

Determinação da Eficácia Anti-Helmintíca em Rebanhos Ovinos: Metodologia de Colheita de Amostras e de Informações de Manejo Zoossanitário



ISSN 1980-6841

Novembro, 2009

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Pecuária Sudeste
Ministério da Agricultura e Abastecimento*

Documentos 91

Determinação da Eficácia Anti- Helmíntica em Rebanhos Ovinos: Metodologia da Colheita de Amostras e de Informações de Manejo Zossanitário

Simone Cristina Méo Niciura

Cecília José Veríssimo

Marcelo Beltrão Molento

Editores Técnicos

Embrapa Pecuária Sudeste
São Carlos, SP
2009

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Pecuária Sudeste

Rod. Washington Luis, km 234
Caixa Postal 339, São Carlos, SP
Fone: (16) 3411-5600
Fax: (16) 3361-5754
Home page: <http://www.cppse.embrapa.br>
Endereço eletrônico: sac@cppse.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Ana Rita de Araujo Nogueira
Secretário-Executivo: Simone Cristina Méo Niciura
Membros: Maria Cristina Campanelli Brito, Milena Ambrósio Telles,
Sônia Borges de Alencar

Revisão de texto: Simone Cristina Méo Niciura
Normalização bibliográfica: Sônia Borges de Alencar
Tratamento de ilustrações: Maria Cristina Campanelli Brito
Editoração eletrônica: Maria Cristina Campanelli Brito
Foto(s) da capa: Ana Carolina de Souza Chagas e Rodrigo Giglioti

1ª edição on-line (2009)

Todos os direitos reservados

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte,
constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Pecuária Sudeste

Niciura, Simone Cristina Méo

Determinação da Eficácia Anti-Helmíntica em Rebanhos Ovinos:
Metodologia de Colheita de Amostras e de Informações de Manejo
Zoossanitário [Recurso eletrônico] / Simone Cristina Méo Niciura [et al.]. —
Dados eletrônicos. — São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2009.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: Word Wide Web: <<http://www.cppse.embrapa.br/080servicos/070publicacaogratis/documentos/documentos91.pdf>>

Título da página na Web (acesso em de novembro de 2009).

29 p. (Documentos / Embrapa Pecuária Sudeste, 91; ISSN: 1980-6841).

1. Ovinos. 2. Manejo Zoossanitário 3. Metodologia. I. Méo, Simone Cristina Niciura. II. Veríssimo, Cecília José. III. Molento, Marcelo Beltrão. Título. IV. Série.

CDD: 636.39

© Embrapa 2009

Autores

Simone Cristina Méo Niciura

Médica Veterinária, Dra., Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, simone@cppse.embrapa.br

Cecília José Veríssimo

Médica Veterinária, Dra., Pesquisadora do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP, cjverissimo@iz.sp.gov.br.

Adriana Hellmeister de Campos Nogueira

Médica Veterinária, Ms., Pesquisadora do Instituto Biológico, São Paulo, SP, adriananogueira@biologico.sp.gov.br.

Ana Carolina de Souza Chagas

Bióloga, Dra., Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP, carolina@cppse.embrapa.br.

Ana Lúcia Luz Alberti

Médica Veterinária, Ms., Pesquisadora do Pólo Regional Sorocabana, APTA, Presidente Prudente, SP, albertivet@apta.sp.gov.br

Carlos Frederico de Carvalho Rodrigues

Médico Veterinário, Ms., Pesquisador da UPD de Itapetininga, APTA, Itapetininga, SP, frediz@apta.sp.gov.br.

Cristina Maria Pacheco Barbosa

Zootecnista, Dra., Pesquisadora da UPD de Itapetininga, APTA, Itapetininga, SP, cristina@apta.sp.gov.br.

Daniela Pontes Chiebao

Médica Veterinária, Pesquisadora da UPD de Sorocaba, APTA, Sorocaba, SP, danichiebao@apta.sp.gov.br.

Daniel Cardoso

Médico Veterinário, Dr., Pesquisador da UPD de Araçatuba, APTA, Araçatuba, SP, danielcardoso@apta.sp.gov.br.

Giane Serafim da Silva

Zootecnista, Dra., Pesquisadora do Pólo Regional Noroeste Paulista, APTA, Votuporanga, SP, giane@apta.sp.gov.br.

José Roberto Pereira

Biólogo, Ms., Pesquisador do Pólo Regional Vale do Paraíba, APTA, Pindamonhangaba, SP, jroberto@apta.sp.gov.br.

Luciana Morita Katiki

Médica Veterinária, Ms., Pesquisadora do Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP,
lmkatiki@iz.sp.gov.br.

Luiz Florêncio Franco Margatho

Médico Veterinário, Dr., Pesquisador da UPD de Bauru, APTA, Bauru, SP,
margatho@apta.sp.gov.br.

Ricardo Lopes Dias da Costa

Médico Veterinário, Dr., Pesquisador do Pólo Regional Extremo Oeste, APTA, Andradina, SP,
rldcosta@apta.sp.gov.br.

Romeu Fernandes Nardon

Zootecnista, Dr., Pesquisador do Pólo Médio Paranapanema, APTA, Assis, SP,
nardon@apta.sp.gov.br.

