

## RESISTÊNCIA LATERAL ÀS MACROLACTONAS EM NEMATODAS DE BOVINOS

(*Side-resistance to macrolactones in cattle nematodes*)

MELLO, M.H.A.<sup>1</sup>; DEPNER, R.<sup>1</sup>; MOLENTO, M.B.<sup>2</sup>; FERREIRA, J.J.

<sup>1</sup>Aluno do curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS;

<sup>2</sup>Médico Veterinário, PhD, Setor de Doenças Parasitárias, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, Santa Maria, RS.

**RESUMO** – No Rio Grande do Sul (RS), a bovinocultura de corte, em sua maioria, tem caráter extensivo e o controle parasitário é fundamentado no uso contínuo de drogas anti-helmínticas. Os produtos mais utilizados fazem parte do grupo das lactonas macrocíclicas (LM's). No RS, já existem relatos da ocorrência de resistência a estes produtos em parasitas gastrintestinais. O objetivo deste trabalho foi determinar a eficácia de 10 LM's disponíveis comercialmente em bovinos naturalmente infectados. Foram utilizados setenta bovinos da raça Nelore, de aproximadamente um ano de idade. Cada grupo ( $n=7$ ) foi tratado com doramectina 1% (Dectomaxâ, Pfizer), moxidectina 1% (Cydectinâ, Fort Dodge), quatro ivermectinas 1% (Ivermectinaâ, Ouro Fino; Ivermectinaâ, Jofadel; Imectinâ, Irfa; Dectiverâ, Lapis); ivermectina 3,1% (Ivomec Goldâ, Merial), duas abamectinas 1% (Abamectinaâ, Jofadel; Abactinâ, Biofarm), e a combinação ivermectina 1,25% com abamectina 1,25% (Solutionâ, Intervet) na dose recomendada pelo fabricante. Amostras fecais foram colhidas nos dias 0, 7, 14 e 21 pós-tratamento para determinação do número de ovos e cultura de larvas e cálculo do percentual de eficácia com o programa estatístico RESO. A eficácia das drogas foi de 0, 0, 19, 89, 30, 13, 27, 0, 0, e 67% respectivamente, 21 dias pós-tratamento. Os gêneros, *Trichostrongylus* sp. e *Cooperia* sp. demonstraram resistência a todos os produtos. Embora nessa população de parasitas gastrintestinais o produto à base de ivermectina 3,1% e da combinação ivermectina e abamectina jamais tenha sido utilizado previamente, os dados obtidos confirmam o grave desenvolvimento da resistência lateral entre as LM's nos mais importantes nematóides de bovinos.

**Palavras-chave:** bovinos, nematodas, lactonas macrocíclicas, resistência lateral.

**ABSTRACT** – Cattle ranches in Rio Grande do Sul (RS), are predominantly extensive and the control of gastrointestinal nematodes relies on the continuous usage of anthelmintic drugs. Macrocylic lactones (ML's) are the most frequently used products. There have been reports of anthelmintic resistance from gastrointestinal parasites in RS. The objective of this work was to determine the efficacy of 10 commercially available ML's in naturally infected cattle. A total of seventy Nelore and Charolais of about one year old and their crosses were studied.

Each group ( $n=7$ ) was treated with: doramectin 1% (Dectomaxâ, Pfizer), moxidectin 1% (Cydectinâ, Fort Dodge), four ivermectin 1% (Ivermectinaâ, Ouro Fino; Ivermectinaâ, Jofadel; Imectinâ, Irfa; Dectiverâ, Lapis); ivermectin 3.1% (Ivomec Goldâ, Merial), two abamectin 1% (Abamectinaâ, Jofadel; Abactinâ, Biofarm), and the combination ivermectin 2.25% plus abamectin 1.25% (Solutionâ, Intervet) at their recommended doses. Fecal samples were collected at 0, 7, 14 and 21 days post-treatment for the fecal egg count reduction test (FECRT) and larval culture, using modified RESO analysis. At 21 days after treatment overall efficacy was 0, 0, 19, 89, 30, 13, 27, 0, 0, and 67% respectively. *Trichostrongylus* sp. and *Cooperia* sp. have shown resistance to all products. Although, ivermectin 3.1% nor the combination ivermectin plus abamectin were used previously against this parasite population, the data confirm the deep development of side-resistance between ML's in the most important cattle nematodes.

