

*Nematoda Cyathostominae* PARASITOS DE EQÜINOS NO ESTADO DO RIO DE  
JANEIRO: COMPROVAÇÃO DE RESISTÊNCIA A COMPOSTOS  
BENZIMIDAZÓIS A NÍVEL DE CAMPO.

AUGUSTO SÉRGIO WILWERTH DA CUNHA

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA  
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

Nematoda Cyathostominae PARASITOS DE EQÜINOS NO ESTADO DO RIO DE  
JANEIRO: COMPROVAÇÃO DE RESISTÊNCIA A COMPOSTOS  
BENZIMIDAZÓIS A NÍVEL DE CAMPO.

AUGUSTO SÉRGIO WILWERTH DA CUNHA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:

Dr. LAERTE GRISI

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do Grau de  
Magister Scientiae em Medicina  
Veterinária - Parasitologia Vete-  
rinária.

Itaguaí, Rio de Janeiro

Julho - 1992

TÍTULO DA TESE


Nematoda *Cyathostominae* PARASITOS DE EQÜINOS NO ESTADO DO RIO DE  
JANEIRO: COMPROVAÇÃO DE RESISTÊNCIA A COMPOSTOS  
BENZIMIDAZÓIS A NÍVEL DE CAMPO

AUTOR

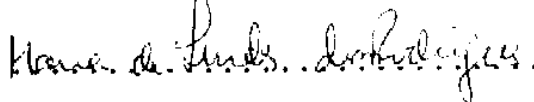
AUGUSTO SÉRGIO WILWERTH DA CUNHA

TESE APROVADA EM: 30/06/1992

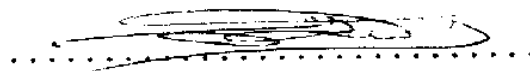
LAERTE GRISI

  
.....

MARIA DE LURDES DE AZEVEDO RODRIGUES

  
.....

NICOLAU MAUÉS DA SERRA FREIRE

  
.....

Aos meus pais

À minha esposa e filha

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Laerte Grisi pela valiosa orientação ao longo do curso.

Aos professores e colegas do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária pelos ensinamentos e pelo convívio durante o curso.

Aos funcionários da EPPWON em especial Wilson Mendes de Almeida e Ivan Serafin da Silva pela incansável ajuda nos trabalhos laboratoriais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

## BIOGRAFIA

**AUGUSTO SÉRGIO WILWERTH DA CUNHA**, filho de Lamartine Antônio da Cunha Filho e Daisy Wilwerth da Cunha, nascido a 9 de junho de 1957 no Município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, realizou seus estudos para formação básica nos seguintes estabelecimentos de ensino:

- Curso Primário na Escola de Aplicação Professor Waldemar Raite - Seropédica, Itaguaí.
- Curso Ginásial no Colégio Fernando Costa - Seropédica, Itaguaí.
- Início do Curso Colegial no Colégio Fernando Costa - Seropédica, Itaguaí.
- Conclusão do Curso Colegial em Davis Senior High School - Davis, Califórnia.

Sua formação universitária foi feita na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro de 1980 à 1985, quando se graduou Médico Veterinário.

Em 1985 exerceu a função de Veterinário de Campo do Laboratório Smith e Rline Divisão Saúde Animal em Minas Gerais.

Em 1986 exerceu a função de Veterinário de Campo do Laboratório Alfa do Brasil S/A em Mato Grosso do Sul.

Em 1987 foi Bolsista de Aperfeiçoamento do CNPq sob orientação do Prof. Dr. Laerte Grisi na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Em 1989 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária à nível de Mestrado da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob orientação do Prof. Dr. Laerte Grisi.

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO   | 1  |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA  | 5  |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS   | 37 |
| 3.1. DESCRIÇÃO DAS PROPRIEDADES                                     | 37 |
| 3.2. ANIMAIS  | 39 |
| 3.3. TRATAMENTOS ANTI-HELMÍNTICOS EMPREGADOS                        | 40 |
| 4. METODOLOGIA EMPREGADA A NÍVEL DE CAMPO E DE LABORATÓRIO          | 41 |
| 5. MÉTODO ESTATÍSTICO DE ANÁLISE EMPREGADO                          | 43 |
| 5.1. DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO USADO PARA COMPARAÇÃO<br>ENTRE LOCAIS | 44 |
| 5.1.1. Para o carater contagem de o.p.g                             | 44 |
| 5.1.2. Para o carater percentagem de o.p.g, após<br>tratamento      | 46 |



|        |  |           |
|--------|--|-----------|
| 5.2.   | DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO USADO PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS ANTI-HELMÍNTICOS   | 48        |
| 5.3.   | DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO USADO PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS DOIS TIPOS UTILIZADOS DE FENBENDAZOLE: FORMULAÇÃO EM PASTA E EM PÓ ADICIONADO AO CONCENTRADO | 49        |
| 5.4.   | DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO DO EXAME COPROCULTURA PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPOSTOS ANTI-HELMÍNTICOS   | 49        |
| 6.     | RESULTADOS   | <b>51</b> |
| 7.     | DISCUSSÃO  | 64        |
| 7.1.   | ESTUDO SOBRE A POSSIBILIDADE DE EXISTÊNCIA DE LINHAGENS RESISTENTES A COMPOSTOS BENZIMIDAZÓIS  | 64        |
| 7.1.1. | Carater contagem de o.p.g. após aplicação  | 64        |
| 7.1.2. | Análise da eficiência do fenbendazol   | 67        |
| 7.1.3. | Análise da eficácia da combinação fenbendazol + triclorfon   | 68        |
| 7.1.4. | Análise da eficiência do oxibendazol   | 69        |
| 7.2.   | CARATER PERCENTAGEM DE O.P.G. APÓS APLICAÇÃO   | 70        |
| 7.3.   | ESTUDO SOBRE A POSSIBILIDADE DA EXISTÊNCIA DE DIFERENÇAS ENTRE AS EFICÁCIAS DOS ANTI-HELMÍNTICOS TESTADOS  | 71        |

|   |    |
|---|----|
| 7.4. ESTUDO SOBRE A POSSIBILIDADE DE EXISTÊNCIA DE<br>DIFERENÇAS ENTRE AS EFICÁCIAS DO FENBENDAZOL<br>QUANDO APLICADO EM PÓ OU EM PASTA | 73 |
| 8. CONCLUSÕES   | 74 |
| 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | 76 |

## ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1 - Análises da variância entre locais, antes e após aplicação dos produtos fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol, dos dados de contagem de o.p.g, após transformação por  $\sqrt{\frac{\text{contagem} + 0,5}{}}$  51
- Tabela 2 - Número de animais utilizados em cada localidade e média do número de o.p.g, após transformação, antes e após administração dos anti-helmínticos fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol 52
- Tabela 3 - Valores dos contrastes para o caracter contagem de o.p.g, antes e após tratamento com fenbendazol 53
- Tabela 4 - Valores dos contrastes para o carater contagem de o.p.g, e DMS pelo teste de Tukey antes e após tratamento com fenbendazol + triclorfon 53

- Tabela 5 - Valores dos contrastes para o caráter contagem de o.p.g, e DMS pelo teste de Tukey antes e após tratamento com oxibendazol 54
- Tabela 6 - Análises da variância entre locais das percentagens de o.p.g, ainda presentes após tratamento fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol 54
- Tabela 7 - Número de animais utilizados em cada local e média da percentagem de o.p.g, após tratamento, avaliada em relação à o.p.g, antes do tratamento, após transformação por arco-seno  $\sqrt{\frac{V}{\%}}$  55
- Tabela 8 - Contraste das médias de locais e DMS pelo teste de Tukey para o caráter percentagem de o.p.g. após tratamento por fenbendazol, transformada em arco-seno 56
- Tabela 9 - Constantes das médias de locais e DMS pelo teste Tukey para o caráter percentagem de o.p.g, após tratamento por fenbendazol + triclorfon, transformada em arco-seno 57
- Tabela 10 - Contrastes das médias de locais e DMS pelo teste Tukey para o caráter percentagem de o.p.g, após tratamento por oxibendazol, transformada em arco-seno 58

|  |    |
|--|----|
| Tabela 11 - Médias para as comparações entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon e entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol, em relação aos caracteres contagem de o.p.g, e percentagem de o.p.g, após tratamento | 59 |
| Tabela 12 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon em relação à contagem de o.p.g, transformada por $\sqrt{\text{o.p.g.} + 0,5}$ , nos locais 1, 5 e 8                        | 60 |
| Tabela 13 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol em relação à contagem de o.p.g, transformada por $\sqrt{\text{o.p.g.} + 0,5}$ , nos locais 2, 3, 4 e 7                     | 60 |
| Tabela 14 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon em relação à percentagem de o.p.g, transformada por arco-seno, nos locais 1, 5 e 8   | 61 |
| Tabela 15 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol em relação à percentagem de o.p.g, transformada por arco-seno, nos locais 2, 3, 4 e 7                                      | 61 |

- Tabela 16 - Resultados obtidos com a aplicação do teste t para comparação entre as formas pó e pasta do fenbendazol para os caracteres contagem de o.p.g, e percentagem de o.p.g, após aplicação, após transformação dos dados 62
- Tabela 17 - Análises da variância para os caracteres contagem de o.p.g, e percentagem de o.p.g, após tratamento, após transformações dos dados, para comparação entre as formas pó e pasta do fenbendazol 62
- Tabela 18 - Resultados obtidos nos exames de coproculturas antes e após tratamento por fenbendazol 63
- Tabela 19 - Resultados obtidos nos exames de coproculturas antes e após tratamento por fenbendazol + triclorfon 63
- Tabela 20 - Resultados obtidos nos exames de coprocultura antes e após tratamento por oxibendazol 63

## **RESUMO**

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de populações de pequenos strongilídeos (Cyathostominae) resistentes ao tratamento com compostos químicos do grupo dos benzimidazóis. Para tal, foram feitos exames de fezes (o.p.g.) após os tratamentos com o objetivo de acompanhar o percentual de redução dos ovos fecais dos animais. Foram utilizados neste experimento 127 animais da raça Manga Larga Marchador pertencentes a 8 propriedades localizadas no Estado do Rio de Janeiro. Os resultados mostraram a existência de diferentes graus de resistência aos compostos fenbendazol e oxibendazol. Linhagens de pequenos strongilídeos resistentes ao oxibendazol também foram detectadas.

### **SUMMARY**

The objective of the present study was to evaluate the efficacy of benzimidazole compounds against small strongyles (Cyathostominae) parasites of horses. The study included 8 farms located in the State of Rio de Janeiro and a total of 127 horses. The following benzimidazoles anthelmintics were used: fenbendazole paste, fenbendazole powder included in feed at dose rate of 7.5 mg/kg body weight, a combination of fenbendazole and trichlorfon paste, using 7.5 mg/kg and 22.5 mg/kg body weight, respectively, and oxibendazole paste, 10.0 mg/kg body weight. The studies were based in the reduction of fecal egg counts of the horses after treatment with the different compounds and formulations. The results showed different degree of resistance of small strongyles (Cyathostominae) to fenbendazole and to oxibendazole. Field resistant strain of cyathostominae to oxibendazole were also detected.



## 1. INTRODUÇÃO

Em todas as regiões do mundo onde o cavalo e o jumento, além dos seus híbridos, são criados para quaisquer de suas aptidões zootécnicas, esses animais têm sido assinalados como frequentes hospedeiros de um variado e considerável número de nematóides pertencentes à família *Strongylidae*, responsáveis pela determinação de sérios problemas patológicos que chegam até a levar à morte alguns não tratados convenientemente e à tempo. Dentre esses parasitos se destacam por sua maior importância veterinária os chamados "grandes strongilídeos", pertencentes à sub-família *Strongylinae*, de cujo parasitismo o enorme efeito patogênico se constitui num grande estímulo às pesquisas para criação de novos anti-helmínticos, hoje utilizados em número considerável de produtos na indústria farmacêutica. *Strongylus vulgaris*; *S. edentatus* e *S. equinus* são as espécies de "grandes strongilídeos" cujo controle tem merecido por parte dos criadores de eqüinos uma permanente atenção. São parasitos do intestino grosso que alcançam a maturidade sexual no ceco e no

colon, de onde os ovos são eliminados com as fezes. As larvas de 3º estágio infestam os animais, após ingestão com a pastagem. Com tal estrutura, esse ciclo evolutivo justifica a natureza das medidas mais recomendáveis visando o controle da estrogilose, quais sejam: práticas curativas com o uso de anti-helmínticos para a eliminação dos parasitos do hospedeiro, e medidas profiláticas visando controle das reinfestações.

Outros estrogilídeos que também parasitam os eqüinos, são de importância menor do que os "grandes estrogilídeos" em termos dos efeitos patogênicos.

São eles os chamados "pequenos estrogilídeos", e pertencem a sub-família *Cyathostominae*. Estes nematóides, apesar da menor patogenicidade para os animais adultos, quando ocorrem em potros com carga parasitárias elevadas, podem causar uma enterite catarral descamativa com comprometimento do epitélio do intestino grosso, facilitando a instalação de infecções bacterianas secundárias. Esse quadro pode afetar o desenvolvimento dos potros, e conseqüentemente, a performance futura desses animais, o que representa um sério problema, uma vez que várias espécies de ciatostomíneos geralmente ocorrem em número muito elevado, podendo atingir à centenas de milhares. Examinando o conteúdo intestinal de cavalos em várias idades, OGBOURNE (1976) encontrou 1.239.000 parasitos no animal mais fortemente infectado, o que mostra a gravidade que pode representar o parasitismo pelos ciatostomíneos. Das mais de 40 espécies de ciatostomíneos já descritas, pouco mais de 10

geralmente ocorrem em grandes populações, principalmente no colon dorsal, menos frequentemente no ventral e menos ainda no ceco, onde estão presentes as formas adultas. Os ovos são também eliminados junto com as fezes, e as formas larvárias infectantes, as larvas de 3º estágio, após ingestão com os alimentos durante o pastoreio, dão início a reinfecção.

O tratamento de animais para eliminação dos "grandes strongilídeos" tem sido feito com produtos comerciais à base de um considerável número de anti-helmínticos de onde podem ser citados os benzimidazóis: cambendazol, fenbendazol, mebendazol, thiabendazol, oxfendazol, albendazol e oxibendazol. Os pró-benzimidazóis tais como o febantel e outros grupamentos químicos tais como pirantel, diclorvos, piperazina e fenotiazina.

A grande eficiência de todos esses produtos no combate aos grandes strongilídeos concorreu provavelmente para dificultar o controle dos pequenos strongilídeos, pois a repetição indiscriminada da mesma droga ano após ano sempre com bons resultados para os primeiros, resultou na instalação de um fator seletivo sobre as grandes populações de ciatostomíneos, de formas genéticas resistentes a esses anti-helmínticos. Esse mecanismo justifica a afirmação de ser a resistência aos anti-helmínticos um problema claramente regional sendo maior no hemisfério Sul do que do que no hemisfério Norte, a despeito do fato de que as regiões onde ocorrem os mais altos índices de resistência, tais como Austrália, Nova Zelândia, África do Sul e Brasil, são aquelas que em conjunto totalizam menos de 10% do

mercado mundial de produtos veterinários (JONES, 1984). Esta aparente contradição, porém, pode ser atribuída a vários fatores tais como: diferenças entre a importância das várias espécies de nematodeos afetando a produção animal e diferenças entre os modos de uso anti-helmínticos nos diferentes locais. O problema da resistência poderá ser agravado se não forem tomadas medidas corretivas adequadas principalmente no tocante à obtenção de novos produtos pelas indústrias farmacêuticas (WALLER, 1987) e no desenvolvimento de pesquisas nos países com pecuária forte, mesmo que lá não ocorram tais problemas. Deve ser assinalada a possibilidade de ocorrência de resistência aos benzimidazóis de grandes strongilídeos, já mostrada por FRENCH & KLEI (1983) em relação a espécie *Strongylus vulgaris*.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de populações de pequenos strongilídeos (Cyathostominae) resistentes ao tratamento com compostos do grupo químico dos benzimidazóis.

A revisão da literatura atual com relação ao assunto indica que populações de pequenos strongilídeos resistentes a qualquer composto benzimidazol normalmente manifesta uma resistência paralela à outros benzimidazóis, com uma exceção inexplicável ainda com relação ao oxibendazol, pertencente ao mesmo grupo químico.

A associação de anti-helmínticos benzimidazóis como organo-fosforado trichlorfon é comum em vários produtos utilizados no tratamento de eqüinos visando à remoção de larvas do díptero

*Gasterophilus* sp. parasitos de estômago. Este organofosforado também possui atividade anti-helmíntica, por isso esta associação foi avaliada no sentido de verificar sua atividade comparativamente em caso de populações de pequenos estrombilídeos resistentes à benzimidazóis.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

DRUDGE et alii (1963) estudaram o efeito antiparasitário do tiabendazol sobre nematoides em 11 eqüinos de 1 a 3 anos naturalmente infectados, assim como os efeitos tóxicos da droga sobre os animais tratados. Em cinco animais utilizados no teste, o medicamento foi administrado por sonda nasogástrica nas concentrações de 25, 50 e 100 mg/Kg de peso vivo, objetivando a identificação dos parasitos e seus estágios evolutivos, eliminados pelas fezes em intervalos de tempo após tratamento e após necrópsia. Os seis animais restantes foram usados para avaliação da toxicidade da droga administrada nas doses de 100, 300, 600 e 1.200 mg/Kg. Foi constatado que a partir de 50 mg/Kg houve eliminação de grandes e pequenos estrongilídeos e formas adultas de *Oxyuris equi* e *Probstmayria vivipara* em mais de 90%. O exame das fezes revelou a presença de grandes estrongilídeos das espécies *Strongylus vulgaris*; *S. edentatus* e *S. equinus*, e de 19 espécies de pequenos estrongilídeos de 8 gêneros diferentes.