Tatiana Evelyn Hayama Ueno

Médica Veterinária, Ms., Pesquisadora da UPD de Mirassol, APTA, São José do Rio Preto, SP,
tatianaueno@apta.sp.gov.br

Vera Cláudia Lorenzetti Magalhães Curci

Médica Veterinária, Dra., Pesquisadora da UPD de Araçatuba, APTA, Araçatuba, SP,
vlmcurci@apta.sp.gov.br.

Marcelo Beltrão Molento

Médico Veterinário, Dr., Professor da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR,
molento@ufpr.br.

Apresentação

A ovinocultura tem apresentado crescimento constante nos últimos anos em todo o país, em virtude do crescimento do mercado consumidor de carne ovina e da viabilização de sua produção em pequenas e médias propriedades rurais. Entretanto, há problemas chamados de helmintoses gastrintestinais, que afligem a criação desses animais, ocasionando prejuízos aos sistemas de produção. Para o controle da verminose, anti-helmínticos têm sido utilizados em larga escala, e de maneira indiscriminada, o que promove o surgimento da resistência aos produtos químicos, além da ineficácia no combate aos helmintos. Por este motivo, antes da aplicação de qualquer anti-helmíntico em ovinos, é necessário distinguir se o produto será capaz de agir eficazmente no controle dos vermes presentes no rebanho.

Uma forma de se atestar a eficácia dos produtos anti-helmínticos é a aplicação do teste de redução de contagem de ovos nas fezes (TRCOF). O diagnóstico realizado por meio desse teste fornece informações de grande valia para a orientação das decisões e das recomendações técnicas futuras quanto ao uso de anti-helmínticos. O TRCOF é de grande aplicabilidade prática para os profissionais atuantes na criação de ovinos, podendo ser também extrapolado para a realização de pesquisas sobre a eficácia dos produtos anti-helmínticos em caprinos. Assim, este documento descreve a metodologia padronizada do TRCOF para colheita, remessa e exame de amostras de fezes, e de informações de manejo em rebanhos ovinos.

A prática agropecuária aqui descrita foi definida e validada por uma equipe interinstitucional e multidisciplinar de pesquisa em ovinos, que envolve pesquisadores da Embrapa Pecuária Sudeste, da Universidade Federal do Paraná e de diversos centros de pesquisa (Instituto de Zootecnia, Instituto Biológico e Unidades de Pesquisa e Desenvolvimento) da Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA), distribuídos e atuantes em todas as regiões do Estado de São Paulo.

Maurício Mello de Alencar
Chefe Geral

Sumário

Introdução	11
Metodologia de colheita de amostras e de informações de manejo em rebanhos ovinos	14
Aplicação de questionário	15
Pré-experimento para colheita de fezes, contagem de OPG e coprocultura	19
Seleção de animais para aplicação do teste	23
Realização de teste de redução de contagem de ovos nas fezes (TRCOP)	24
Avaliação dos resultados	26
Referências	27

Determinação da Eficácia Anti-Helmíntica em Rebanhos Ovinos: Metodologia de Colheita de Amostras e de Informações de Manejo Zoossanitário

Simone Cristina Méo Niciura
Cecília José Veríssimo
Marcelo Beltrão Molento

Introdução

A ovinocultura é uma atividade econômica que está em crescimento na maioria dos estados brasileiros devido ao aumento da demanda do mercado consumidor de carne ovina. Além disso, a criação de ovinos surge como alternativa de viabilização social e econômica de pequenas e médias propriedades rurais (CUNHA et al., 2007), pois possibilita o aproveitamento de áreas inadequadas para a criação de outras espécies animais ou para o cultivo de lavouras, seja pelo tamanho ou pela topografia acidentada, e ainda permite a integração com outras atividades agropecuárias.

Um dos maiores entraves na criação de ovinos a pasto nos trópicos é a alta prevalência de helmintos gastrintestinais, dentre os quais se destacam as espécies *Haemonchus contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*. O *H. contortus* é a espécie mais prevalente e patogênica, ocasiona edemaciação, anemia, retardo no desenvolvimento, e, não raro, morte dos animais (VERÍSSIMO, 2001; AMARANTE et al., 2004; COSTA et al., 2007). Dessa maneira, a hemoncose causa perdas diretas e indiretas em diferentes sistemas de produção, muitas vezes inviabilizando-os economicamente.

