas resistente e sensível de *H. contortus*

No final da primeira geração, os parasitos recuperados foram quantificados e caracterizados para a determinação do perfil da carga parasitária das duas cepas. Os animais que albergavam a cepa resistente apresentaram cerca de 300 parasitos a mais quando comparados com a cepa sensível, devido a sua melhor taxa de instalação que foi de 54% na cepa resistente contra 44% na cepa sensível ($P < 0,05$). Nas duas cepas, as fêmeas compunham aproximadamente mais de 51% da carga parasitária, não havendo diferença significativa na relação macho/fêmea, sendo 1:1,10 e 1:1,15, nas cepas resistente e sensível, respectivamente. Na cepa sensível, observaram-se mais fêmeas com o processo vulvar do tipo liso, enquanto na resistente, houve uma superioridade de aproximadamente 5% das fêmeas com o processo vulvar do tipo linguiforme. Dentre as linguiformes, nas duas cepas, as do subtipo A estavam em maior proporção. As fêmeas com o processo vulvar do tipo botão foram minoria nas duas cepas (Tabela 4).

No final da segunda geração da infecção com larvas desenvolvidas sob as temperaturas de 23°C e 32°C, os parasitos recuperados também foram quantificados e caracterizados para a determinação do perfil da carga parasitária das duas cepas. Há evidências que a temperatura foi o que realmente influenciou os outros parâmetros estudados, já que a taxa de estabelecimento com 2.500 ou 5.000 L3 foi semelhante. Sendo a relação macho/fêmea superior na infecção desenvolvida com larvas desenvolvidas sob a temperatura de 32°C, tanto na cepa resistente (1:1,80) quanto na cepa sensível (1:1,22) ($P < 0,05$). Na temperatura de 23°C, os resultados foram semelhantes a primeira geração, ou seja, 1:1,09 e 1:1,12 para a cepa resistente e sensível, respectivamente.

Tab. 4. Caracterização da carga parasitária dos ovinos inoculados com as cepas de *H. contortus* resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis.

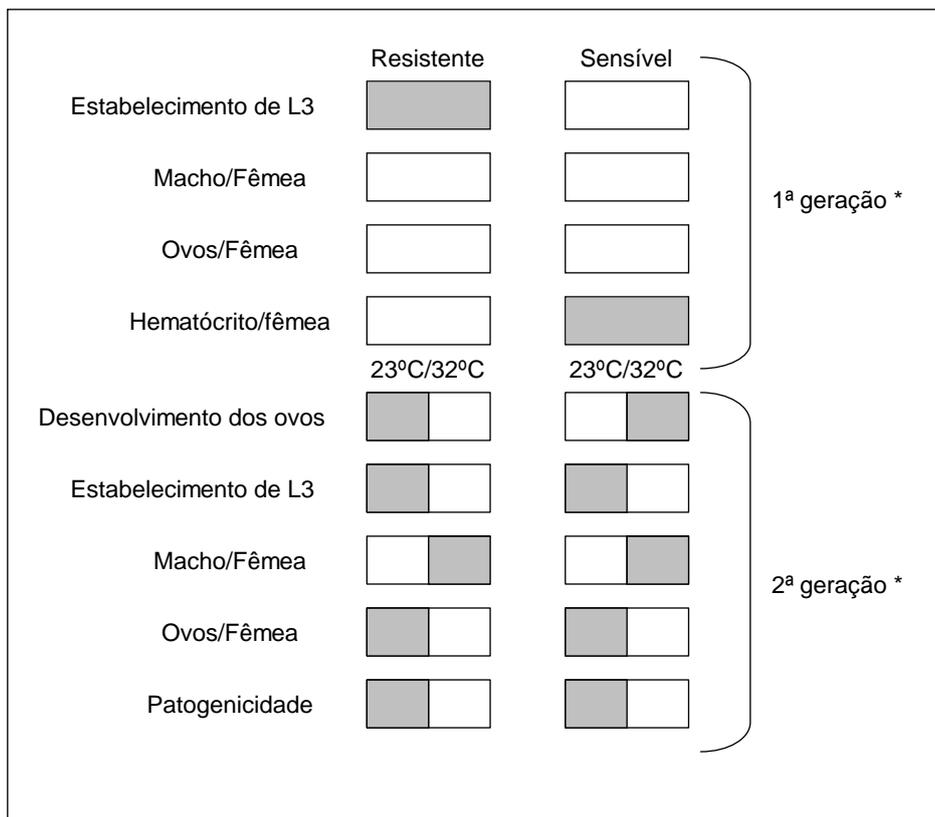
	Resistente	Sensível
Total médio de parasitos	1.890 ^a	1.550 ^b
Total médio de machos	875 ^a	693 ^b
Total médio de fêmeas	964 ^a	803 ^b
% média de fêmeas de processo vulvar tipo liso	41 ^a	54 ^b
% média de fêmeas de processo vulvar tipo botão	12,85 ^a	10,77 ^a
% média de fêmeas de processo vulvar tipo linguiforme	45,85 ^a	34,88 ^b
% média Linguiforme A	75,70 ^a	64,00 ^b
% média Linguiforme B	15,00 ^a	32,00 ^b
% média Linguiforme C	6,42 ^a	1,10 ^b
% média Linguiforme I	1,42 ^a	3,00 ^a
Total médio juvenil	30 ^a	31 ^a
Total médio de larvas	20 ^a	23 ^a
Taxa de estabelecimento (%)	54 ^a	44 ^b

*Letras diferentes nas colunas indica diferença estatística (P<0,05)

Tab. 5. Caracterização da carga parasitária dos ovinos inoculados com as cepas de *H. contortus* resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis provenientes de ovos desenvolvidos sob as temperaturas de 23°C e 32°C.

	Dose	Resistente		Sensível	
		32°C	23°C	32°C	23°C
Taxa de estabelecimento (%)	2.500 L3	4,00	24,00	21,96	31,60
	5.000 L3	-	23,00	-	28,00
Total médio de parasitos		118	891	360	1.126
Total médio de machos		42	402	153	496
Total médio de fêmeas		76	439	188	557
Total médio juvenil		0	24	17	23
Total médio de larvas		0	25	2	48

A seguir apresenta-se uma figura ilustrativa a fim de resumir de uma forma comparativa os eventos ocorridos durante a primeira e segunda geração da infecção experimental desenvolvida com as cepas do parasito resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis.



* Os quadrados cheios representam a vantagem significativa influenciada pelo genótipo da cepa ou pela temperatura de 23°C ou 32°C.

Fig. 5. Comparação das características de vida das cepas de *H. contortus* resistente e sensível aos anti-helmínticos benzimidazóis durante duas gerações.

DISCUSSÃO

Prevalência da resistência aos anti-helmínticos benzimidazóis

Relatos de nematóides resistentes aos benzimidazóis ocorrem no mundo inteiro (Drudge et al., 1964; Dos Santos & Gonçalves, 1967; Echevarria & Pinheiro, 1989; Waller et al., 1995; Waller et al., 1996; Boersema & Pandey, 1997; Chartier et al., 1998; Terrill, et al., 2001). A frequência da resistência reportada neste trabalho é semelhante as relatadas em outras regiões do país, como no sul do Brasil, região de clima subtropical (Echevarria et al., 1996; Farias et al., 1997; Thomaz-Soccol et al., 2004).

A alta prevalência do gênero *Haemonchus* nas populações resistente e sensível a anti-helmínticos benzimidazóis já era esperada, pois este resultado foi relatado anteriormente em outros levantamentos feitos no estado do Ceará (Melo et al., 1998; Bevilaqua & Melo, 1999). Este parasito é muito prevalente também na região sul do Brasil (Echevarria et al., 1996; Farias et al., 1997; Cunha-Filho, 1999) e na América Latina (Waller et al., 1996).

Perfil das unidades produtoras de ovinos com a presença de nematóides resistentes aos benzimidazóis

Apesar da alta prevalência de resistência aos benzimidazóis, estes fármacos continuam sendo anti-helmínticos largamente utilizados nesta área bem como em outras regiões do nordeste brasileiro (Vieira & Cavalcante, 1999), na Dinamarca (Maingi, et al., 1996) e na França (Chartier et al., 1998). No México e Quênia, são mais utilizados as lactonas macrocíclicas e o levamisol, respectivamente. A frequência de aplicação, ou seja, 3 dosificações ao ano é inferior a recomendação da EMBRAPA/CNPC (EMBRAPA, 1994), mas assemelha-se ao Quênia e México, sendo superior a Dinamarca. Nestes países a rotação de princípio ativo praticamente não existe, sendo trocado a cada dois ou três anos (Torres-Acosta, et al., 2003; Maingi, et al., 1996; Maingi, et al., 1997) diferente da região estudada onde é

realizada a rotação rápida de princípio ativo, utiliza-se 2 a 3 princípios ativos no mesmo ano.

No que se refere ao número de animais e a finalidade de criação, os rebanhos de ovinos e caprinos da região estudada assemelham-se aos descritos por Pinheiro et al. (2000) que realizaram um amplo levantamento através de questionários a respeito de aspectos do manejo sanitário em 127 propriedades do estado do Ceará. No entanto o regime de criação difere, pois no presente trabalho predomina a forma semi-intensiva de produção bem como o percentual de fazendas com assistência técnica é bem inferior. Estes autores relataram que a verminose é a doença mais freqüente, correspondendo a mais de 80% das doenças que acometem os rebanhos do estado do Ceará. Oliveira et al. (1995), citam a pododermatite e as ectoparasitoses assim como foi visto no presente trabalho. Assim sendo, a amostra representa bem as propriedades de pequenos ruminantes da região do estudo.

Os dois fatores evidenciados nas fazendas com nematóides resistentes foram tratamento na época seca e rotação de pastagem. O último fator pode promover uma redução da população em *refugia* durante todo o ano. Em região semi-árida, a época seca é caracterizada por uma população em refugia pequena ou nula. Assim sendo, dosificações durante este período podem acelerar o desenvolvimento da resistência e tratamentos durante a época chuvosa podem ter efeito similar, quando acompanhados por rápida rotação de pastagem. O método estratégico indicado para região nordeste do Brasil, determina quatro tratamentos anuais, sendo três durante a época seca (EMBRAPA, 1994), este fato provavelmente é a principal causa da alta freqüência de resistência aos benzimidazóis nesta região.

Isolamento da cepa

Em todas as fazendas a partir das quais as cepas foram isoladas, o parasito *H. contortus* foi o mais prevalente. Este fato facilitou os isolamentos, já que nas culturas realizadas para obtenção das L3 utilizadas para a formação das populações, foi o parasito que ocorreu em maior proporção, propiciando uma alta infecção dos animais, ocasionando a produção de um grande número de ovos através das fêmeas recuperadas.

Na propriedade de origem da cepa sensível, houve a suspensão do uso de anti-helmínticos benzimidazóis durante dois anos. Este fármaco foi reutilizado somente na ocasião da realização do teste de redução na contagem de ovos nas fezes para detecção de resistência. Nesta ocasião o fármaco aumentou a eficácia de 91% para 97% de acordo com o teste *in vivo* de redução na contagem de ovos nas fezes. Acreditava-se que tenha ocorrido a reversão para susceptibilidade. No entanto, o teste *in vitro* de eclosão de ovos, indicou que apesar de ser mais susceptível do que a cepa resistente, havia uma pequena proporção de indivíduos resistentes na cepa sensível. Apesar dos dois testes citados serem considerados métodos clássicos para o diagnóstico da presença de nematóides resistentes e somente detectarem a resistência quando ela já está presente em alta frequência (25%) (Roos et al., 1990), o teste *in vitro* de eclosão de ovos caracteriza-se por estimar melhor o nível de resistência e possibilita a mensuração dos efeitos dos anti-helmínticos nos processos fisiológicos dos nematóides (Várady & Corba, 1999). Sendo, portanto, indicado pela WAAVP para detectar resistência aos benzimidazóis (Coles, et al., 1992). Sugerindo-se que, pela sua maior sensibilidade quando comparado com o teste *in vivo* de redução na contagem de ovos nas fezes, tenha sido possível a indicação da existência de indivíduos resistentes na população sensível.