Para a eliminação de *Parascaris equorum* a dose mínima efetiva foi de 100 mg/Kg, e *Gasterophilus intestinalis* e *G. nasalis* resistiram às doses de até 600 mg/Kg. Os testes para avaliação da toxicidade do tiabendazol mostraram, para doses de até 300 mg/Kg, ausência de efeitos, e para 600 mg/Kg, apenas uma ligeira hemoconcentração. Porém, para 1.200 mg/Kg, ocorrem claros sinais de toxicose, expressos por depressão mental, por distensão abdominal e hemoconcentração moderadas e por leucocitose.

SANTIAGO et alii (1973) avaliaram experimentalmente a eficácia anti-helmíntica do mebendazol aplicado em solução aquosa e na forma granulada em eqüinos naturalmente infectados. Em solução, foram aplicadas 1, 2 e 4 gramas do anti-helmíntico, e na forma granulada, uma mistura contendo 1 a 2 gramas. A eficiência da droga foi calculada após contagem dos helmintos eliminados e dos que foram recolhidos após necrópsia constatando-se para os grandes estrongilídeos, *Oxyuris equi* e *Probstmayria vivipara* 100% de eficiência nas duas formas de aplicação do mebendazol. Para pequenos estrongilídeos a eficácia variou de 77,8 a 98,6% para a solução aquosa e 95,1 a 97,9% para a forma granulada. Quanto ao efeito sobre os ovos os exames de fezes efetuados após 48 horas tiveram resultados negativos. Em relação a toxicidade concluíram que até para 30 gramas do produto (166 mg/Kg) não ocorriam sintomas de intoxicação.

DRUDGE et alii (1975) testaram a eficácia de diclorvos, triclorfon, butanato de triclorfon e dissulfito de carbono contra larvas de *Gasterophilus intestinalis* e *G. nasalis* durante o

período migratório na boca de eqüinos infectados experimentalmente e naturalmente. Foram obtidos 100% de eficácia para diclorvos aplicado na ração na dose de 37 mg/Kg, triclorfon aplicado por sonda estomacal na dose de 40 mg/Kg ou na ração, e butanato de triclorfon administrado por via intragástrica na dose de 43 mg/Kg, para os casos de parasitismo experimental. Contra parasitismo naturalmente adquirido em eqüinos houve elevada eficácia para o diclorvos administrado oralmente na dose de 36 mg/Kg, mas o dissulfito de carbono administrado por sonda estomacal na dose de 2,4 mg/45,45 Kg foi ineficaz.

Testes sobre a atividade anti-helmíntica do cambendazol administrado sob três diferentes formas foram conduzidas por DRUDGE et alii (1977) em 21 eqüinos naturalmente infectados, sendo seis com droga em suspensão aplicada por tubo estomacal, três na dose 10 mg/Kg e três na dose de 20 mg/Kg; oito com o produto em forma de pasta oferecido pela boca; e sete receberam o produto sob forma de "pellets" na ração na dose de 20 mg/Kg. Os testes consistiram na determinação dos pequenos parasitos eliminados nas fezes (pequenos strongilídeos), *Oxyuris equi* imaturos e *Probstmayria vivipara*) além de grandes helmintos (ascarídeos, grandes strongilídeos e *Oxyuris equi* maduros). Foi feita a contagem de ovos e de larvas no dia do tratamento e na necrópsia efetuada 5 a 6 dias após tratamento. Foi concluído que a atividade anti-helmíntica do cambendazol era semelhante para as três formas e para as doses usadas, tendo havido remoção de 100% de *Parascaris equorum* e de *Oxyuris equi* maduros; de 82 a 100%



para *Strongylus vulgaris*; de 80 a 100% para *S. edentatus*; de 85 a 90% para pequenos estrongilídeos; de 79 a 100% para *Oxyuris equi* imaturos e de 99% para *Probstmayria vivipara*. Sinais de toxicose não foram observados.

A prevalência de nematoides Cyathostominae foi estudada por OGBOURNE (1976) com base no exame do conteúdo intestinal de eqüinos sacrificados na Inglaterra de 1972 a 1974, tendo sido encontrados adultos de *Cylicostephanus longibursatus*; *C. goldi*; *C. calicatus*; *C. catinatum*; *C. coronatum* e *C. nassatus* em mais de 80% dos animais, enquanto que outras 12 espécies foram observadas em menos de 30%. Foi determinada a época do ano de mais alta e de mais baixa ocorrência dos parasitos, e a composição da fauna de ciatostomíneos em cada região do intestino grosso. As espécies mostraram locais característicos na sua distribuição no intestino, sendo onze detectadas ocorrendo predominantemente no colon ventral, oito no colon dorsal e duas no ceco. Foi também observada mudança sazonal dos locais de distribuição.

O efeito anti-helmíntico do oxibendazol administrado por via oral nas doses de 5, 10, 15 e 20 mg/Kg, foi estudado por NAWALINSKI & THEODORIDES (1976) em 20 poneis infectados por parasitos gastrintestinais, pelo exame de fezes desde o tratamento até a necrópsia. Essas quatro diferentes doses foram aplicadas em cada um dos 5 animais, sendo estimado em cada um e para o grupo todo, a eficiência da droga por meio da percentagem de parasitos expelidos em cada espécie observada nas fezes. Foi constatado para *Strongylus edentatus*, *S. equinus* e *S. vulgaris*

eficácias de 92 a 100% para as doses de 10, 15 e 20 mg/Kg. Para pequenos estrombilídeos dos grupos *Cyathostomum*, *Cylicocyclus*, *Cylicodontophorus* e *Cylicostephanus*, a eficiência foi de 99%. Para *Oxyuris equi* foram removidos pela droga todos os adultos e 95 a 100% das larvas. Para a dose de 5 mg/Kg ocorreu uma remoção entre 86 a 100% dos grandes estrombilídeos e 84 a 100% dos pequenos estrombilídeos. A droga não demonstrou atividade para os estágios larvais de *Gasterophilus intestinalis* e contra os nematóides *Habronema* sp e *Setaria equina*.

A atividade ovicida de benzimidazóis sobre ovos de nematoides resistentes e susceptíveis a esses anti-helmínticos foi estudada por COLES & SIMPKIN (1977) que mostraram a possibilidade do uso da detecção de resistência nos ovos como forma de reconhecimento da presença de nematóides resistentes parasitando os animais. Foram determinadas as concentrações mínimas de thiabendazol, cambendazol, mebendazol, parabendazol e oxibendazol, necessárias para determinar 50% de inibição do desenvolvimento embrionário dos ovos de *Trichostrongylus colubriformis*; *T. axei*; *Ostertagia circumcincta*, *O. ostertagi*, *Cooperia oncophora*, *Haemonchus contortus* e *Nematodirus spathiger*. Foram também calculadas as concentrações mínimas de thiabendazol, cambendazol, mebendazol e parabendazol para determinar 50% de inibição em ovos de *H. contortus* e *T. colubriformis* sensíveis e resistentes aos benzimidazóis, concluindo-se que para *H. contortus* as concentrações desses 4 produtos sobre a forma resistente era de 9, 7, 2 e 3 vezes maior do que para a forma

sensível, e que para *T. colubriformis* era de 6, 6, 4 e 7 vezes maior, respectivamente. DRUDGE & LYONS (1977) publicaram uma avaliação pormenorizada do chamado "Critical Test Method" (Teste Crítico) para a avaliação da eficácia de drogas contra parasitos do tubo digestivo de eqüino. Por definição o teste implica em que o animal servirá como seu próprio controle, sendo da responsabilidade do investigador à detecção do efeito da droga ministrada, na eliminação dos parasitos presentes no intestino, análise da natureza da infestação e o estudo do efeito que o agente quimioterápico possa exercer sobre o estado normal do animal. Foi enfatizado que a atividade anti-parasitária detectada pelo teste crítico envolve as seguintes observações: 1) determinação da natureza dos parasitos atingidos pela droga; 2) cálculo da eficácia da droga na remoção dos parasitos eliminados pelas fezes; 3) análise das características ou padrão exibido pelo material parasitário eliminado após o tratamento; e 4) exame das condições físicas dos parasitos eliminados e encontrados durante a necrópsia. Para a aplicação do "teste crítico", devem ser consideradas entre outros, os seguintes critérios: número de testes conduzidos; possibilidade de existência de variação de linhagens ou de linhagens resistentes; escolha dos animais para os testes; determinação sistemática das espécies parasitas encontradas; contagem das espécies recolhidas; condições mínimas para eficiência das drogas; outras espécies não detectadas nas fezes.

DRUDGE et alii (1978) compararam a eficácia

antihelmíntica do febantel em pasta com a dessa droga associada a pasta de triclorfon. No teste usando apenas o febantel verificaram-se completa eliminação de *Parascaris equorum* de 2 eqüinos; de *S. vulgaris* de 4 animais e de *S. edentatus* de 5 animais infectados. Pequenos estrogilídeos removidos na proporção de 96% de um animal testado. Estágios imaturos de *O. equi* não foram encontrados em um animal testado e não foram afetados em 5 eqüinos infectados.

Em 5 animais tratados com os dois produtos verificaram-se eliminação de 100% de *P. equorum* de dois animais, *P. equorum* imaturos de um animal, *S. vulgaris* e *S. edentatus* de cinco animais, *O. equi* maduros de dois animais, *O. equi* imaturos de um animal, larvas de 2º estágio de *Gasterophilus intestinalis* de um animal. A remoção de pequenos estrogilídeos foi de 98% em um animal testado e de 65 a 100% das larvas de 3º estágio de *G. intestinalis* em 5 animais.

A eficiência do oxfendazol contra nematoides parasitas do eqüino foi estudada por DUNCAN & REID (1978). Os animais utilizados no teste foram 16 poneis criados em pastagens naturais desde o nascimento e que nunca tinham recebido qualquer tratamento anti-helmíntico. Antes do tratamento foi feito um exame de fezes de cada animal para pesquisa de ovos de estrogilídeos e ascarídeos, sendo usado um grupo de 6 animais como controle, outro grupo com 5 eqüinos receberam através de sonda nasogástrica 10 mg/Kg de oxfendazol e os 5 animais restantes, foram medicados com a dose de 50 mg/Kg. Foi feita a

contagem de ovos de estrogilídeos e ascarídeos antes e 14 dias após o tratamento e, de amostras colhidas na necrópsia. Foram efetuadas as contagens dos nematóides adultos de *S. vulgaris*, das lesões provocadas pela migração de formas larvares, de *S. edentatus*, de *Trichostrongylus axei*, de *Oxyuris equi* e de *Parascaris equorum* em cada animal dos três grupos, tendo concluindo que, para as duas doses empregadas houve completa eliminação de *T. axei*, *P. equorum*, *O. equi* e adultos de *S. vulgaris*. As larvas de *S. edentatus* encontradas no tecido sub-peritonal estavam mortas, ocorrendo ainda menor quantidade nas lesões arteriais causadas pela migração das larvas de *S. vulgaris*. O mínimo de eficiência para a dosagem de 10 mg/Kg contra adultos de pequenos estrogilídeos foi de 99,8% e contra larvas de pequenos estrogilídeos foi de 97,6%. Para a dosagem de 50 mg/Kg esses valores foram de 99,1 a 100%.

DRUDGE et alii (1979) testaram a eficiência anti-helmíntica de seis benzimidazóis, sendo eles thiabendazol, mebendazol, cambendazol, fenbendazol, oxibendazol e oxfendazol, administrados por sonda, naso-esofageana, exceto uma das duas formas de cambendazol utilizadas a qual foi aplicada sob forma de pasta por via oral. As doses desses produtos foram de 44 mg/Kg; 8,8 mg/Kg; 20 mg/Kg e 10 mg/Kg para os três últimos compostos, respectivamente. Utilizando-se contagens de ovos e larvas antes e após tratamento concluiu-se que apenas o oxibendazol de todos os medicamentos testados teve 100% de eficiência na supressão da eliminação de ovos nas fezes, tendo a redução nos demais variado

de 39 a 93%, sendo que também foi o único a eliminar completamente as larvas dos pequenos strongilídeos constatando-se para os demais variações de 40 a 98%. Todas as drogas atingiram 100% de eficácia na eliminação dos grandes strongilídeos (*S. vulgaris* e *S. edentatus*), porém com relação aos pequenos strongilídeos (*Cyathostomum catinatum*, *C. coronatum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus goldi* e *C. longibursatus*) observaram a resistência em vários graus para todas as drogas, exceto ao oxibendazol.

HOPE & KEMP (1980) assinalaram a ocorrência de uma aparente resistência ao fenbendazol quanto ao seu efeito sobre espécies de *Trichonema* (*Cyathostominae*). O exame das fezes de cinco potros tratados com fenbendazol na dosagem de 10 mg/Kg revelou no dia do tratamento presença elevada de ovos de strongilídeos a qual se manteve igualmente elevada 7 dias após o tratamento. Os mesmos animais tratados com tartarato de morantel e examinados 7 dias após o tratamento revelaram ausência completa de ovos em 4 dos cinco animais e grande redução no último, de todos o mais infectado. Tais resultados que poderiam ocorrer pela presença de resistência, também poderiam ser explicados de outros modos, tais como: a) novas posturas dos nematódeos, os quais estavam temporariamente suprimidas pelo anti-helmíntico; b) nematódeos que completaram a migração e chegaram a maturidade após o tratamento; c) nematódeos no estado de hipobiose que retornaram ao desenvolvimento e iniciaram a postura após o tratamento; d) presença de ovos esterilizados pelo anti-

helmíntico e que continuam a ser eliminados 7 dias após o tratamento. Para prevenir a seleção de formas resistentes deve-se recomendar tratamento alternativo de diferentes benzimidazóis em lugar do mesmo por período prolongados.

WHITLOCK et alii (1980) descreveram um método para detecção da presença de tricostrongilídeos do carneiro e de estrongilídeos do cavalo com resistência ao benzimidazol. Os ovos são recolhidos de fezes frescas por flutuação em solução açucarada sendo em seguida incubados por 20-24 horas à temperatura de 27-30°C em solução de thiabendazol em água destilada na diluição de 0,1 a 1,1 ppm para os tricostrongilídeos de ovinos e de 0,05 a 0,5 ppm para os estrongilídeos de eqüinos. Os ovos de helmintos susceptíveis raramente eclodem em solução de thiabendazol a 0,1 ppm mas os resistentes eclodirão a 0,1 ppm e maiores concentrações.

KINGSBURY & REID (1981) estudaram a atividade anti-helmíntica no cavalo do oxfendazol sob a forma de pasta e em solução. Os animais utilizados foram divididos em grupos de cinco por meio dos pesos e das contagens de ovos fecais. A um dos grupos foi administrada a droga por sonda estomacal; ao outro, em pasta pela boca e o terceiro foi mantido como controle. A dose de oxfendazol aplicada foi de 10 mg/Kg e os animais foram mantidos presos alimentando-se de feno até serem sacrificados de 11 a 15 dias após o tratamento. Foram colhidos os ovos das amostras de fezes obtidas 18 e 24 horas após o tratamento. Na necrópsia todo o aparelho digestivo foi examinado para identificação das

espécies presentes. Verificou-se que 100% dos adultos de *Parascaris*, *Oxyuris*, *Strongylus edentatus*, *S. vulgaris*, *Triodontophorus* e *Trichostrongylus axei* foram eliminados. Com relação aos adultos de pequenos estrogilídeos, *Habronema microstoma* e *Oxyuris equi* imaturos a eliminação foi de 96 a 99%. A eficácia contra pequenos estrogilídeos imaturos foi de 74 a 75%, contra larvas de quarto estágio de *S. vulgaris* nas artérias mesentéricas foi de 83 a 88%, e contra quarto estágio de *S. edentatus* em lesões do flanco, foi de 97 a 99%. As larvas com bainha quinto estágio de *S. vulgaris* nas artérias foram menos susceptíveis. A droga falhou na remoção de *Parascaris* muito jovens e de *Habronema* e não teve qualquer efeito contra *Anaplocephala perfoliata*, *Gasterophilus intestinalis* e *G. nasalis*. O teste de eclosão dos ovos revelou que ocorreu esterilidade apenas após 24 horas do tratamento.

WEBSTER et alii (1981) constataram em eqüinos naturalmente parasitados por estrogilídeos resistentes a benzimidazol, a presença de resistência e de susceptibilidade a compostos não-benzimidazóis. Os animais usados no estudo eram portadores de populações de pequenos estrogilídeos resistentes ao benzimidazóis, o que já se evidenciara pela falha de prévios tratamentos com essas drogas na redução dos ovos eliminados e pelos resultados de testes *in vitro*. Todos os animais tinham sido por vários anos tratados com cambendazol em pasta a cada 8 a 12 semanas. Os 42 animais utilizados foram divididos em 6 grupos que, além do controle, receberam os seguintes tratamentos anti-



helmínticos: mebendazol, febantel, febantel e triclorfon, tartarato de morantel ou a combinação de thiabendazol, piperazina e triclorfon. Foi constatada significativamente redução das contagens de ovos nas fezes, 20 dias após o tratamento por tartarato de morantel e pela mistura thiabendazol/piperazina/triclorfon. Os produtos mebendazol, febantel e a combinação febantel mais triclorfon falharam na redução das contagens de ovos nas fezes (OPG). Neste casos de falha do produto foi constatado que estavam envolvidos pequenos estrogilídeos da sub-família Cyathostominae. Nos grupos onde ocorreu essa falha os animais receberam novo tratamento com tartarato de morantel ou haloxon, constatando-se agora alta eficiência dos dois produtos na redução do número de ovos por grama de fezes em comparação com o grupo controle. Finalmente foram usados 54 animais infectados com pequenos estrogilídeos resistentes aos benzimidazóis em um teste com 10 grupos que receberam, os seguintes anti-helmínticos: thiabendazol, cambendazol, mebendazol, oxibendazol, piperazina, thiabendazol/piperazina, cambendazol/piperazina, mebendazol/piperazina ou oxibendazol/piperazina. Vinte 20 dias após os tratamentos foram observadas reduções altamente significativa nas contagens de ovos por grama de fezes nos grupos medicados com oxibendazol, piperazina e em todas as combinações benzimidazol/piperazina, enquanto os animais medicados com thiabendazol, cambendazol e mebendazol apresentaram pouca ou nenhuma redução dos OPG.