Além da alta prevalência, o controle das helmintoses gastrintestinais tem sido dificultado em função da resistência que os parasitas adquirem aos produtos químicos. Atualmente, o controle dos nematoides é feito basicamente por meio da aplicação de anti-helmínticos de amplo espectro (que controlam várias espécies de helmintos) ou de pequeno espectro (que são mais específicos, por exemplo, só controlam os vermes que se alimentam de sangue). Os três grupos de anti-helmínticos de amplo espectro disponíveis no mercado são: (1) benzimidazóis (thiabendazol, mebendazol, parabendazol, albendazol, fenbendazol, oxbendazol, oxfendazol e triclabendazol), que se ligam à â-tubulina e evitam a polimerização dos dímeros de tubulina em microtúbulos, e também inibem a fumarato-redutase e o transporte de glicose; (2) imidazotiazóis (levamisol e tetramisol) e pirimidinas (pirantel e morantel), que são agonistas de receptores de acetilcolina e provocam contração muscular e paralisia; e (3) lactonas macrocíclicas (avermectinas: ivermectina, abamectina, doramectina, eprinomectina e selamectina; e milbemicinas: moxidectina, nemadectina e milbemicina oxima), que abrem canais de cloro direcionados por glutamato e ocasionam paralisia da neuromusculatura, inclusive da faringe (ALMEIDA e AYRES, 1996; COLES et al., 2006). Os anti-helmínticos de pequeno espectro são: (1) salicilanilidas (closantel, rafoxanida niclosamida e oxiclozamida) e nitrofenóis ou substitutos fenólicos (disofenol, nitroxinil, niclofan, nitroscanato e bitionol), desacopladores de fosforilação oxidativa; e (2) organofosforados (diclorvós, triclorfon, coumafós e fention), inibidores da acetilcolinesterase (ALMEIDA e AYRES, 1996).

A não observância da ocorrência de resistência anti-helmíntica tem levado ao aumento de populações de nematoides parasitas gastrintestinais com resistência múltipla aos produtos químicos (MOUSSAVOU-BOUSSOUGOU et al., 2007), principalmente em *H. contortus* (AMARANTE et al., 1992; ECHEVARRIA, 1996; VERÍSSIMO et al., 2002; THOMAZ-SOCCOL et al., 2004). Esse fato causa prejuízos significativos devidos à utilização muito frequente e pouco eficaz dos produtos anti-helmínticos, fatores que contribuem

ainda para selecionar nematoides capazes de sobreviver ao tratamento, os quais formarão a próxima geração de vermes (COLES, 2005). No Estado de São Paulo há criações de ovinos com resistência a vários grupos de anti-helmínticos de amplo espectro (VERÍSSIMO et al., 2009). Uma vez que não há expectativa de lançamento de novos produtos no mercado, nos próximos anos, é essencial tomar medidas preventivas para manter a eficácia dos anti-helmínticos existentes (COLES et al., 2006).

À primeira vista, parece mais fácil abandonar um produto anti-helmíntico quando ele para de funcionar que realizar testes de eficácia no rebanho. Entretanto, a rotação anual de grupo de anti-helmíntico não impede o estabelecimento da resistência (SARGISON et al., 2007) e, em casos de elevada resistência, nem a combinação de produtos químicos pode resultar em melhor eficácia (COLES, 2005).

A avaliação da eficácia de anti-helmínticos permite que estratégias apropriadas de manejo sejam colocadas em prática (COLES, 2005). Portanto, quanto mais precoce a identificação da resistência dos helmintos, mais rápidos serão os resultados alcançados. Segundo Alvarez-Sánchez et al. (2005), a resistência pode ser avaliada por métodos *in vivo* (redução da contagem de ovos nas fezes), *in vitro* (eclosão de ovos e desenvolvimento de larvas) e moleculares (que utilizam a reação em cadeia da polimerase). Desses, o mais utilizado é o teste de redução de contagem de ovos nas fezes (COLES, 2005), principalmente em ovinos em que há boa correlação entre a contagem de ovos nas fezes e o número de vermes em parasitismo (COLES et al., 2006). Vale ressaltar que os testes *in vivo* e *in vitro* são facilmente e amplamente aplicáveis, mas podem ser influenciados pela sazonalidade dos helmintos (COLES, 2005).

A extensão da resistência a anti-helmínticos é pouco conhecida (COLES, 2005). Assim, o levantamento dessas informações permitirá a tomada de decisão quanto à escolha do anti-helmíntico mais eficaz para o rebanho. Permitirá também a realização de alterações no manejo que visem ao controle do parasitismo por

helmintos e das perdas econômicas decorrentes, e que também busquem diminuir a velocidade de aparecimento de resistência aos produtos anti-helmínticos. Com isso em mente, neste documento está apresentada a metodologia utilizada para o diagnóstico do nível de infecção de rebanhos ovinos por helmintos gastrintestinais e da eficácia dos produtos anti-helmínticos comercialmente disponíveis (de qualquer princípio ativo e, de preferência, aqueles utilizados no rebanho investigado) no controle desses helmintos.

Metodologia de colheita de amostras e de informações de manejo em rebanhos ovinos

O teste de redução de contagem de ovos nas fezes (TRCOF) tem como objetivo determinar a eficácia de um produto anti-helmíntico em uma população parasitária por meio da comparação de dados de redução de contagem de ovos nas fezes entre os animais de um grupo controle e os animais de um grupo tratado com um produto antiparasitário.

Inicialmente, seleciona-se uma propriedade criadora de ovinos para a aplicação do TRCOF, e nesse aspecto é fundamental a identificação individual e permanente dos animais avaliados e demais informações da escrituração zootécnica do criatório selecionado. Para a realização do teste, devem ser utilizados grupos de sete a dez ou mais animais por vermífugo a ser avaliado quanto à eficácia. Como exemplo, para que sejam avaliados cinco diferentes anti-helmínticos e o grupo controle (seis grupos experimentais), a propriedade deve possuir rebanho de, no mínimo, 42 ovinos. No rebanho avaliado, o intervalo mínimo após a última aplicação de anti-helmínticos deve ser de 90 dias para moxidectina 10%; de 90 a 110 dias para lactonas de longa ação (como ivermectina 3,15%) e de 30 dias para os demais anti-helmínticos.