Após dois meses de infecção, ocorreu um aumento da percentagem de indivíduos sensíveis na cepa resistente, fato este evidenciado pela diminuição da DE50. Este resultado assemelha-se àquele relatado por Maingi et al. (1990) que observou uma redução no estabelecimento da cepa resistente quando comparada aos 28 dias e 3 meses pós-infecção, levando a crer que existe uma falha na capacidade de sobrevivência dos adultos da cepa resistente em comparação com a cepa sensível.

Influência da temperatura e umidade sobre o desenvolvimento dos estágios de vida livre

Temperatura e umidade são importantes fatores que influenciam o desenvolvimento dos estágios de vida livre dos nematóides gastrintestinais (Soulsby,

1987). Temperaturas baixas e altas podem retardar ou acelerar, respectivamente, a eclosão dos ovos destes parasitos (Le Jambre & Whitlock, 1976). Em estudos experimentais foi observado que para a maioria dos nematóides gastrintestinais uma temperatura de 23°C e umidade ponderal (UP) entre 57 e 68% são condições ótimas para o desenvolvimento dos ovos até L3, assim como para *H. contortus*, onde as condições ótimas são 23°C e 70% de UP (Rossanigo & Gruner, 1995). Estes dados são semelhantes aos observados no experimento em questão. O melhor desenvolvimento para as duas cepas, foi obtido quando os ovos foram submetidos a 23°C e 65% de UP. Em condições naturais, o desenvolvimento e a sobrevivência dos estágios de vida livre em temperaturas mais altas são dificultados. No nordeste brasileiro, as larvas de terceiro estágio não conseguem infectar os animais em tempo hábil ao seu desenvolvimento durante a época seca (Arosemena et al., 1999), pois morrem devido as condições ambientais desfavoráveis. Estas condições foram mimetizadas experimentalmente e observou-se que o desenvolvimento das duas cepas foi reduzido para no máximo 5,3% para a cepa sensível.

Varição morfológica dos processos vulvares das fêmeas de *H. contortus*

Em levantamento anterior no Estado do Ceará, observou-se uma variação sazonal na prevalência dos processos vulvares das fêmeas de *H. contortus*, predominando o tipo liso na estação seca e o botão na chuvosa (Arosemena, 1998). As cepas deste estudo foram isoladas durante a época chuvosa, no entanto de região diferente do levantamento citado. Estas diferenças encontradas em cepas de *H. contortus* isoladas de diferentes locais são relatadas por outros autores (Saulai et al., 2000). Pode-se observar que esta característica é muito variável, não podendo ser considerada como um marcador genético das características estudadas.

Diferenças de patogenicidade

De acordo com Maingi et al. (1990), uma cepa sensível ao tiabendazol quando comparada a uma cepa moderadamente resistente (DE50 0,21 µg/mL) é significativamente mais patogênica. Contrapondo-se aos resultados obtidos por Kelly et al. (1978), que observaram o aumento da patogenicidade acompanhando o aumento do nível de resistência. No presente experimento, através dos dados de

hematócrito e estabelecimento dos parasitos nas duas cepas, verificou-se que na primeira geração a cepa resistente é mais patogênica do que a sensível. Estes resultados são semelhantes aos dois estudos citados, pois a DE50 da cepa considerada moderadamente resistente é semelhante a obtida no presente trabalho. Estas diferenças não foram evidenciadas para o nematóide *T. circumcincta* que não apresentou diferença entre os genótipos resistente e sensível nestas características citadas nem na produção de ovos, taxa de desenvolvimento de ovos até L3 e sobrevivência dos adultos (Elard et al., 1998).

Os dados de estabelecimento das cepas estão dentro dos limites citados para a espécie *H. contortus* (Barger & Le Jambre., 1988; Fleming, 1988; Coadwell & Ward, 1981). Esta característica reflete o tamanho da carga parasitária, que é regulada pela quantidade de L3 ingerida, seu estabelecimento e a eliminação dos parasitos adultos. A eliminação dos parasitos está positivamente relacionada também com a taxa de ingestão de larvas e tempo de infecção com o conseqüente desenvolvimento da imunidade (Barger et al., 1985). O menor estabelecimento pode ser atribuído a falhas no desencapsulamento e conseqüente liberação da bainha; e eliminação pela imunidade do hospedeiro. Estas falhas incapacitam o parasito de estabelecer-se na mucosa, pois as L3 falharam ao realizar este processo ou foram simplesmente eliminadas. Os adultos podem ainda morrer por senescência, levando a crer que o estabelecimento do parasito foi menor (Smith, 1988). Maingi et al. (1990) compararam cepas de *H. contortus* resistente e sensível ao tiabendazol e observaram que não houve diferenças significativas na capacidade de desembainhamento das L3, indicando que o sucesso no estabelecimento deveu-se a outros fatores que ocorrem além deste evento, como a influência da imunidade inata de animais de raças exóticas e animais imunologicamente competentes (Aumont et al., 2003) ou ainda a diferença de origem da cepa do parasito que pode influenciar no sucesso do estabelecimento do parasito (Saulai et al., 2001). Como no presente experimento, os animais eram da mesma raça, idade e sexo, e as cepas foram originárias na mesma região, acredita-se que as diferenças evidenciadas sejam conseqüência realmente da influência do genótipo do parasito.

A produção de ovos nas duas cepas durante a primeira geração foi semelhante, apesar da carga parasitária nos animais inoculados com a cepa

resistente ser superior. Este resultado foi observado por Maingi et al. (1990). Provavelmente deve-se a mecanismos inerentes a espécie do parasito, onde em infecções naturais, apesar da carga parasitária ser maior, a produção de ovos, bem como o peso dos parasitos diminui (Allonby & Urquhart, 1975), pois em infecções maciças o comprimento dos parasitos, o estabelecimento e a fecundidade das fêmeas diminuem de uma forma compensatória levando a uma menor produção de ovos (Fleming, 1988).

Na segunda geração, o estabelecimento da infecção assim como a produção de ovos foi superior na cepa sensível. Nas infecções provenientes das larvas que se desenvolveram sob a temperatura de 23°C, a produção de ovos/fêmea e o hematofagismo foram superiores nas duas cepas. No entanto, a relação macho/fêmea foi superior nas infecções provenientes das larvas que se desenvolveram sob a temperatura de 32°C. Como não houve diferença na taxa de estabelecimento das infecções com diferentes inóculos, acredita-se que estas diferenças devam-se somente a diferença de temperatura de desenvolvimento das larvas. Espera-se que nas condições ótimas de desenvolvimento e sobrevivência sejam obtidos indivíduos em ótimas condições para o início e estabelecimento de uma infecção parasitária, o que foi observado nas larvas desenvolvidas na temperatura de 23°C. Em condições desfavoráveis ao desenvolvimento, como na temperatura de 32°C, ocorre a produção de indivíduos menos capazes, e mais susceptíveis a ocorrência dos fatores anteriormente discutidos que induzem ao menor sucesso do estabelecimento da infecção parasitária (Smith, 1988). Nestas infecções, a maior quantidade de fêmeas pode ser um mecanismo compensatório para o pequeno estabelecimento das larvas, e assim tentar produzir mais ovos, pois nas infecções da primeira geração, o número de machos é semelhante ao número de fêmeas (Fleming, 1988; Allonby & Urquhart, 1975). Estes declínios das características dos trichostrongilídeos são observados em diferentes gerações, e acredita-se que estas modificações têm o objetivo de atingir um novo equilíbrio entre os diferentes genótipos (Chehresa et al., 1997).

A maior patogenicidade da cepa resistente parece ser uma vantagem sobre a sensível. A forma de comportamento da cepa sensível leva a um relacionamento harmônico entre parasito e hospedeiro, onde ocorrem perdas para o hospedeiro,

mas de uma forma que não leva a morte o que é interessante para o parasito, pois garante a sua sobrevivência e manutenção na população. Além disso, em uma infecção proveniente de larvas em condições ótimas de desenvolvimento, a cepa sensível se estabelece melhor produzindo os mesmo níveis de hematofagismo de uma infecção normal. Assim acredita-se que a cepa sensível esteja mais bem adaptada ao parasitismo do que a cepa resistente.

Impacto das diferenças das características de vida sobre o método de controle estratégico do parasitismo

De acordo com o tratamento estratégico preconizado para o nordeste brasileiro, devem ser realizados quatro tratamentos anuais, sendo três durante a época seca, e um no período chuvoso (EMBRAPA, 1994), Figura 6. Na seca não existe disponibilidade de larvas na pastagem (Arosemena et al., 1999), ou seja, a população em refúgio é pequena ou nula propiciando o rápido desenvolvimento da resistência anti-helmíntica. No período chuvoso, existe uma grande disponibilidade de larvas na pastagem, sendo o tratamento utilizado somente para controlar a infecção no animais, e tendo uma pequena pressão de seleção para resistência devido a grande população em refúgio. Assim sendo, o tratamento estratégico propicia o desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, como foi relatado por Reis (2004) em rebanho de ovinos e caprinos no estado do Ceará. Aliado a este fato, foi observado no presente trabalho, o melhor desenvolvimento de larvas sensíveis durante a época seca versus o melhor desempenho de cepas resistentes durante a época chuvosa. Assim sendo, sugere-se uma modificação nas épocas de eleição para o tratamento anti-helmíntico na região nordestina do Brasil. A proposição está composta pela adição de uma dosificação no mês de maio, com anti-helmíntico comprovadamente eficaz que não seja da família dos benzimidazóis, pois as cepas resistentes conseguem desenvolver-se melhor neste período. Este tratamento irá controlar de uma forma mais eficaz a infecção parasitária, evitando a mortalidade observada durante o período chuvoso (Girão et al, 1992). A outra modificação será a exclusão do tratamento indicado dois meses após o início do período seco. Este procedimento irá diminuir a pressão de seleção (Figura 7). Sugere-se que na época seca sejam utilizados anti-helmínticos benzimidazóis, pois os parasitos resistentes a

este fármaco têm maior dificuldade de desenvolvimento neste período quando comparados aos sensíveis.

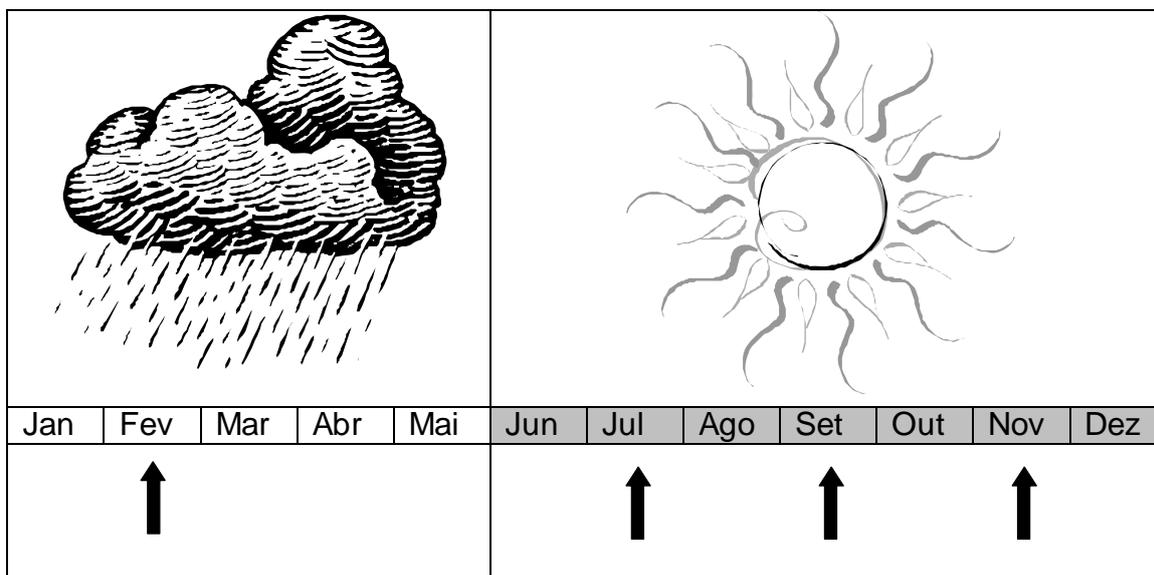


Fig. 6. Tratamento anti-helmíntico estratégico para pequenos ruminantes preconizado pela EMBRAPA-CNPC para o nordeste brasileiro distribuídos na época chuvosa (Janeiro a Maio) e seca (Junho a Dezembro). As setas em preto indicam a época de dosificação recomendada. Adaptado de EMBRAPA (1994).