DRUDGE et alii (1981) conduziram dois testes com

fenbendazol em potros naturalmente infectados. Os 7 animais tratados permaneceram juntos com 7 não tratados. O primeiro teste, realizado em junho de 1977 e novamente em julho de 1977 constou da aplicação da droga por sonda gástrica, na dose de 50 mg/Kg constatando-se redução de 99 e 86% na contagem dos ovos 7 dias após o tratamento, respectivamente. Nos dois grupos controle não houve redução. Com outros 62 potros divididos em 7 grupos, mantendo-se um grupo como controle, foi aplicado oralmente oxibendazol na dose de 10 mg/Kg, o primeiro em agosto de 1976 e os demais em maio e outubro de 1977 e março, maio e junho de 1978. Nestes testes observou-se redução de 100% nas contagens de ovos nas fezes, em cinco ocasiões e redução de 81% em outra, tendo o grupo controle mostrado redução natural de 44%.

Resistência de estrongilídeos de eqüinos à anti-helmínticos benzimidazóis foi estudada por KELLY et alii (1981) na Austrália em termos de freqüência, de distribuição geográfica e a relação da ocorrência com o modo de criação e com o uso de anti-helmínticos. As espécies envolvidas no trabalho foram identificadas como pequenos estrongilídeos da sub-família Cyathostominae. O estudo incluiu 343 eqüinos distribuídos por diversas regiões do país, concluindo-se pela ausência de associação entre localização geográfica e ocorrência de resistência ao benzimidazol. Foi também constatada uma correlação direta entre ocorrência de resistência e freqüência do uso de anti-helmínticos benzimidazóis. O exame das práticas de manejo mostrou que a resistência não é um problema importante nas

propriedades que utilizam diferentes anti-helmínticos em programas sucessivos, tais como combinações de benzimidazóis com piperazina e organofosforados.

HERD et alii (1981) conduziram em duas propriedades testes para avaliação de pró-benzimidazóis (febantel), benzimidazóis (cambendazol, fenbendazol e mebendazol) e não-benzimidazóis (fenotiazina/piperazina/dissulfito de carbono, dichlorvos e pamoato de pirantel) como drogas anti-helmínticas para eqüinos. O delineamento experimental adotado foi o de quadrados latinos 5 x 5 com éguas e 4 x 4 com potros, com o objetivo de ajustar os efeitos de tratamento com diferentes drogas em diferentes grupos de animais, em diferentes épocas do ano. Na fazenda 1 foi feito um estudo preliminar com fêmeas tratadas com dichlorvos, fenbendazol, mebendazol e pamoato de pirantel enquanto os potros receberam cambendazol, fenbendazol, mebendazol e pamoato de pirantel. No estudo principal as fêmeas da fazenda 1 foram tratados com dichlorvos, febantel, fenbendazol, fenotiazina/piperazina/dissulfito de carbono e pamoato de pirantel, enquanto os potros na fazenda 2 receberam febantel, fenbendazol, fenotiazina-piperazina-dissulfito de carbono e pamoato de pirantel. Na fazenda 1 onde os animais já eram tratados por 14 anos com benzimidazóis, as drogas não-benzimidazóis apresentaram de 83 a 100% de eficácia na diminuição dos OPG para valores abaixo de 50 por grama de fezes a qual foi significativamente superior à do pró-benzimidazol (febantel) ou dos benzimidazóis (cambendazol, fenbendazol e mebendazol) cujos

índices foram de 13 a 58%. A combinação de fenotiazina/piperazina/dissulfito de carbono apresentou índices de 60 a 77% sendo também significativamente superior a do pró-benzimidazol e aos benzimidazóis. Na fazenda 2 onde o uso das drogas antes do ensaio fora limitado, não houve diferença significativa entre as três classes de anti-helmínticos, cujos índices variaram de 67 a 100%. Em todos os grupos de eqüinos, independentemente dos compostos químicos empregados, ocorreram aumentos nas contagens de ovos por grama de fezes a partir de seis semanas após os tratamentos.

O efeito do cambendazol administrado na dose de 20 mg/Kg em grupos de eqüinos durante várias épocas do ano de 1974 a 1978, foi estudado por DRUDGE et alii (1983). A eficiência do tratamento foi avaliada pela contagem de ovos fecais antes e após o tratamento repetido 3 vezes ao ano e portanto em cada intervalo entre tratamentos. De cada animal era colhida uma amostra de fezes para contagem dos ovos no dia do tratamento e entre 7 a 10 dias após. Para os primeiros tratamentos a redução na contagem de ovos variaram de 92 a 96%. No nono tratamento esse índice baixou para 70%, no décimo, para 35% e no décimo segundo, para 28%. Nos tratamentos seguintes a redução variou de 0 a 38%. Testes em animais no 3º ano revelaram ter ocorrido completa eliminação dos grandes strongilídeos (*Strongylus vulgaris* e *S. edentatus*) e que cinco espécies de pequenos strongilídeos (*Cyathostomum catinatum*, *C. coronatum*, *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus* e *C. minutus*) mostravam algum grau de resistência,

e que 11 espécies de pequenos estrogilídeos eram altamente susceptíveis. *Cylicostephanus minutus* mostrou de início resistência ao benzimidazol, enquanto que *Cylicostephanus goldi*, já reconhecido em outras populações como resistentes, foi susceptível ao cambendazol. O uso do dobro da dose não aumentou a eficiência contra espécies de pequenos estrogilídeos resistentes ao cambendazol mas o uso do quádruplo da dose removeu 93% dos pequenos estrogilídeos resistentes.

EYSKER et alii (1983) estudaram o efeito da alternância do uso das pastagens por eqüinos como meio de controle de helmintíases gastrointestinais no cavalo. Seis fêmeas infectadas naturalmente por *Nematodius* foram divididos em dois grupos de 3 animais que foram levados para dois pastos semelhantes usados no ano anterior por vacas. Todos os animais foram tratados em 1° de julho de 1981 com 20 mg/Kg de cambendazol em pasta. Um dos grupos foi mantido no mesmo pasto mas o outro foi removido no mesmo dia à outro que tinha sido usado por seis ovelhas e seus 11 cordeiros de abril a julho de 1981. As ovelhas não tinham sido tratadas com anti-helmínticos após o parto. Os três eqüinos removidos receberam 5,0 a 7,5 mg/Kg de fenbendazol antes da remoção para o 2° parto. Em 28 de setembro os eqüinos foram estabeulados em condições de prevenir posterior infecção por estrogilídeos, sendo necropsiados 9 semanas após. A contagem das larvas na pastagem e dos helmintos mostrou que o grupo removido tinha adquirido carga menor de helmintos das sub-famílias Cyathostominae e Strongylinae, mas carga consideravelmente maior

de *Trichostrongylus axei* do que o grupo mantido na mesma pastagem. A infecção por *T. axei* no grupo removido causou um aumento do nível de pepsinogênio no plasma dentro de duas semanas após a remoção, seguida de um acréscimo gradual. Na necrópsia, a população do *T. axei* consistia quase que exclusivamente de larva do 3º estágio inibidas.

GRIFFIN et alii (1983) avaliaram em dois testes a eficiência de tratamentos anti-helmínticos em eqüinos parasitados por cyathomíneos resistentes à benzimidazóis. No primeiro ensaio foram utilizados 28 animais, dos quais 6 seriam usados como controle e os restantes nos testes com anti-helmínticos. Os testes de eclosão *in vitro* revelaram presença de ovos de cyathostomíneos com nível relativamente alto de resistência aos benzimidazóis (maior do que 0,15 ppm ao thiabendazol). Seis dias após os tratamento os animais foram divididos em 4 grupos com 7, 7, 8 e 6 animais, respectivamente, recebendo os do primeiro grupo 6 mg/Kg de febantel, os do segundo, 40 mg/Kg de piperazina, administrada por sonda gástrica em solução aquosa, e os do terceiro, uma mistura de 6 mg/Kg de febantel e 40 mg/Kg de piperazina. Febantel e a mistura febantel/piperazina foram administrados em pasta. Os resultados obtidos 9 e 14 dias após tratamento revelaram redução de 97,7 e 99,2 para os OPG nos animais tratados com piperazina e com a mistura, sendo não significativa a diferença entre as contagens do grupo que recebeu febantel (34,6%) e o grupo controle (22,3%). No segundo teste 7 animais receberam tartarato de morantel, e 7 receberam uma

mistura de febantel/piperazina ocorrendo reduções nos OPG, de 99,1 e 97,2% respectivamente.

DRUDGE et alii (1984) aplicaram testes para estimar a eficiência de vários anti-helmínticos contra pequenos strongilídeos da população B revelada como resistente ao thiabendazol, mebendazol, cambendazol, fenbendazol e oxfendazol mas susceptível ao oxibendazol. Foram utilizados no ensaio 10 potros criados na pastagem contaminada por animais portadores da população B resistente à benzimidazóis. Para a condução do teste os animais foram levados da pastagem para cocheira, sem receber qualquer anti-helmíntico antes da administração das drogas em teste. As drogas testadas foram: oxidendazol na dose de 10 mg/Kg (um potro); albendazol na dose de 10 mg/Kg (um potro); thiabendazol na dose de 44 mg/Kg em mistura com triclorfon na dose de 40 mg/Kg (um potro); tiabendazol na dose de 44 mg/Kg em mistura com piperazina na dose de 55 mg/Kg (um potro); febantel na dose de 6 mg/Kg (3 potros), dose de 12 mg/Kg (um potro) e de 24 mg/Kg (um potro) e pamoato de pirantel na dose de 6,6 mg/Kg de pirantel base (um potro). Os grandes strongilídeos *Strongylus vulgaris* e *S. edentatus* foram completamente eliminados por todos os tratamentos. As espécies de pequenos strongilídeos *Cyathostomum catinatum*; *C. coronatum*; *Cylicocyclus nassatus*; *Cylicostephanus goldi* e *C. longibursatus* já admitidas como resistentes ao tiabendazol, mebendazol, cambendazol, fenbendazol e oxfendazol e susceptível ao oxibendazol, a mistura thiabendazol/piperazina, ao febantel na dose de 24 mg/Kg, e ao

pamoato de pirantel. Essas 5 espécies foram resistentes ao febantel na dose de 6 mg/Kg em três potros, e *Cylicostephanus minutus* foi também resistente em dois dos três potros tratados por febantel na dose de 6 mg/Kg. Na dosagem de 12 mg/Kg o febantel mostrou um aumento na eliminação destas 5 espécies atingindo 88% para *Cylicostephanus minutus*. A mistura tiabendazol/triclorfon foi relativamente ineficiente contra *Cyathostomum catinatum*, *C. coronatum* e *Cylicostephanus longibursatus*, mas inesperadamente eficiente (86 a 99%) para *Cylicocyclus nassatus* e *Cylicostephanus goldi*. Uma remoção consistentemente efetiva de pequenos estrogilídeos imaturos foi observada apenas para a mistura tiabendazol/piperazina, febantel (24 mg/Kg) e pamoato de pirantel.

A prevalência de pequenos estrogilídeos resistentes aos benzimidazóis foi avaliada na Pensilvania (U.S.A) por UHLINGER & JOHNSTONE (1985) em 342 eqüinos classificados em 5 categorias de acordo com o histórico prévio de uso de anti-helmínticos. O grupo 1 continha 159 eqüinos que vinham sendo tratados 6 vezes por ano com benzimidazóis sem preocupação em alternar com produtos não-benzimidazóis. O grupo 2 incluía 64 eqüinos que também tinham sido tratados por 6 vezes ao ano com alternância do uso de benzimidazóis e não-benzimidazóis. No grupo 3, 68 eqüinos tinham sido tratados de 3 a 4 vezes ao ano, dois dos quais com produtos benzimidazóis, sem obedecer qualquer alternância dos produtos aplicados. O grupo 4 era constituído por 31 eqüinos tratados uma vez ao ano por um produto benzimidazol, alguns dos quais tinham



recebido um tratamento adicional com composto não-benzimidazol. O grupo 5 era formado por 20 pôneis cujo passado em termo de uso de anti-helmínticos era desconhecido. Os animais desses 5 grupos foram mantidos em estábulos e submetidos a tratamentos com os anti-helmínticos: tiabendazol, mebendazol, fenbendazol, cambendazol e oxfendazol. Produtos não-benzimidazóis e combinação benzimidazol/piperazina foram depois usados para comparação em termos de eficácia com os benzimidazóis. O composto não-benzimidazol empregado foi o pamoato de pirantel e uma combinação de piperazina/dissulfito de carbono/fenotiazina. As combinações benzimidazol/piperazina usadas foram tiabendazol/piperazina e mebendazol/piperazina.

No 1º grupo mostraram-se ineficientes na redução do OPG, o mebendazol, fenbendazol, tiabendazol, oxfendazol e o cambendazol e apresentaram uma eficácia de 93 a 100% a combinação piperazina/dissulfito de carbono/fenotiazina, o pamoato de pirantel, a combinação mebendazol/piperazina e a combinação tiabendazol/piperazina. No 2º grupo constatou-se a ineficácia do mebendazol, e sendo 100% eficazes os tratamentos com pamoato de pirantel e com a combinação piperazina/dissulfito de carbono/fenotiazina. No 3º grupo foram ineficazes o fenbendazol, oxfendazol, mebendazol e o cambendazol, e eficazes o pamoato de pirantel, a combinação piperazina/dissulfito de carbono/fenotiazina e a combinação mebendazol/piperazina (93 a 100%). No 4º grupo de equinos todas as drogas testadas foram eficazes sendo elas o cambendazol, mebendazol, pamoato de pirantel e fenbendazol

(87 a 100%). No 5º grupo de animais o mebendazol e o pamoato mostraram uma eficácia na redução do OPG que variou entre 91 a 100%. Portanto, dos 16 testes efetuados no 1º grupo de eqüinos, 6 foram eficazes e 10 ineficazes. No 2º grupo de eqüinos dos 7 testes 4 mostraram eficiência e 3, ineficiência. No 3º grupo, dos 8 ensaios efetuados, 4 foram eficazes e 4 foram ineficazes. As populações de pequenos strongilídeos estabelecidas nos eqüinos do 4º e do 5º grupo mostraram elevada sensibilidade a todos os compostos ou composição de compostos empregados.

UHLINGER et alii (1986) avaliaram por dois diferentes métodos a eficácia do oxibendazol na supressão de ovos de pequenos strongilídeos em amostras fecais de eqüinos parasitados por pequenos strongilídeos resistentes aos benzimidazóis. Por um período de 5 anos antes do início dos ensaios, o rebanho vinha recebendo de 5 a 6 tratamentos por ano, com thiabendazol, cambendazol, e mebendazol, além de tratamentos ocasionais com fenbendazol. No mesmo período os animais tinham sido tratados por pamoato de pirantel e com a combinação fenotiazina/piperazina/bissulfito de carbono. Pelo método 1 a eficácia das drogas foram comparadas pela modificação das médias geométricas das contagens de ovos nas fezes antes e três semanas após tratamento. Pelo método 2, a eficiência das drogas foi avaliada de 0 a 100% com base na capacidade de reduzir as contagens abaixo de 200 ovos por grama de fezes em todos os animais do grupo após uma semana e após quatro semanas do tratamento, usando a fórmula:

$$\text{Eficiência} = \frac{N1 (<200) + N4 (<200)}{N1 (\text{total}) + N4 (<200)} \times 100$$

N1 (<200) - o nº de animais com menos de 200 opg após a 1ª semana

N4 (<200) - o nº de animais com menos de 200 opg após a 4ª semana

N1 (total) - o número de animais examinados.

A primeira parte do trabalho constou da aplicação por sonda nasogástrica de mebendazol, thiabendazol, cambendazol, oxfendazol e fenbendazol. A contagem dos ovos nas fezes foi feita 4 semanas após o tratamento e a contagem das larvas em culturas, duas semanas após a administração do mebendazol e do thiabendazol. Concluiu-se que nenhuma das drogas foi eficaz na redução da média geométrica da contagem dos ovos, tendo essa eficácia variado de 0 a 25%.

A segunda parte do trabalho constou da determinação da eficácia do oxibendazol em comparação com o thiabendazol e cambendazol. Além desses três tratamentos foi utilizado um grupo testemunha. A eficácia do oxibendazol foi de 94%, e do thiabendazol apenas foi de 10% e do cambendazol e do grupo testemunha, 0%.

BAUER et alii (1986) estudaram a prevalência e o controle de pequenos estrogilídeos resistentes aos benzimidazóis em 14 criações de cavalos puro sangue em 5 Estados da Alemanha, de maio a setembro de 1984. Os anti-helmínticos foram aplicados em formulações em pasta introduzida pela boca por meio de uma seringa, sendo eles o cambendazol, febantel, pamoato de pirantel,

oxibendazol e ivermectin, todos produtos comerciais. Ciatostomíneos resistentes aos benzimidazóis foram encontrados em todas as criações. Pamoato de pirantel, oxibendazol e ivermectin reduziram o OPG em 97 a 100% na segunda semana após tratamento, mas após 6 semanas do tratamento a redução dos ovos eliminados nas fezes diminuiu em 67,8% com pamoato de pirantel e para 51,2% com oxibendazol, enquanto a ivermectin manteve a redução ao nível de 98,2%.