Além disso, na propriedade é aplicado um questionário (Figura 1) para o levantamento de informações sobre o manejo do rebanho e, a seguir, é realizado um pré-experimento para a determinação inicial da contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e, após coprocultura, para a identificação dos gêneros de helmintos prevalentes.

Aplicação de questionário

As principais informações avaliadas pelo questionário (Figura 1) são: número de machos e de fêmeas; raças ovinas; ano de início da criação de ovinos, origem dos animais, frequência de aquisição de novos animais, manejo dos animais recém adquiridos (realização de quarentena, de tratamento com anti-helmíntico ou de contagem de OPG); manejo alimentar: área de pastagem, tipo de forrageira, realização de rotação de pastagem, fornecimento de suplementação; manejo reprodutivo: quantidade de cordeiros nascidos e desmamados por ano, cuidados com as ovelhas no pré-parto e no pós-parto, uso de biotécnicas da reprodução; manejo de cordeiros: cuidados com o recém-nascido, idade à desmama e suplementação; manejo sanitário: vacinações, vermifugações (produtos, doses e frequência), realização e resultados de contagem de OPG, utilização do método Famacha[®] e uso de métodos de controle alternativos (como fitoterapia e homeopatia); criação de outras espécies animais, e consórcio de espécies animais ou de culturas nas áreas de pastagem de ovinos; e contratação de assistência técnica.

QUESTIONÁRIO PARA DETERMINAÇÃO DA SITUAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE HELMINTOS DE OVINOS A ANTI-HELMÍNTICOS

Nome da Propriedade: _____
 Município: _____
 Altitude: _____ Latitude: _____ Longitude: _____
 Responsável pelas informações (proprietário, administrador ou técnico): _____
 Nome, endereço completo ou telefone ou e-mail do responsável pelas informações: _____

I - Informações sobre a propriedade e o rebanho

1. Área total da propriedade: _____ ha.
2. Área de pastagem: _____ ha.
3. Há quanto tempo na atividade? _____ anos
4. Tipo de exploração: a) () carne; b) () leite; c) () lã; d) () venda de reprodutores, sêmen ou embriões
5. Criação: a) () intensiva; b) () semi-intensiva; c) () extensiva
6. A ovinocultura é a principal fonte de renda? a) () sim; b) () não
7. Cria outros animais além de ovinos? a) () sim; b) () não
 7a. Se a resposta foi positiva, quais espécies? a) () bovinos; b) () equídeos; c) caprinos; d) () suínos; e) () aves; f) () outros: _____
8. Quais são as raças ovinas da propriedade? Qual é o número de fêmeas, de machos e de cordeiros de cada raça? (preencha a tabela abaixo)

Raça	Número de Fêmeas	Número de Machos	Número de Cordeiros	Total
TOTAL				

9. Possui aprisco ou galpão: a) () ripado; b) () chão batido ou cimentado com ou sem cama; c) () não possui galpão para abrigar os animais
10. Faz rodízio de pastagens?: a) () sim; b) () não
11. Existem áreas de várzea, mangue ou alagadas na pastagem que os animais têm acesso? a) () sim; b) () não
12. As pastagens são utilizadas somente por ovinos? a) () sim b) () não . Qual espécie compartilha os pastos com os ovinos? _____
13. Forrageira(s) predominante nas pastagens são: a) () *Brachiaria*; b) () *Panicum* (Aruana, Tanzânia, Áries, Colômbio, etc.); c) () *Cynodon* (coast-cross, tifton, estrela, etc.); d) () outro (nome popular ou científico): _____
14. Região de procedência do rebanho: a) () Sudeste; b) () Nordeste; c) () Sul; d) () Centro-Oeste; e) () Norte
15. Existe muita entrada de animais de fora do rebanho? a) () sim; b) () não
16. O que faz com os animais recém-adquiridos? a) () quarentena; b) () são imediatamente incorporados ao rebanho
17. Faz escrituração zootécnica? a) () sim; b) () não
18. Qual o índice de mortalidade de cordeiros e animais jovens na propriedade? a) () baixo; b) () alto; c) () não sei
19. Qual o índice de mortalidade de ovelhas adultas na propriedade? a) () baixo; b) () alto; c) () não sei
20. Sistema de criação? a) () totalmente a pasto o ano todo sem suplementação; b) () pastagem no verão e suplementação no inverno (seca); c) () alimentação no cocho o ano todo

