

RESISTÊNCIA PARASITÁRIA DE HELMINTOS GASTROINTESTINAIS E AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS DE OVINOS NO NORTE DO PARANÁ*

Luciane Holsback¹⁺, Ellen de Souza Marquez¹ e Paulo Papa Meneghel²

ABSTRACT. Holsback L., Marquez E. de S. & Meneghel P.P. [**Parasitic resistance of gastrointestinal helminthes and evaluation of the hematological parameters in sheeps from north of Paraná**]. Resistência parasitária de helmintos gastrointestinais e avaliação dos parâmetros hematológicos de ovinos no norte do Paraná. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1):85-92, 2013. Setor de Veterinária e Produção Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Rodovia BR 369, Km 54, Bandeirantes, PR 86360-000, Brasil. E-mail: lhsfertonani@uenp.edu.br

The presence of parasitic resistance by nematodes and anthelmintic efficacy, using albendazole, levamisol and ivermectin association (G1), closantel (G2) and moxidectin (G3) through Reduction of Fecal Egg Count (RCOF) and coproculture in sheep were evaluated. Hematological analyses were also performed. The helminths were considered sensitive and with low resistance to treatments respectively for G1/G3 and G2. The efficiency of treatments about the genera of nematodes to anthelmintic association was highly effective against *Haemonchus* (100%) and *Trichostrongylus* (100%), the closantel was shown to be insufficiently active for *Oesophagostomum* (0%), effective against *Haemonchus* (93%) and highly effective against *Trichostrongylus* (100%) and moxidectin highly effective (99.4%) against *Haemonchus* and *Trichostrongylus* (100%). It was revealed increase in the absolute number of lymphocytes and leukocytes after treatment with the anthelmintic association and closantel. There was no haematological significant difference in animals treated with moxidectin. Correlation was observed between levels of OPG, hemoglobin, hematocrit and total protein. It is concluded from this study that all treatments are effective, but that anthelmintic association have the best performance by combination of effects like: action faster, smaller worm burdens detected throughout the experimental period and improvement of cell parameters of myeloid and lymphoid series.

KEY WORD. Anthelmintic, small ruminants, hematology.

RESUMO. Avaliou-se a presença de resistência por helmintos e a eficácia anti-helmíntica da associação albendazole, levamisol e ivermectina (G1), do closantel (G2) e da moxidectina (G3) através da Redução da Contagem de Ovos nas Fezes (RCOF) de ovinos e coprocultura. Análises hematológicas também foram realizadas. Os helmintos foram considerados sensíveis e apresentando baixa resistência respectivamente aos tratamentos G1/G3 e G2.

Quanto à eficiência dos tratamentos sobre os gêneros de nematódeos à associação anti-helmíntica apresentou-se altamente efetiva contra *Haemonchus* (100%) e *Trichostrongylus* (100%), o closantel mostrou-se insuficientemente ativo para *Oesophagostomum* (0%), efetivo contra *Haemonchus* (93%) e altamente efetivo contra *Trichostrongylus* (100%) e a moxidectina altamente efetiva contra *Haemonchus* (99,4%) e *Trichostrongylus* (100%).

*Recebido em 16 de abril de 2012.

Aceito para publicação em 15 de fevereiro de 2013.

¹ Médico-veterinário, DSc. Setor de Veterinária e Produção Animal, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Norte do Paraná, Campus Luiz Meneghel, BR 369, Km 54, Caixa Postal 261, Bandeirantes, PR 86360-000, Brasil. *Autora para correspondência. E-mail: lhsfertonani@uenp.edu.br; E-mail: esmarquez@uenp.edu.br

² Engenheiro Agrônomo. Autônomo. E-mail: paulo.meneghel@gmail.com

Encontrou-se aumento do número absoluto de linfócitos e leucócitos após os tratamentos com a associação anti-helmíntica e closantel. Não houve variações hematológicas significativas nos animais tratados com moxidectina. Observou-se correlação entre os valores de OPG, hemoglobina, hematócrito e proteínas totais. Conclui-se neste estudo que todos os tratamentos são eficazes, mas que a associação anti-helmíntica tem o melhor desempenho por um somatório de efeitos como: ação mais rápida, menores cargas parasitárias detectadas em todo o período experimental e melhora dos parâmetros celulares da série mielóide e linfóide.

PALAVRAS-CHAVE. Anti-helmíntico, pequenos ruminantes, hematologia.

INTRODUÇÃO

De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), observa-se que a criação de ovinos no Paraná vem crescendo lentamente nos últimos anos. Em 2006 o rebanho ovino representava um efetivo de 11,5% e no último censo pecuário, publicado em 2009, o rebanho era de 599.925 cabeças de ovinos, o que corresponde a 12,5% da região sul do Brasil (IBGE 2009), ou seja, um aumento relativo ao rebanho sul, de 1%. Entretanto, de acordo com a Secretaria de Agricultura do Estado, o Paraná destaca-se por possuir um rebanho ovino altamente qualificado, em termos de patrimônio genético, caracterizando-se como vendedor de matrizes (SEAB 2011).