BATISTA NETO (1987) estudou o efeito do fenbendazol, ivermectin e oxibendazol na eliminação de ciatostomíneos pelas fezes. Foram usados na pesquisa 40 éguas cujos graus de infecção helmíntica foram comprovados pelo OPG e por coproculturas. Fenbendazol na dose de 7,5 mg/Kg foi administrado em 20 animais e ivermectin na dose de 0,2 mg/Kg nos restantes usando-se os produtos sob forma de pasta por via oral. Dos animais tratados com o fenbendazol foram tomados 10 para a segunda etapa do trabalho incluindo-se nesse grupo outros dois ainda não tratados. Separados em dois lotes de 6 animais, ao primeiro foi novamente administrado fenbendazol na mesma dose, e ao segundo, oxibendazol em pasta na dose de 10 mg/Kg por via oral. Três semanas após, os 6 animais tratados com fenbendazol receberam ivermectin após o que foram mantidos em baias para coleta e exame de fezes. Foi concluído que a aplicação freqüente de barzimidrezóis provocou a seleção de linhagens de pequenos estrogilídeos resistentes ao fenbendazol, enquanto o oxibendazol apesar de ser também um composto benzimidazol, demonstrou uma elevada eficácia na remoção

dos pequenos strongilídeos resistentes ao fenbendazol, o mesmo acontecendo com o ivermectin que removeu os pequenos strongilídeos: eliminou *Cylicocyclus nassatus*, *Cylicostephanus longibursatus*, *Cyathostomum poteratum*, *C. catinatum* e *C. coronatum*.

WALLER (1987) fez uma aprofundada discussão sobre os fatores que influenciam na manifestação da resistência anti-helmíntica como um dos mais importantes problemas que dificultam o controle dos nematóides parasitos dos herbívoros. No trabalho foi focalizada a importância que representa o controle de pequenos strongilídeos, de larga distribuição nas fazendas de criação de eqüinos, embora os danos por eles causados sejam muito menores do que os dos grandes strongilídeos. O controle daqueles tem sido conseguido com sucesso pela mudança dos anti-helmínticos usados e práticas de manejo. Contudo, a possibilidade de resistência aos benzimidazóis pelas espécies altamente patogênicas como o *Strongylus vulgaris* pode se tornar sério problema para o futuro. Foi também discutida a importância da freqüência com que os anti-helmínticos são aplicados para evitar a seleção de populações resistentes, assim como a conveniência de estudos sobre as dosagens mais eficientes, e o emprego de práticas mais adequadas de manejo, bem como o levantamento da distribuição de populações resistentes.

RYAN et alii (1987) estudaram na Escócia a resistência de pequenos strongilídeos ao fenbendazol em eqüinos criados permanentemente em pastagens por dois anos, recebendo

regularmente anti-helmínticos em períodos de 4 a 12 semanas. Fenbendazole foi empregado freqüentemente embora, em algumas ocasiões, o mebendazol e o pirantel, e em uma só vez, o ivermectin. De 14 pôneis selecionados do grupo de animais foram tomadas amostras de fezes para contagem de ovos de pequenos estrogilídeos para servir como processo para a escolha das repetições. Dentro de cada repetição os animais escolhidos ao acaso receberam fenbendazol na dose de 7,5 mg/Kg ou ivermectin na dose de 200 µg/Kg, ambos administrados por via oral. As contagens de ovos nas fezes foram feitas 14 dias antes do tratamento e 7 e 14 dias após o tratamento. Em relação à primeira contagem, para o fenbendazol houve um aumento de 114%, na 2ª contagem uma diminuição de 5% na terceira. Para o ivermectin houve redução de 100% na 2ª e na 3ª avaliação.

A eficiência do pró-benzimidazol cambendazol e febantel e dos não-benzimidazóis pamoato de pirantel e ivermectin na eliminação de pequenos estrogilídeos resistentes aos benzimidazóis, foi estudada por BÜRGER & BAUER (1987) em duas séries de testes críticos conduzidos com 11 éguas livres de grandes estrogilídeos e que foram infectadas com 130.000 larvas de terceiro estágio de ciatostomíneos. Um animal foi mantido sem tratamento, dois receberam 20 mg/Kg de cambendazol, dois receberam febantel na dose 6 mg/Kg, três receberam 19 mg/Kg de pamoato de pirantel, três receberam 0,2 mg/Kg de ivermectin tanto aos 101 dias (teste 1) como aos 59 a 62 dias após a infecção (teste 2). Foram feitas contagens em amostras fecais tiradas

diariamente desde o tratamento até a necrópsia efetuada 5 a 7 dias após os tratamentos quando foi examinado todo o conteúdo intestinal e a mucosa digestiva. Foram encontradas 9 espécies de nematóides da sub-família Cythostominae. O número dos helmintos encontrados na luz intestinal foi reduzido de 3,1 a 20,2% pelo cambendazol e de 13,6 a 32,8% pelo fenbantel. Contudo, a redução pelo pamoato de pirantel foi de 93,6 a 98,2% e pelo ivermectin, de 100%.

BRITT & CLARKSON (1988) confirmaram a presença de linhagens de pequenos estrogilídeos resistentes aos benzimidazóis em eqüinos na Inglaterra após contagem de ovos e culturas de larvas após tratamento por mebendazol, verificando grande redução na contagem de ovos nas fezes por efeito da combinação mebendazol/citrato de piperazina em comparação com o de apenas mebendazol isoladamente, porém com eficácia muito menor do que a do embonato de pirantel ou dichlorvos. O trabalho foi conduzido com 27 eqüinos de uma propriedade e em 10 de uma segunda propriedade.

A presença de infecções em eqüinos por ciatostomíneos resistentes aos benzimidazóis foi demonstrada na Bélgica por DORNY et alii (1988) que verificaram baixa redução na contagem de ovos e elevada capacidade de eclosão de ovos *in vitro* em testes com thiabendazol e mebendazol.

GEERTS et alii (1988) testaram a eficiência de pró-benzimidazóis na Bélgica. Com base em testes de redução de contagens de ovos nas fezes e culturas *in vitro*, foi demonstrada

a presença de populações de pequenos strongilídeos resistentes aos benzimidazóis em 7 fazendas.

REINEMEYER & HENTON (1987) desenvolveram nos Estados Unidos um programa de tratamento rotativo utilizando thiabendazol, cambendazol, pamoato de pirantel e a combinação piperazina/fenotiazina/bissulfito de carbono, administrados em intervalos de 8 semanas. O tratamento por ivermectin com intervalos de 8 semanas e por palmoato de pirantel por 4 semanas resultou em redução nas contagens de ovos de pequenos strongilídeos por grama de fezes.

A resistência de pequenos strongilídeos ao albendazol foi avaliada na Holanda por EYSKER et alii (1988) com dois grupos de 3 eqüinos cada um. Os animais do grupo 1 foram tratados com 7,5 mg/Kg de albendazol em maio, e novamente em junho e em julho e os do grupo 2, criados na mesma pastagem de maio a julho receberam também 7,5 mg/Kg de albendazol e foram removidos para outra pastagem até novembro. Em dezembro todos os animais foram tratados com 7,5 mg/Kg de albendazol e oito dias após foram sacrificados e necropsiados. As contagens dos ovos eliminados nas fezes revelaram que o tratamento de maio no grupo 1 e de julho no grupo 2 foram mais eficazes que os tratamentos anteriores. O número de pequenos strongilídeos foi maior no grupo 1 do que no grupo 2 e a eficácia no tratamento contra os estágios em desenvolvimento de pequenos strongilídeos no grupo 2 foi maior do que no grupo 1. Na necrópsia foram identificadas 15 espécies de pequenos strongilídeos, sendo *Cyathostomum coronatum*, *C.*



*labratum*, *Cylicostephanus calicatus* e *C. poculatus* nos dois grupos; *Cylicocyclus nassatus*, *C. minutus* e *C. longibursatus*, no grupo 1, e *Cyathostomum labiatum* no grupo 2. Com relação a *Cyathostomum catinatum* e *Cylicocyclus goldi* a eficácia do tratamento foi de 100%, registrando também elevada eficácia contra 5 outras espécies encontradas em menor número.

A detecção de resistência à benzimidazóis por meio de testes de redução da contagem de ovos nas fezes e por ensaios *in vitro* foi estudada por MARTIN et alii (1989) utilizando 8 populações diferentes de misturas de populações resistentes e populações susceptíveis de *Trichostrongylus colubriformis* e também 6 populações de *Ostertagia* sp. As misturas foram preparadas reunindo-se diferentes proporções de larvas de populações susceptíveis após avaliação do número de larvas contidas em 10 alíquotas de 0,1 ml tomadas de uma diluição de 1 em 100 em cada uma de seis sub-amostras de 1 ml da suspensão de larvas. As 8 composições com *T. colubriformis* contendo 0, 1, 10, 25, 50, 75, 90 e 100% das populações resistentes, e as 6 populações com *Ostertagia* sp contendo 0, 1, 10, 25, 50, 75 e 100% foram passadas por ovinos livres de helmintos para a obtenção de ovos para os ensaios de eclosão, e larvas para infecção de ovinos para testes de redução do OPG. Todos os testes detectaram resistência quando a proporção da linhagem resistente era de pelo menos 50%, e nenhum teste detectou resistência quando a proporção estava abaixo de 25%. O anti-helmíntico utilizado foi o albendazol, tendo um grupo de animais recebido 3,75 mg/Kg do

produto, outro recebido cápsula para liberar 32,5 mg de albendazol por dia durante 20 dias e o terceiro grupo mantido como testemunha, sem tratamento.

A resistência às drogas anti-helmínticas aplicadas em eqüinos e ovinos foi estudada por TAYLOR & HUNT (1989) na Inglaterra, abordando com profundidade o problema sob vários aspectos tais como: natureza genética da resistência, incidência da resistência, distribuição geográfica da resistência em ovinos na Inglaterra, incidência da resistência em todo o mundo, campo de investigação da resistência, métodos para investigar a resistência aos anti-helmínticos (testes de controle infectando animais livres de helmintos com diferentes linhagens, ensaios *in vitro*, ensaios de eclosão de ovos, desenvolvimento de outros testes, testes de desenvolvimento de larvas e de adultos), mecanismo da resistência, desenvolvimento da resistência, grau do desenvolvimento da resistência e mecanismo para retardar a resistência. Definindo a resistência como a modificação hereditária na capacidade dos parasitos individuais de sobreviverem às doses terapêuticas recomendadas para uma droga anti-helmíntica, os autores comentam a resistência cruzada como a capacidade do parasito sobreviver à doses terapêuticas de compostos quimicamente distintos ou com diferentes modos de ação, o fenômeno da reversão como a volta ao estado de susceptibilidade de uma população originalmente resistente e à resistência colateral como a resistência a drogas quimicamente semelhantes ou com o mesmo modo de ação.

EYSKER et alii (1989b) estudaram o efeito da repetição do tratamento de infecção por pequenos strongilídeos por oxfendazol em seis eqüinos que tinham sido usados no ano anterior em um ensaio sobre o efeito do tratamento repetido por albendazol. Os animais tinham permanecido na pastagem de maio até novembro, quando foram transferidos para baias com piso de concreto para evitar posteriores infecções, sendo então tratados com 10 mg/Kg de oxfendazol em 26 de maio, 1º de julho e 28 de julho. Três animais foram novamente tratados com 10 mg/Kg de oxfendazol em 8 de dezembro e necropsiados em 16 de dezembro. Outros três eqüinos foram tratados com 10 mg/Kg de oxfendazol em 30 de março e necropsiados em 6 de abril. As coletas de fezes do reto foram feitas semanalmente para contagem de ovos e amostras da pastagem foram examinadas em intervalos de 14 dias para contagem de larvas. Foi constatada inibição das larvas de terceiro estágio e a ocorrência de larvas de 4º estágio em abril significativamente mais alta do que dezembro. A contagem de ovos revelou que o tratamento com oxfendazol em maio foi mais efetivo do que em julho, o que resultou em elevadas contagens na pastagem a partir do fim de agosto. Os tratamentos revelaram-se de baixa eficiência contra larvas do 3º e do 4º estágio mas não contra helmintos adultos.

EYSKER et alii (1989a) compararam o efeito de três tratamentos com albendazol aplicados em intervalos de 5 semanas a partir de abril com o efeito do tratamento em seqüência por albendazol, administrado em 21 de abril, oxfendazol, administrado

em 26 de maio, e oxibendazol, administrado em 1º de julho, no tratamento de infecções por ciatostomíneos. Três animais foram usados em cada grupo, mantidos separados em duas pastagens. No 1º grupo albendazol foi aplicado na dose de 7,5 mg/Kg nas mesmas datas que os três anti-helmínticos foram aplicados sucessivamente no 2º grupo onde albendazol, oxfendazol, e oxibendazol foram aplicados nas doses de 7,5; 10 e 10 mg/Kg, respectivamente. Todos os anti-helmínticos foram usados na forma de pasta. Após a estação de pastagem, todos os animais foram transferidos para alojamento em condições livres de infecção por helmintos, e tratados em 7 de dezembro com o albendazol e necropsiados em 15 de dezembro. Amostras de fezes do reto e da pastagem foram colhidas semanalmente para contagem de ovos e foram também observados culturas de larvas. Os resultados mostraram uma substancial redução nos ovos nas fezes eliminados após o primeiro tratamento por albendazol, não sendo possível estimar o efeito do segundo tratamento por ser muito baixa a contagem dos ovos remanescentes. O terceiro tratamento com albendazol e oxibendazol foi seguido por um aumento nas contagens de ovos nas fezes para valores acima de 100 ovos por grama dentro do período de 4 semanas. O tratamento final com albendazol uma semana antes da necrópsia foi ineficaz para a redução da contagem de ovos. Os resultados obtidos sugeriram o aparecimento de resistência ao albendazol e ao oxibendazol das populações de pequenos strongilídeos nos animais. A explicação para o aumento nas contagens de ovos fecais após o terceiro tratamento, embora tenha

havido baixo potencial de infecção na pastagem no mesmo período, é a ocorrência provável de volta à atividade das larvas inibidas durante o inverno, nos animais.

Na Suécia, NILSSON et alii (1989) fizeram um estudo a campo sobre a avaliação de anti-helmínticos em 336 eqüinos de 37 fazendas cujos animais eram criados em pastagens permanentes recebendo tratamento regular contra os parasitos pelo menos três vezes ao ano. Os anti-helmínticos utilizados foram: febantel, cambendazol, fenbendazol, mebendazol, oxfendazol, embonato de pirantel, dichlorvos e da mistura bissulfato de carbono piperazina/fenotiazina nas doses de 6; 20; 7,5; 5-10; 10; 19; 190-317; 265 mg/Kg, respectivamente. A eficiência do pró-benzimidazol febantel foi de 29,3%; dos benzimidazóis cambendazol, fenbendazol, mebendazol e oxfendazol foi de 29,3; 13,6; 70,8 e 42,9%, respectivamente. Eficácia elevada foram observadas dos não-benzimidazóis, sendo de 100% para diclorvos e para bissulfato de carbono com piperazina/fenotiazina e de 95% para embonato de pirantel. Foi observada grande variação dentro dos rebanhos em relação a diminuição da contagem dos ovos nas fezes, embora os animais tivessem permanecido juntos por muitos anos.

LOVE et alii (1989) estudaram as possibilidades do uso da redução na contagem de ovos nas fezes para a confirmação da resistência aos benzimidazóis no tratamento de parasitos em eqüinos. Após um período de três meses de estabulação foram examinadas amostras fecais de 191 eqüinos constatando-se que 138

apresentavam ovos de estrogilídeos variando de 50 a 2.700 ovos por grama, com média geométrica de 214 ovos. Os animais receberam fenbendazol oralmente na dose de 7,5 mg/Kg. A média geométrica da contagem dos ovos nas fezes de amostras tomadas 14 dias após tratamento dos animais contendo ovos antes do tratamento, foi de 35, variando de 0 até 2.750, havendo portanto uma redução de 84% no OPG. Dos 53 animais que não acusaram presença de ovos antes do tratamento, 28 foram positivos para presença de ovos de estrogilídeos, 14 dias após o tratamento. Tendo esses resultados sugerido a presença de parasitos resistentes ao benzimidazol, outro teste foi efetuado com os animais incluindo um grupo tratado por um anti-helmíntico não benzimidazol e um grupo controle. Os animais foram divididos em três grupos: grupo A - tratado com suspensão de fenbendazol a 7,5 mg/Kg; grupo B - tratado com pamoato de pirantel em pasta a 19 mg/Kg e o grupo C como controle. Os dados obtidos para as contagens foram transformados em logaritmo da "contagem + 1" para cálculo da média geométrica. Com os dados obtidos no dia do tratamento e 14 dias após o tratamento obteve-se para todo o rebanho (A+B+C) uma redução de 84% na contagem dos ovos nas fezes. No grupo A a redução foi de 76% no grupo B de 99,5% e no grupo C de 40%, confirmando a presença de pequenos estrogilídeos resistentes aos benzimidazóis.