II – Informações sobre a medicação antiparasitária

1. Qual a frequência de aplicação de vermífugos utilizada? a) () mensal; b) () a cada 2 meses; c) () a cada 3 meses; d) () a cada 4 meses; e) () a cada 6 meses; f) () anual; g) () sempre que necessário, de acordo com o método Famacha®; h) () em animais com sintomas de verminose; i) () estratégica (ex.: ovelhas no periparto, cordeiros no desmame, borregas em crescimento e lotes em cobertura); j) () de acordo com o resultado do OPG; k) () não utilizo vermífugo; l) () outra (mencionar): _____
2. Como o vermífugo é aplicado: a) () a todos os animais do rebanho na mesma ocasião; b) () somente a alguns animais ou lotes
3. Após o tratamento com vermífugo, muda os animais de pastagem? a) () sim; b) () não
4. Quando troca de vermífugo? a) () a cada vermifugação; b) () de acordo com teste de eficácia do vermífugo; c) () quando o produto não faz mais efeito; d) () sem critério
5. Como escolhe o medicamento antiparasitário? a) () indicação do técnico que dá assistência à propriedade; b) () Balconista de agropecuária ou cooperativa; c) () pelo melhor preço; d) () vendedor na fazenda; e) () propaganda (revista, TV, folder, etc.); f) () Outros (mencionar): _____
6. Como é feita a estimativa do peso dos animais para cálculo da dosagem do medicamento? a) () pesagem; b) () estimativa visual

7. A que grupo pertencia o vermífugo utilizado na ÚLTIMA (1), na PENÚLTIMA (2) e na ANTEPENÚLTIMA (3) aplicação?

Nome comercial: 1) _____; 2) _____; 3) _____

- a) () Benzimidazóis (albendazole, ricobendazole, febendazole e oxfendazole);
- b) () Imiditiazol (levamisol);
- c) () Lactonas macrocíclicas (ivermectina, abamectina, doramectina e moxidectina);
- d) () Salicilanilidas e substitutos fenólicos (closantel, disofenol e nitroxinil);
- e) () Organofosforado (triclorfon);
- f) () Mistura de grupos químicos;
- g) () Não lembro

8. Com que frequência realiza o exame de fezes (OPG)? a) () sempre que necessário; b) () a cada ____ meses; c) () utilizo somente para testar a eficácia do vermífugo; d) () não realizo exame de OPG; e) () nunca ouvi falar nesse exame

9. Já utilizou a combinação de drogas para tratar os animais (duas ou mais drogas ministradas ao mesmo tempo)? a) () sim; b) () não. Quais drogas utilizou (mencionar o nome comercial)?

III - Informação sobre o conhecimento do produtor em resistência anti-helmíntica

1. Possui assistência técnica? a) () sim, frequente; b) () sim, esporádica; c) () não
2. Onde aprende novas informações? a) () programas de rádio ou TV; b) () internet; c) () livros e revistas; d) () feiras e exposições; e) () cursos e palestras
3. Está informado sobre o problema da resistência dos vermes aos vermífugos? a) () sim; b) () não
4. Conhece o método Famacha®? a) () sim, conheço e aplico; b) () sim, conheço, mas não aplico; c) () nunca ouvi falar
5. Já fez algum teste de eficácia de vermífugo na propriedade? a) () sim; b) () não

5a. Em caso de resposta afirmativa, que produtos deram BAIXA (1) ou ALTA EFICÁCIA (2) no último teste de eficácia realizado?

Baixa Eficácia (nome comercial): _____

Alta eficácia (nome comercial): _____

- a) () Benzimidazóis (albendazole, ricobendazole, febendazole e oxfendazole);
- b) () Imiditiazol (levamisol);
- c) () Lactonas macrocíclicas (ivermectina, abamectina, doramectina, moxidectina);
- d) () Salicilanilidas e substitutos fenólicos (closantel, disofenol e nitroxinil);
- e) () Organofosforado (triclorfon);
- f) () Mistura de grupos químicos;
- g) () Não lembro

5b. Há quanto tempo realizou o último teste de eficácia? _____ meses

Data: ___/___/200__

Pesquisador responsável: _____

Instituição de pesquisa: _____

Pré-experimento para colheita de fezes, contagem de OPG e coprocultura

A colheita de fezes é feita, ao acaso, de 10 ovinos em cada categoria animal (cordeiros, borregos, ovelhas e machos reprodutores). A contagem de OPG consiste na colheita de fezes (6 a 8 cíbalos) diretamente da ampola retal do animal com o auxílio de um saco plástico fino. Após a colheita, as amostras devem ser acondicionadas em isopor com gelo e encaminhadas ao laboratório. O exame de contagem de OPG deve ser feito em, no máximo, 4 dias após a colheita das fezes. Até o momento da realização do exame, as amostras devem ser refrigeradas (jamais congeladas) em geladeira (a 4 °C) em sacos plásticos bem lacrados.

A contagem de OPG (Figura 2) é feita por meio da técnica de Gordon e Whitlock modificada (UENO e GONÇALVES, 1998). Para tanto, no mínimo um dia antes dos exames, a solução saturada de sal é preparada por meio da adição de sal a um litro de água até que o sal comece a precipitar. Em geral, utiliza-se a diluição de 375 gramas (g) de sal de cozinha em um litro de água. Para a contagem do OPG, 2 g de fezes são homogeneizados em 28 mililitros (mL) da solução saturada de sal e coados em coador plástico. As duas cavidades da câmara McMaster são preenchidas e, após período de decantação por 3 min, são avaliadas em microscópio óptico. Nas duas células da câmara McMaster devem ser contados os ovos da família Trichostrongylidae, de *Strongyloides* spp (ovos larvados), de *Moniezia* spp e os oocistos de *Eimeria* spp (Figura 3). Vale ressaltar que os ovos degenerados não devem ser considerados. O número de ovos obtido nas duas células da câmara McMaster é multiplicado por 50 para a obtenção da contagem de OPG.