A criação de ovinos neste estado é realizada principalmente em pequenas áreas com altas taxas de lotação, resultando em elevado nível de contaminação das pastagens. Devido a isso, os produtores são obrigados a aumentar a frequência de aplicações anti-helmínticas, as quais em algumas situações são realizadas de forma supressiva a cada 15 dias (Soccol et al. 2004)

A resistência de helmintos aos anti-helmínticos pode ser definida como um aumento da habilidade das cepas de parasitos em resistir ou sobreviver às doses de uma droga que destruiria a maioria dos indivíduos da mesma espécie. Os variados mecanismos incluem modificação do alvo de ação da molécula, incremento do número de receptores alvos, aumento da taxa de excreção da droga, elevação da eficácia de metabolização do princípio ativo ou simplesmente sequestro da droga (Kelly & Hall 1979, Torres-Acosta & Hoste 2008).

Atualmente, os grupos químicos benzimidazóis, imidotiazóis e avermectinas são comumente usa-

dos para a desverminação de ovinos. Uma grande variação no grau de resistência de populações de nematódeos contra estes e outros anti-helmínticos tem sido amplamente divulgado em todo o mundo há várias décadas (dos Santos & Gonçalves 1967, Jackson 1993, Melo et al. 2003, Coles 2005, Borges et al. 2008, Condi et al. 2009, Sczesny-Moraes et al. 2010).

Os objetivos deste trabalho foram avaliar a eficácia anti-helmíntica da associação albendazole, levamisol e ivermectina, do closantel e da moxidectina em ovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais em propriedade rural do norte do Paraná, através da RCOF (Redução na Contagem de Ovos nas Fezes), avaliar a eficiência dos tratamentos sob os gêneros de nematódeos identificados, além de analisar a influência dos tratamentos no perfil hematológico celular e sérico dos animais durante e após o efeito dos anti-helmínticos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade rural do município de São Jerônimo da Serra, região norte do Estado do Paraná nos meses de maio a julho de 2009. A escolha da propriedade se deu pelo histórico de resistência parasitária a vários endectocidas comercialmente disponíveis. Do total de 370 cabeças de ovinos, foram selecionadas inicialmente 107 fêmeas, raça Suffolk, adultas. Os exames de contagem de ovos por grama de fezes (OPG) foram realizados em todos os 107 animais e a partir destes, foram selecionados apenas os animais que apresentaram contagem de OPG acima de 500.

Os animais selecionados foram randomizados pela OPG. Os grupos experimentais foram constituídos por: **G1** – 10 ovelhas adultas tratadas com a associação albendazole, levamisol e ivermectina, administrado por via oral, na dose de 200µg/kg de ivermectina, 7,5mg/kg de levamisol (hidroclorido), 5mg/kg de albendazole, 0,1mg/kg de selênio e 0,4mg/kg de cobalto; **G2** – 10 ovelhas adultas tratadas com closantel, administrado por via oral, na dose de 5mg/Kg de closantel (N) 5-cloro-4(clorofenil-cianometil)-2 metilfenil-2-Hidroxi-3,5-diiodo benzamida; **G3** – 10 ovelhas adultas tratadas com moxidectin 0,2%, administrado por via oral, na dose de 0,2mg/kg de moxidectina; **G4** – 10 ovelhas adultas do grupo controle, não tratadas, porém submetidas a administração de 5 mL de água filtrada por via oral para que fossem submetidas ao mesmo estresse que as ovelhas dos grupos tratados.

Para avaliar o tempo de ação dos tratamentos, as contagens de ovos por grama de fezes foram realizadas em todos os ovinos, seguindo a técnica de Gordon & Withlock (1939) dois dias antes ao tratamento (dia -2) e no 1º, 3º, 5º, 7º e 14º dia após o tratamento. Os tratamentos foram realizados no dia zero.

Para cada grupo experimental foi calculada a média aritmética da contagem de OPG nos dias -2, 1, 3, 5, 7 e 14. A partir desta média foi calculado o porcentual de redução de OPG (RCOF) (WOOD et al. 1995).

Pelas recomendações da WAAVP (*World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*) os helmintos são considerados resistentes quando RCOF, 14 dias após o tratamento, for menor do que 95% (Coles et al. 1992). Em complementação as estas recomendações, neste estudo considerou-se a classificação de Vizard & Wallace (1987), onde: presença de resistência (RA) quando a RCOF for menor que 95% e o limite inferior do intervalo de confiança a 95% for menor que 90%; baixa resistência (baixa RA), quando RCOF for superior a 95% e o limite inferior do intervalo de confiança a 95% for menor que 90%; e sensível (S), quando RCOF for superior a 95% e limite inferior do intervalo de confiança a 95% for maior que 90%. Para calcular a RCOF e determinação dos níveis supra descritos de RA, utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\text{RCOF} = 1 - (\text{média do OPG do grupo no dia } n / \text{média do OPG do grupo no dia } -2) \times 100$$

As comparações dos valores de OPG dos animais do mesmo grupo nos diferentes dias pelo teste de "Wilcoxon". Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. As médias, o desvio padrão e os testes estatísticos foram calculadas através do programa estatístico GraphPad Prism versão 5.