BELLO (1991), comprovou o efeito antihelmíntico do dienbendazol com o desta droga associada com o triclorfon em eqüinos naturalmente infectados. Seis eqüinos foram mantidos sem

tratamentos; seis receberam 5 mg/Kg da droga com dienbendazol; seis receberam 40 mg/Kg de triclorfon; seis foram tratados com a associação dienbendazol/triclorfon nas doses de 2,5 mg/Kg e 40 mg/Kg respectivamente e seis receberam dienbendazol associado ao triclorfon nas doses de 5 mg/Kg e 40 mg/kg, respectivamente. Foi observado uma eliminação completa de *Drashia megastoma*, *Oxyuris equi*, *Strongylus vulgaris*, *S. edentatus* e pequenos estrombilídeos em todos os animais que receberam dienbendazol. *Habronema muscae* e microfilárias de *Onchocerca cervicalis* não foram eliminados pelo dienbendazol nem pelo triclorfon. *Gasterophilus intestinalis* foi removido em 97,9% pelo triclorfon. Os resultados foram obtidos através da necrópsia dos animais usados nos testes.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

O presente trabalho teve como objetivo a interpretação dos resultados obtidos de exames de fezes de eqüinos antes e após tratamento com produtos anti-helmínticos convencionais do grupo benzimidazol. No estudo da eficácia dos benzimidazóis a nível de campo, foram utilizados eqüinos pertencentes a várias propriedades e que foram mantidos dentro do programa de manejo adotado pelos proprietários. Foram escolhidos os benzimidazóis, fenbendazol e oxi-bendazol.

#### **3.1. DESCRIÇÃO DAS PROPRIEDADES**

Equinos de oito propriedades todas localizadas no Estado do Rio de Janeiro, foram utilizados na pesquisa sobre a ocorrência de pequenos estrogilídeos (Cyathostominae) resistentes a compostos benzimidazóis. Os plantéis de eqüinos estudados pertenciam às seguintes propriedades: Fazenda Invejada (Paracambi); Rancho Xodozinho (Nova Iguaçu); Fazenda Galo Vermelho (Vassouras); Fazenda São José (Monerat), Haras Guaratiba



(Pedra de Guaratiba); Fazenda Noruega; Fazenda Santa Lúcia e Setor de Eqüinocultura da UFRRJ (Itaguaí).

As instalações e manejo de cada propriedade variava muito em relação ao grau de modernização, sendo a Fazenda São José a mais bem montada e que apresentava um melhor manejo. Na Fazenda São José cada animal possuía baia individual e recebia visita periódica de médico veterinário. Durante o dia os animais permaneciam nos piquetes e no período da tarde eram conduzidos para as baias recebiam suplementação alimentar no cocho. A propriedade com mais baixo nível em termos de instalações e de manejo era o Rancho Xodozinho, onde poucos animais eram mantidos em baias, sendo a grande maioria mantidos em piquetes com grande quantidade de plantas invasoras e raramente recebendo assistência veterinária. As demais propriedades estavam em um nível intermediário a essas duas com relação às instalações e ao manejo. A Fazenda Invejada apresentava boas instalações mas os animais não eram assistidos com frequência por veterinário e eram mantidos em piquetes em conjunto com bovinos; o Haras Guaratiba apresentava boas instalações, mas os piquetes permaneciam alagados na maior parte do tempo sendo essa situação ainda mais agravada na época das chuvas; a Fazenda Galo Vermelho tinha instalações regulares mas os piquetes com grande quantidade de plantas invasoras, situação idêntica com relação a manutenção dos piquetes também era o caso das Fazendas Noruega e Santa Lúcia, com assistência esporádica de profissional veterinário. Com relação ao Instituto de Zootecnia localizado no Campus da

Universidade Rural, o plantel é vistoriado permanentemente pelos tratadores e por profissionais, zootecnistas e veterinários. Entretanto, como órgão governamental, sujeito a períodos de dificuldades financeiras com relação a aquisição de concentrados para suplementação dos animais. Os tratamentos anti-helmínticos indicam um histórico de uso nos últimos 10 anos de compostos predominantemente do grupo dos benzimidazóis nos animais adultos.

### **3.2. ANIMAIS**

Foram utilizados neste trabalho, 127 animais, em sua grande maioria da raça Mangalarga, alguns dos quais eram mestiços Mangalarga/Bretão como ocorreu no setor de equinocultura da UFRRJ. A média de idade dos animais estava em torno de 8 anos estando disponíveis para o estudo mais fêmeas do que machos em todas as propriedades com exceção da Fazenda Invejada onde apenas machos (garanhões) foram utilizados, porque as fêmeas haviam sido vermifugadas naquela ocasião em que o trabalho foi realizado.

Em sua grande maioria, os animais eram mantidos livres em piquetes, com exceção da Fazenda São José e do Haras Guaratiba, e da Fazenda Noruega, onde os animais eram levados para as baias individuais no período da tarde.

Todos os animais utilizados no trabalho já vinham recebendo algum tipo de tratamento anti-helmíntico, porém na ocasião em que o trabalho foi realizado estavam pelo menos há cerca de 4 meses sem receber medicações anti-helmínticas. O estado nutricional dos animais em geral era bom, com exceção de

alguns eqüinos do Rancho Xodozinho que mostravam um desenvolvimento corporal inferior comparativamente aos das outras propriedades.

### **3.3. TRATAMENTOS ANTI-HELMÍNTICOS EMPREGADOS**

Os anti-helmínticos utilizados pertencem ao grupo dos benzimidazóis: fenbendazol e oxibendazol. Foi empregado também uma combinação de fenbendazol com o organofosforado trichlorfon. As doses utilizadas nos ensaios foram as indicadas pelos laboratórios fabricantes: fenbendazol 7,5 mg/Kg; fenbendazol + triclorfon 7,5 mg/Kg + 22,5 mg/Kg e oxibendazol na dose de 10,0 mg/Kg. Os produtos, sob forma de pasta foram administrado por via oral com auxílio de seringa dosadora na sua forma de apresentação comercial. Somente no Setor de Eqüinocultura da UFRRJ empregou-se além do produto comercial em pasta o fenbendazole em pó misturado à ração. Os trabalhos foram realizados entre março de 1988 a setembro do mesmo ano.

Em todas as propriedades os animais foram divididos em dois lotes de acordo com o número de doses disponíveis na ocasião de cada um dos produtos. Contudo, procurou-se utilizar pelo menos dois anti-helmínticos por propriedade sendo a única exceção o Setor de Eqüinocultura da UFRRJ que recebeu o mesmo produto, só que em duas formas de apresentação: em pasta e em pó, adicionado ao concentrado. Uma outra preocupação por ocasião da administração dos produtos foi a de procurar dividir os animais de cada propriedade em lotes com números iguais ou aproximados

para os tratamentos com os anti-helmínticos. Na Fazenda Noruega, 8 animais foram tratados com fenbendazol e 3 com fenbendazol + triclorfon; no Rancho Xodozinho 5 animais foram tratados com fenbendazol + triclorfon e 11 com oxibendazol; na Fazenda Invejada 4 eqüinos foram tratados com fenbendazol + triclorfon e 4 com oxibendazol; na Fazenda Galo Vermelho 9 eqüinos foram medicados com o oxibendazol e 11 com fenbendazol + triclorfon; na Fazenda São José 10 animais com fenbendazol + triclorfon e 10 com fenbendazol; no Setor de Eqüinocultura da UFRRJ 15 eqüinos foram tratados com o fenbendazol em pasta e 15 com fenbendazol em pó adicionado ao concentrado; no Haras Guaratiba 7 eqüinos foram tratados com o oxibendazol e 7 com a combinação fenbendazol + triclorfon e por último na Fazenda Santa Lúcia 4 eqüinos foram medicados com fenbendazol e 4 com combinação fenbendazol + triclorfon.

#### **4. MÉTODOLOGIA EMPREGADA A NÍVEL DE CAMPO E DE LABORATÓRIO**

As coletas de fezes em todas as propriedades foram realizadas na parte da manhã, para que o material coletado fosse processado de preferência no mesmo dia da coleta. Entretanto, quando o processamento não podia ser completado no mesmo dia da coleta, as fezes eram mantidas em geladeira e processadas na manhã seguinte.

As fezes foram coletadas com a mão diretamente do reto dos animais, para evitar a contaminação do material. Para isso, a

mão era protegida com saco plástico previamente lubrificado com óleo vegetal e introduzida no reto de cada animal para a coleta das amostras fecais. O saco plástico contendo a amostra individual era identificado e acondicionado em isopor com gelo. Estas coletas foram realizadas em duas ocasiões em cada propriedade: uma imediatamente antes do tratamento com os anti-helmínticos e outra 4 semanas após o tratamento.

A contagem de ovos por grama de fezes (o.p.g.) foi feita segundo a técnica McMaster (WHITLOCK, 1948). Esta técnica consiste, inicialmente, em homogeneizar bem as fezes seguida da pesagem de 4 gramas para serem diluídas em um volume de 60 ml de solução saturada de açúcar. Em seguida filtra-se a suspensão através de tamis com gase; o líquido filtrado é agitado e com auxílio de pipeta retira-se duas alíquotas, uma para cada compartimento da câmara de McMaster. Feito isto, procede-se à contagem em microscópio ótico do número de ovos encontrados nas duas células da câmara. O cálculo do o.p.g. é obtido multiplicando-se por 100, a média aritmética das duas contagens feitas na câmara McMaster.

A técnica de coprocultura ou cultura de larvas foi feita seguindo as descrições de ROBERTS & O'SULLIVAN (1950), e consiste em se colocar aproximadamente 40 a 50 gramas de fezes, bem homogeneizadas e soltas, em frascos de boca larga com capacidade para 300 ml até a altura de dois terços. Os frascos são cobertos com placa de Petri emborcada. Diariamente se faz ligeira aeração e quando muito seca, as fezes são umedecidas por aspersão com

água. As culturas são assim mantidas durante 7 dias à temperatura ambiente.

Para a coleta das larvas de terceiro estágio enche-se o frasco com água até a borda, cobre-se novamente com a placa de Petri e vira-se o conjunto para posição invertida e, a seguir coloca-se água na placa de Petri. Com isso as larvas migram para a água limpa na placa de Petri e com auxílio de pipeta esta água contendo as larvas é coletada e estocada em tubos de ensaio para posterior identificação e contagem.

A diferenciação entre as larvas dos *Strongylus* sp e as dos pequenos estrongilídeos, baseou-se na classificação proposta por POLUSZYNSKI (1930), que adotou a seguinte caracterização:

Larvas de *S. vulgaris*: corpo grosso, cauda curta e com 32 células intestinais;

Larvas de *S. equinus*: corpo grosso, cauda curta e com 16 células intestinais pouco distintas;

Larvas de *S. edentatus*: corpo fino, cauda média e com 18 a 20 células intestinais mal definidas;

Larvas de pequenos estrongilídeos: corpo grosso, cauda longa e com 8 células intestinais bem definidas.

O exame microscópico das larvas foi feita com objetiva de 10x de aumento com iluminação por lâmpada elétrica. Colocando-se uma gota de suspensão de larvas e adicionando-se uma gota de solução de piperazina entre lâmina e lamínula.

Para o cálculo da percentagem de infecção foram contadas

e identificadas 100 larvas escolhidas ao acaso por amostra registrando-se o percentual de ocorrência de cada uma das espécies de *Strongylus* e dos pequenos estrogilídeos.

## 5. MÉTODO ESTATÍSTICO DE ANÁLISE EMPREGADO

Como a pesquisa tinha o objetivo de verificar a ocorrência de linhagens de pequenos estrogilídeos resistentes à anti-helmínticos benzimidazóis, e também o de estabelecer comparações entre os benzimidazóis fenbendazol e oxibendazol, foram utilizados métodos estatísticos de análise direcionados a cada uma dessas metas.

Para o estudo da possibilidade de existência de linhagens resistentes seria necessário fazer-se comparações entre diferentes locais (propriedades) cujos animais teriam recebido o mesmo tratamento. Para tais comparações foram utilizados dois diferentes tipos de dados experimentais: contagem de o.p.g, antes e após o tratamento, e percentagem de o.p.g, após o tratamento.

Para a comparação entre os três produtos utilizados: fenbendazol, oxibendazol e da combinação do fenbendazol com o organo-fosforado trichlorfon, seria necessário comparar entre si os resultados obtidos com cada um, quando aplicados nos mesmos locais. Novamente aqui poderiam ser utilizados os dois caracteres: contagem de o.p.g, após tratamento e percentagem de o.p.g, após tratamento.

Como em um dos locais o fenbendazol foi aplicado sob

duas formas diferentes, os resultados de cada uma poderiam ser comparados com os da outra visando conhecer possíveis diferenças entre elas quanto à eficácia. Para este teste também poderiam ser usados os dois caracteres: contagem de o.p.g, após tratamento e percentagem de o.p.g, após tratamento.

## **5.1. DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO USADO PARA COMPARAÇÃO ENTRE LOCAIS**

### **5.1.1. Para o caráter contagem de o.p.g.**

Para a análise estatística das contagens os dados experimentais foram transformados pelo emprego da raiz quadrada da soma da contagem com 0,5, conforme é recomendado quando muitos valores são iguais a zero, o que ocorreu muitas vezes após o tratamento. Com os dados assim transformados foi feita, para cada anti-helmíntico uma análise de variância antes, e outra após o tratamento, com o isolamento do efeito "entre locais". Para os contrastes de média de locais nas duas análises foi empregado o teste de Tukey. Essa comparação entre os contrastes antes, com os mesmos contrastes após a aplicação do anti-helmíntico, poderia mostrar o grau de eficácia do medicamento em cada local, por meio da interpretação da resposta assim obtida. Quatro diferentes tipos de respostas forneceriam informações relevantes para a análise da eficácia do medicamento em cada local. 1) Se houver uma tendência para as médias de dois locais se igualarem após o tratamento, quaisquer que sejam as diferenças entre elas antes do tratamento, isso estará indicando que naqueles dois locais ou



pelo menos em um deles o produto teve elevada eficácia. Obviamente, se o anti-helmíntico apresentar eficácia sobre as linhagens dos helmintos presentes em qualquer local, determinará em todos eles diminuição sensível do número do o.p.g, fazendo com que contrastes significativos antes do tratamento venham a ser não significativos após o tratamento. 2) Se não houver qualquer tendência para modificação do valor do contraste de antes para depois do tratamento, ou seja, se contrastes significativos antes do tratamento continuarem significativos após tratamento, sem mudança nos valores das médias, isso estará indicando ineficácia do anti-helmíntico em razão das linhagens nos dois locais serem resistentes. 3) Se houver tendência para um contraste que antes do tratamento era não significativo, torna-se significativo após o tratamento, ou então tendência para aumento da significância após tratamento, de contrastes também significativos antes do tratamento, isso estará indicando presença de linhagens resistentes em um dos locais, e sensibilidade em outra. 4) Se houver tendência para modificação do sinal de um contraste, isto é, se em um contraste a maior das duas médias antes do tratamento passar a ser a menor das duas após o tratamento isso estará indicando sensibilidade no local cuja média diminuiu, e maior resistência no outro.

Evidentemente, se num local a cepa é resistente, o valor do o.p.g, não diminui com o tratamento, e se no outro local a cepa é susceptível, o valor do o.p.g. diminui com o tratamento, o que faz aumentar o valor do contraste entre os dois locais.

Essa necessidade de se comparar contrastes de locais antes com contrastes após tratamento, indicou a conveniência de se fazer, para cada composto testado, as análises da variância e os testes dos contrastes de médias entre locais, tanto com os dados obtidos antes, como depois do tratamento com cada um dos anti-helmínticos.

### **5.1.2. Para o carater percentagem de o.p.g. após tratamento**

O cálculo das percentagens de o.p.g. após tratamento, foi feito considerando-se 100% o valor da contagem de o.p.g. antes do tratamento. Seria de se esperar que a contagem de o.p.g. antes do tratamento fosse o limite máximo para o.p.g. após tratamento. Entretanto dos 111 animais examinados antes e após o tratamento e para os quais foram encontrados ovos após o tratamento, 15 apresentaram um o.p.g. após tratamento maior do que antes do tratamento. Para esses animais a percentagem considerada para cálculo foi 100%, uma vez que o excesso seria explicado por acréscimo à infestação durante o período do experimento.

Para a análise estatística das percentagens de o.p.g. após tratamento tomadas em relação à o.p.g. antes do tratamento, os dados experimentais foram transformados em arco-seno da raiz quadrada da percentagem, com o uso de tabela STEEL & TORRIE (1960). Com os dados assim transformados foi feita, para cada anti-helmíntico, uma análise da variância, e os contrastes de médias de locais foram analisados pelo teste de Tukey.

Esses testes permitiriam conclusões sobre a eficiência do tratamento em cada local, pois se a percentagem fosse elevada, estaria indicando ineficácia do produto na propriedade, em consequência da existência de linhagens resistentes, e se a percentagem fosse baixa, indicaria eficácia do composto no local, e portanto, existência de linhagens susceptíveis.

O objetivo dessa análise foi a procura de possíveis confirmações das hipóteses já levantadas pelos resultados da análise direta com as contagens de o.p.g. antes e após tratamento. A análise das percentagens não deve ser um processo tão eficiente quanto a análise das próprias contagens seguida da comparação entre os contrastes antes com os contrastes após tratamento, pois a verdade dos fatos pode ficar encoberta pelas percentagens. Toda vez que se tem dois caracteres métricos a serem analisados, a análise estatística de ambos separadamente é sempre melhor do que a de um índice obtido do quociente entre eles, onde a grandeza de ambos desaparece. Assim, para os locais onde houvesse alta ou baixa infestação apenas por linhagens resistentes antes do tratamento, a percentagem após tratamento seria alta, o que igualaria essas duas situações bem diferentes entre si. Apenas para os locais com alta infestação, contendo um deles principalmente linhagens resistentes, e o outro, apenas linhagens susceptíveis, é que a percentagem poderia ser um bom caráter para reconhecer a diferença entre ambos. Desse modo, este segundo método de análise foi usado para buscar confirmações de resultados já obtidos com o uso do primeiro método, mas não para

se sujeitar quaisquer conclusões tiradas da aplicação do primeiro.