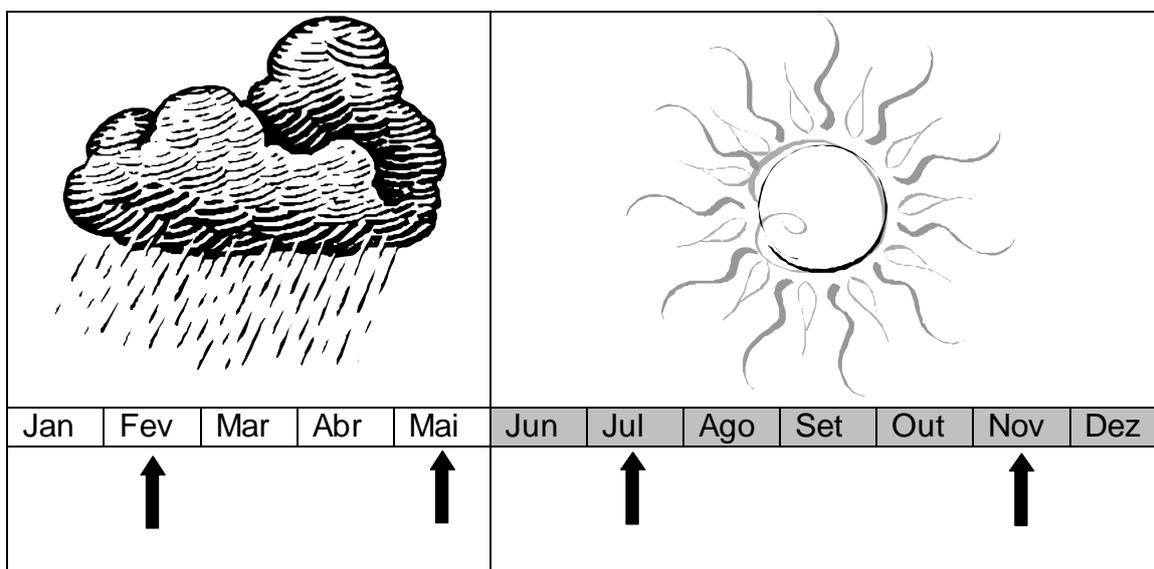


Fig. 7. Modificações sugeridas para o tratamento anti-helmíntico estratégico preconizado pela EMBRAPA-CNPC para o nordeste brasileiro distribuídos na época chuvosa (Janeiro a Maio) e seca (Junho a Dezembro). As setas em preto indicam a época de dosificação recomendada.

CONCLUSÕES

As fazendas onde foram isoladas as cepas de *H. contortus* resistente aos anti-helmínticos benzimidazóis apresentavam as seguintes características:

- rotação de pastagem;
- maior frequência de tratamentos durante a época seca.

Existem influências do genótipo resistente ou sensível aos benzimidazóis e da temperatura sobre as características de vida do parasito *H. contortus* isolado no estado do Ceará:

- na primeira geração a cepa resistente apresenta maior patogenicidade evidenciada pelo melhor estabelecimento e maior hematofagismo;
- na segunda geração, os parasitos sensíveis estabelecem-se melhor;
- a temperatura de 23°C e UP de 65% propiciam um maior desenvolvimento dos ovos no ambiente, além do melhor estabelecimento, produção de ovos e hematofagismo para as duas cepas;
- em infecções com larvas desenvolvidas em condições desfavoráveis, o parasito apresenta mecanismos compensatórios com a finalidade de maior produção de ovos e maior disponibilidade dos estágios de vida livre.

PERSPECTIVAS

Neste trabalho é apresentada uma alternativa para o controle de nematóides gastrintestinais, aproveitando o uso do tratamento estratégico preconizado para o Nordeste brasileiro e maximizando o uso dos benzimidazóis a fim de aumentar a sua vida útil para o controle do parasitismo. Assim sendo, sugere-se testar a sua utilização a campo, observando sua capacidade de controlar os nematóides gastrintestinais de ovinos aliado ao retardamento do desenvolvimento da resistência anti-helmíntica. Bem como observar estes parâmetros aliados aos outros métodos alternativos de controle como FAMACHA® e rodízio de pastagem, dentre outros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, E. M.; PARKINS, J. J.; HOLMES, P. H. The effect of dietary protein on the pathogenesis of acute ovine haemonchosis. **Veterinary Parasitology**, v. 20, p. 275-289. 1986.

ACHI, Y. L.; ZINSSTAG, J.; YAO, K.; YEO, N.; DORCHIES, P.; JACQUIET, P. Host specificity of *Haemonchus* spp. for domestic ruminants in the savanna in northern Ivory Coast. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 151–158. 2003.

ALLONBY, E. W.; URQUHART, G. M. The epidemiology and pathogenic significance of haemonchosis in a merino flock in east Africa. **Veterinary Parasitology**, v. 1, 129-143. 1975.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 91–106. 2004.

AROSEMENA, N. A. E.; BEVILAQUA, C. M. L.; MELO, A. C. F. L.; GIRÃO, M. D. Seasonal variations of gastrointestinal nematodes in sheep and goats from semi-arid areas in Brazil. **Revue Médecine Vétérinaire**, v. 150, p. 873-876. 1999.

AROSEMENA, N. A. E. **Parasitismo por nematódeos gastrintestinais de ovinos e caprinos na região semi-árida dos Inhamuns**. Fortaleza, 1998. 56 p, 1998. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual do Ceará.

AUMONT, G.; GRUNER, L.; HOSTACHE, G. Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolates of *Haemonchus contortus* of Black Belly sheep in Guadeloupe (FWI) and of INRA 401 sheep in France. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 139–150. 2003.

BARGER, I. A.; LE JAMBRE, L. F. Regulation of *Haemonchus contortus* populations in sheep: mortality of established worms. **International Journal for Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 269-273. 1988.

BARGER, I. A.; LE JAMBRE, L. F.; GEORGI, J. R.; DAVIES, J. Regulation of *Haemonchus contortus* populations in sheep exposed to continuous infection. **International Journal for Parasitology**, v. 15, n. 5, p. 529-533. 1985.

BARNES, E. H.; DOBSON, R. J. Population dynamics of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep: Computer model simulate grazing systems and the evaluation of anthelmintic resistance. **International Journal for Parasitology**, v. 20, p. 823-831. 1990.

BARRETO, M. A.; ALMEIDA, M. A. O.; SILVA, A.; REBOUÇAS, I.; MENDONÇA, L. R. Eficácia anti-helmíntica do cloridrato de levamisol, albendazole e ivermectin em caprinos, na região semi-árida da Bahia. . In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. **Anais** Rio de Janeiro: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

BARRETO, M. A.; SILVA, J. S. Avaliação da resistência de nematódeos gastrintestinais em rebanhos caprinos do Estado da Bahia – (Resultados Preliminares). In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. **Anais** Salvador: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p.160.

BERNE, M. E. A.; VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Efeito da vermifugação estratégica em caprinos do estado do Ceará. EMBRAPA-CNPC. Boletim de Pesquisa n. 9. 1989.

BEVILAQUA, C. M. L.; MELO, A. C. F. L.. Eficácia de anti-helmínticos a base de oxfendazol e ivermectin em ovinos no Estado do Ceará. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. **Anais** Salvador: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p.156.

BISPO, M. J.; FAUSTINO, M. A. G.; LIMA, M. M.; OLIVEIRA, G. A.; RAMOS, C. A. N.; BISPO, C. A. S. Avaliação do tratamento anti-helmíntico com oxfendazole e ivermectina em rebanho caprino do instituto Xingó – Município de Piranhas – Alagoas. . In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. **Anais** Rio de Janeiro: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

BLACKHALL W. J., POULIOT, J. F. PRICHARD, R. K., BEECH, R. N. *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. **Experimental Parasitology**, v.90, n. 1, p.42-48, 1998.

BOERSEMA, J.H., PANDEY, V.S. Anthelmintic resistance of trichostrongylids in sheep in the highveld of Zimbabwe. **Veterinary Parasitology**, v. 68, p. 383-388. 1997

BOGAN, J.; ARMOUR, J. Anthelmintic for ruminants. **International Journal for Parasitology**. v. 17, p. 483-491. 1987.

BRAGA, R. M.; GIRARDI, J. L. População de larvas de helmintos infestantes de ovinos em pastagem nativa de Roraima. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, n. 4, p. 569-574. 1991.

BRUCE, J. I. New anthelmintics. **International Journal for Parasitology**, v. 17, p. 483-491. 1987.

CARDOSO, J. M. S.; SANT'ANNA, F. B.; MARTINS, I. V. F.;CORREA, T. R.; GRISI, L. Identificação de *Cooperia punctata* (Linstow, 1907) resistente a ivermectin e doramectin em bovinos no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. **Anais** Rio de Janeiro: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

CHARLES, T. P. Disponibilidade de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais parasites de ovinos deslanados no semi-árido pernambucano. **Ciência Rural**, v. 25, n. 3, p. 437-442. 1995.

CHARLES, T. P. Seasonal prevalence of gastrointestinal nematodes of goats in Pernambuco state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 30, p. 335-343. 1989.

CHARLES, T. P.; POMPEU, J.; MIRANDA, D. B. Efficacy of three broad-spectrum anthelmintics against gastrointestinal nematode infections of goats. **Veterinary Parasitology**, v. 34, p.71-75. 1989.

CHARTIER, C.; PORS, I.; HUBERT, J.; ROCHETEAU, D.; BENOIT, C.; BERNARD, N. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. **Small Ruminant Research**, v. 29, p. 33-41. 1998.

CHEHRESA, A.; BEECH, R. N.; SCOTT, M. E. Life-history Variation among Lines Isolated from a Laboratory Population of *Heligmosoides polygyrus bakeri*. **International Journal for Parasitology**, v. 27, n. 5, 541 551. 1997.

COADWELL, W. J.; WARD, P. F. V. The development, composition and maintenance of experimental populations of *Haemonchus contortus* in sheep. **Parasitology**, v. 82, p. 257-261. 1981.

COLES, G. C. Anthelmintic resistance--looking to the future: a UK perspective. **Research Veterinary Science**, v. 78, n. 2, p. 99-108. 2005

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 (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, p. 35-44. 1992.

COOP, R. L.; KYRIAZAKIS, I. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. **Trends in Parasitology**, v. 17, p. 325-330. 2001.

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S. **Controle de nematóides gastrintestinais de caprinos e ovinos no estado do Ceará**. EMBRAPA-CNPC, Sobral, Comunicado Técnico, n. 13, 6p. 1984.

COURTNEY, C. H.; PARKER, C. F. MC CLURE, K. E.; HERD, R. P. Population dynamics of *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus* spp in sheep. **International Journal for Parasitology**, v. 13, n. 6, p. 557-560. 1983.

COYNE, M. J.; SMITH, G.; JOHNSTONE, C. A study of the mortality and fecundity of *Haemonchus contortus* in sheep following experimental infections. **International Journal for Parasitology**, v. 21, n. 7, p. 847-853. 1991.

CRAIG, T. M., Anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 46, p. 121-31. 1993.

CRAVEN, J., BJORN, H., BARNES, E. H., HENRIKSEN, S. A.; NANSEN, P. A comparison of in vitro tests and faecal egg count reduction test in detecting anthelmintic resistance in horse strongyles. **Veterinary Parasitology**, v.85, n. 1, p.49-59, 1999.

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, 1999. **Anais** Salvador: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p.153.

DOBSON, R. J.; LE JAMBRE, L. F.; GILL, J. H. Management of anthelmintic resistance: inheritance of resistance and selection with persistent drugs. **International Journal Parasitology**, v. 26, p. 993-1000. 1996.

DOS SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpe resistente de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**, v.9, p.201-209, 1967.

DRUDGE, J. H., SZANTO, J., WYATT, Z. N., ELAM G. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. **American Journal of Veterinary Research**, v.25, p. 1512-1518. 1964.

EADY, S. J.; WOOLASTON, R. R.; BARGER, I. A. Comparison of genetic and nongenetic strategies for control of gastrointestinal nematodes of sheep. **Livestock Production Science**, v. 81, p. 11–23. 2003.