Como este trabalho foi desenvolvido em propriedade particular e em animais de alto valor zootécnico, não foi possível realizar necropsia parasitológica para identificação dos gêneros e espécies de parasitas adultos. Portanto, para a identificação dos gêneros de nematódeos foram realizadas coproculturas da mistura de amostras fecais dos animais que apresentaram contagem por ovos não nula, seguindo a metodologia de Roberts e O'Sullivan (1950), antes aos tratamentos e 7 dias depois, conforme recomendações da Resolução 79/1996 MERCOSUL/GMC. As larvas (L3) foram identificadas, de acordo com os critérios de Keith (1953), e os tratamentos sob cada gênero classificados como: Altamente efeti-

vo $> 98\%$; Efetivo 90-98%; Moderadamente efetivo 80-89% e Insuficientemente ativo $< 80\%$. A eficácia dos tratamentos foi calculada pelo programa estatístico RESO (1990).

Para a realização do hemograma, amostras de sangue foram coletadas no dia dos tratamentos, 7 e 24 dias depois. Realizou-se a contagem global de leucócitos através do método do hemocítômetro e a contagem diferencial foi mensurada, após a obtenção da contagem relativa, em contagem absoluta de leucócitos (Hewitt 1984). A contagem total de hemácias foi realizada pela técnica do hemocítômetro, concentração da hemoglobina pelo método da cianometahemoglobina e a determinação do volume globular por meio do micro-hematócrito. Para dosagem de proteínas totais, usou-se o reativo de biureto (Weichselbaum 1946) e a concentração de albumina pelo reativo de verde de bromocresol (Watson et al. 1971). A concentração de globulinas totais foi obtida através da diferença entre a concentração de proteínas totais e a concentração de albumina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diminuição significativa ($p = 0,002$) no OPG do grupo de animais tratados com associação anti-helmíntica (G1) e esta diferença já pôde ser verificada a partir do 1º dia após o tratamento. Já o grupo dos animais tratados com closantel (G2) e moxidectina (G3) observou-se uma diminuição significativa do OPG a partir do dia 3 (Tabela 1). A rápida diminuição dos ovos nas fezes dos animais tratados com a associação anti-helmíntica garante a

Tabela 1. Médias dos OPGs dos grupos tratados com associação albendazole, levamisol e ivermectina (G1), closantel (G2), moxidectina (G3) e grupo controle (G4) antes aos tratamentos, 1, 3, 5, 7 e 14 dias após os tratamentos e taxas de redução na contagem de ovos nas fezes (RCOF) dos grupos em todos os dias experimentais.

	Média (OPG) dos Grupos experimentais			
	G1	G2	G3	G4
Dia - 2	4290 (a)	3995 (a)	3070 (a)	2631 (a)
Dia 1	265 (b)	3920 (a,b)	1280(a,b)	4675 (a,b)
RCOF % (dia 1)	94%	1,9	58,3	-
Dia 3	0 (b)	515 (b)	35(c)	1781 (b,c)
RCOF % (dia 3)	100	87,1	98,9	-
Dia 5	15 (b)	210 (b)	30(c)	1606 (a,b,c)
RCOF % (dia 5)	100	94,7	99	-
Dia 7	0 (b)	125 (c)	20(b)	1569 (c)
RCOF % (dia 7)	100	96,9	99,3	-
Dia 14	20 (b)	135(b)	45(b)	2744 (c)
RCOF % (dia 14)	99,5	96,6	98,5	-

Letras distintas representam diferenças significativas ($p < 0,05$) das médias de OPG entre os dias no mesmo grupo (colunas), calculadas pelo teste "Wilcoxon", Programa GraphPad Prism 5.

este produto uma vantagem sobre os outros quando os animais forem submetidos a pastos vedados após a desverminação, pois haverá uma menor contaminação dos mesmos.

Individualmente, as formulações contendo albendazole, são constantemente definidas como produtos sem eficácia, sendo descritas por diversas vezes, com altos índices de resistência pela maioria dos nematódeos. Em 1998, Cunha Filho et al. relataram resistência parasitária ao albendazole em ovinos da região de Tamarana, Paraná, descrevendo índice de redução de OPG igual a 0%. Entretanto, neste experimento, atribui-se a rapidez na diminuição do OPG do grupo associação anti-helmíntica devido ao albendazole. Esta droga, derivada benzimidazólica, com amplo espectro parasitário, possui ação larvicida, vermícida e ovicida, sendo esta última, resultado de sua propriedade inibitória da fertilidade e oviposição, uma possível explicação para a diferença encontrada neste estudo após 24 horas de aplicação dos tratamentos. Esta ação ovicida do albendazole foi confirmada por McKellar et al. (1993) que obtiveram 100% de RCOF em ovinos tratados com este fármaco. Outro exemplo da ação do albendazole é demonstrado em uma avaliação realizada por Morales et al. (1989) com ovinos e caprinos naturalmente infectados, onde estes autores relataram 95% de RCOF após sua utilização.

De acordo com as recomendações da WAAVP (*World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*) (Coles et al. 1992) e complementação de acordo com a classificação de Wood et al. (1995) e Vizard & Wallace (1987), os parasitas foram SENSÍVEIS a associação anti-helmíntica e a moxidectina. Já o grupo closantel, apesar de 96,6% de RCOF, o limite mínimo do intervalo de confiança a 95% foi menor que 90% (88%) sendo então sugerida a existência de baixa resistência ao produto. Acredita-se que a menor eficiência desta droga tenha sido em decorrência do uso por vários anos e pela utilização supressiva da mesma no rebanho avaliado. O primeiro relato de resistência a esta droga em helmintos de cordeiros no Estado do Paraná se deu recentemente em estudo publicado por Falbo et al. (2009) que encontraram, através do teste de RCOF, 55,2% de eficácia.