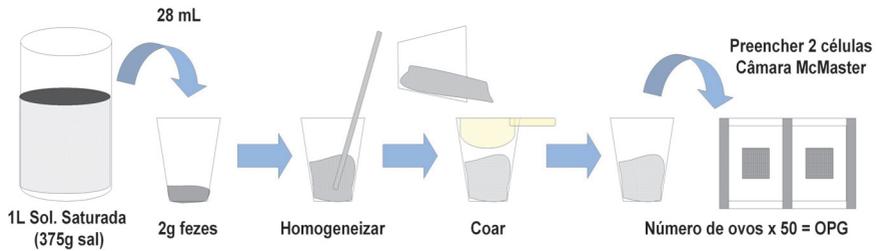


Figura 2. Esquema do procedimento de contagem de ovos por grama de fezes (OPG).

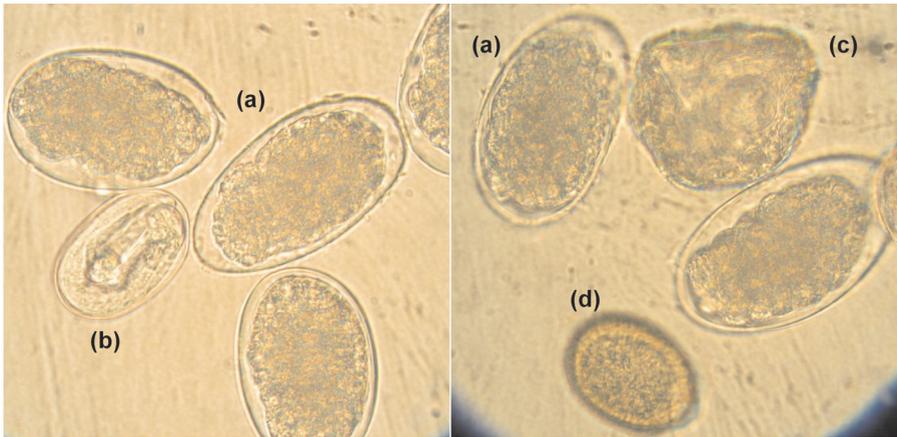


Figura 3. Imagens microscópicas de ovos e oocistos de parasitas gastrintestinais de ovinos. a) Ovos da família Trichostrongylidae; b) ovos de *Strongyloides* spp; c) ovos de *Moniezia* spp; d) oocistos de *Eimeria* spp. Fonte: Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Pecuária Sudeste.

A coprocultura é realizada de acordo com a técnica adaptada de Roberts e O'Sullivan (1950) (Figura 4). Assim, as 10 amostras com contagens mais altas de OPG são selecionadas, misturadas e submetidas à cultura. Para a coprocultura, as fezes são depositadas até a metade de um recipiente de vidro, que é tampado com uma placa de Petri, e borrifadas com água para aumentar a umidade. Sugere-se manter um barbante entre a placa e a borda do frasco para que haja aeração do cultivo. A seguir, as amostras são cultivadas em estufa BOD a 27 °C por 8 dias ou em temperatura ambiente por 10 dias.

Transcorrido o tempo de cultivo, o frasco de vidro é totalmente preenchido com água, tampado com a placa de Petri e, para a recuperação das larvas infectantes, frasco e placa são invertidos bruscamente, para evitar que a água derrame. A seguir, a placa de Petri é preenchida com água, que, após quatro horas, é recolhida com pipeta, acondicionada em tubo de ensaio identificado e armazenada em geladeira por, no mínimo, 2 a 3 horas para a decantação das larvas. Posteriormente, o sobrenadante é removido para que as larvas permaneçam em volume de 2 a 4 mL. As larvas podem ser mantidas em geladeira (a 4 °C) até a avaliação morfológica para a determinação dos gêneros dos helmintos. Entretanto, esse procedimento deve ser realizado o mais rapidamente possível, pois com o passar do tempo, as larvas sofrem deterioração, o que dificulta a futura identificação.

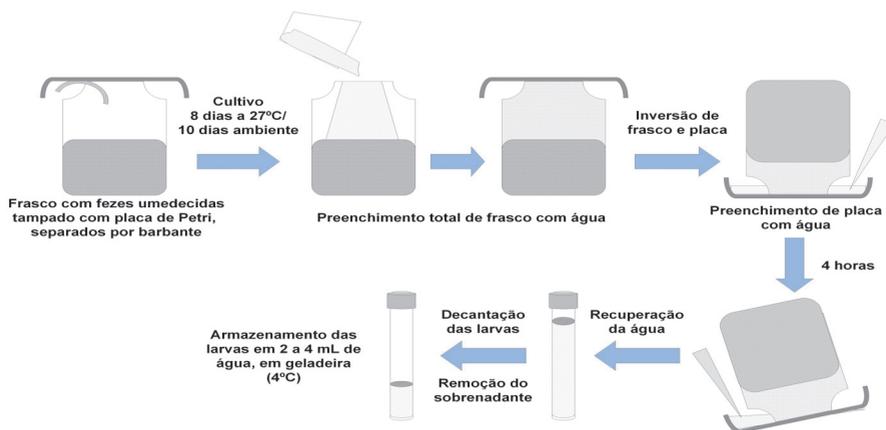


Figura 4. Esquema do procedimento de coprocultura.