ECHEVARRIA, F. A. M. **Resistência anti-helmíntica**. In: CHARLES T.P. (Ed) Controle dos nematódeos gastrintestinais. Juiz de Fora, Minas Gerais, p. 53-76. 1996.

ECHEVARRIA, F. A. M.; 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 America: Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 199-206. 1996.

ECHEVARRIA, F. A. M.; TRINDADE, G. N. P. Anthelmintic resistance by *Haemonchus contortus* to ivermectin in Brazil. **Veterinary Record**, v. 124, 147-148. 1989.

ECHEVARRIA, F.; PINHEIRO, A. Avaliação de resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos do município de Bagé, RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 3/4, p. 69-71, 1989.

ELARD, L., CABARET, J., HUMBERT, J. F. PCR diagnosis of benzimidazole-susceptibility or –resistance in natural populations of the small ruminant parasite, *Teladorsagia circumcincta*. **Veterinary Parasitology**, v.80, p.231-237, 1999.

ELARD, L.; SAUVE, C.; HUMBERT, J. H. Fitness of benzimidazole-resistant and susceptible worms of *Teladorsagia circumcincta*, a nematode parasite of small ruminants. **Parasitology**, v. 117, p.571-578, 1998.

ELARD, L.; COMES, A. M.; HUMBERT, J. H. Sequences of β -tubulin cDNA from benzimidazole-susceptible and –resistant strains of *Teladorsagia circumcincta*, a nematode parasite of small ruminants. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 79, p. 249-251. 1996.

EMBRAPA. **Recomendações tecnológicas para a produção de caprinos e ovinos no Estado do Ceará.** EMBRAPA/CNPC. Circular técnica nº9. 58 pp. 1994.

FARIAS, M.T.; BORDIN, E.L.; FORBES, A.B.; NEWCOMB, K. A survey on resistance to anthelmintic in sheep stud farms of southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 72, p. 209-214. 1997.

FETTERER, R. H.; RHOADS, M. L. A hemolytic factor from *Haemonchus contortus* alters erythrocyte morphology. **Veterinary Parasitology**, v. 80, p. 37-45 .1998.

FLEMING, M. W. Size of inoculum dose regulates in part worm burdens, fecundity, and lengths in ovine *Haemonchus contortus* infections. **The Journal of Parasitology**, v. 74, n. 6, p. 975-978. 1988.

GEARY, T. G.; SANGSTER, N. C.; THOMPSON, D. P. Frontiers in anthelmintic pharmacology. **Veterinary Parasitology**, v. 84, p. 275-295. 1999.

GEARY, T. G.; THOMPSON, D. P. *Caenorhabditis elegans*: how good a model for veterinary parasites? **Veterinary Parasitology**, v. 101, p. 371-386. 2001.

GEORGI, J. R.; GEORGI, M. E. **Parasitology for Veterinarians.** Philadelphia: Saunders, 412 p. 1990.

GIRÃO, E. S.; MEDEIROS, L. P.; GIRÃO, R. N. Ocorrência e distribuição estacional de helmintos gastrintestinais de caprinos no município de Teresina, Piauí. **Ciência Rural**, v. 22, p. 197-202. 1992.

GRANT, W. Population genetics and drug resistance in nematode parasites. **Trends in Parasitology**, v. 17, n. 9, p.410. 2001.

GRIFFITHS, A J. F., MILLER, J. H., SUZUKI, D. T.; LEWONTIN, R. C.; GELBART, W. M. **Introdução a Genética.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Tradução de: MOTTA, P. A. 1998.

GUTTERIDGE, W. E. **Chemoterapy**. In: COX, F. E. G. (Ed) *Modern Parasitology: a textbook of parasitology*. Oxford, p. 219-242. 1993.

HASHMI, S.; TAWA, W.; LUSTIGMAN, S. *Caenorhabditis elegans* and the study of gene function in parasites. **Trends in Parasitology**, v. 17, p. 387-393. 2001.

HENNON, P. S. **Les résistances aux anthelminthiques: synthèse bibliographique des connaissances actuelles**. Toulouse, 1993. 133p. Veterinary Ph.D Thesis. École Nationale Vétérinaire de Toulouse.

HUMBERT, J. F., CABARET, J., ELARD, L.; LEIGNEL V.; SILVESTRE, A. Molecular approaches to studying benzimidazole resistance in trichostrongylid nematode parasites of small ruminants. **Veterinary Parasitology**, v.101, p.405-414. 2001.

IBGE, 2003. **Produção da Pecuária Municipal**. Rio de Janeiro, v.31, 2003. 31 pp.

IPLANCE. **Atlas do Ceará**. Fortaleza, Fundação Instituto de Planejamento.1995. 64p.

JACKSON, F. Anthelmintic resistance - The state of play. **British Veterinary Journal**, v. 149, p. 123-138. 1993.

JACQUIET, P.; CABARET, J.; THIAM, E.; CHEIKH, D. Host range and the maintenance of *Haemonchus* spp. in an adverse arid climate. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 253-261. 1998.

JASMER, D. P.; YAO, C.; REHMAN, A.; JOHNSON, S. Multiple lethal effects induced by a benzimidazole anthelmintic in the anterior intestine of the nematode *Haemonchus contortus*. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 105, n. 1, p. 81-90. 2000.

KELLY, J. D.; WHITLOCK, H. V.; THOMPSON, H. G.; HALL, C. A.; MARTIN, I. C.; LE JAMBRE, L. F. Physiological characteristics of free-living and parasitic stages of

strains of *Haemonchus contortus*, susceptible or resistant to benzimidazole anthelmintics. **Research Veterinary Science**, v. 3, p. 376-385. 1978.

KERBOEUF, D.; BLACKHALL, W.; KAMINSKY, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V. P-glycoprotein in helminths: function and perspectives for anthelmintic treatment and reversal of resistance. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 3, p. 332-346. 2003.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 4, p. 336-345. 2001.

KRECEK, R. C.; GROENEVELD, H. T.; VAN WIK, J. A. Effects of time of day, season and stratum on *Haemonchus contortus* and *Haemonchus placei* third-stage larvae on irrigated pasture. **Veterinary Parasitology**, v. 40, p. 87-98. 1991.

KWA, M. S.; VEENSTRA, J. G.; ROOS, M. H. Benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* is correlated with a conserved mutation at amino acid 200 in β -tubulin isotype 1. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 63, p. 299-303, 1994.

LACEY, E. The role of the cytoskeletal protein, tubulin, in the mode of action and mechanism of drug resistance to benzimidazoles. **International Journal for Parasitology**, v. 20, p. 105-111. 1988.

LANUSSE, C.E. **Farmacologia dos compostos anti-helmínticos**. In: CHARLES T.P. (Ed) Controle dos nematódeos gastrintestinais. Juiz de Fora, Minas Gerais, p.1-44. 1996.

LEIGNEL, V.; CABARET, J. Massive use of chemotherapy influences life traits of parasitic nematodes in domestic ruminants. **Functional Ecology**, v. 15, p. 569-574. 2001.

LE JAMBRE, L. F.; WHITLOCK, J. H. Changes in the hatch rate of *Haemonchus contortus* eggs between geographic regions. **Parasitology**, v. 73, p. 223-238. 1976.

LE JAMBRE, L. F.; WHITLOCK, J. H. Seasonal fluctuation in linguiform morphs of *Haemonchus contortus cayugensis*. **The Journal of Parasitology**, v. 54, n. 4, p. 827-830. 1968.

LICHTENFELS, J. R.; PILITT, P. A.; HOBERG, E. P. New morphological characters for identifying individual specimens of *Haemonchus* spp. (Nematoda: Trichostrongyloidea) and a key to species in ruminants of North America. **Journal Parasitology**, v. 80, n. 1, p. 107-119. 1994.

MAINGI, N.; BJORN, H.; THAMSBORG, S.M.; DANGOLLA, A.; KYVSGAARD, N.C. Worm control practices on sheep farms in Denmark and implications for the development of anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 66, p. 39-52. 1996.

MAINGI, N.; BJORN, H.; THAMSBORG, S.M.; MUNYUA, W.K.; GATHUMAT, J.M.; DANGOLLA, A. Worm control practices on sheep farms in Nyandarua District of Kenya. **Acta Tropica**, v. 68, p. 1-9. 1997.

MAINGI, N.; SCOTT, M. E. SCOTT; PRICHARD, R. K. Effect of selection pressure for thiabendazole resistance on fitness or *Haemonchus contortus* in sheep. **Parasitology**, v. 100, p. 327-335. 1990.

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **Veterinary Journal**, v. 154, p. 11-34. 1997.

MARTIN, R. J.; ROBERTSON, A. P.; BJORN, H. Target sites of anthelmintics. **Parasitology**, v. 114, p. 111-124. 1997.

MARTIN, P.J. Development and control of resistance to anthelmintics. **International Journal for Parasitology**, v. 17, p. 493-501. 1987.

MELO, A. C. F. L., REIS, I. F., BEVILAQUA, C. M. L., VIEIRA, L. S., ECHEVARRIA, F.A. M., MELO, L. M. Nematóides resistentes a anti-helmínticos em rebanhos de ovinos e caprinos no Estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, v.33, p.339-344, 2003.

MELO, A. C. F. L. **Resistência a anti-helmínticos em nematódeos gastrintestinais de ovinos e caprinos na região do baixo e médio Jaguaribe.** Fortaleza, 2001. 68p, 2001. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Ceará.

MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L.; VILLAROEL, A.S.; GIRÃO, M. D. Resistência a anti-helmínticos em nematódeos gastrintestinais de ovinos e caprinos, no município de Pentecoste, Estado do Ceará. **Ciência Animal**, v. 8, p. 7-11. 1998.

MOLENTO, M. B.; PRICHARD, R. K. Effects of the multidrug-resistance-reversing agents verapamil and CL 347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*). **Parasitology Research**, v. 85, n. 12, p. 1007-1011. 1999.

MOLINA, C. G. **Etude écologique et morphologique de trois lignées monomorphiques d'*Haemonchus contortus*, nématode parasite des ruminants.** Montpellier, 1991. 30p. Diplome D'Etudes Approfondies de Parasitologie. Université des Sciences et Techniques du Languedoc Montpellier II.

O'GRADY, J.; KOTZE, A. C. *Haemonchus contortus*: in vitro drug screening assays with the adult life stage. **Experimental Parasitology**, v. 106, n. 3-4, p. 164-172. 2004.

OLIVEIRA, J.A.M., BRAGA, G.M., DIAS, P.M., 1995. Avaliação da adoção das tecnologias usadas pelos criadores de caprinos e de ovinos tropicais dos estados da Bahia, Piauí, Pernambuco e Ceará. In: Encontro da Sociedade de Sistemas de Produção, Londrina, Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, 128-147.

ONYIAH, L. C.; ARSLAN, O. Simulating the development period of a parasite of sheep on pasture under varying temperature conditions. **Journal of Thermal Biology**, v. 30, p. 203–211. 2005.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A M. G.; ALVES, F. S. F.; HADDAD, J. P. A. Aspectos epidemiológicos na caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, p. 534-543. 2000.

PINHEIRO, A. C. Verminose ovina. **A Hora Veterinária**, n. 12, p. 5-9. 1983.

PRICHARD, R. K. Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. **Trends in Parasitology**, v. 17, p. 445-452. 2001.

PRICHARD, R. K. Anthelmintic resistance in nematodes: extent, recent understanding and future directions for control and research. **International Journal for Parasitology**, v. 20, p. 515-23. 1990.

PRICHARD, R. K.; HALL, C. A.; KELLY, I. D.; MARTIN, I. C. A.; DONALD, A. D. The problem of resistance in nematodes. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, p. 239-251. 1980.

RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SOUZA, A. P.; ÁVILA, V. S.; COUTINHO, G. C.; DALAGNOLL, C. A. Epidemiologia das helmintoses gastrintestinais de ovinos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v.34, n.6, p.1889-1895. 2004.

RANGEL V. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; SANTOS, E. J. Resistência de *Cooperia spp.* e *Haemonchus spp.* às avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.2, p.186-190. 2005.

REIS, I. F. **Controle de nematóides gastrintestinais em pequenos ruminantes: método estratégico versus Famacha®**. 2004, 78pp. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Ceará.

RESO, 1989. **Faecal egg count reduction test (FECRT) Analysis**. Program Version 2.01. Csiro.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, J. P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Agriculture Research**, v. 1, p. 99, 1950.