Apesar do albendazole, do levamisol e da ivermectina não terem sido testados separadamente, os achados deste estudo corroboram com os encontrados por Soccol et al. (2004) em relação a melhor eficácia da associação de diferentes princípios ativos.

No caso destes pesquisadores, os mesmos identificaram uma resistência menor do que os mesmos princípios utilizados separadamente. Buzzulini et al. (2007) encontraram 99% de RCOF em ovinos tratados com associação albendazole, levamisol e ivermectina, mas 82% de RCOF em ovinos tratados com Moxidectina. A associação destas drogas revelou apenas 55,8% de eficácia através da RCOF em ovinos no Mato Grosso do Sul (Sczesny-Moraes et al. 2010).

Pesquisas recentes demonstram a ocorrência de resistência aos anti-helmínticos dos grupos das avermectinas, metilcarbamatos e imidotiazóis (Melo et al. 2003). Na propriedade analisada, ainda que duas, das três drogas que compõe o tratamento do G1, já terem sido utilizadas anteriormente no rebanho, este tratamento apresentou a mesma eficácia, através da RCOF, que a moxidectina que nunca havia sido utilizada na propriedade. Isto pode contribuir com a ideia da melhor eficiência da associação de drogas que as mesmas utilizadas individualmente.

Nos dias que antecederam os tratamentos notou-se uma ocorrência apenas dos gêneros *Haemonchus* e *Oesophagostomum*. Os resultados da coprocultura obtidos dos ovinos sem tratamento anti-helmíntico indicaram que os gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus* foram os mais prevalentes.

Não houve desenvolvimento de larvas a partir do cultivo das fezes do grupo associação anti-helmíntica (G1) nos dias 1 a 7 após o tratamento. Isso provavelmente ocorreu devido ao baixo OPG encontrado neste grupo até o 7º dia após o tratamento. Apenas no 14º dia foi possível tal verificação sendo então observados apenas 8 exemplares do gênero *Haemonchus*. Já no grupo de animais tratados com closantel observou-se a persistência do gênero *Haemonchus* e *Oesophagostomum* em praticamente todos os dias experimentais. No grupo de animais tratados com moxidectina também foi observada a persistência do *Haemonchus* em todos os dias avaliados, apesar de recuperação de menos de 15 larvas nas coproculturas dos dias 3 a 14, todas do gênero *Haemonchus*.

Verificou-se que a eficácia dos tratamentos para o gênero *Haemonchus* variou de efetivo (93%) a altamente efetivo (99%) e para o gênero *Trichostrongylus* todos os tratamentos foram considerados altamente efetivos (100%) (Tabela 2).

Já para o gênero *Cooperia* não foi possível determinar a eficácia antiparasitária dos tratamentos, pois não foram observadas larvas deste parasita no

Tabela 2. Percentagem e quantidade de larvas recuperadas e eficácia da associação albendazole, levamisol e ivermectina (G1), do closantel (G2) e da moxidectina (G3) sobre os gêneros de nematódeos identificados na coprocultura no 7º dia após os tratamentos.

	G1			G2			G3		
	C (%)	LPG	Ef (%)	C (%)	LPG	Ef (%)	C (%)	LPG	Ef (%)
<i>Haemonchus</i>	0	0	100	48	60	93	100	10	99,4
<i>Cooperia</i>	0	0	nd	0	0	nd	0	0	nd
<i>Trichostrongylus</i>	0	0	100	0	0	100	0	0	100
<i>Oesophagostomum</i>	0	0	nd	52	65	0	0	0	nd

C(%) – coprocultura (percentagem de larvas recuperadas).

LPG – larvas por grama de fezes recuperadas.

Ef(%) – eficiência dos tratamentos, calculado pelo programa estatístico RESO (1990).

nd – não detectada.

dia 7 nas coproculturas de todos os animais, inclusive do grupo controle.

Estes resultados contrariam os encontrados por Cunha Filho et al. (1998) que encontraram baixa eficiência da moxidectina, mas corroboram com a alta eficiência desta molécula citada no trabalho de Molento (2004) que detectaram 90% de redução na contagem de ovos de *Haemonchus* nas fezes de ovinos naturalmente infectados.

Neste estudo, o Closantel foi considerado insuficientemente ativo (0%) para o gênero *Oesophagostomum*. De acordo com Almeida & Ayres (2006) o closantel é um princípio ativo com ação apenas sobre o gênero *Haemonchus* sp. Entretanto, neste estudo o resultado da coprocultura demonstrou haver 93% de eficácia sobre o gênero *Haemonchus* e 100% de

eficácia também sobre o gênero *Trichostrongylus*. Ao comparar estes resultados com os apresentados na Tabela 1, pode-se concluir que a presença de baixa resistência identificada ao calcular-se a RCOF deu-se pelo gênero *Oesophagostomum* e não *Haemonchus* como relatado por vários outros pesquisadores. Costa et al. (1996) verificaram a eficiência do Closantel em várias espécies de trichostrongylídeos e identificaram aproximadamente 40% contra parasitas adultos de *Oesophagostomum* e nenhuma eficácia (0%) contra larvas deste parasita. Isto corrobora com os resultados aqui apresentados onde se obteve até 52% de larvas de *Oesophagostomum* recuperadas nas coproculturas já a partir do 3º dia após o tratamento. Entretanto, também contrariam resultados anteriormente descritos por Molento (2004) e Soccol et al. (2004) que encontraram baixa eficácia do Closantel contra *Haemonchus* no Estado do Paraná, e com estudos mais atuais como no Rio Grande do Norte (Costa et al. 2011) onde foram identificadas taxas de eficácia do closantel de 67% contra este parasita.