**Key-words:** cattle, nematodes, macrocyclic lactones, side-resistance.

### Introdução

A maior consequência do parasitismo gastrintestinal é causada por sua alta morbidade nos animais, ou seja, o caráter crônico da infecção, resultando em baixo índice de crescimento dos animais, com consequente retardado na idade de abate e queda no rendimento econômico (PINHEIRO *et al.*, 1999). Neste contexto, o sistema de produção de bovinos predominante no Estado do Rio Grande do Sul, é na forma extensiva, com a invariável exposição dos animais a cargas parasitárias, em maior ou menor quantidade, dependendo da época do ano, das alterações climáticas, do estado fisiológico dos animais, e do tipo de programa de controle da verminose adotado na propriedade (NARI e FIEL, 1992).

Os produtos mais utilizados no controle da verminose pertencem ao grupo das lactonas macrocíclicas (LM's), entre eles: a ivermectina, moxidectina, abamectina e doramectina. Estes compostos apresentam mecanismo de ação semelhante, porém ainda não totalmente esclarecido (ARENA, *et al.*, 1991). A forma de controle da verminose mais utilizada no RS é através do uso supressivo dos medicamentos, com insuficiente aplicação do conhecimento epidemiológico dos

parasitas envolvidos. Desta forma, o que se pode observar é a seleção de organismos aptos a sobreviver ao efeito tóxico dos fármacos.

Conforme CONDER e CAMPBELL, (1995) a resistência parasitária é uma característica hereditária e ocorre quando há um aumento de parasitas capazes de sobreviver ao tratamento. Este fenômeno ocorre para todas as famílias de drogas, incluindo as LM's, e é realidade em vários países (WALLER, 1997). Recentemente, foram relatados casos de resistência lateral e múltipla da *Cooperia oncophora* frente à ivermectina, moxidectina, doramectina e oxfendazole em bovinos na Nova Zelândia (VERMUNT *et al.*, 1995, 1996), Reino Unido (COLES *et al.*, 1998) e Argentina (FIEL *et al.*, 2000). No Brasil, ECHEVARRIA e PINHEIRO (1999) relataram a ocorrência de resistência parasitária à ivermectina em 20% de propriedades rurais no RS. PAIVA e MENZ (2000), constataram resistência da *Cooperia punctata* e *Haemonchus placei* à ivermectina no estado de São Paulo.

O objetivo deste trabalho foi determinar a eficácia de 10 produtos pertencentes à classe das LM's em bovinos naturalmente infectados e com histórico de resistência a abamectina (MOLENTO *et al.* 2004a).

### Material e Métodos

O experimento foi realizado durante os meses de junho e julho de 2004, no Setor de Bovinocultura de Corte, do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Foram utilizados 70 animais, machos, com idade média de 11 meses, das raças Charolês, Nelore e suas cruzas. Todos os animais estavam a campo apresentando infecção natural de parasitas gastrintestinais.

Os animais foram tratados com produtos da classe das LM's provenientes de laboratórios certificados pelo Ministério da Agricultura (MAPA - ANVISA). Sete animais foram divididos aleatoriamente para cada grupo, sendo: G1: Ivermectina 1% (Ouro Fino); G2: Ivermectina 1% (Jofadel); G3: Imectinâ (ivermectina 1% - Irfa Química); G4: Dectiverâ (ivermectina 1% - Lapisa); G5: Ivomec Goldâ (ivermectina 3,15% - Merial); G6: Abactinâ (abamectina 1% - Biofarm); G7: Abamectina 1% (Jofadel); G8: Solutionâ (ivermectina 2,25% combinada com abamectina 1,25% - Intervet); G9: Dectomaxâ (doramectina 1% - Pfizer); G10: Cydectinâ (moxidectina 1% - Fort Dodge) na dose recomendada pelo fabricante.