## **5.2. DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO USADO PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS ANTI-HELMÍNTICOS.**

Para a comparação entre os dois anti-helmínticos (fenbendazol e oxibendazol) e da combinação de compostos empregados (fenbendazol + trichlorfon), os dados experimentais não poderiam ser usados de forma completa pois as propriedades onde foram empregados cada um deles não foram as mesmas que para os outros dois. Como a resistência ou a susceptibilidade aos tratamentos aplicados são atributos das propriedades dos locais, só seria possível comparar entre si anti-helmínticos aplicados nos mesmos locais. Assim sendo seria possível a comparação entre eficiência do oxibendazol com a do fenbendazol + trichlorfon, aproveitando-se os dados dos locais ou propriedades 2, 3, 4 e 7, e a comparação entre fenbendazol e fenbendazol + trichlorfon aproveitando-se os dados dos locais 1, 5 e 8. Para tais comparações poderiam ser usados tanto os dados das contagens após tratamento, como os dados da percentagem após tratamento. Como o número de repetições por tratamento nesses locais não foi o mesmo nos dois tratamentos do contraste, o modelo estatístico utilizado foi inteiramente casualizado com classificação hierárquica.

### **5.3. DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO USADO PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS DOIS TIPOS UTILIZADOS DE FENBENDAZOLE: FORMULAÇÃO EM PASTA E EM PÓ ADICIONADO AO CONCENTRADO.**

Como o fenbendazol foi aplicado no mesmo local (6) sob duas formas diferentes a comparação entre elas quanto à eficácia podia ser testada tanto para o caráter contagem de o.p.g. após aplicação como percentagem de o.p.g. após aplicação, avaliada em relação à contagem de o.p.g. antes do tratamento. Para tal comparação poderia ser aplicado o teste F em análise da variância ou o teste t para avaliação entre as duas médias.

### **5.4. DISCUSSÃO SOBRE O MÉTODO DO EXAME COPROCULTURA PARA COMPARAÇÃO ENTRE OS COMPOSTOS ANTI-HELMÍNTICOS.**

Como último método de análise estatística, foi feita a comparação entre os dois anti-helmínticos e da combinação de compostos utilizados na pesquisa, por meio do exame de coprocultura com o objetivo de se reconhecer que espécies ou que grupos de helmintos seriam ou não seriam eliminados pelos medicamentos. Esse exame seria feito identificando-se nas amostras de fezes os helmintos que ocorriam antes da aplicação do anti-helmíntico, e após trinta dias dessa aplicação. O desaparecimento de uma dada espécie nesse período estaria indicando susceptibilidade ao composto, e a permanência da espécie indicaria resistência. Para isso foi examinada para cada anti-helmíntico uma amostra em cada um de vários locais, calculando-se a percentagem de helmintos de cada grupo

sistemático antes e após o tratamento. Em todas as observações o número de espécimes encontrado antes do tratamento era muito grande mas, após o tratamento algumas vezes esse número estava muito reduzido de forma a permitir contagem dos poucos ainda existentes. Assim sendo obteve-se no exame antes do tratamento uma percentagem de cada grupo de helmintos no total de 100 espécies examinadas, mas após o tratamento nem sempre se conseguiu o total de 100 para contagem. Com isso, embora antes do tratamento os valores coletados tinham sido em percentagem no total de 100, após o tratamento não mais foi possível a obtenção de percentagem sob o mesmo total.

## 6. RESULTADOS

Os resultados das análises estatísticas para o caráter contagem de o.p.g, visando comparação entre os contrastes de locais antes da aplicação de cada anti-helmíntico, com os contrastes entre locais desta aplicação, estão relacionados nas Tabelas 1, 2, 3, 4 e 5.

A Tabela 1 mostra os resultados das análises da variância dos dados obtidos nas contagens de o.p.g, nos animais utilizados em cada local tanto antes como após o emprego de cada um dos três produtos.

Tabela 1 - Análises da variância entre locais, antes e após aplicação dos produtos fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol, dos dados de contagem de o.p.g, após transformação por  $\sqrt{\text{contagem} + 0,5}$ .

|                                | Antes do tratamento |    |          |         | Após tratamento |    |          |         |
|--------------------------------|---------------------|----|----------|---------|-----------------|----|----------|---------|
|                                | F.V.                | gl | QM       | F       | F.V.            | gl | QM       | F       |
| Fenbendazol                    | Entre locais        | 4  | 996,2367 | 6,92**  | Entre locais    | 4  | 689,3394 | 15,33** |
|                                | Resíduo             | 47 | 143,9469 |         | Resíduo         | 44 | 44,9807  |         |
| Fenbendazol<br>+<br>Triclorfon | Entre locais        | 6  | 633,0402 | 4,70**  | Entre locais    | 6  | 244,5399 | 3,92**  |
|                                | Resíduo             | 37 | 134,7773 |         | Resíduo         | 35 | 62,4253  |         |
| Oxibendazol                    | Entre locais        | 3  | 772,3282 | 12,24** | Entre locais    | 3  | 467,5655 | 11,59** |
|                                | Resíduo             | 27 | 63,1126  |         | Resíduo         | 23 | 40,3319  |         |

A Tabela 2 mostra para cada composto administrado, o número de animais utilizados em cada localidade e a média de cada uma, antes e após a administração de cada anti-helmíntico.

As Tabelas 3, 4 e 5 mostram os resultados dos testes dos contrastes de médias antes e após o tratamento com fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol.

Tabela 2 - Número de animais utilizados em cada localidade e média do número de o.p.g, após transformação, antes e após administração dos anti-helmínticos fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol.

|                                | Antes do tratamento |    |           | após tratamento |    |           |
|--------------------------------|---------------------|----|-----------|-----------------|----|-----------|
|                                | Locais*             | N  | $\bar{x}$ | Locais          | N  | $\bar{x}$ |
| Fenbendazol                    | 6 pasta             | 15 | 41,95     | 5               | 10 | 22,48     |
|                                | 6 pó                | 15 | 39,89     | 6 pó            | 14 | 18,29     |
|                                | 5                   | 10 | 31,10     | 6 pasta         | 15 | 15,71     |
|                                | 8                   | 4  | 26,24     | 8               | 4  | 0,71      |
|                                | 1                   | 8  | 17,44     | 1               | 6  | 0,71      |
| Fenbendazol<br>+<br>Triclorfon | 8                   | 4  | 48,34     | 7               | 6  | 20,80     |
|                                | 5                   | 10 | 24,87     | 5               | 10 | 17,96     |
|                                | 7                   | 7  | 22,51     | 2               | 5  | 11,68     |
|                                | 4                   | 11 | 20,15     | 8               | 3  | 10,55     |
|                                | 2                   | 5  | 19,54     | 3               | 4  | 9,14      |
|                                | 1                   | 3  | 15,36     | 4               | 11 | 7,45      |
| Oxibendazol                    | 3                   | 4  | 8,23      | 1               | 3  | 0,71      |
|                                | 2                   | 11 | 24,58     | 7               | 6  | 20,87     |
|                                | 4                   | 9  | 21,26     | 2               | 10 | 8,63      |
|                                | 7                   | 7  | 16,03     | 3               | 4  | 2,31      |
|                                | 3                   | 4  | 11,88     | 4               | 7  | 1,62      |

\* Identificação dos locais/propriedades:

1. Fazenda Noruega; 2. Rancho Xodozinho; 3. Fazenda Invejada; 4. Fazenda Galo Vermelho; 5. Fazenda São José; 6. Setor de Equinocultura (U.F.R.R.J.); 7. Haras Guaratiba; 8. Fazenda Sta Lúcia. Esta identificação aplica-se às Tabelas: 2; 3; 4; 5; 7; 8; 9; 10 e 11.



Tabela 3 - Valores dos contrastes para o caracter contagem de o.p.g, antes e após tratamento com fenbendazol e DMS pelo teste de Tukey.

| Contraste    | Antes do tratamento |        |               | Contraste    | após tratamento    |        |               |
|--------------|---------------------|--------|---------------|--------------|--------------------|--------|---------------|
|              | Valor do contraste  | DMS 5% | pelo Tukey 1% |              | Valor do contraste | DMS 5% | pelo Tukey 1% |
| 6 pta e 6 pó | 2,06 NS             | 12,42  | -             | 5 e 6 pó     | 4,19 NS            | 7,89   | -             |
| 6 pta e 5    | 10,85 NS            | 13,89  | -             | 5 e 6 pta    | 6,77 NS            | 7,78   | -             |
| 6 pta e 8    | 15,71 NS            | 19,14  | -             | 5 e 8        | 21,77 **           | 11,28  | 13,75         |
| 6 pta e I    | 24,51 **            | 14,89  | 18,13         | 5 e I        | 21,77 **           | 9,84   | 12,00         |
| 6 pó e 5     | 8,79 NS             | 13,89  | -             | 6 pó e 6 pta | 2,58 NS            | 7,08   | -             |
| 6 pó e 8     | 13,65 NS            | 19,14  | -             | 6 pó e 8     | 17,58 **           | 10,81  | 13,17         |
| 6 pó e I     | 22,45 **            | 14,89  | 18,13         | 6 pó e I     | 17,58 **           | 9,30   | 11,34         |
| 5 e 8        | 4,86 NS             | 20,13  | -             | 6 pta e 8    | 15,00 **           | 10,73  | 13,08         |
| 5 e I        | 13,66 NS            | 16,14  | -             | 6 pta e I    | 15,00 **           | 9,21   | 11,22         |
| 8 e I        | 8,80 NS             | 20,83  | -             | 8 e I        | 0,00 NS            | 12,31  | -             |

Tabela 4 - Valores dos contrastes para o carater contagem de o.p.g, e DMS pelo teste de Tukey antes e após tratamento com fenbendazol + triclorfon.

| Contraste | Antes do tratamento |        |               | Contraste | após tratamento    |        |               |
|-----------|---------------------|--------|---------------|-----------|--------------------|--------|---------------|
|           | Valor do contraste  | DMS 5% | pelo Tukey 1% |           | Valor do contraste | DMS 5% | pelo Tukey 1% |
| 8 e 5     | 23,47 *             | 21,42  | 25,69         | 7 e 5     | 2,84 NS            | 12,75  | -             |
| 8 e 7     | 25,83 *             | 22,69  | 27,22         | 7 e 2     | 9,12 NS            | 14,95  | -             |
| 8 e 4     | 28,19 **            | 21,14  | 25,36         | 7 e 8     | 10,25 NS           | 17,46  | -             |
| 8 e 2     | 28,80 *             | 24,29  | 29,13         | 7 e 3     | 11,66 NS           | 15,94  | -             |
| 8 e I     | 32,98 *             | 27,65  | 33,17         | 7 e 4     | 13,35 *            | 12,53  | 15,08         |
| 8 e 3     | 40,11 **            | 25,60  | 30,71         | 7 e 1     | 20,09 *            | 17,46  | 21,02         |
| 5 e 7     | 2,36 NS             | 17,80  | -             | 5 e 2     | 6,28 NS            | 13,53  | -             |
| 5 e 4     | 4,72 NS             | 15,82  | -             | 5 e 8     | 7,41 NS            | 16,26  | -             |
| 5 e 2     | 5,33 NS             | 19,83  | -             | 5 e 3     | 8,82 NS            | 14,61  | -             |
| 5 e I     | 9,51 NS             | 23,83  | -             | 5 e 4     | 10,51 NS           | 10,79  | -             |
| 5 e 3     | 16,64 NS            | 21,42  | -             | 5 e I     | 17,25 *            | 16,26  | 19,57         |
| 7 e 4     | 2,36 NS             | 17,50  | -             | 2 e 8     | 1,13 NS            | 18,03  | -             |
| 7 e 2     | 2,97 NS             | 21,20  | -             | 2 e 3     | 2,54 NS            | 16,57  | -             |
| 7 e I     | 7,15 NS             | 24,98  | -             | 2 e 4     | 4,23 NS            | 13,32  | -             |
| 7 e 3     | 14,28 NS            | 22,69  | -             | 2 e I     | 10,97 NS           | 18,03  | -             |
| 4 e 2     | 0,61 NS             | 19,53  | -             | 8 e 3     | 1,41 NS            | 18,86  | -             |
| 4 e I     | 4,79 NS             | 23,58  | -             | 8 e 4     | 3,10 NS            | 16,08  | -             |
| 4 e 3     | 11,92 NS            | 21,14  | -             | 8 e I     | 9,84 NS            | 20,16  | -             |
| 2 e I     | 4,18 NS             | 26,44  | -             | 3 e 4     | 1,69 NS            | 14,42  | -             |
| 2 e 3     | 11,31 NS            | 24,29  | -             | 3 e I     | 8,43 NS            | 18,86  | -             |
| 1 e 3     | 7,13 NS             | 27,65  | -             | 4 e I     | 6,74 NS            | 16,08  | -             |

Tabela 5 - Valores dos contrastes para o caráter contagem de o.p.g. e DMS pelo teste de Tukey antes e após tratamento com oxibendazol.

| Contraste | Antes do tratamento |        |               | Contraste | após tratamento    |        |               |
|-----------|---------------------|--------|---------------|-----------|--------------------|--------|---------------|
|           | Valor do contraste  | DMS 5% | pelo Tukey 1% |           | Valor do contraste | DMS 5% | pelo Tukey 1% |
| 2 e 4     | 3,32 NS             | 9,77   | -             | 7 e 2     | 12,24 **           | 9,07   | 11,33         |
| 2 e 7     | 8,55 NS             | 10,51  | -             | 7 e 3     | 18,56 **           | 11,33  | 14,29         |
| 2 e 3     | 12,70 *             | 12,69  | 15,91         | 7 e 4     | 19,25 **           | 9,77   | 12,32         |
| 4 e 7     | 5,23 NS             | 10,96  | -             | 2 e 3     | 6,32 NS            | 10,39  | -             |
| 4 e 3     | 9,38 NS             | 13,06  | -             | 2 e 4     | 7,01 NS            | 8,65   | -             |
| 7 e 3     | 4,15 NS             | 13,63  | -             | 3 e 4     | 0,69 NS            | 11,01  | -             |

Os resultados das análises estatísticas para o caráter percentagem de o.p.g, após tratamento, tomada em relação à o.p.g. antes do tratamento, visando comparação entre locais, estão expostos nas Tabelas 6, 7, 8, 9 e 10.

A Tabela 6 mostra os resultados da análise da variância dos dados de percentagens de o.p.g, após transformação, para cada produto administrado.

Tabela 6 - Análises da variância entre locais das percentagens de o.p.g, ainda presentes após tratamento fenbendazol, fenbendazol + triclorfon e oxibendazol.

|                                | F.V.         | gl | QM         | F       |
|--------------------------------|--------------|----|------------|---------|
| Fenbendazol                    | Entre locais | 4  | 3.099,8313 | 10,29** |
|                                | Resíduo      | 43 | 301,3798   |         |
| fenbendazol<br>+<br>Triclorfon | Entre locais | 6  | 3.652,4705 | 5,08**  |
|                                | Resíduo      | 32 | 718,3600   |         |
| Oxibendazol                    | Entre locais | 3  | 5.049,8366 | 10,67** |
|                                | Resíduo      | 20 | 473,0809   |         |

A Tabela 7 mostra para cada produto administrado, o número de animais utilizados em cada localidade, e a média de cada uma para o caráter percentagem de o.p.g, após tratamento, calculada em relação à o.p.g, antes do tratamento, e após transformação por arco-seno.

Tabela 7 - Número de animais utilizados em cada local e média da percentagem de o.p.g, após tratamento, avaliada em relação à o.p.g, antes do tratamento, após transformação por arco-seno  $\sqrt{\%}$ .

| Fenbendazol |    |           | Fenbendazol + Triclorfon |    |           | Oxibendazol |   |           |
|-------------|----|-----------|--------------------------|----|-----------|-------------|---|-----------|
| Locais      | N  | $\bar{x}$ | Locais                   | N  | $\bar{x}$ | Locais      | N | $\bar{x}$ |
| 5           | 10 | 48,71     | 3                        | 3  | 75,00     | 7           | 5 | 71,57     |
| 6 pó        | 14 | 35,20     | 7                        | 6  | 71,77     | 2           | 9 | 22,79     |
| 6 pasta     | 15 | 23,31     | 2                        | 3  | 52,85     | 3           | 3 | 7,40      |
| 1           | 5  | 0,00      | 5                        | 10 | 52,51     | 4           | 7 | 3,17      |
| 8           | 4  | 0,00      | 4                        | 11 | 23,68     |             |   |           |
|             |    |           | 8                        | 3  | 10,97     |             |   |           |
|             |    |           | 1                        | 3  | 0,00      |             |   |           |

A Tabela 8 mostra os valores dos contrastes de médias de locais e as diferenças mínimas significativas (DMS) pelo teste de Tukey para caráter percentagem de o.p.g, após tratamento por fenbendazol, tomada em relação ao número de o.p.g, antes do tratamento e transformada em arco-seno.

Tabela 8 - Contraste das médias de locais e DMS pelo teste de Tukey para o carater percentagem de o.p.g, após tratamento por fenbendazol, transformada em arco-seno.

| Contraste    | Valor do contraste | DMS 5% | pelo Tukey 1% |
|--------------|--------------------|--------|---------------|
| 5 e 6        | 13,51 NS           | 20,48  | -             |
| 5 e 6 pta    | 25,41 **           | 20,20  | 24,61         |
| 5 e 1        | 48,71 **           | 27,10  | 33,01         |
| 5 e 8        | 48,71 **           | 29,27  | 35,66         |
| 6 pó e 6 pta | 11,90 NS           | 18,38  | -             |
| 6 pó e 1     | 35,20 **           | 25,77  | 31,40         |
| 6 pó e 8     | 35,20 **           | 28,05  | 34,17         |
| 6 pta e 1    | 23,31 NS           | 25,55  | -             |
| 6 pta e 8    | 23,31 NS           | 27,84  | -             |
| 1 e 8        | 0,00 NS            | -      | -             |

A Tabela 9 mostra os valores dos contrastes de médias de locais e as diferenças mínimas significativas (DMS) pelo teste de Tukey para o carater percentagem de o.p.g, após tratamento por fenbendazol + triclorfon, tomada em relação ao número de o.p.g. antes do tratamento, e tranformada em arco-seno.