ROOS, M. H.; BOERSEMA, J. H.; BORGSTEED, F. H. M.; CORNELISSEN, I.; TAYLOR, M.; RUITENBERG, E. I. Molecular analysis of selection for benzimidazole resistance in sheep parasite *Haemonchus contortus*. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 43, p. 77-88. 1990.

ROSSANIGO, C. E.; GRUNER, L. Moisture and temperature requirements in faeces for the development of free-living stages of gastrointestinal nematodes of sheep, cattle and deer. **Jornal of Helminthology**, v. 69, p. 357-362. 1995.

SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V.; BLACKHALL W. Will technology provide solutions for drug resistance in veterinary helminths? **Veterinary Parasitology**. v. 132, n. 3-4, p. 223-39. 2005.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p. 89-109. 2001.

SANGSTER, N. C., BANNAN, S. C., WEISS, A. S., NULF, S. C., KLEIN, R. D., GEARY, T. G. *Haemonchus contortus* sequence heterogeneity of internucleotide binding domains from glycoproteins and an association with avermectin resistance. **Experimental Parasitology**, v. 91, p.250-257, 1999.

SANGSTER, N., BATTERHAM, P., CHAPMAN, H. D.; DURAISINGH, M.; LE JAMBRE, L.; SHIRLEY, M.; UPCROFT, J.; UPCROFT, P. Resistance to antiparasitic drugs: the role of molecular diagnosis. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 637-653. 2002.

SANGSTER, N. C. Pharmacology of anthelmintic resistance in cyathostomes: will it occur with the avermectin/milbemycin. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 189-204. 1999.

SAULAI, M.; HOSTACHE, G.; AUMONT, G.; CABARET, J. From isolates to a synthetic laboratory population: maintenance of variability in the nematode *Haemonchus contortus*. **Parasite**, v. 1, p. 31-8. 2000.

SAULAI, M.; CABARET, J.; HOSTACHE, G.; MANDONNET, N.; AUMONT, G. Life-trait evolution of a parasite strongyle nematode in response to host resistance: an experimental approach using *Haemonchus contortus* in black belly lambs. **Genetic Selection Evolution**, v. 33, s. 1, p. S25-S44. 2001.

SCHWAB, M. EICHELBAUM, M., FROMM, M. Genetic polymorphisms of the human MDR1 drug transporter. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 43, p. 285-307, 2003.

SILVA, W. W.; BEVILAQUA, C. M. L.; RODRIGUES, M. L. A. Variação sazonal de nematóides gastrintestinais em caprinos traçadores no Semi-árido Paraibano-Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 2, p. 71-75. 2003.

SILVESTRE, A.; CABARET, J. Mutation in position 167 of isotype 1 b -tubulin gene of Trichostrongylid nematodes: role in benzimidazole resistance? **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.120, p. 297-300, 2002.

SILVESTRE, A.; HUMBERT, J. F. A molecular tool for species identification and benzimidazole resistance diagnosis in larval communities of small ruminat parasites. **Experimental Parasitology**, v.95, p.271-276, 2000.

SILVESTRE, A.; HUMBERT, J. F. Diversity of benzimidazole-resistance alleles in populations of small ruminant parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 32, p. 321-328. 2002.

SMITH, G. The population biology of the parasitic stages of *Haemonchus contortus*. **Parasitology**, v. 96, p. 185-195. 1988.

SOULSBY, E. J. L. **Parasitologia y enfermedades parasitarias en los animales domésticos**. 782p., 1987.

SOUZA, A. P.; RAMOS, C. I.; DALAGNOL, C. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no estado de Santa Catarina. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. **Anais** Rio de Janeiro: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

SUTHERST, R.W.; COMINS, H.N. The management of acaricide resistance in the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae), in Australia. **Bulletin Entomology Research**, v. 69, p. 519–537. 1979.

TAYLOR, M. A.; HUNT, K. R.; GOODYEAR, K. L. Anthelmintic resistance detection methods. **Veterinary Parasitology**, v.103, p.183-194, 2002.

TERRILL, T. H.; KAPLAN, R. M.; LARSEN, M.; SAMPLES, O.M.; MILLER, J.E.; GELAYE, S. Anthelmintic resistance on goat farms in Georgia: efficacy of anthelmintics against gastrointestinal nematodes in two selected goat herds. **Veterinary Parasitology**, v. 97, p. 261-268. 2001.

THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, F. P.; SOTOMAIOR, C.; CASTRO, E. A.; MILCZEWSKI, V.; MOCELIN, G.; SILVA, M. C. P. Resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1. 2004.

TORRES-ACOSTA, J. F.; DZUL-CANCHE, U.; AGUILAR-CABALLERO, A. J.; RODRIGUEZ-VIVAS, R. I. Prevalence of benzimidazole resistant nematodes in sheep flocks in Yucatan, Mexico. **Veterinary Parasitology**, Netherlands v. 114, p. 33-42. 2003.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4º ed., JIICA. Tokyo, Japan. 143 pp. 1998.

VAN WYK, J. A.; STENSON, M. O.; VAN DER MERWE, J.S., VORSTER, R.J.; VILJOEN, P. G. Anthelmintic resistance in South Africa: surveys indicate an extremely serious situation in sheep and goat farming. **Onderstepoort Journal Veterinary Research**, v. 66, p. 273–284, 1999.

VAN WYK, J. A.; MALAN, F. S.; BATH, G. F. **Rampant anthelmintic resistance in sheep in South Africa – what are the options?** In: Managing anthelmintic resistance in endoparasites. Van Wyk; Van Schalkwyk editors. Workshop held at the 16ª International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Sun City, p. 51-63. 1997.

VARADY, M.; CORBA, J. Comparison of six in vitro tests in determining benzimidazole and levamisole resistance in *Haemonchus contortus* and *Ostertagia circumcincta* of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 80, n. 3, p. 239-249. 1999.

VATTA, A. F.; LETTY, B. A. van der LINDEN, M. Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resourcepoor conditions in South África using na eye colour chart developed for sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 80, p. 239-249. 1999.

VERÍSSIMO, C. J.; OLIVEIRA, S. M.; FILHA, E. S. Eficácia de alguns anti-helmínticos em uma ovinocultura no Estado de São Paulo, Brasil. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. **Anais** Rio de Janeiro: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

VIEIRA, L. S., BERNE, M. E. A., CAVALCANTE, A. C. R. Redução do número de ovos por grama de fezes (OPG) em caprinos medicados com anti-helmínticos. EMBRAPA. Boletim de Pesquisa, 11. 24p, 1989.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, p. 99-103. 1999.

VIEIRA, L. S.; BERNE, M. E.; CAVALCANTE, A. C.; COSTA, C. A. *Haemonchus contortus* resistance to ivermectin and netobimin in Brazilian sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 45, n. 1-2, p. 111-116. 1992.

WALLER, P. J., DASH, K. M., BARGER, I. A., LE JAMBRE, L. F., PLANT, J. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from the Australian experience. **Veterinary Record**, v. 136, p. 411-413. 1995.

WALLER, P. J., ECHEVARRIA, F., EDDI, C., MACIEL, S., NARI, A., HANSEN, J. W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General overview. **Veterinary Parasitology**, v. 62, p. 181-187. 1996.

WOLSTENHOLME, A. J.; FAIRWEATHER, I.; PRICHARD, R.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V.; SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminths. **Trends in Parasitology**, 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. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, v.58, p.181-213. 1995.

ANEXOS

ANEXO I

Questionário aplicado nas propriedades rurais sobre manejo sanitário, formas de controle, utilização de anti-helmínticos, infra-estrutura e assistência médica veterinária.



Universidade Estadual do Ceará
Faculdade de Veterinária / Pós-graduação em Ciências Veterinárias
Laboratório de Doenças Parasitárias

Av. Paranjana, 1700. Itaperi. CEP.: 60.740-000
Fone: (85) 31019853 Fax: (85) 310198 40

1. Identificação

Nome da propriedade:

Proprietário:

Endereço:

Telefone:

Área (ha):

Localidade:

2. Tipo de criação

Extensiva

Intensiva

Semi-intensiva

Carne

Venda de Reprodutores

Leite

3. Espécies animais exploradas

Caprinos

Ovinos

Bovinos

4. Água

Distribuição nas propriedades:

Distribuição nos pastos

5. Benfeitorias

Os pastos são cercados?

Quantos capris existem?

Quantos cabriteiros existem?

Possui esterqueira?

DADOS SOBRE REBANHO E MANEJO

1. População animal

Total de ovinos/caprinos:

Raça:

Cabritos/Borregos:

Fêmeas:

Machos:

Ovinos e caprinos estão no mesmo pasto?

2. Estado sanitário:

Tem assistência veterinária permanente?

Qual a frequência de visitas do veterinário?

Quais as doenças mais frequentes nos últimos anos

Sarna () Boqueira () Bicheira ()

Artrite () Podridão do casco () Linfadenite ()

Outros:

3. Alimentação

Usa alimentos concentrados?

Qual o critério de distribuição?

4. Práticas sanitárias:

Usa vermífugo?

Última dosificação:

Produto:

Como é calculada a dose/animal?

Quais os vermífugos usados no último ano?

Faz rodízio de pastagem?

Nos últimos anos a eficácia do vermífugo tem:

Melhorado Piorado Permanecido

Tratamentos anti-helmínticos:

Nº de tratamentos/ano

Meses:

5. Compra de animais:

Sim Não

Requisitos:

Freqüência de compras:

Machos ou fêmeas?

Fornecedor fixo?

Idade dos animais?

6. Data:

Animal pesado (kg):

ANEXO II

Artigo intitulado “Desenvolvimento da resistência ao oxfendazol em propriedades rurais de ovinos na região do baixo e médio Jaguaribe, Ceará, Brasil” no periódico **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**.

DESENVOLVIMENTO DA RESISTÊNCIA AO OXFENDAZOL EM PROPRIEDADES RURAIS DE OVINOS NA REGIÃO DO BAIXO E MÉDIO JAGUARIBE, CEARÁ, BRASIL

ANA CAROLINA F.L. MELO¹; FERNANDA C.M. RONDON²; IARLE F. REIS³; CLAUDIA M.L. BEVILAQUA⁴

ABSTRACT:- MELO, A.C.F.L.; RONDON, F.C.M.; REIS I.F.; BEVILAQUA, C.M.L. Desenvolvimento da resistência ao oxfendazol em propriedades rurais de ovinos na região do baixo e médio Jaguaribe, Ceará, Brasil. [**Development of oxfendazole resistance in sheep from country properties in the low and intermediate Jaguaribe region, State of Ceará, Brazil.**] *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 4, p. 137-141, 2004. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do Ceará, Rua Lídia Brígido, 590, CEP: 60821-810, Fortaleza-CE. E-mail: acflmelo@hotmail.com

The control of gastrointestinal nematodes parasitism is made basically with anthelmintics. Some factors related to this use can promote the resistance development. Little is yet known about the actual impact of these factors in the nematodes developing process of resistance to benzimidazoles anthelmintics. The aim of this work was to follow the course of the resistance level in sheep commercial properties in Jaguaribe region, State of Ceará, between the years 2001 and 2003. The work was carried out in 6 sheep farms. It was made an oxfendazole effectiveness control through the fecal egg count reduction test with 24 sheep. The data obtained were analyzed by the statistical program RESO. A questionnaire was applied to the owners to detect the factors promoting the resistance. The anthelmintic resistance increased from 67 to 83% in the properties. In one of them there was an increase of oxfendazole effectiveness, suggesting a resistance reversion. In 100% of the properties, the genus *Haemonchus* was the more prevalent resistant parasite. It was observed that the owners use anthelmintics with low efficacy, they do fast rotation of active principle, use underdoses and treatments in periods when the refugia population is minimum.

KEY WORDS: benzimidazole, resistance, reversion, nematodes, Ceará.