**Desenho experimental:** Amostras de fezes foram colhidas diretamente da ampola retal, nos dias 0, 7, 14, e 21 pós-tratamento (PT) para realização da contagem de ovos por grama (OPG) usando a técnica de GORDON e WHITLOCK (1939) modificada. O período de amostragem selecionado compreende o tempo necessário para se avaliar o efeito tóxico das macrolactonas (compostos de longa persistência), que ocorre até

18 dias pós-tratamento. A identificação das larvas foi realizada utilizando o método descrito por VAN WYK *et al.* (2004) com a identificação de 100 larvas. Os resultados foram analisados pelo teste de redução de ovos, utilizando o programa RESO (WURSTHORN e MARTIN, 1989), versão 2.0. O referido programa compara a média da contagem de ovos no dia 0 (zero) e a média no dia da avaliação, não sendo necessária a inclusão de grupo controle durante toda a fase experimental.

### Resultados e Discussão

Os resultados da contagem média da OPG nos dias 7, 14 e 21, assim como a eficácia dos produtos estão descritos na TABELA 1. Embora a ivermectina 1% tenha sido utilizada nos grupos G1 a G4, foi observada diferença significativa ( $P>0,05$ ) nos dias 7 (G3), 14 (G4) e 21 (G2) PT, quando se comparou os dados de um mesmo grupo. No entanto, mesmo observando que o G2 apresentou eficácia de 89% na amostragem do dia 21 PT, todos os produtos utilizados apresentaram eficácia insatisfatória ao longo dos períodos de análise de acordo com WOOD *et al.* (1995). O efeito tóxico da abamectina 1% no grupo G6 e G7 pode ser considerado nulo, ainda que o grupo G7 tenha apresentado redução de 36% no 7º dia PT. A eficácia dos produtos contendo doramectina (G9) e moxidectina (G10) também apresentou efeito nulo e/ou negativo.

O composto contendo ivermectina 3,15% (G5) apresentou eficácia de 40, 57 e 27% que é considerado insuficiente aos índices propostos pela Associação Mundial para o Avanço da Parasitologia Veterinária (WAAVP) (WOOD *et al.*, 1995) durante os períodos. Estes dados apresentaram diferença significativa ( $P=0,01$ ) nos dias 7 e 21 PT quando comparados ao produto da combinação de ivermectina 2,25% e abamectina 1,25% (G8) que obteve 83, 60 e 67%, respectivamente nos dias 7, 14 e 21. Embora apresentando índices de eficácia muito abaixo aos exigidos por organismos internacionais. Este último foi o produto que atingiu os melhores resultados, considerando-se a média entre avaliações (64,66%, desvio padrão 4,04%).

Na coprocultura foi determinada a presença dos gêneros: *Trichostrongylus sp.*, *Cooperia sp.*, *Haemonchus sp.*, *Bunostomum sp.* e *Ostertagia sp.*. Na média entre todos os grupos o *Trichostrongylus sp.* (40,1%), *Cooperia sp.* (40,5%) e *Haemonchus sp.* (15,7%) foram os mais prevalentes. Neste caso, a determinação da infecção mista dos animais, comprova a ocorrência de diarréia em 27% dos animais, sinal do agravamento causado pela gastrite de origem parasitária. Muito embora a proporção de larvas encontrada nas fezes apresentou uma diferença de até 30% entre grupos, espera-se que a infestação dos animais na pastagem

obedeça um padrão binomial negativo, conforme descrito por MORGAN *et al.* (2005). Estudos comprovam que a pastagem pode permanecer

infestada mesmo durante os meses de inverno, favorecendo a translação destes gêneros (DAFFNER *et al.*, 1990; HECK *et al.*, 2005).

TABELA 1 – MÉDIA DA CONTAGEM DE OPG NOS DIAS 0, 7, 14 E 21 PÓS-TRATAMENTO DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS E PERCENTUAL DE REDUÇÃO.