Observou-se que os animais do grupo tratado com a associação anti-helmíntica apresentavam-se anêmicos e com hipohemoglobinemia antes do tratamento, mas sete dias depois ambos os parâmetros se normalizaram (Tabela 3). Neste mesmo grupo experimental os animais estavam com hematócrito abaixo do mínimo fisiológico e também apresentavam hipoalbuminemia. O hematócrito se normalizou no dia 14 e os níveis de albumina no dia

Tabela 3. Médias do número absoluto de hemácias, leucócitos, linfócitos, eosinófilos e valores de hemoglobina, volume globular (%) e proteínas plasmáticas (albumina e globulina) dos grupos tratados com associação albendazole, levamisol e ivermectina (G1), closantel (G2), moxidectina (G3) e grupo controle (G4) antes aos tratamentos (dia -2) e 7 e 24 dias após os tratamentos.

	Hemácias	Hemoglobina	VG	Leucócitos	Linfócitos	Eosinófilos	Proteínas	Albumina	Globulina
G1	(9 - 15.000.000)	(9 - 14,5)	(28 - 40%)	(4 - 12.000)	(2 - 9.000)	(0 - 1.000)	(5,4 - 9,0)	(2,4 - 3,0)	(3,0 - 6,0)
Dia -2	8.867.000 ^(a)	8 ^(a)	24 ^(a)	6.530 ^(a)	2.804^(a)	549 ^(a)	6 ^(a)	2 ^(a)	4 ^(a)
Dia 7	9.225.000 ^(a)	9 ^(a)	28 ^(a)	7.420 ^(a)	4.061^(b**)	587 ^(a)	7 ^(a)	2 ^(a)	5 ^(a)
Dia 24	10.474.000 ^(a)	10 ^(a)	30 ^(a)	6.240 ^(a)	2.995 ^(a,b)	466 ^(a)	7 ^(a)	3 ^(a)	4 ^(a)
G2									
Dia -2	9.643.000 ^(a)	9 ^(a)	25 ^(a)	5.140^(a)	2.140^(a)	521 ^(a)	7 ^(a)	2 ^(a)	5 ^(a)
Dia 7	9.663.000 ^(a)	9 ^(a)	29 ^(a)	7.080^(b)	3.387^(b)	871 ^(a)	7 ^(a)	2 ^(a)	5 ^(a)
Dia 24	11.388.000 ^(a)	11 ^(a)							
G3									
Dia -2	9.364.000 ^(a)	8 ^(a)	24 ^(a)	7.355 ^(a)	4.067 ^(a)	537 ^(a)	7 ^(a)	3 ^(a)	4 ^(a)
Dia 7	9.709.000 ^(a)	10 ^(a)	29 ^(a)	7.180 ^(a)	4.357 ^(a)	530 ^(a)	7 ^(a)	2 ^(a)	5 ^(a)
Dia 24	10.697.000 ^(a)	10 ^(a)	31 ^(a)	6.993 ^(a)	3.666 ^(a)	781 ^(a)	7 ^(a)	3 ^(a)	4 ^(a)
G4									
Dia -2	8.867.000 ^(a)	9 ^(a)	27 ^(a)	7.819 ^(a)	3.156 ^(a)	512 ^(a)	7 ^(a)	3 ^(a)	4 ^(a)
Dia 7	8.928.750 ^(a)	9 ^(a)	27 ^(a)	7.980 ^(a)	3.830 ^(a)	354 ^(a)	7 ^(a)	3 ^(a)	4 ^(a)
Dia 24	5.250.000 ^(a)	5 ^(a)	16 ^(a)	9.600 ^(a)	3.264 ^(a)	768 ^(a)	7 ^(a)	2 ^(a)	5 ^(a)

Valores abaixo dos parâmetros hematológicos são os valores dos intervalos de referência para espécie ovina, Kramer (2000). Letras diferentes indicam valores significativamente ($P < 0,05$) diferentes entre si. As diferenças foram calculadas entre os dias dentro do mesmo grupo experimental, pelo teste "Wilcoxon", Programa GraphPad Prism 5.

** Diferença muito significativa ($p < 0,001$).

24. Apesar de dentro dos parâmetros de referência (Kramer 2000), a contagem absoluta de linfócitos aumentaram aproximadamente 45% sete dias depois do tratamento, demonstrando melhora na resposta imune celular dos animais tratados. No grupo tratado com closantel observou-se também normalização do hematócrito sete dias depois do tratamento e um aumento significativo ($p = 0,038$) de leucócitos totais e linfócitos ($p = 0,033$). Estes resultados contrariam os encontrados por Costa et al. (2011) que não encontraram variação no hematócrito após a aplicação do closantel.

A hipoalbuminemia, apesar de discreta, também cessou após 24 dias do tratamento. O mesmo ocorreu no grupo tratado com moxidectina, ou seja, o hematócrito e os níveis de hemoglobina normalizaram-se sete dias após o tratamento.