RESUMO

O controle do parasitismo por nematóides gastrintestinais é feito basicamente com a utilização de anti-helmínticos. Alguns fatores relacionados a este uso podem promover o desenvolvimento da resistência. Pouco se sabe do real impacto destes fatores no processo de desenvolvimento de nematóides resistentes a anti-helmínticos benzimidazóis. O objetivo deste trabalho foi acompanhar o nível de resistên-

cia em ovinos de propriedades comerciais na região do baixo e médio Jaguaribe, Ceará, entre os anos 2001 e 2003. O trabalho foi realizado em 6 fazendas de ovinos. Foi feito um acompanhamento da eficácia do oxfendazol através do teste de redução na contagem de ovos nas fezes utilizando-se 24 ovinos. Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico RESO. Foi aplicado um questionário junto aos criadores para observar a ocorrência dos fatores promotores de resistência. A resistência anti-helmíntica aumentou de 67 para 83% nas propriedades. Em uma delas houve um aumento da eficácia do oxfendazol, sugerindo-se reversão da resistência. Em 100% das propriedades, o gênero *Haemonchus* foi o mais prevalente dos parasitos resistentes. Observou-se que os proprietários utilizam anti-helmínticos de baixa eficácia, realizam rotação rápida de princípio ativo, subdosagens e tratamentos em épocas em que a população em refúgio é mínima.

PALAVRAS-CHAVE: benzimidazol, resistência, reversão, nematóides, Ceará

¹ Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV)/ Universidade Estadual do Ceará (UECE); Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES); acflmelo@hotmail.com

² Faculdade de Veterinária (FAVET)/UECE; Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)

³ PPGCV/UECE; Bolsista da CAPES

⁴ UECE; Pesquisador do CNPq; Rua Lídia Brígido, 590, CEP: 60821-810, Fortaleza-CE, Telefone: 85.32992753, Fax: 85.32992740, claudiam@fortalnet.com.br

INTRODUÇÃO

O parasitismo por nematóides gastrintestinais causa grandes perdas econômicas na ovinocultura (GIRÃO et al., 1992). O controle desses nematóides é largamente baseado no uso supressivo e terapêutico de anti-helmínticos (COOP; KYRIAZAKIS, 2001). Falhas neste tipo de controle são o primeiro sinal do aparecimento de resistência anti-helmíntica (SANGSTER, 2001).

A resistência encontra-se disseminada no mundo inteiro (WALLER et al., 1995; WALLER et al., 1996; CHARTIER et al., 1998; TERRILL et al., 2001). No nordeste bem como no sul do Brasil existem vários relatos de nematóides de ovinos resistentes a anti-helmínticos benzimidazóis (DOS SANTOS; GONÇALVES, 1967; ECHEVARRIA et al., 1996; MELO et al., 1998; FARIAS et al., 2002). Em levantamento recentemente realizado no Ceará, observou-se que apenas 12% das propriedades examinadas e localizadas na região do baixo e médio Jaguaribe apresentam nematóides sensíveis ao oxfendazol (MELO, 2001).

Os principais fatores operacionais promotores da disseminação de alelos para resistência são subdosagem, frequência de tratamentos, rotação rápida de princípio ativo (HENNON, 1993). A frequência e intensidade do tratamento, aliada a maior ou menor disseminação dos alelos para resistência na população de parasitos, determina a taxa de seleção da resistência (PRICHARD, 2001). Pouco se sabe do real impacto destes fatores no desenvolvimento da resistência. Apenas estima-se através de modelos matemáticos (BARNES; DOBSON, 1990). Assim sendo, este trabalho teve como objetivo acompanhar o nível da resistência em propriedades rurais de ovinos na região do baixo e médio Jaguaribe, Ceará, entre os anos 2001 e 2003.

MATERIALE MÉTODOS

1. Fazendas

O trabalho foi realizado em 6 criações de ovinos localizadas nos municípios de Limoeiro do Norte, Aracati e Jaguaribe, pertencentes à região do baixo e médio Jaguaribe, Ceará. Essa área do estado tem pluviosidade variando entre 800 e 1000 mm com chuvas irregularmente distribuídas durante o ano.

2. Procedimento

Essas fazendas foram visitadas em janeiro do ano 2001 e em janeiro de 2003. Em cada fazenda foram selecionados 24 ovinos do sexo feminino e sem tratamento anti-helmíntico pelo período mínimo de seis semanas. Os animais selecionados foram marcados individualmente, e aleatoriamente distribuídos em dois grupos de 12 animais. O grupo 1 foi tratado com anti-helmíntico à base de oxfendazol (Systemex®/Coopers), administrado oralmente, na dose de 5mg/kg. O grupo 2 não foi tratado, grupo controle. A dose utilizada foi a mundialmente recomendada para ovinos (LANUSSE, 1996), portanto o dobro da indicada pelo mesmo fabricante no Brasil. O animal mais pesado foi referência para o volume a ser administrado na ocasião do tratamento anti-helmíntico (WALLER, 1997).

3. Exame Parasitológico

Amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal de cada animal no dia do tratamento e 10 a 14 dias após. Com estas amostras, foram realizados exames coprológicos individuais, pela técnica de McMaster modificada, descrita por Ueno e Gonçalves (1998). Os resultados dos exames coprológicos foram expressos em número de ovos por grama de fezes (OPG). Coproculturas foram realizadas em *pool*, misturando amostras fecais dos animais de cada grupo experimental, segundo a técnica de Roberts e O'Sullivan (1950). Um mínimo de 100 larvas de terceiro estágio foi identificado, de acordo com Georgi e Georgi (1990), nas culturas de cada grupo.

4. Aplicação de questionário

Foi aplicado um questionário a respeito do manejo dos animais, utilização de anti-helmínticos, infra-estrutura, características climáticas da região, estado sanitário do rebanho e assistência médica veterinária.

5. Análise dos dados

Os dados obtidos foram analisados pelo programa estatístico RESO (1989) o qual segue as instruções da WAAVP (COLLES et al., 1992). As condições para que uma fazenda seja classificada como resistente são: a percentagem de redução da contagem de ovos deve ser inferior a 95% e o limite inferior do intervalo de confiança a 95% menor do que 90%. Caso as duas condições não sejam atendidas, declara-se suspeita de resistência. Os questionários não foram analisados estatisticamente, seus dados foram considerados apenas para descrever a situação de cada propriedade, principalmente com relação aos promotores do desenvolvimento da resistência.

RESULTADOS

Em 2001, das seis propriedades visitadas, quatro (67%) apresentavam nematóides resistentes ao oxfendazol, com o percentual de redução do número de ovos nas fezes variando de 0 a 100%. Em 2003, a frequência da resistência aumentou para 83% (5 propriedades) e o percentual de redução variou de 0 a 97%. Vale salientar que nas fazendas que apresentavam nematóides sensíveis em 2001 ocorreu um rápido desenvolvimento de resistência ao oxfendazol. Enquanto, em uma única fazenda onde a eficácia do fármaco foi de 91% em 2001, houve um aumento em 2003 para 97% (Tabela 1).

O gênero *Haemonchus* foi o mais prevalente na população resistente em 100% das propriedades tanto em 2001 quanto em 2003.

De acordo com o questionário, observou-se que os animais são criados, principalmente, de forma semi-intensiva (83,3%). Quanto a finalidade da criação, todas as fazendas destinavam-se a comercialização de carne. O rebanho de ovinos oscilava entre 80 e 170 cabeças, sendo o número médio de 105 animais por propriedade. Em duas propriedades havia a assistência do Médico Veterinário, sendo em média 4,5 visitas ao ano. Outros problemas sanitários, além das endoparasitoses

Tabela. 1. Resultados do teste de Redução na Contagem de Ovos nas Fezes (RCOF) de ovinos tratados com oxfendazol em 2001 e 2003 em municípios do Estado do Ceará.

Localização da Fazenda	RCOF (%)	
	2001	2003
Limoeiro do Norte	0	0
Limoeiro do Norte	66	0
Aracati	91	97
Jaguaribe	94	52
Jaguaribe	99	26
Jaguaribe	100	27

estavam presentes. Em ordem decrescente de ocorrência foram citados: miíase (100%), linfadenite caseosa (83,3%), pododermatite (66,6%) e ectima contagioso (33,3%). Um proprietário relatou a presença de uma enfermidade cuja a sintomatologia assemelha-se a Oestrose, doença ainda não relatada no nordeste brasileiro.

Em todas as propriedades utilizava-se algum tipo de anti-helmíntico aproximadamente 3 vezes ao ano, sendo no mínimo um e no máximo cinco tratamentos anuais. Os produtos mais utilizados são os benzimidazóis, seguido das avermectinas (ivermectina) e imidotiazóis (levamisol). Em 50% das propriedades, a dosificação era repetida após 15 dias. Em três propriedades, utilizava-se no mínimo dois princípios ativos diferentes em um mesmo ano. Nas outras fazendas, somente um princípio ativo, o benzimidazol ou levamisol, foi empregado em 33,3% e 16,6%, respectivamente, o qual foi administrado seguidamente durante os dois anos de acompanhamento. O cálculo da dose era feito através de estimativa visual individual do peso dos animais. Em todas as fazendas, os proprietários consideravam que, após o tratamento, os animais apresentavam melhora no estado físico geral.

Com relação a época, os tratamentos eram realizados, em ordem decrescente, nos meses de janeiro (66,6%), agosto (50%), março, julho, outubro e novembro (33,3%), e nos meses de abril, junho, setembro e dezembro (16,6%). A época seca nesta região vai de junho a dezembro.

DISCUSSÃO

Relatos de nematóides resistentes aos benzimidazóis são antigos e constantes no mundo inteiro (DRUDGE et al., 1964; DOS SANTOS; GONÇALVES, 1967; ECHEVARRIA; PINHEIRO, 1989; WALLER et al., 1995; ECHEVARRIA et al., 1996; SOCCOL et al., 1996; WALLER et al., 1996; BOERSEMA; PANDEY, 1997; FARIAS et al., 1997; CHARTIER et al., 1998; MELO et al., 1998; MELO, 2001; TERRILL, et al., 2001). Apesar disso, os benzimidazóis continuam sendo anti-helmínticos largamente utilizados no controle das helmintoses dos animais domésticos e do homem (LANUSSE, 1996). Cerca de 80% dos proprietários de rebanhos localizados na França controlam o parasitismo de seus animais através destes fármacos (CHARTIER et al., 1998). Na região do baixo e médio Jaguaribe, onde foi realizado este trabalho, 52% das fazendas visitadas

utilizam benzimidazóis para o controle dos nematóides gastrintestinais de ovinos (MELO, 2001).

O parasito do gênero *Haemonchus* foi o mais prevalente nas culturas pós-tratamento em todas as fazendas. Esse resultado está de acordo com outros levantamentos feitos no estado do Ceará (MELO et al., 1998; BEVILAQUA; MELO, 1999), na região sul do Brasil (ECHEVARRIA et al., 1996; FARIAS et al., 1997; CUNHA-FILHO, 1999) e na América Latina (WALLER et al., 1996). Deste gênero, a espécie *Haemonchus contortus* é considerada a principal responsável pelo desenvolvimento da resistência (SANGSTER, 2001). *Haemonchus contortus* tem grande variabilidade genética, tanto em uma população quanto entre populações geograficamente separadas, sendo encontrado em diferentes espécies de ruminantes desde os trópicos úmidos até as áreas de clima com temperaturas mais frias. O tamanho da sua população efetiva é superior a de outros parasitos, sendo mais encontrada no ambiente do que nos seus hospedeiros (PRICHARD, 2001). A alta diversidade genética associada ao elevado tamanho da população efetiva é uma condição ideal para a disseminação da resistência (GEARY et al., 1999).

O desenvolvimento da resistência deve-se a presença dos promotores da resistência, pois a taxa pela qual a resistência irá se desenvolver dependerá, dentre outros, de fatores como intervalo entre gerações, estágio exposto à droga e proporção da população em refúgio. Assim como, do espectro e eficiência da droga, frequência de aplicação, rotação rápida ou lenta de princípios ativos, dosagem e tipo de manejo no campo (ECHEVARRIA, 1996). Observou-se uma alta ocorrência destes promotores nas propriedades visitadas, portanto acredita-se que os mesmos são os responsáveis pelo rápido desenvolvimento da resistência, pelo menos nos casos estudados.