Composto químico	Dia 0		Dia 7		Dia 14		Dia 21	
	OPG	OPG	% Red.	OPG	% Red.	OPG	% Red.	OPG
G1. Ivermectina 1%	433	467	0	425	2	350	19	
G2. Ivermectina 1%	450	525	0	450	0	50	89	
G3. Ivermectina 1%	1208	608	50	1300	0	850	30	
G4. Ivermectina 1%	642	608	5	442	31	558	13	
G5. Ivermectina 3,1%	865	515	40	395	57	631	27	
G6. Abamectina 1%	317	392	0	375	0	508	0	
G7. Abamectina 1%	425	270	36	442	0	967	0	
G8. Ivermectina 2,25% e abamectina 1,25%	400	67	83	158	60	133	67	
G9. Doramectina 1%	500	400	20	933	0	1167	0	
G10. Moxidectina 1%	20	15	25	75	0	280	0	

1. Ivermectinaâ (Ouro Fino); 2. Ivermectinaâ (Jofadel); 3. Imectinâ (Irfa); 4. Dectiverâ (Lapisa); 5. Ivomec Goldâ (Merial); 6. Abactinâ (Biofarm); 7. Abamectinaâ (Jofadel); 8. Solutionâ (Intervet); 9. Dectomaxâ (Pfizer); 10. Cydectin NFâ (Fort Dodge).

Os dados revelam o alto grau de resistência dos gêneros *Trichostrongylus sp.* e *Cooperia sp.* para todos os produtos utilizados neste experimento. *Haemonchus sp.* mostrou-se resistente à ivermectina do grupo G2 e sensível à abamectina do grupo G7. *Oesofagostomum sp.* apresentou-se resistente ao tratamento do grupo G9, mas sensível ao G7. *Bunostomum sp.* demonstrou ser resistente ao produto combinado ivermectina e abamectina no G8, à ivermectina no G1 e G3, porém sensível no G2. *Ostertagia sp.* se mostrou sensível ao G8.

A alta resistência de vermes gastrintestinais de bovinos às ivermectinas foi relatada por ANZIANI *et al.* (2004), na Argentina, determinando a eficácia de 13% no dia 10 PT. WILLIAMS *et al.* (1999), relataram que nos dias 7, 14 e 21 PT a ivermectina atingiu, respectivamente, 71, 43,7 e 75% de eficácia em bovinos com infecção mista. A resistência do *Trichostrongylus sp.* e *Cooperia sp.* à ivermectina foi relatada por FIEL *et al.* (2000, 2001) e COLES *et al.* (1998). Os relatos de resistência à doramectina apresentados por WILLIAMS *et al.* (1999), e FIEL *et al.* (2001), demonstram valores de 86 e 85% de eficácia no 14º dia PT, respectivamente. Neste trabalho, a doramectina também se mostrou ineficaz durante todo o experimento.

A resistência parasitária em bovinos demonstrada por endo e ectoparasitas é atualmente, talvez, o maior entrave para a pecuária comercial nacional e em vários outros países de regiões tropicais e sub-tropicais. O intervalo inicial (meses/anos) para que este fenômeno inicie depende da espécie do parasita, da presença de gene/s que confere(m) para resistência, da pressão de

seleção exercida pela droga utilizada e do tipo de manejo escolhido para cada situação (SANGSTER, 2003). Os dados revelados neste experimento demonstram os efeitos negativos da resistência lateral entre os membros das LM's, devido ao sistema de tratamento supressivo utilizado na Fazenda Experimental Área Nova, utilizando somente produtos que pertencem a este grupo de anti-helmínticos. CHARLES e FURLONG (1996) e MOLENTO e ALMEIDA (2004) demonstraram que esta estratégia é comum no Brasil. HERD (1992) ressalta que o tratamento supressivo é a principal causa do desenvolvimento de resistência, havendo uma alta pressão de seleção para organismos resistentes.