Os animais do grupo não tratado permaneceram anêmicos (5,2 a 8,8 milhões/mL) durante todo o experimento e apesar do nível de hemoglobina estar no padrão fisiológico até o 7º dia após o tratamento, no 24º observou-se hipohemoglobinemia, acompanhando a média do hematócrito que também reduziu 40% no 24º dia. Estes resultados corroboram com os encontrados por Kawano et al. (2001) e Costa et al. (2011).

Estudo realizado com cordeiros no Rio Grande do Sul constatou redução nos valores de hematócrito e de hemoglobina no período em que houve pico nas contagens de OPG (Kawano et al. 2001). Em casos graves de infecção a contagem de eritrócitos reduz de 10 milhões para 2,5 milhões/mL de sangue, e o teor de hemoglobina de 60 para 10% (Freitas 1977).

Alterações hematológicas em ovinos parasitados naturalmente por helmintos gastrointestinais tem sido objeto de estudo de alguns pesquisadores. Segundo Rahman & Collins 1990, o *Haemonchus* sp provocaria leucopenia por linfopenia. No presente estudo, apesar de não serem encontrados leucopenia nem linfopenia, os animais tratados com a associação anti-helmíntica apresentaram aumento muito significativo ($p < 0,001$) de linfócitos 7 dias após o tratamento. Estes animais apresentaram 4.204 LPG (larvas por grama) de *Haemonchus* (resultados encontrados na coprocultura) e 7 dias depois, após o aumento expressivo na quantidade de linfócitos, não apresentavam mais nenhuma contagem de ovos nas fezes e conseqüentemente, nenhuma recuperação de larvas na coprocultura. Credita-se esta diminuição muito significativa da carga parasitária destes

animais não só pela ação ovicida do albendazole, que ocorre poucas horas após sua administração (Goodman & Gilman 1991), mas também pela provável ação imunoestimulante do levamisol associadas à ação vermícida da ivermectina. O levamisol atua no sistema imunológico de maneira semelhante ao hormônio timopoiética, produzido no timo (Tizard 2002), estimulando a ação de células T, a resposta aos antígenos, a produção de interferons, aumentando a atividade fagocitária de macrófagos e neutrófilos, estimulando a citotoxicidade mediada por células, a produção de linfocinas e a função das células supressoras (Tizard 2002). Está relacionado à atividade imunomoduladora em indivíduos imunocomprometidos e incremento da eficácia em vacinações (Brunner 1980, Forsyth & Wynne-Jones 1980, Hogarth-Scott 1980, Mojzisoava et al. 2004). Qureshi et al. (2001) e Mojzisoava et al. (2004) demonstraram atividade e proliferação aumentada de linfócitos, respectivamente em búfalos e cães tratados com levamisol.

Similarmente, o grupo tratado com closantel, tiveram seus níveis de leucócitos e linfócitos significativamente aumentados sete dias após o tratamento. Este aumento, associado à eficácia deste fármaco ao gênero *Haemonchus*, encontrado neste estudo, também podem explicar a diminuição de LPG que antes do tratamento era de 3.915 de *Haemonchus* e 7 dias depois a contagem foi de 60 LPG deste parasita.

Os parasitas ainda podem causar perdas protéicas por enteropatias e perda de sangue por parasitismo entérico, fato que levaria a uma hipoproteinemia (Baker et al. 1982). Esta alteração (hipoproteinemia por hipoalbuminemia) foi encontrada antes dos tratamentos no grupo associação anti-helmíntica e no grupo closantel, e 24 dias depois de iniciado o experimento no grupo controle não tratado, coincidindo com a segunda maior contagem de ovos neste grupo experimental.

Observou-se correlação negativa muito forte entre os valores de OPG com hemoglobina, hematócrito e proteínas totais demonstrando a influência de altas cargas parasitárias na série eritrocítica e hipoproteinemia nos animais parasitados (Tabela 4). Observou-se também forte correlação positiva entre as proteínas totais e o hematócrito e a hemoglobina. A mesma forte correlação entre o hematócrito e as proteínas totais foram citadas por Costa et al. (2011). Ambas as correlações citadas são perfeitamente esperadas já que altas cargas parasitárias, de-

Tabela 4. Correlações entre os parâmetros hematológicos, proteínas séricas e valores de OPG de todos os animais avaliados.

	OPG	Hem	Hg	VG	Leuco	Linfo	Eosi	Prot	Alb
Hem	-0,17	-	-	-	-	-	-	-	-
Hg	-0,87*	0,44	-	-	-	-	-	-	-
VG	-0,90*	0,45	0,98*	-	-	-	-	-	-
Leuco	-0,41	-0,29	0,44	0,41	-	-	-	-	-
Linfo	-0,55	-0,02	0,46	0,42	0,74*	-	-	-	-
Eosi	-0,37	0,48	0,25	0,42	-0,15	-0,07	-	-	-
Prot	-0,75*	0,58	0,75*	0,79*	0,28	0,61	0,44	-	-
Alb	0,25	0,23	0,10	0,08	0,48	0,09	-0,06	0,05	-
Glob	-0,68	0,18	0,39	0,43	-0,21	0,31	0,33	0,59	-0,78*

* Correlações significativas ($p < 0,05$); Correlação de Pearson, Programa GraphPad Prism 5.