A longa ausência de exposição de uma população resistente à uma droga que estava selecionando para resistência levaria a reversão para susceptibilidade e o anti-helmíntico seria eficaz novamente (SCOTT; ARMOUR, 1991). Em uma propriedade houve a suspensão do uso de anti-helmínticos benzimidazóis durante dois anos. Este fármaco foi reutilizado somente na ocasião da realização do teste de redução na contagem de ovos nas fezes para detecção de resistência. Nesta ocasião o fármaco aumentou a eficácia de 91% em 2001 para 97% em 2003. Portanto sugere-se que ocorreu a reversão para susceptibilidade. Este resultado é diferente do encontrado por Waruiru (1997) no Quênia, onde observou-se que mesmo depois de 4 anos da suspensão do uso de benzimidazóis, o fármaco apresentou eficácia de somente 87%. A seleção reversiva, ou seja, a utilização de um anti-helmíntico de diferente modo de ação daquele que induziu o aparecimento da resistência, potencializa a reversão (WALLER, 1997). Na propriedade estudada o uso do oxfendazol foi substituído pelo levamisol, o que pode ter levado a reversão, observada em apenas dois anos. A seleção reversiva através do levamisol pode ter removido os parasitos resistentes, os quais foram substituídos pelos sen-

síveis aos benzimidazóis. A possibilidade de reversão é pequena (JACKSON, 1993) ou até mesmo nula (ECHEVARRIA, 1996; ROOS, 1997). E caso ocorra, é em um nível onde não é possível a reintrodução da droga para o satisfatório controle do parasitismo (JACKSON, 1993). Assim o aumento da eficácia do fármaco poderia ser explicado pela pouca adaptabilidade da cepa resistente quando na ausência do fármaco (SCOTT; ARMOUR, 1991).

Agradecimentos: À CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) pelo financiamento do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARNES, E.H.; DOBSON, R.J. Population dynamics of *Trichostrongylus colubriformis* in sheep: Computer model simulate grazing systems and the evaluation of anthelmintic resistance. *International Journal for Parasitology*, v.20, n. 7, p.823-831, 1990.
- BEVILAQUA, C.M.L.; MELO, A.C.F.L. Eficácia de anti-helmínticos a base de oxfendazol e ivermectin em ovinos no Estado do Ceará. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999. Salvador. *Anais ...* Salvador: CBPV, 1999, p.156.
- BOERSEMA, J.H.; PANDEY, V.S. Anthelmintic resistance of trichostrongylids in sheep in the highveld of Zimbabwe. *Veterinary Parasitology*, v. 68, n. 4, p. 383-388, 1997.
- CHARTIER, C.; PORS, I.; HUBERT, J.; ROCHETEAU, D.; BENOIT, C. BERNARD, N. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. *Small Ruminant Research*, v. 29, n. 1, p.33-41, 1998.
- 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, 11, 1999, Salvador. *Anais ...* CBPV, 1999. p.153.
- COLES, G.C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F.H.M.; BORGSTEEDE, F.H.M.; GEERTS, S.; KLEI, T.R.; TAYLOR, M.A.; WALLER, P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology*, v. 44, n. 1-2, p.35-44, 1992.
- COOP, R.L.; KYRIAZAKIS, I. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends in Parasitology*, v.17, n.7, p. 325-330, 2001.
- DOS SANTOS, V.T.; GONÇALVES, P.C. Verificação de estirpe de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). *Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária*, v.9, n. 1, p.201-209, 1967.
- DRUDGE, J.H.; SZANTO, J.; WYATT, Z.N.; ELAM G. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. *American Journal Veterinary Research*, v. 25, p.1512-1518, 1964.
- ECHEVARRIA, F.A.M. Resistência anti-helmíntica. In: CHARLES, T. P. *Controle de nematóides gastrintestinais em ruminantes*. Juiz de Fora: Embrapa, 1996. p. 53-76.
- ECHEVARRIA, F.A.M.; 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 America: Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 62, n. 3-4, p. 199-206, 1996.
- ECHEVARRIA, F., PINHEIRO, A. Avaliação de resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos do município de Bagé, RS. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 9, n. 3-4, p. 69-71, 1989.
- FARIAS, M.T.; BORDIN, E.L.; FORBES, A.B.; NEWCOMB, K. A survey on resistance to anthelmintic in sheep stud farms of southern Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.72. n. 2, p.209-214, 1997.
- GEARY, T.G.; SANGSTER, N.C.; THOMPSON, D.P. Frontiers in anthelmintic pharmacology. *Veterinary Parasitology*, v. 84, n. 3-4, p.275-295, 1999.
- GEORGI, J.R. GEORGI, M.E. *Parasitology for Veterinarians*. Philadelphia: Saunders, 1990. 412 p.
- GIRÃO, E.S.; MEDEIROS, L.P.; GIRÃO, R.N. Ocorrência e distribuição estacional de helmintos gastrintestinais de caprinos no município de Teresina, Piauí. *Ciência Rural*. v. 22, n. 2, p.197-202, 1992.
- HENNON, P.S. *Les résistances aux anthelminthiques: synthèse bibliographique des connaissances actuelles*. 1993. 133p. Tese (Doutorado). École Nationale Vétérinaire de Toulouse, Toulouse, 1993.
- JACKSON, F. Anthelmintic resistance - The state of play. *British Veterinary Journal*, v. 149, n. 1, p.123-138, 1993.
- LANUSSE, C.E. Farmacologia dos compostos anti-helmínticos. In: CHARLES T.P. *Controle dos nematódeos gastrintestinais*. Juiz de Fora: Embrapa, 1996. p.1-44.
- MELO, A.C.F.L. *Resistência a anti-helmínticos em nematódeos gastrintestinais de ovinos e caprinos na região do baixo e médio Jaguaribe*. 2001. 68p. Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2001.
- MELO, A.C.F.L.; BEVILAQUA, C.M.L.; VILLAROEL, A.S.; GIRÃO, M.D. Resistência a anti-helmínticos em nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos, no município de Pentecoste, Estado do Ceará. *Ciência Animal*, v. 8, n. 2, p.7-11, 1998.
- PRICHARD, R.K. Genetic variability following selection of *Haemonchus contortus* with anthelmintics. *Trends in Parasitology*. v. 17. n. 9, p. 445-452, 2001.
- RESO. *Faecal egg count reduction test (FECRT) Analysis Program Version 2.01*. Csiro. 1989
- ROBERTS, F.H.S.; O'SULLIVAN, J.P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. *Australian Agriculture Research*, v. 1, n. 1, p. 99, 1950.
- ROOS, M.H. The role of drugs in the control of parasitic nematode infections: must we do without? *Parasitology*, v. 114, p.S137-S144, 1997.

- SANGSTER, N.C. Managing parasiticide resistance. *Veterinary Parasitology*, v. 98, n. 1-3, p.89-109, 2001.
- SCOTT, E.W.; ARMOUR, J.M. Effect of development of resistance to benzimidazoles, salicylanilides and ivermectin on the pathogenicity and survival of *Haemonchus contortus*. *Veterinary Record*, v. 128, n. 15, p. 346-349, 1991.
- SOCOL, V.T.; SOTOMAIOR, C.; SOUZA, F.P.; CASTRO, E.A.; PESSOA SILVA, M.C.; MILCZEWSKI, V. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná State, Brazil. *Veterinary Record*, v. 26, n. 17, p. 421-422, 1996.
- TERRILL, T.H.; KAPLAN, R.M.; LARSEN, M.; SAMPLES, O.M.; MILLER, J.E.; GELAYE, S. Anthelmintic resistance on goat farms in Georgia: efficacy of anthelmintics against gastrointestinal nematodes in two selected goat herds. *Veterinary Parasitology*, v. 97, n.4, p. 261-268, 2001.
- UENO, H.; GONÇALVES, V.C. *Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes*. Tóquio: JICA. 1998. 143p.
- WALLER, P.J. Nematode parasite control of livestock in the tropics/subtropics: the need for novel approaches. *International Journal for Parasitology*, v. 27, n. 10, p.1193-1201, 1997.
- WALLER, P.J.; DASH, K.M.; BARGER, I.A.; LE JAMBRE, L.F.; PLANT, J. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from the Australian experience. *Veterinary Record*, v. 136, n. 16, p.411-413, 1995.
- WALLER, P.J.; ECHEVARRIA, F.; EDDI, C.; MACIEL, S.; NARI, A.; HANSEN, J.W. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General overview. *Veterinary Parasitology* v. 62, n. 3-4, p. 181-187, 1996.
- WARUIRU, R.M. Efficacy of closantel, albendazole and levamisole on an ivermectin resistant strain of *Haemonchus contortus* in sheep. *Veterinary Parasitology*, v. 73. n. 1-2, p. 65-71, 1997.

Recebido em 31 de março de 2003.

Aceito para publicação em 02 de dezembro de 2004.

ANEXO III

Anexo III. Cópia do artigo submetido no periódico **Veterinary Parasitology** intitulado “Farm profile of benzimidazole resistance in small ruminants from Brazilian northeast semi-arid area”.

**Farm profile of benzimidazole resistance in small ruminants from Brazilian
northeast semi-arid area**

Ana Carolina Fonseca Lindoso Melo^a; Claudia Maria Leal Bevilaqua^{a*}, Iarle Feitosa
Reis^a, Ronaldo de Oliveira Sales^b

^aPrograma de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Estadual do
Ceará/ ^bCentro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará.

Corresponding author:

Dr. Claudia Bevilaqua

Faculdade de Veterinária, Universidade Estadual do Ceará,

Av. Parajana 1700, 60740-000 Fortaleza

Ceará, Brazil.

E-mail: claudia.bevilaqua@pesquisador.cnpq.br

Tel. +55-85-31019853;

fax: +55-85-31019840.

Abstract

Resistance to benzimidazole anthelmintics is reported as an old and persistent problem in many parts of the world. Resistance development depends on the presence of resistance promoters and there are operational, genetic and bioecological factors. However, little is known about the real impact of these factors on resistance development, they are only considered through mathematical models. The objective of this work was to determine the prevalence of benzimidazole resistance and to study some variables associated with resistance development in small ruminant farms in the Brazilian northeast semi-arid area. The work was accomplished in 25 sheep and goat farms in the state of Ceará, Brazil. The procedure used to detect anthelmintic resistant nematodes was the fecal egg count reduction test. In addition, a questionnaire about management practices, infrastructure, anthelmintic usage, flocks sanitary state and veterinary assistance was applied. Data were analyzed using RESO statistical program. The questionnaires were analyzed using GLM. In sheep farms, the prevalence of benzimidazole resistance was 88% and in goat farms, it was 87.5%. In sheep and goats farms, *Haemonchus* was the most prevalent genus, followed by *Trichostrongylus* spp and *Oesophagostomum* spp. Among variables studied, treatment in the dry season was statistically significant ($P = 0.03$), pasture rotation was not significant ($P = 0.17$) but has a predictable value in resistance development.

Key-words: resistance development; benzimidazole; sheep; goats; Brazil

Introduction

Gastrointestinal nematode infections cause high economic losses in small ruminant production (Girão et al., 1992). The control of nematodes is mainly based on the use of anthelmintics (Coop & Kyriazakis, 2001). Failures in this kind of control are the first signs of anthelmintic resistance (Sangster, 2001).

Anthelmintic resistance happens in all classes of drugs used in nematode control (Craig, 1993). Resistance to benzimidazole anthelmintics is reported as an old and persistent problem in many parts of the world (Drudge et al., 1964; Echevarria et al.,

1996; Waller et al., 1996; Boersema & Pandey, 1997; Melo et al., 1998; Chartier et al., 1998; Waller et al., 1995; Terril et al., 2001).

Resistance development depends on the presence of resistance promoters and the main factors are operational, genetic and bioecological (Hennon, 1993; Martin, 1997). Underdosage, treatment frequency and fast rotation of active principle are examples of operational factors (Echevarria, 1996). The frequency and dominance resistance alleles will influence resistance development (Le Jambre, et al., 1979). The size of refugia population is the bioecological factor (Prichard, 1990; Jackson, 1993). However, little is known about the real impact of these factors on resistance development, they are only considered through mathematical models (Smith, et al., 1999).

The objective of this work was to determine the prevalence of benzimidazole resistance and to study some variables associated with resistance development in small ruminant farms in the semi-arid Brazilian Northeast.

Materials and methods

Farms

The study was carried out in 25 sheep and goats farms in the state of Ceará, Brazil, located in a semi-arid region with an annual rainfall varying from 800 to 1000 mm, with irregular distribution. The area has only two seasons: a dry one (June to December) and a rainy one (January to May). The maximum and minimum temperatures are 33°C and 23°C, respectively.