Para a identificação dos gêneros de nematoides, as larvas são retiradas com uma pipeta, e uma gota é depositada sobre uma lâmina e, sobre ela, é instilada uma gota de lugol. A seguir, procede-se à avaliação e à classificação morfológica (VAN WYK et al., 2004) de 100 larvas sob microscopia óptica com objetiva de aumento de 20X ou 40X (Figura 5). Caso não sejam obtidas 100 larvas, deve ser feita a contagem do total de larvas presentes, e o resultado deve ser convertido em porcentagem.

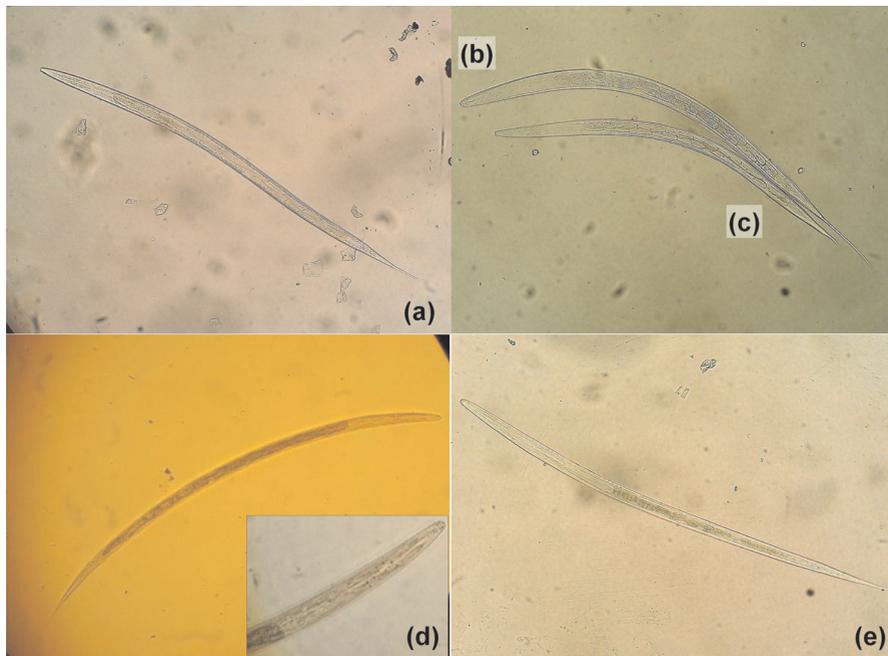


Figura 5. Imagens microscópicas de larvas de diferentes gêneros de helmintos parasitas gastrintestinais de ovinos. a) *Haemonchus* spp; b) *Oesophagostomum* spp; c) *Trichostrongylus* spp; d) *Cooperia* spp (com porção anterior em destaque); e) *Strongyloides* spp.

Fonte: Laboratório de Sanidade Animal da Embrapa Pecuária Sudeste.

As larvas obtidas após a coprocultura podem ser armazenadas em água ou em álcool 70° GL, em microtubos de 1,5 mL a 4 °C ou congeladas a -20 °C para a realização de estudos futuros, como os testes moleculares. Caso seja necessária a avaliação posterior das larvas para identificação dos gêneros de helmintos, recomenda-se a manutenção das larvas em água em geladeira (a 4 °C).

A partir dos resultados de contagem de OPG, para que o TRCOF seja aplicado na propriedade, 80% dos animais por categoria devem apresentar OPG igual ou superior a 200. Em caso de alta frequência de OPG igual a zero (mais de 20%) ou de aplicação recente de anti-helmíntico, o teste deve ser novamente realizado em

época do ano com maior ocorrência de verminose ou após o término do período de efeito residual do tratamento. Dessa maneira, caso a propriedade se enquadre nesse critério de contagem de OPG, procede-se à seleção dos animais para a aplicação do TRCOF.

Seleção de animais para aplicação do teste

Na propriedade, os ovinos são selecionados para a formação dos grupos experimentais (grupos tratados com anti-helmínticos e grupo controle) e a realização do TRCOF. Nesse teste, pode ser usado qualquer animal desmamado, a partir de dois meses de idade, independentemente da raça, do sexo ou da categoria. Como exigência, os animais devem apresentar escore de condição corporal (classificado de 1 a 5 a intervalos de 0,25) entre 1,75 e 3,75 e grau Famacha de 1 (mucosa ocular muito vermelha) a 4 (mucosa ocular rosa pálido). Se possível, deve ser dada preferência a categorias animais mais susceptíveis à verminose, como animais jovens (cordeiros e borregos) e ovelhas lactantes.