Tabela 9 - Constantes das médias de locais e DMS pelo teste Tukey para o carater percentagem de o.p.g. após tratamento por fenbendazol + triclorfon, transformada em arco-seno.

| Contraste | Valor do contraste | DMS 5% | pelo Tukey 1% |
|-----------|--------------------|--------|---------------|
| 3 e 7     | 3,23 NS            | 59,50  | -             |
| 3 e 2     | 22,15 NS           | 68,71  | -             |
| 3 e 5     | 22,49 NS           | 55,39  | -             |
| 3 e 4     | 51,32 NS           | 54,81  | -             |
| 3 e 8     | 64,03 NS           | 68,71  | -             |
| 3 e 1     | 75,00 *            | 68,71  | 83,02         |
| 7 e 2     | 18,92 NS           | 59,50  | -             |
| 7 e 5     | 19,26 NS           | 43,45  | -             |
| 7 e 4     | 48,09 *            | 42,71  | 51,60         |
| 7 e 8     | 60,80 *            | 59,50  | 71,90         |
| 7 e 1     | 71,77 *            | 59,50  | 71,90         |
| 2 e 5     | 0,34 NS            | 55,39  | -             |
| 2 e 4     | 29,17 NS           | 54,81  | -             |
| 2 e 8     | 41,88 NS           | 68,71  | -             |
| 2 e 1     | 52,85 NS           | 68,71  | -             |
| 5 e 4     | 28,83 NS           | 36,77  | -             |
| 5 e 8     | 41,54 NS           | 55,39  | -             |
| 5 e 1     | 52,51 NS           | 55,39  | -             |
| 4 e 8     | 12,71 NS           | 54,81  | -             |
| 4 e 1     | 23,68 NS           | 54,81  | -             |
| 8 e 1     | 10,97 NS           | 68,71  | -             |

A Tabela 10 mostra os valores dos contrastes de médias de locais e as diferenças mínimas significativas (DMS) pelo teste de Tukey para o carater percentagem de o.p.g, após tratamento por oxibendazol, tomada em relação ao número de o.p.g, antes do tratamento, e transformada em arco-seno.

Tabela 10 - Contrastes das médias de locais e DMS pelo teste Tukey para o caráter percentagem de o.p.g. após tratamento por oxibendazol, transformada em arco-seno.

| Contraste | Valor do contraste | DMS 5% | pele Tukey 1% |
|-----------|--------------------|--------|---------------|
| 7 e 2     | 48,78 **           | 33,97  | 43,06         |
| 7 e 3     | 64,17 **           | 44,48  | 56,38         |
| 7 e 4     | 68,40 **           | 35,39  | 45,21         |
| 2 e 3     | 15,39 NS           | 40,60  | -             |
| 2 e 4     | 19,62 NS           | 30,69  | -             |
| 3 e 4     | 4,23 NS            | 42,03  | -             |

Os resultados das análises estatísticas para comparação entre os anti-helmínticos utilizados, constam das Tabelas 11, 12, 13, 14 e 15.

A Tabela 11 mostra as médias obtidas para os três produtos em relação ao caráter contagem de o.p.g, e percentagem de o.p.g, após tratamento.

Tabela 11 - Médias para as comparações entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon e entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol, em relação aos caracteres contagem de o.p.g, e percentagem de o.p.g, após tratamento.

| Locais         | Contagem de o.p.g.             |                                | Percentagem de o.p.g.          |                                |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                | Fenbendazol                    | Fenbendazol<br>+<br>Triclorfon | Fenbendazol                    | Fenbendazol<br>+<br>Triclorfon |
| 1, 5<br>e 8    | 11.59                          | 13.34                          | 25,64                          | 34,88                          |
| 2, 3,<br>4 e 7 | Fenbendazol<br>+<br>Triclorfon | Oxibendazol                    | Fenbendazol<br>+<br>Triclorfon | Oxibendazol                    |
|                | 11.60                          | 8.60                           | 46,72                          | 25.31                          |

A Tabela 12 mostra os resultados da análise da variância para comparação entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon com os dados das contagens de o.p.g, após tratamento, transformados por  $\sqrt{\text{o.p.g.} + 0,5}$ , obtidos nos locais 1, 5 e 8.

A Tabela 13 mostra os resultados da análise de variância para comparação entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol com os dados das contagens de o.p.g, após tratamento, transformados por  $\sqrt{\text{o.p.g.} + 0,5}$ , obtidos nos locais 2, 3, 4 e 7.

Tabela 12 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon em relação à contagem de o.p.g, transformada por  $\sqrt{o.p.g. + 0,5}$ , nos locais 1, 5 e 8.

| F.V.                    | gl | QM       | F        |
|-------------------------|----|----------|----------|
| Entre tratamentos       | 1  | 27.0669  | 0,035 NS |
| Entre locais/tratamento | 4  | 771.0270 | 14,02    |
| Resíduo                 | 30 | 54.9851  |          |

Tabela 13 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol em relação à contagem de o.p.g, transformada por  $\sqrt{o.p.g. + 0,5}$ , nos locais 2, 3, 4 e 7.

| F.V.                    | gl | QM       | F       |
|-------------------------|----|----------|---------|
| Entre tratamentos       | 1  | 119.8117 | 0,34 NS |
| Entre locais/tratamento | 6  | 354.1124 | 7,02    |
| Resíduo                 | 45 | 50.4125  |         |

A Tabela 14 mostra os resultados da análise da variância para comparação entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon, com os dados das percentagens de o.p.g, após tratamento, tomadas em relação à o.p.g, antes do tratamento, após transformação por arco-seno  $\sqrt{\%}$ , obtidas nos locais 1, 5 e 8.

A Tabela 15 mostra os resultados das análises da variância para comparação entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol, com os dados das percentagens de o.p.g, após tratamento, tomadas em relação à o.p.g, antes do tratamento, após transformação por arco-seno  $\sqrt{\%}$ , obtidas nos locais 2, 3, 4 e 7.



Tabela 14 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon em relação à percentagem de o.p.g, transformada por arco-seno, nos locais 1, 5 e 8.

| F.V.                    | gl | QM         | F       |
|-------------------------|----|------------|---------|
| Entre tratamentos       | 1  | 741.4335   | 0,15 NS |
| Entre locais/tratamento | 4  | 4.928.6093 | 13,02   |
| Resíduo                 | 29 | 378.6264   |         |

Tabela 15 - Análise da variância para comparação entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol em relação à percentagem de o.p.g, transformada por arco-seno, nos locais 2, 3, 4 e 7,

| F.V.                    | gl | QM         | F       |
|-------------------------|----|------------|---------|
| Entre tratamentos       | 1  | 5.387,7043 | 1,19 NS |
| Entre locais/tratamento | 6  | 4.544,4019 | 8,55    |
| Resíduo                 | 39 | 531,3319   |         |

Os resultados das análises estatísticas para comparação entre as duas formulações de fenbendazol utilizadas, em pasta e em pó, constam das Tabelas 16 e 17.

Tabela 16 - Resultados obtidos com a aplicação do teste t para comparação entre as formas pó e pasta do fenbendazol para os caracteres contagem de o.p.g. e percentagem de o.p.g. após aplicação, após transformação dos dados.

| Carater               | $\bar{x}$ de fenbendazol |          | Valor t   |                 |
|-----------------------|--------------------------|----------|-----------|-----------------|
|                       | em pó                    | em pasta | calculado | DMS tabelado 5% |
| Contagem de o.p.g.    | 18,29                    | 15,71    | 1,04 NS   | 2,05            |
| Percentagem de o.p.g. | 35,20                    | 23,31    | 1,65 NS   | 2,05            |

Tabela 17 - Análises da variância para os caracteres contagem de o.p.g. e percentagem de o.p.g. após tratamento, após transformações dos dados, para comparação entre as formas pó e pasta do fenbendazol.

| Contagem de o.p.g. |    |         |         | Percentagem de o.p.g. |    |            |         |
|--------------------|----|---------|---------|-----------------------|----|------------|---------|
| F.V.               | gl | QM      | F       | F.V.                  | gl | QM         | F       |
| Entre tratamentos  | 1  | 48,0273 | 1,10 NS | Entre tratamentos     | 1  | 1.024,9266 | 2,85 NS |
| Residuo            | 27 | 43,5391 |         | Residuo               | 27 | 359,4947   |         |

Os resultados dos exames de coproculturas constam das Tabelas 18, 19 e 20.



## **7. DISCUSSÃO**

### **7.1. ESTUDO SOBRE A POSSIBILIDADE DE EXISTÊNCIA DE LINHAGENS RESISTENTES A COMPOSTOS BENZIMIDAZÓIS.**

#### **7.1.1. Carater contagem de o.p.g. após aplicação**

A significância dos testes F para avaliação dos efeitos entre locais ou propriedades obtida tanto antes como após aplicação dos três anti-helmínticos utilizados na pesquisa para o carater contagem de o.p.g. (Tabela 1) mostra que nas duas ocasiões ocorreram diferenças reais entre médias de locais, não explicáveis pelo acaso ao nível de 1% para a probabilidade do erro. Tais diferenças antes da aplicação, apenas expressam as condições existentes nesses locais explicáveis pelos diferentes manejos a que os animais eram ali submetidos. As diferenças após a aplicação já dão uma primeira indicação de que podem existir linhagens resistentes e linhagens susceptíveis nos diferentes locais testados pois se em todos eles só existissem as susceptíveis não haveria motivos para a permanência de diferenças

significativas entre as médias. Obviamente, dois locais contendo apenas linhagens susceptíveis deveriam ter suas médias igualadas num valor tendendo para zero após a aplicação dos anti-helmínticos, quaisquer que fossem as diferenças entre elas antes da aplicação.

Populações mostrando resistência à benzimidazóis em vários níveis já foram assinaladas por: DRUDGE et alii (1979); HOPE & KEMP (1980); WEBSTER et alii (1981); DRUDGE et alii (1981); KELLY et alii (1981); HERD et alii (1981); DRUDGE et alii (1983); GRIFFIN et alii (1983); DRUDGE et alii (1984); UHLINGER & JOHNSTONE (1985); BAUER et alii (1986); BATISTA NETO (1987); RYAN et alii (1987); BÜRGER & BAUER (1987); BRIT & CLARKSON (1988); DORNY et alii (1988); GREETS et alii (1988); NILSSON et alii (1989).

Os dados da Tabela 2 já mostram que os três produtos aplicados foram eficientes embora em diferentes graus, em todos os locais, com exceção dos locais 3 para fenbendazol + triclorfon e 7 para oxibendazol o que se deduz da redução sofrida pela média de antes para após o tratamento. Uma grande redução nessas médias durante o período experimental indica que nos locais onde tal fato foi constatado, deveriam existir linhagens susceptíveis em maior proporção do que linhagens resistentes. Uma pequena redução nessas médias já indica o contrário. Os locais 1 e 8, por exemplo, mostraram grande redução no número de o.p.g. quando os animais foram tratados por fenbendazol e por fenbendazol + trichlorfon, indicando susceptibilidade alta dos helmintos

existentes a esses compostos. Por outro lado, no local 5 também utilizado para a aplicação dos mesmos medicamentos, a redução da média já foi bem menor tanto para fenbendazol como fenbendazol + triclorfon, indicando a presença de considerável resistência das linhagens ali existentes. O local 7 também mostrou grande resistência ao fenbendazol + triclorfon pois na média sofreu apenas uma redução muito pequena. No local 6, tanto para o produto em pasta como em pó, a redução provocada na média pelo fenbendazol já foi apenas mediana, indicando estar ela numa posição intermediária entre os locais 1 ou 8 e 5 quanto à resistência das linhagens presentes. Quanto ao oxibendazol, os locais 2, 3 e 4 mostraram grande redução na média indicando presença de susceptibilidade mas o local 7, ao contrário mostrou grande resistência pois a média que era apenas 16,03 antes da aplicação do produto subiu para 20,87. Embora todas as comparações entre médias com os dados da Tabela 2 mostrem claramente a possibilidade de existência de linhagens resistentes em alguns locais enquanto em outros a presença de linhagens susceptíveis, melhor análise pode ser feita com os dados das Tabelas 3, 4 e 5, onde tais comparações são apresentadas em termos de significância.

Testes sobre eficácia anti-helmíntica do oxibendazol, fenbendazol e triclorfon associado ou não a algum benzimidazol já foram realizados por vários autores. NAWALINSKI & THEODORIDES (1976); DRUDGE et alii (1979); WEBSTER et alii (1981); DRUDGE et alii (1981); DRUDGE et alii (1984); BAUER et alii (1986); BATISTA

NETO (1987); GREETTS et alii (1988), verificaram eficácia do oxibendazol na eliminação de grandes e pequenos estrombilídeos. Em relação ao fenbendazol ineficácia para o tratamento de estrombilídeos foi constatada por: DRUDGE et alii (1979); HOPE & KEMP (1980); HERD et alii (1981); UHLINGER & JOHNSTONE (1985); BATISTA NETO (1987); RYAN et alii (1987); NILSSON et alii (1989); e eficácia do produto por ROBERSON et alii (1977); DRUDGE et alii (1975); LELAND et alii (1968). Eficácia do triclorfon associado ao febantel foi estudada por DRUDGE et alii (1978), e a associação com dianbendazol por BELLO (1991).

#### **7.1.2. Análise da eficiência do fenbendazol**

Os dados apresentados na Tabela 3 mostram um grande aumento do número de contraste significativos ao se comparar o período anterior ao tratamento com o composto fenbendazol, com o período posterior. Dos seis contrastes significativos após o tratamento, quatro foram não significativos antes, indicando que em todos eles o fenbendazol agiu sobre um dos locais de modo mais intenso do que no outro que faziam parte do controle. Por exemplo, o controle 5 e 8 que antes do tratamento apresentava o valor 4,86 não significativo, passou a 21,77, significativo ao nível de 1%. As medidas desses dois locais na Tabela 2 mostram claramente que, no grupo fenbendazol, a média do local 5 diminuiu de 31,10 para 22,48 enquanto, a do local 8 diminuiu muito mais, passando de 26,24 para 0,71. Tudo isso mostra claramente que, enquanto no local 8 as linhagens existentes são susceptíveis, no

local 5, são resistentes. O contraste 5 e 1 de valor 13,66, não significativo (Tabela 3) antes do tratamento, passou a 21,77, significativo a 1% após tratamento, novamente mostrando que o local 5 possui linhagens resistentes e o local 1, susceptíveis. O contraste 6 (pó) e 8, de valor 13,65 também não significativo antes do tratamento aumentou bastante no período após tratamento, passando para 17,58, significativo a 1%, novamente mostrando maior resistência das linhagens do local 6 (pó) do que as do local 8. Com o contraste 6 (pasta) e 8 também ocorreu mudança de não significância antes do tratamento para significância a 1% após tratamento, confirmando novamente a maior susceptibilidade das linhagens do local 8 para o produto fenbendazol do que as do local 6.

O contraste 6 (pasta) e 5, embora não significativo tanto antes como depois do tratamento mostra maior resistência em 5 do que em 6 (pasta) pois se antes do tratamento a média de 5 era menor do que a de 6 (pasta) passou a ser maior do que esta, após o tratamento. A mesma variação ocorreu no contraste 6 (pó) e 5 onde houve inversão das posições das duas médias após o período em que o experimento foi desenvolvido, novamente mostrando maior resistência das linhagens existentes em 5 do que em 6. Os demais contrastes não demonstraram evidências suficientes a respeito da existência de linhagens resistentes nos locais testados.



### 7.1.3. Análise da eficácia da combinação fenbendazol + triclorfon

Os dados apresentados na Tabela 4 também mostram evidência de existência de linhagens resistentes e de linhagens susceptíveis. Assim, o contraste 8 e 5 que foi significativo a 5% antes do tratamento, passou a não significativo após tratamento em virtude de uma sensível redução da média do local 8 que, de maior do que a do local 5 antes do tratamento, ficou menor do que a de 5, após (Tabela 2), mostrando susceptibilidade em 8 e resistência em 5. A mesma modificação ocorreu com o contraste 8 e 7, significativo a 5% antes e não significativo após tratamento, devido a média de 8 ter se reduzido bastante a ponto de se tornar menor do que a de 7 (Tabela 2), mostrando novamente susceptibilidade em 8 e resistência em 7, com o contraste 8 e 2 o mesmo fenômeno ocorreu, mudando o contraste significativo antes, tendo 8 média maior do que 2, para não significativo após, ficando 8 com média inferior a 2 (Tabela 2), levando à conclusão de presença de susceptibilidade em 8 e resistência em 2.

Com os contrastes 8 e 4 e 8 e 1, o primeiro significativo a 1% e o último a 5% antes do tratamento, também ocorreu grande mudança, tornando-se ambos não significativos após tratamento em virtude da ocorrência de grande redução na média de 8 e menor dedução nas de 4 e 1 (Tabela 2), mostrando novamente susceptibilidade em 8. Com o contraste 8 e 3, significativo a 1% antes do tratamento ocorreu também grande modificação, passando a não significativo após tratamento, por causa de ter havido sensível diminuição da média de 8, indicando susceptibilidade, e

ligeiro aumento na de 3 (Tabela 2), indicando resistência. Com o contraste 5 e 1, não significativo antes do tratamento o fenômeno se repetiu pois, após tratamento ocorreu significância a 5%, como consequência de ter havido maior redução na média de 1 do que na de 5, mostrando maior resistência em 5 do que em 1.