O sistema de manejo adotado na propriedade, onde os animais recém-tratados são transferidos para pastagens limpas também pode ser apontado como outra causa do aparecimento da resistência. Neste caso, a população da nova pastagem imediatamente após o tratamento seria composta de parasitas com características genéticas para a resistência. Segundo VAN WYK (2001) a população em *refugia* é aquela que retém o caráter suscetível, sendo de fundamental importância para retardar o aparecimento da resistência. MOLENTO *et al.* (2004b) ressaltam que o esquema de tratamento e mudança para outra pastagem, principalmente com produtos da família das LM's, suprime consideravelmente a possibilidade da sobrevivência da população em *refugia*. Se esta estratégia for executada de forma contínua as larvas que eclodirem no novo pasto serão portadoras dos genes resistentes aos antiparasitários utilizados anteriormente (HEJMADI *et al.*, 2000).

## Conclusão

Há poucos relatos de resistência parasitária às lactonas macrocíclicas em parasitas gastrintestinais de bovinos no Brasil. A constatação da baixa eficácia encontrada nos produtos utilizados neste trabalho demonstra o papel relevante dos técnicos sobre o uso desta classe de anti-helmínticos. Embora seja necessário um estudo mais aprofundado, ressalta-se a importância de um rígido programa governamental de controle de qualidade dos medicamentos veterinários no Brasil, mais especificamente aos produtos antiparasitários genéricos e/ou similares.

## Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer ao Dr. Luiz Brondani do Departamento de Zootecnia, UFSM e aos estudantes de Medicina Veterinária e Zootecnia que trabalham na Fazenda Experimental Área Nova por sua assistência e fundamental colaboração.

## Referências

- ANZIANI, O.S.; SUAREZ, V.; GUGLIELMONE, A.A.; WARNKE, O.; GRANDE, H.; COLES G.C. Resistance to benzimidazole and macrocyclic lactone anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.122, p.303-306, 2004.
- ARENA, J.; LIU, K.; PARESS, P.E.; CULLY, D. Avermectin-sensitive chloride currents induced by *Caenorhabditis elegans* RNA in *Xenopus* oocytes. **Molecular Pharmacology**, v.40, p.368-374, 1991.
- CHARLES, T.P.; FURLONG, J. A Survey of Dairy cattle worm control practices in the southeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.65, p.65-73, 1996.
- COLES, G.C.; STAFFORD, K.A.; MACKAY, P.H. Ivermectin-resistant *Cooperia* species from calves on a farm in Somerset. **Veterinary Record**, v.142, p.255-256, 1998.
- CONDER, G.A.; CAMPBELL, W.C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, v.35, p.1-83, 1995.
- DAFFNER, A.J.; FIEL, C.A.; AMBRUSTOLO, R.R; BULMAN, G.M. Epidemiology of nematode in young cattle in the northeastern region of Argentina: Santa Fé, Province. In: Congresso Mundial de Buiatria, XVI. 1990, Salvador, **Anais...** Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 1990, p.25-31.
- ECHEVARRIA, F.; PINHEIRO, A. Eficiência de anti-helmínticos em bovinos. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, XI. 1999, Salvador, **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p.274.
- FIEL C.A.; SAUMELL C.A.; STEFFAN P.E.; RODRIGUEZ E.M. Resistance of *Cooperia* sp. to ivermectin treatments in grazing cattle of the Humid Pampa, Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.97, p.211-217, 2001.
- FIEL, C.A.; SAUMELL, C.A.; STEFFAN, P.E.; RODRIGUES, E.M.; SALABERRY, G. Resistance of *Cooperia* sp. and *Trichostrongylus* sp. to ivermectin treatments in grazing cattle of the Humid Pampa-Argentina. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.81, p.310-315, 2000.
- GORDON, H. M.; WHITLOCK, H. V. A new technique for courting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Council of Science and Industry Research in Australia**, v.12, p.50-52, 1939.
- HEJMADI, M. V.; JAGANNATHAN, S.; DELANY, N.; COLES, G.; WOLSTENHOLME, A. L-Glutamate binding sites of parasitic nematodes: an association with ivermectin resistance? **Veterinary Parasitology**, v.120, p.535-545, 2000.
- HECK, I.; LEANDRO, A.; LEITE, C.; GINDRI, J.; SOUZA, M.B.; DEPNER, R.; MOLENTO, M.B. Efeito do clima sobre a infecção parasitária em bezerros e presença de larvas em manejo rotativo de pasto em Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.35, p.20-24, 2005.
- HERD, R. P. Choosing the optimal equine anthelmintic. **Veterinary Medicine**, v.87, p.231-239, 1992.
- MOLENTO, M.B.; ALMEIDA, L.T. Práticas de controle parasitário adotadas por criadores de ovinos e caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.3, p.124, 2004.
- MOLENTO, M.B.; HECK, I.; LEANDRO, A.S.; LEITE, C.T.; GINDRI, J.K.; SOUZA, M.B.; DEPNER, R.A. Resistência a abamectina genérica associada com tratamento supressivo em bovinos naturalmente infectados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.276, 2004a.
- MOLENTO, M.B.; VAN WYK, J.; COLES, G.C. Sustainable worm management. **Veterinary Record**, v.155, p.95-96, 2004b.
- MORGAN, E.R.; CAVILL, L.; CURRY, G.E.; WOOD, R.M.; MITCHELL, E.S.E. Effects of aggregation and sample size on the composite faecal egg counts in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 131, p.79-87, 2005.
- NARI, A.; FIEL, C. **Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos**. Montevideo: Hemisferio Sur, 1992. 519 p.
- PAIVA, F.; MENZ, I. *In vitro* evaluation of ivermectin resistant field strains of *Haemonchus placei* and *Cooperia punctata* infective larvae. In: World Buiatrics Congress, XXI. 2000, Punta del Este, **Anais...** Punta del Este: World Buiatrics Society, 2000, p.144.