Hem – Hemácias; Hg – Hemoglobina; VG – Volume globular; Leuco – Leucócitos totais; Linfo – Linfócitos; Eosi – Eosinófilos; Prot – Proteínas plasmáticas totais; Alb – Albumina; Glob – Globulinas.

monstradas pelos altos valores do OPG, podem levar a carência proteica pela espoliação dos parasitas ou deficiente digestão e absorção, e consequentemente, prejuízo na biossíntese da hemoglobina, levando a anemia que pode ser detectada inicialmente através do hematócrito.

CONCLUSÃO

Concluiu-se neste trabalho, que todos os tratamentos anti-helmínticos testados são eficazes, com ressalvas ao Closantel que apesar de reduzir 97% da carga parasitária total, demonstrou ineficiência sob o gênero *Oesophagostomum*; que a associação anti-helmíntica albendazole, levamisol e ivermectina tem uma ação antiparasitária mais rápida em relação ao closantel e a moxidectina e, portanto, deve ser a droga de escolha quando os animais forem submetidos a pastos vedados após a desverminação; De todos os tratamentos a associação anti-helmíntica albendazole, levamisol e ivermectina mantém as menores cargas parasitárias detectadas através da contagem de ovos nas fezes por até 14 dias após o tratamento; Os tratamentos anti-parasitários são capazes de manter e corrigir os parâmetros hematológicos da série vermelha (hemácias, hemoglobina e volume globular médio) e que a carga parasitária de nematódeos gastrointestinais em ovinos naturalmente infectados tem forte relação com os índices hematológicos como hemoglobina, volume globular e proteínas séricas podendo levar a prejuízos na sanidade e produtividade destes animais.

Agradecimentos. Aos proprietários Paulo Antônio Meneghel e Maria Luiza Papa Meneghel e aos funcionários da Propriedade rural em São Jerônimo

da Serra pela colaboração e disponibilização dos animais e recursos da propriedade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida M.A.O. & Ayres M.C.C. Considerações gerais sobre os anti-helmínticos, p.519-550. In: Spinosa H.S., Górnaiak S.L. & Bernardi M.M. (Eds), *Farmacologia aplicada à medicina veterinária*. 4ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2006.
- Baker D.C., Gaunt S.D., Nielsen K.H. & Adams L.G. Hemo-parasitism, humoral immunodeficiency, and an IgG1 fragment in a cow. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 181:480-483, 1982.
- Borges F.A., Silva H.C., Buzzulini C., Soares V.E., Santos E., Oliveira G.P. & Costa A.J. Endectocide activity of a new long-action formulation containing 2.25% ivermectin + 1.25% abamectin in cattle. *Vet. Parasitol.*, 155:299-307, 2008.
- Buzzulini C., Sobrinho A.G.S., Da Costa A.J., Santos T.R., Borges F.A. & Soares V.E. Eficácia anti-helmíntica comparativa da associação albendazole, levamisol e ivermectina à moxidectina em ovinos. *Pesq. Agrop. Bras.*, 42:891-895, 2007.
- Brunner C.J. & Muscoplat C.C. Immunomodulatory effects of levamisole. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 176:1159-1162, 1980.
- Coles G.C. Anthelmintic resistance - looking to the future: a UK perspective. *Res. Vet. Sci.*, 78:99-108, 2005.
- Coles G.C., Bauer C., Borgsteede F.H., Geerts S., Klei T.R., Taylor M.A. & Waller P.J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Vet. Parasitol.*, 44:35-44, 1992.
- Condi G.K., Soutello R.G.V. & Amarante A.F.T. Moxidectin-resistant nematodes in cattle in Brazil. *Vet. Parasitol.*, 161:213-217, 2009.
- Costa A.J., Arantes G.J., Vasconcelos O.T., Barbosa O.F., Moraes F.R. & Paulillo A.C. Espectro de ação do closantel, a 2,5mg/Kg, contra nematódeos parasitos de bovinos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 5:11-14, 1996.
- Costa K.M.F.M., Ahid S.M.M., Vieira L.S., Vale A.M. & Soto-Blanco B. Efeitos do tratamento com closantel e ivermectina na carga parasitária, no perfil hematológico e bioquímico sérico e no grau Famacha de ovinos infectados com nematódeos. *Pesq. Vet. Bras.*, 31:1075-1082, 2011.
- Cunha Filho L.F.C., Pereira A.B.L. & Yamamura M.H. Resistência a anti-helmínticos em ovinos na região de Londrina - Paraná - Brasil. *Semina: Cienc. Agr.*, 19:31-37, 1998.
- Dos Santos V.T. & Gonçalves P.C. Verificação de estirpes de *Haemonchus contortus* resistentes ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). *Rev. Fac. Agro. Vet.*, 9:201-211, 1967.
- Falbo M.K., Soccol V.T., Sandini I.E., Neumann M. & Ishiy T.M. Atividade anti-helmíntica do triclorfon e closantel em cordeiros naturalmente infectados por *Haemonchus* sp. *Cienc. Anim. Bras.*, 10:926-930, 2009.
- Forsyth B.A. & Wynne-Jones N. Levamisole vaccine combinations. 2. Retained anthelmintic efficacy. *Aust. Vet. J.*, 56:292-295, 1980.