#### **7.1.4. Análise da eficiência do oxibendazol**

Os dados da Tabela 5 também mostram evidências claras da resistência de linhagens de pequenos estrogilídeos em alguns locais, e da susceptibilidade em outros. Os contrastes entre os locais 2 e 7 e entre 4 e 7 ambos não significativos antes, e significativos a 1% após tratamento, mostram claramente a presença da resistência em 7 para o qual houve um substancial aumento na média de antes para depois do tratamento (Tabela 2) e susceptibilidade alta em 2 e em 4 cujas médias diminuíram bastante em consequência do tratamento (Tabela 2). Com o contraste 2 e 3 a significância a 5% constatada antes, e a não significância constatada após tratamento, indicam susceptibilidade em 2 maior do que em 3, como se pode ver pela variação das médias nesses dois locais (Tabela 2). O contraste 2 e 4 foi não significativo tanto antes como depois em consequência de ter havido grande redução nas duas médias, o que mostra susceptibilidade presente nos dois locais.

## 7.2. CARATER PERCENTAGEM DE O.P.G. APÓS APLICAÇÃO

A significância dos testes F para avaliação dos efeitos entre locais para o carater percentagem de o.p.g. após aplicação dos anti-helmínticos (Tabela 6) mostra que as diferenças entre médias de locais submetidos ao mesmo tratamento não deve ser explicada pelo simples acaso. Assim, deve-se admitir que em alguns locais cuja percentagem foi maior, ocorrem linhagens resistentes, enquanto em outros, cuja média foi menor, ocorrem linhagens susceptíveis.

A Tabela 7 já permite visualizar por simples comparação de médias que para fenbendazol, o local 5 apresenta resistência e os locais 1 e 8, susceptibilidade; para fenbendazol + triclorfon, os locais 3 e 7 apresentam resistência e os locais 1 e 8, susceptibilidade; e para oxibendazol, o local 7 apresenta resistência, e o local 4, susceptibilidade. Entretanto, tais comparações devem ser feitas considerando-se a significância ou não dessas diferenças, e para isso deve-se levar em conta os dados das Tabelas 8, 9 e 10.

Analisando-se os dados da Tabela 8, a significância constatada a 1% para os contrastes entre 5 e 6 (pasta), 5 e 1, 5 e 8, 6 (pó) e 1 e 6 (pó) e 8, não deixam dúvidas de que o local 5 apresenta grande resistência ao fenbendazol e os locais 1 e 8, grande susceptibilidade.

Para análise do efeito de fenbendazol + triclorfon, os dados da Tabela 9 já mostram poucas evidências para a constatação da existência de linhagens resistentes pois de todos os 21

contrastes testados apenas quatro mostraram significância e apenas ao nível de 5%. Porém, pode-se ainda esperar que no local 7 ocorra resistência e nos locais 1 e 8, susceptibilidade.

Para análise do efeito do oxibendazol, os dados da Tabela 10 não deixam dúvidas a respeito de haver resistência considerável no local 7 em comparação com os demais onde o composto foi testado.

### **7.3. ESTUDO SOBRE A POSSIBILIDADE DA EXISTÊNCIA DE DIFERENÇAS ENTRE AS EFICÁCIAS DOS ANTI-HEMÍNTICOS TESTADOS.**

Os dados expostos nas Tabelas 12, 13, 14 e 15 mostram não significância nos contrastes entre fenbendazol e fenbendazol + triclorfon e entre fenbendazol + triclorfon e oxibendazol, tanto quanto foi usado o caráter contagem de o.p.g., como quando o caráter utilizado foi a percentagem de o.p.g. após tratamento. Tais resultados não permitem concluir que as diferenças entre as médias assim analisadas sejam devidas a existência de reais diferenças entre os compostos comparados. Os valores menores do que a unidade, obtidos para o teste F nas Tabelas 12, 13 e 14, indicam que a variação entre locais dentro de cada tratamento foi muito mais importante do que as diferenças entre os compostos. Isso significa dizer que para uma perfeita comparação entre os produtos seria mais conveniente o uso de animais infectados em laboratório com as mesmas linhagens dos helmintos. Com isso a variação do acaso diminuiria, permitindo melhor detecção das possíveis diferenças entre os produtos.

Embora os testes feitos para tais comparações fossem não significativos, os valores das médias expostas na Tabela 11 mostram uma ligeira vantagem de fenbendazol em comparação com fenbendazol + triclorfon, tanto para o caráter contagem de o.p.g. como para percentagem de o.p.g. Do mesmo modo verifica-se também uma pequena vantagem do oxibendazol sobre fenbendazol + triclorfon pois o primeiro produto determinou média mais baixa tanto para o caráter contagem de o.p.g. como para o caráter percentagem de o.p.g. após tratamento. Assim sendo é bastante possível que tanto fenbendazol como oxibendazol venham a se revelar como tendo maior eficiência do que fenbendazol + triclorfon em trabalhos experimentais com maior contraste experimental.

Trabalhos permitindo comparações entre as eficácias do oxibendazol e do fenbendazol foram realizadas por DRUDGE et alii (1979); DRUDGE et alii (1981) e BATISTA NETO (1987), tendo sido constatado maior eficácia do oxibendazol em comparação com o fenbendazol. Testes utilizando triclorfon em associação com febantel, e com tiabendazol/piperazina foram feitos por WEBSTER et alii (1981) verificando ineficácia da primeira e significativa redução na contagem dos ovos fecais na segunda. A análise dos resultados obtidos no trabalho mostram que a eficácia desta segunda associação foi provavelmente devida à piperazina e não ao triclorfon.

#### **7.4. ESTUDO SOBRE A POSSIBILIDADE DE EXISTÊNCIA DE DIFERENÇAS ENTRE AS EFICÁCIAS DO FENBENDAZOL QUANDO APLICADO EM PÓ OU EM PASTA.**

Os dados expostos nas Tabelas 16 e 17 mostram que as diferenças entre as médias dos dois tipos de apresentação de fenbendazol, não diferem significativamente entre si, tanto para o caráter contagem de o.p.g., como percentagem de o.p.g. Isso significa dizer que ambas as formas são equivalentes quanto à eficácia. Porém, como a forma em pó determinou maior média para os dois caracteres (Tabela 16), é possível que possa haver maior vantagem no uso da pasta do que pó.

## 8. CONCLUSÕES

De tudo o que foi observado na pesquisa, podem ser tiradas as seguintes conclusões:

- Os resultados observados no tratamento de plantéis de eqüinos com os benzimidazóis fenbendazol, oxibendazol e da combinação fenbendazol/trichlorfon na redução das contagens de ovos por grama de fezes (OPG) em eqüinos a nível de campo em propriedades situadas no Estado do Rio de Janeiro, demonstraram a existência de vários graus de resistência de populações de pequenos strongilídeos (Cyathostominae) a estes compostos.
- Para efeito de comparação da eficácia de diferentes benzimidazóis em populações de pequenos strongilídeos (cyathostominae) sugere-se o uso de animais

artificialmente infectados com populações ou linhagens oriundas de um mesmo local ou planeta.

- A associação do organo-fosforado trichlorfon à benzimidazóis normalmente empregados em formulações comerciais de anti-helmínticos visando o controle de larvas de dípteros do gênero *Gasterophilus* sp não amplia a eficácia do benzimidazol, fenbendazol, com relação à populações de pequenos estrogilídeos resistentes a benzimidazóis.
  
- É possível que a eficácia da formulação em pasta do fenbendazol seja superior à administração em pó, adicionada ao concentrado ou à ração farelada.



## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATISTA NETO, R. Quimioterapia de Helmintoses de Ruminantes e Equinos. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pp.115, 1987.
- BAUER, C.; MERKT, J.C.; GRIMM, G.J. & BÜRGER, H.J. Prevalence and control of benzimidazole-resistant small strongyles on German thoroughbred studs. *Vet. Parasitol.*, 21:189-203, 1986.
- BELLO, T.R. Controlled test evaluation of the benzimidazole anthelmintic VET 220-S alone or with concomitant trichlorfon treatment against naturally acquired gastrointestinal parasites in ponies. *Am. J. Vet. Res.*, 52(4):566-569, 1991.
- BRITT, D.P. Benzimidazole-resistant nematodes in Britain. *Vet. Record.*, 110:343-344, 1982.

- BRITT, D.P. & CLARKSON, M.J. Experimental chemotherapy in horse infected with benzimidazole-resistant small strongyles. Vet. Rec., 123:219-221, 1988.
- BÜRGER, H.J. & BAUER, C. Efficacy of four anthelmintics against benzimidazole-resistant cyathostomes of horses. Vet. Rec., 120:293-296, 1987.
- COLES, G.C. & SIMPKIN, K.G. Resistance of nematode eggs to the ovicidal activity of benzimidazoles. Res. Vet. Sci., 22:386-387, 1977.
- DORNY, P.; VERCRUYSSSE, J.; BERGHEN, P. Resistance of equine small strongyles to benzimidazoles in Belgium. Zentralblatt für Veterinär Medizin, 32(1):72-75, 1988.
- DRUDGE, J.H.; SZANTO, J.; WYANT, A.M. & ELAN, G. Critical tests of thiabendazole as an anthelmintic in the horse. Am. J. Vet. Res., 24:1217-1222, 1963.
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T. & TOLLIVER, S.C. Critical tests of suspension, paste, and pellet formulations of cambendazol in the horse. Am. J. Vet. Res., 36(4):435-439, 1975.
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T. & TOLLIVER, S.C. Critical tests of the anthelmintic febantel in the horse: activity of a paste formulation alone or with a trichlorfon paste. Am. J. Vet. Res., 39:1419-1421, 1978.

- DRUDGE, J.H. & LYONS, E.T. Methods in the evaluation of antiparasitic drugs in the horse. *Am. J. Vet. Res.*, 38(10):1581-1586, 1977.
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T. & TOLLIVER, B.S. Benzimidazole resistance of equine strongyles-critical tests of six compounds against population B. *Am. J. Vet. Res.*, 40(4):590-594, 1979.
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T.; TOLLIVER, S.C. & KUBIS, J.E. Critical trials with fenbendazole and oxibendazole for *Strongyloides westeri* infection in foals. *Am. J. Vet. Res.*, 42(3):526-527, 1981.
- DRUDGE, J.H.; LYONS, E.T.; SWERCZECK, T.W. & TOLLIVER, S.C. Cambendazole for strongyles control in a pony band: Selection of a drug-resistant population of small strongyle and teratologic implications. *Am. J. Vet. Res.*, 44(1):110-114, 1983.
- DRUDGE, J.H.; TOLLIVER, S.C. & LYONS, E.T. Benzimidazole resistance of equine strongyles: critical tests of several classes of compounds against population B strongyles from 1977 to 1981. *Am. J. Vet. Res.*, 45(4):804-809, 1984.
- DUNCAN, J.L. & REID, J.F.S. An evaluation of the efficacy of oxfendazole against the common nematode parasites of the horse. *Vet. Rec.*, 103:332-334, 1978.

- EYSKER, M.; JANSEN, J.; WEMMENHOVE, R. & MIRCK, M.H. Alternate grazing of horses and sheep as control for gastro-intestinal helminthiasis in horses. *Vet. Parasitol.*, 13:173-280, 1983.
- EYSKER, M.; BOERSEMA, J.H.; KOOYMAN, F.N.J. & BERGHEN, D. Possible resistance of small strongyles from female ponies in the Netherlands against albendazole. *Am. J. Vet. Res.*, 49(7):995-999, 1988.
- EYSKER, M.; BOERSEMA, J.H. & KOOYMAN, F.N.J. Effect of repeated oxfendazole treatments on small strongyles infections in shetland ponies. *Res. Vet. Sci.*, 44:409-412, 1989a.
- EYSKER, M.; BOERSEMA, J.H. & KOOYMAN, F.N.J. Emergence from inhibited development of cyathostome larvae in ponies following failme to remove them by repeated treatments with benzimidazole compounds. *Vet. Parasitol.*, 24:87-93, 1989b.
- FRENCH, D.D. & KLEI, T.R. Benzimidazole-resistant strongyle infections. A review of significance, occurrence, diagnosis and control. *Proc. Ann. Conv. Am. Assoc. Equine Pract.*, 29:313-317, 1983.
- GEERTS, S.; GUFFENS, G.; BRANDT, J.; KUMAR, V. & EYSKER, M. Benzimidazole resistance of small strongyles in horses in Belgium. *Vlaams Diergenees Kunding Tijds Chrif*t 57(1):20-26, 1988.

- GRIFFIN, D.L.; WHITLOCK, H.V.; SELLE, P.H. & GRIFFIN, L.C.  
Treatment of benzimidazole-resistant cyathostomes in horses-  
Evaluation of a Paste of Fenbantel Plus a Piperazine. Aust.  
Vet. J., 60:25-27, 1983.
- HERD, R.P.; MILLER, T.B. & GABEL, A.A. A field evaluation of  
Pro-benzimidazole, benzimidazole and non-benzimidazole  
anthelmintics in horse. J.A.V.M.A. 179(7):686-691, 1981.
- HOPPE, J.J. & KEMP, G.K. Apparent *Trichonema* resistance to  
Fenbendazole. New Zealand Vet. J., 28:80-81, 1980.
- JONES, B.V. (1984) in WALLER, P.J. Anthelmintic Resistance and  
the Future for roundworm control. Vet. Parasitol., 25:177-191,  
1987.
- KELLY, J.D.; WEBSTER, J.H.; GRIFFIN, D.L.; WHITLOCK, H.V.;  
Martin, I.C.A. & GUNAWAN, M. Resistance to benzimidazole  
anthelmintics in equine strongyles. Aust. Vet. J., 57:163-171,  
1981.
- KINGSBURY, P.A. & REID, J.F.S. Anthelmintic activity of paste and  
drench formulations of oxfendazole in horse. Vet. Rec.,  
109:404-407, 1981.
- LELAND, S.E.; COMBS, G.E.; WALLACE, L.J. Anthelmintic Activity of  
Thiabendazole and Trichlorphon Against Migrating and Adult  
*Strongyloides ransoni* in Suckling and Weanling Pigs. Am. J.  
Vet. Res., 29(4):797-806, 1968.

- LOVE, S.; McKELLAR, Q.A. & DUNCAN, J.L. Benzimidazole resistance in a herd of horses. *Vet. Rec.*, 124:560-561, 1989.
- MARTIN, P.J.; ANDERSON, N. & JARRETT, R.G. Detecting benzimidazole resistance with faecal egg count reduction test and in vitro assays. *Aust. Vet. J.*, 66(8):236-240, 1989.
- NAWALINSKI, T. & THEODORIDES, V.J. Critical tests with oxibendazole against gastrointestinal parasites of ponies. *Am. J. Vet. Res.*, 37(4):469-471, 1976.
- NILSSON, O.; LINDHOLM, A. & CHRISTENSSON, D. A field evaluation of anthelmintics in horses in Sweden. *Vet. Parasitol.*, 32:163-171, 1989.
- OGBOURNE, P.C. The prevalence, relative abundance and site distribution of nematodes of the subfamily Cyathostominae in horses killed in Britain. *J. Helmitol.*, 50:203-214, 1976.
- POLUSZYNSKI, G. Morphologisch Biologisch Untersuchungen über froilebenden Larven einiger Pledistionancytiden. *Tferäzll. Rundsch.*, 36:871-873, 1930.
- REINEMEYER, R. & HENTON, J.E. Observations on equine strongyles control in southern temperate USA. *Equine Vet. J.*, 19(6):505-508, 1987.
- ROBERTS, F.H.S. & O'SULLIVAN, P.J. Methods for egg counts and larval culture for strongylis infesting the gastrointestinal tract of cattle. *J. Agric. Res.*, 1(1):99-102, 1950.

- RYAN, W.G.; LUMSDEN, G.G.; SMITH, S.M. & TAYLOR, M.A.  
Benzimidazole resistance in equine small strongyles. Vet.  
Rec., 121:497, 1987.
- SANTIAGO, M.A.M.; COSTA, U.C.; BENEVENGA, S. & SILVA, V.P. Ação  
anti-helmíntica do mebendazole em eqüinos. Pesq. Agropec.  
Bras., Sér. Vet., 8:121-123, 1973.
- STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. Principles and Procedures of  
statistics, McGraw-Hill Book Company, inc. N.Y., Toronto,  
London, 1960.
- TAYLOR, M.A. & HUNT, K.R. Anthelmintic drug resistance in the UK.  
Vet. Rec., 125:143-147, 1989.
- UHLINGER, C. & JOHNSTONE, C. Prevalence of benzimidazole  
resistant small strongyles in horse in a Southeastern  
Pennsylvania Practice. J.A.V.M.A. 177(12):1362-1366, 1985.
- UHLINGER, C.; JOHNSTONE, C. & FETROW, J. A field evaluation of  
oxibendazole in horse infected with benzimidazole-resistant  
small strongyles. J. Eq. Vet. Sci., 6(1):11-14, 1986.
- WALLER, P.J. Anthelmintic resistance and the future for roundworm  
control. Vet. Parasitol., 25:177-191, 1987.
- WEBSTER, J.H.; BAIRD, J.D.; GUNAWAN, M.; MARTIN, I.C.A. & KELLY,  
J.D. 2. Evidence of side-resistance, and susceptibility of  
benzimidazole-resistant strongyles to non-benzimidazole  
compounds. Aust. Vet. J., 57:172-181, 1981.

WHITLOCK, H.V. Some modifications of the McMaster Helminth egg - counting and apparatus. *J. Helminthol.*, 21:177-188, 1948.

WHITLOCK, H.V.; KELLY, J.D.; PORTES, C.J.; GRIFFIN, D.L. & PARTIN, I.C.A. In vitro screening for anthelmintic resistance in strongyles of sheep and horses. *Vet. Parasitol.*, 7:215-232, 1980.