Procedure

The procedure used to detect anthelmintic resistant nematodes in this study was the fecal egg count reduction test (FECRT), as recommended by the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) (Coles et al., 1992).

In each flock, 24 female animals were selected and randomly separated into two groups. None of the tested animals received any anthelmintic treatment for at least six weeks prior to the beginning of the study. On day 0, animals from group I received oxfendazole (Systamex ®/Coopers) orally at 5mg/kg body weight; Group II remained as untreated control.

In addition, a questionnaire was applied on animal husbandry (intensive system or semi-intensive - maintained free during the day and gathered together in a collective pen during the night; pasture rotation; meat or dairy animals; sheep or goat farm), infrastructure (animal facilities, water distribution in the farm, muck spreaders and enclosed pasture), anthelmintic usage (treatment in the dry or rainy season, frequency treatment, anthelmintics used), flock's sanitary state (disease prevalence and intensity) and veterinary assistance (presence and frequency of veterinary visits).

Parasitological assays

Fecal samples were collected from the rectum on day of treatment and 14 days afterwards. The samples were processed for fecal egg count (FEC) using a modified McMaster technique described by Ueno & Gonçalves (1998). A pooled fecal sample from both groups, treated and control group, was cultured for 7 days at 25°C. The identification of infective larvae was performed according to Georgi & Georgi (1990).

Statistical analysis

Data were analyzed using the RESO statistical program (1989). Resistance was declared according to the WAAVP guidelines (Coles et al., 1992). The conditions were: efficacy was lower than 95% and the lower limit of 95% confidence interval was lower than 90%. Only one of these criteria is indicative of benzimidazole resistance. The questionnaires were analyzed using General Linear Model (GLM).

Results

In sheep farms, the reduction of fecal egg count varied from 0 to 100%. The prevalence of benzimidazole resistance was 88%. In goat farms, the reduction in fecal egg count varied from 2 to 96%. The prevalence of benzimidazole resistance was 87.5% (Table 1). In both species, *Haemonchus* was the most prevalent genus, followed by *Trichostrongylus* spp. and *Oesophagostomum* spp (Table 2).

The number of sheep and goats on the farms ranged from 70 to 170 (mean 119) except for one large farm with 1,200 sheep and from 80 to 500 goats (mean 220). 92% of the farms aimed at meat production and kept their animals grazing under semi-

intensive conditions. Only 28% of the farms had veterinary assistance (mean 8 visits per year). The most frequent diseases recorded were lymphadenitis, miiasis and pododermatitis. 52% of the farms used pasture rotation.

All farmers used anthelmintics, mainly benzimidazole products (52%). Generally, 2 to 3 groups of anthelmintic were used per year and their efficacies were considered good by the farmers. The mean frequency of anthelmintic treatments per year was three, ranging from 1 to 5. In 12% of the farms, animals were drenched in the rainy season, in 48% in the dry season and in 40% of the properties in both seasons.

Among variables studied, treatment in dry season was statistically significant ($P = 0.03$), pasture rotation was not statistically significant ($P = 0.17$) however, it has a predictable value in resistance development.

Discussion

Benzimidazole resistance is widely distributed (Drudge et al., 1964; Waller et al., 1995; Waller et al., 1996; Chartier et al., 1998; Terril, et al., 2001). The resistance frequency reported in this survey in a semi-arid area was similar to those reported in southern Brazilian tropical humid regions (Echevarria et al., 1996; Farias et al., 1997; Soccol et al., 1996), Scotland (Jackson, et al., 1992) and Africa (Boersema & Pandey, 1997). However, the results reported for goats were superior to those reported in northeast Brazil (Vieira & Cavalcante, 1999) and England (Hong et al., 1996). Nevertheless, benzimidazole anthelmintics are still being widely used (Lanusse, 1996) and this fact probably causes the increase or maintenance of high resistance frequency of sheep and goat flocks around the globe.

In relation to animal numbers and production purposes, sheep and goat flocks are similar to those described by Pinheiro et al. (2000) who performed a broad-reaching survey through questionnaires about sanitary handling aspects in 127 properties of Ceará state. However, the management conditions differ, because in this work there was a predominance of semi-intensive conditions and the percentage of farms with veterinary assistance was inferior. With regard to frequency of diseases, the results are similar to other flocks in the same state. Oliveira, et al. (1995) mentioned pododermatitis and ectoparasites. Benzimidazole anthelmintics are mostly used for nematode control in this area, as well as in other northeast Brazilian regions (Vieira e Cavalcante, 1999), in Denmark and France (Maingi et al, 1996; Chartier et al, 1998).

However, in Mexico and Kenya, macrocyclic lactones and levamisole are the most common anthelmintics used, respectively. The treatment frequency is similar to Kenya and Mexico, but is superior to that of Denmark. In these countries anthelmintic group rotation rarely exists, because anthelmintics are changed every two or three years (Torres-Acosta, et al., 2003; Maingi, et al., 1996; Maingi, et al., 1997) different from the studied area where the fast rotation of active principle is performed.

The two factors evidenced in the farms with resistant gastrointestinal nematodes were treatment in dry season and pasture rotation. The latter will promote *in refugia* population reduction during all the year. The dry season in semi-arid region is characterized by null or small *refugia* population. Therefore, dosing during the dry season will accelerate resistance development and drenching performed in the wet season will have a similar effect, accompanied by rapid pasture rotation. The strategic treatment indicated for the Brazilian northeast area, determines four annual treatments, three during dry season (Embrapa, 1994), this fact is probably the main cause of high frequency of benzimidazole resistance in this region.

References

- Boersema, J. H., Pandey, V. S., 1997. Anthelmintic resistance of trichostrongylids in sheep in the highveld of Zimbabwe. *Vet. Parasitol.* 68, 383-388.
- Chartier, C., Pors, I., Hubert, J., Rocheteau, D., Benoit, C. Bernard, N., 1998. Prevalence of anthelmintic resistant nematodes in sheep and goats in Western France. *Small Rum. Res.* 29, 33-41.
- Coles, G. C., 2001. The future of veterinary parasitology. *Vet Parasitol.* 98, 31-39.
- 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 (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet Parasitol.* 44, 35-44.
- Coop, R. L., Kyriazakis, I., 2001. Influence of host nutrition on the development and consequences of nematode parasitism in ruminants. *Trends Parasitol.* 17, 325-330.
- Craig, T. M., 1993. Anthelmintic resistance. *Vet. Parasitol.* 46, 121-31.
- Drudge, J. H., Szanto, J., Wyatt, Z. N., Elam G., 1964. Field studies on parasite control in sheep: Comparison of thiabendazole, ruelene, and phenothiazine. *Am. J. Vet. Res.* 25, 1512-1518.

- Echevarria, F. A. M., 1996. Resistência anti-helmíntica. In: Charles, T. P. (Ed.). Controle de nematóides gastrintestinais em ruminantes. Juiz de Fora, Minas Gerais, pp. 53-76.
- Echevarria, F. A. M., Borba, M. F. S., Pinheiro, A. C., Waller, P. J., Hansen, J. W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: Brazil. *Vet. Parasitol.* 62, 199-206.
- EMBRAPA, 1994. Recomendações tecnológicas para a produção de caprinos e ovinos no Estado do Ceará. EMBRAPA/CNPC. Circular técnica nº9. 58 pp.
- Farias, M.T., Bordin, E.L., Forbes, A.B., Newcomb, K., 1997. A survey on resistance to anthelmintic in sheep stud farms of southern Brazil. *Vet. Parasitol.* 72, 209-214.
- Georgi, J.R. Georgi., M.E., 1990. *Parasitology for Veterinarians*. Philadelphia: Saunders, 412 p.
- Girão, E. S., Medeiros, L. P., Girão, R. N., 1992. Ocorrência e distribuição estacional de helmintos gastrintestinais de caprinos no município de Teresina, Piauí. *Ciê. Rur.* 22, 197-202.
- Hong, C., Hunt, K.R., Coles, G. C., 1996. Occurrence of anthelmintic resistant nematodes on sheep farms in England and goat farms in England and Wales. *Vet Rec.* 1996, 83-86.
- Jackson, F., 1993. Anthelmintic resistance - The state of play. *Brit. Vet. J.* 149, 123-138.
- Jackson, F., Jackson, E., Little, S., Coop, R. L., Russel, A. J. F., 1992. Prevalence of anthelmintic-resistant nematodes in fibre-producing goats in Scotland. *Vet Rec.*, 26, 282-285.
- Lanusse, C.E., 1996. Farmacologia dos compostos anti-helmínticos. In: Charles T.P. (Ed) Controle dos nematódeos gastrintestinais. Juiz de Fora, Minas Gerais, p.1-44.
- Le Jambre, L.F., Royal, W.M., Martin, P.J., 1979. The inheritance of thiabendazole resistance in *Haemonchus contortus*. *Parasitol.* 78, 107-19.
- Maingi, N., Bjorn, H., Thamsborg, S.M., Munyua, W.K., Gathumat, J.M., Dangolla, A., 1997. Worm control practices on sheep farms in Nyandarua District of Kenya. *Acta Trop.* 68,1-9.
- Maingi, N., Bjorn, H., Thamsborg, S.M., Dangolla, A., Kyvsgaard, N.C., 1996. Worm control practices on sheep farms in Denmark and implications for the development of anthelmintic resistance. *Vet Parasitol.* 66, 39-52.

- Melo, A.C.F.L., Bevilaqua, C. M. L.; Villaroel, A.S., Girão, M.D., 1998. Resistência a anti-helmínticos em nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos, no município de Pentecoste, Estado do Ceará. *Ciência Animal*, 8, 7-11.
- Oliveira, J.A.M., Braga, G.M., Dias, P.M., 1995. Avaliação da adoção das tecnologias usadas pelos criadores de caprinos e de ovinos tropicais dos estados da Bahia, Piauí, Pernambuco e Ceará. In: Encontro da Sociedade de Sistemas de produção, Londrina, Sociedade Brasileira de Sistemas de Produção, 128-147.
- Pinheiro, R. R., Gouveia, A M. G., Alves, F. S. F., Haddad, J. P. A , 2000. Aspectos epidemiológicos na caprinocultura cearense. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*.52, 534-543.
- Prichard, R. K., 1990. Anthelmintic resistance in nematodes: extent, recent understanding and future directions for control and research. *Int J Parasitol*. 20, 515-23.
- RESO, 1989. Faecal egg count reduction test (FECRT) *Analysis Program Version 2.01*. Csiro.
- Sangster, N. C., 2001. Managing parasiticide resistance. *Vet. Parasitol*. 98, 89-109.
- Smith, G., Grenfell, B. T., Isham, V., Cornell, S., 1999. Anthelmintic resistance revisited: under-dosing, chemoprophylactic strategies, and mating probabilities. *Int J Parasitol*. 29, 77-91.
- Socol, V.T., Sotomaior, C., Souza, F.P., Castro, E.A., Pessoa Silva, M.C., Milczewski, V., 1996. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná State, Brazil. *Vet Rec*. 26, 421-422.
- Terrill, T. H., Kaplan, R. M., Larsen, M., Samples, O.M., Miller, J.E., Gelaye, S., 2001. Anthelmintic resistance on goat farms in Georgia: efficacy of anthelmintics against gastrointestinal nematodes in two selected goat herds. *Vet. Parasitol*. 97, 261-268.
- Torres-Acosta, J.F., Dzul-Canche, U., Aguilar-Caballero, A.J., Rodriguez-Vivas, R.I., 2003. Prevalence of benzimidazole resistant nematodes in sheep flocks in Yucatan, Mexico. *Vet Parasitol*. 114, 33-42.
- Ueno, H., Gonçalves, P. C., 1998. Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes. 4º ed., JIICA. Tokyo, Japan. 143 pp.
- Vieira, L. S., Cavalcante, A., C. R. 1999. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 19, 99-103.
- Waller, P. J., Echevarria, F., Eddi, C., Maciel, S., Nari, A., Hansen, J.W., 1996. The prevalence of anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep in Southern Latin America: General overview. *Vet. Parasitol*. 62, 181-187.

Waller, P.J., Dash, K.M., Barger, I.A., Le Jambre, L.F., Plant, J., 1995. Anthelmintic resistance in nematode parasites of sheep: learning from the Australian experience. *Vet. Rec.* 136, 411-413.