- Freitas M.G. *Helminologia veterinária*. Copiadora e Editora Rabelo & Brasil, Belo Horizonte, 1977. 396p.
- GMC - Grupo Mercado Comum 1996. *Regulamento Técnico para Registros de Produtos Antiparasitários de Uso Veterinário*. Decisão nº4/91, resolução nº11/93. Mercosul, Resolução nº 76, 1996.
- Goodman L.S. & Gilman A. *As Bases farmacológicas da terapêutica*. 8ª ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 1991. 1232p.
- Gordon H.M. & Whitlock H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Council Sci. Ind. Aust.*, 12:50-52, 1939.
- Hewitt S.G. Haematology, p.72-100. In: Gray D.E. (Ed.), *Manual of veterinary investigation, laboratory techniques*. 3ª ed. Her Majesty's Stationery Office, London, 1984.
- Hogarth-Scott R.S., Licardet D.M. & Morris M.J. Levamisole vaccine combination. I. Heightened antibody response. *Aust. Vet. J.*, 56:285-291, 1980.
- IBGE, *Anuário Estatístico 2009*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidade@2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 24 ago 2011.
- Jackson, F. Anthelmintic resistance - the state of play. *Br. Vet. J.*, 149:123-138, 1993.
- Kawano E.L., Yamamura M.H. & Ribeiro E.L.A. Efeito do tratamento com antihelmíntico em cordeiros naturalmente infectados com helmintos gastrintestinais sobre os parâmetros hematológicos, ganho de peso e qualidade da carcaça. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 29:113-121, 2001.
- Keith R.K. The differentiation of the infective larval of some common nematode parasites of cattle. *Aust. J. Zool.*, 1:223-230, 1953.
- Kelly J.D. & Hall A.C. Resistance of animal helminths to anthelmintics. *Adv. Pharmacol. Chemother.*, 16:80-128, 1979.
- Kramer J.W. Normal Hematology of Cattle, Sheep, and Goats, p.1075-1084. In: Feldman B.F., Zinkl J.G. & Jain N.C. (Eds), *Schalm's Veterinary Haematology*, 5ª ed., Lippincott Williams & Wilkins, Filadélfia, 2000.
- McKellar Q.A., Jackson F., Coop L.P. & Baggot J.D. Plasma profiles of albendazole metabolites after administration of netobimim and albendazole in sheep: effects of parasitism and age. *Braz. Vet. J.*, 149:101-113, 1993.
- Melo A.C.F.L., Reis I.F., Bevilaqua C.M.L., Vieira L.S., Echevarria F.A.M. & Melo L.M. Nematódeos resistentes a antihelmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. *Ciência Rural*, 33:339-344, 2003.
- Mojžišova J., Hromada R., Pauli S., Ondrašovič M. & Bajova V. Immune response and immunomodulatory effect of levamisole in immunosuppressed dogs vaccinated against parvovirus. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 48:93-97, 2004.
- Molento M.B. Multidrug resistance in *Haemonchus contortus* associated with suppressive treatment and rapid drug alternation. *Rev. Bras. Parasitol., Vet.*, 13:272, 2004.
- Morales G., Pino L.A., Calles Y. & Perdomo L. Eficácia antihelmíntica del albendazole em ovinos y caprinos infestados em condiciones naturales. *Rev. Fac. Cienc. Vet.*, 36:53-62, 1989.
- Qureshi Z.I., Lodhi L.A., Samad H.A., Naz N.A. & Nawaz M. Haematological profile following immunomodulation during late gestation in buffaloes (*Bubalis bubalus*). *Pak. Vet. J.*, 21:148-151, 2001.
- Rahman W.A. & Collins G.H. Changes in live weight gain, blood constituents and worm egg output in goats artificially infected with a sheep-derived strain of *Haemonchus contortus*. *Brit. Vet. J.*, 146:543-550, 1990.
- Sczesny-Moraes E.A., Bianchin I., Da Silva K.F., Catto J.B., Honer M.R. & Paiva F. Resistência anti-helmíntica de nematódeos gastrintestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, 30:229-236, 2010.
- SEAB, Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento. Ovinocultura: Mundo-Paraná-Brasil. Departamento de Economia Rural, Divisão de Conjuntura Agropecuária. Disponível em: <<http://www.seab.pr.gov.br/arquivos/File/deral/ovinosinf.pdf>>. Acesso em: 24 ago 2011.
- Socol V.T., De Souza F.P., Sotomaior C., Castro E.A., Milczewski V., Mocelin G., Pessoa E. & Silva M.C. Resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 47:41-47, 2004.
- Tizard I.R. *Imunologia Veterinária*. 6ª ed. Roca, São Paulo, 2002.
- Torres-Acosta J.F.J. & Hoste H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. *Small Rum. Res.*, 77:159-173, 2008.
- Vizard A.L. & Wallace R.J. A simplified faecal egg count reduction test. *Aust. Vet. J.*, 64:109-111, 1987.
- Watson W.A., Dumas B.T. & Biggs H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. *Clinic. Chimic. Acta*, 37:87-96, 1971.
- Weichselbaum C.T.E. An accurate and rapid method for determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am. J. Clin. Pathol.*, 16:40-49, 1946.
- Wood I.B., Amaral N.K., Bairden K., Duncan J.L., Kassai T., Malone J.B., Pankavich J.A., Reinecke R.K., Slocombe O., Taylor S.M. & Verduyck J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). *Vet. Parasitol.*, 58:181-213, 1995.