PINHEIRO, A.C.; ALVES-BRANCO, F.; SAPPER, M. Impacto econômico das parasitoses nos países do Mercosul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, XI. 1999, Salvador, **Anais...** Salvador, Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p.59-60.

SANGSTER, N.C. A practical approach to anthelmintic resistance. **Equine Veterinary Journal**, v.35, p.218-219, 2003.

VAN WYK, J.A. Refugia-overlooked as perhaps the most potent factor concerning the development of anthelmintic resistance. **Onderstpoort Journal of Veterinary Research**, v.68, p.55-67, 2001.

VAN WYK, J.A.; CABARET, J.; MICHAEL, L.M. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. **Veterinary Parasitology**, v.119, p.277-306, 2004.

VERMUNT, J.J.; WEST, D.M.; POMROY, W.E. Multiple resistance to ivermectin and oxfendazole in *Cooperia* species of cattle in New Zealand. **Veterinary Record**, v.137, p.43-45, 1995.

VERMUNT, J.J.; WEST, D.M.; POMROY, W.E. Inefficacy of moxidectin and doramectin against ivermectin-resistant *Cooperia* spp. of cattle in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v.44, p.188-193, 1996.

WALLER, P.J. Anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**, v.72, p.391-412, 1997.

WILLIAMS, J.C.; LOYCANO A.F.; DEROSA, A.; GURIE, J.; CLYMER, B.C.; GUERINO, F. Duration of anthelmintic efficacy of doramectin and ivermectin injectable solutions against naturally acquired nematode infections of cattle. **Veterinary Parasitology**, v.85, p.277-288, 1999.

WOOD, I.B.; AMARAL, N.K.; BAIRDEN, K.; DUNCAN J.L.; KASSAI, T.; MALONE, J.; PANKAVICH, J.; REINECKE, R.; SLOCOMBE, O.; TAYLOR, S.; VERCRUYSSE, J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, v.58, p.181-213, 1995.

WURSTHORN, L.; MARTIN, P. **Anthelmintic Resistance**. CSIRO, 1989.

Recebido para publicação: 15/12/2005  
Aprovado: 10/06/2006