Os animais com grau Famacha 5 (mucosa ocular branca) não devem ser usados nos experimentos, mas vermifugados imediatamente (ou no dia seguinte após a aplicação da medicação suporte) e submetidos ao tratamento emergencial, que consiste em deixar o animal em uma baia com fornecimento de volumoso de boa qualidade e de concentrado com pelo menos 18% de proteína bruta. Além disso, o animal deve receber um produto com ferro orgânico injetável seguido por três aplicações de vitamina B12 a intervalos de 48 horas. Caso o anti-helmíntico de eleição seja à base de organofosforado, o animal deverá receber, ainda, um protetor hepático.

Realização do teste de redução de contagem de ovos nas fezes (TRCOF)

Para a realização do TRCOF, os ovinos devem ser distribuídos da forma mais homogênea possível nos grupos experimentais. Assim, cada grupo deve conter o mesmo número de animais das diferentes raças, categorias, sexos, idades, escores de condição corporal e contagens de OPG (se houver essa informação para cada animal antes do teste). No momento da aplicação do teste, em uma planilha de campo (Figura 6) são anotadas observações como: data da colheita, responsável pela colheita das amostras, nome da propriedade, município, região, Estado, identificação do animal, sexo, categoria animal, raça, tratamento anti-helmíntico, grau Famacha, escore de condição corporal, peso do animal, presença de sinais clínicos (como diarreia, edema submandibular e doenças infecciosas) ou outras observações e contagem de OPG pré-experimento.

Sete a 10 ou mais animais devem ser distribuídos em um dos grupos experimentais: grupos de tratamento com anti-helmínticos e grupo controle não tratado. As doses e as vias de aplicação dos anti-helmínticos devem seguir a recomendação do fabricante, e os animais preferencialmente devem ser pesados para o cálculo correto da dose a ser administrada. Os produtos devem estar no prazo de validade e armazenados adequadamente e deve-se dar preferência a produtos de marcas idôneas e de qualidade reconhecida. Para os tratamentos parenterais, a aplicação é por via subcutânea (sc) na paleta do animal, e devem ser tomados cuidados para garantir a antisepsia do local por meio do uso de álcool iodado a 2%, como também pela utilização de agulhas descartáveis e pela administração de todo o produto. Para os tratamentos de via oral, deve-se proceder jejum alimentar prévio dos animais por 12 horas, com água à vontade.

O dia da aplicação dos anti-helmínticos é considerado o dia zero (D0) do TRCOF. Após os tratamentos, os animais podem permanecer no mesmo manejo e pasto em que estavam antes da realização do teste.

Avaliação dos resultados

Quando diferentes produtos anti-helmínticos são avaliados, todos os animais utilizados no TRCOF devem ser submetidos a nova colheita de fezes após 14 dias dos tratamentos para contagem de OPG e realização de coprocultura, segundo os procedimentos descritos anteriormente. Para a coprocultura, as fezes dos animais com OPG positivo de cada tratamento devem ser agrupadas e cultivadas por grupo experimental. A coprocultura também deve ser realizada quando todos os animais do grupo experimental apresentarem OPG negativo (igual a zero).

O cálculo da eficácia de cada anti-helmíntico, que compara cada vermífugo em relação ao grupo controle, é feito por meio do programa RESO 2.0 modificado (WURSTHORN e MARTIN, 1990). Alternativamente, pode-se usar a seguinte fórmula:

$$\%Eficácia_{\text{vermífugo}} = \left(\frac{\text{médiaOPG}_{\text{controle}} - \text{médiaOPG}_{\text{vermífugo}}}{\text{médiaOPG}_{\text{controle}}} \right) \times 100$$

De acordo com o resultado da eficácia, os anti-helmínticos são classificados (ZAJAC e CONBOY, 2006) como:

- a) % Eficácia_{vermífugo} maior que 90%: medicação eficiente;
- b) % Eficácia_{vermífugo} entre 80% e 90%: medicação com baixa eficiência ou suspeita;
- c) % Eficácia_{vermífugo} inferior a 80%: medicação ineficiente.

Como exemplo, após a contagem de OPG de 10 animais submetidos ao tratamento com um anti-helmíntico (3450, 2500, 1250, 1050, 950, 750, 250, 150, 100 e 0) e de 10 animais submetidos ao grupo controle (3950, 2500, 2400, 2250, 1150, 950, 600, 400, 200 e 150), calcula-se a média de OPG para cada grupo. Assim, a médiaOPG_{vermífugo} foi de 1045 e a médiaOPG_{controle} foi de 1455. A seguir, procede-se o cálculo da eficácia: [(1455-1045)/1455] x 100, que resultou na %Eficácia_{vermífugo} de 28%. Dessa maneira por apresentar valor de eficácia inferior a 80%, o anti-helmíntico avaliado foi considerado ineficiente para o tratamento dos animais do rebanho em estudo.

Assim, os resultados de eficácia devem ser utilizados para orientar a escolha do produto anti-helmíntico mais adequado e eficaz para a aplicação no rebanho ovino da propriedade avaliada.

Agradecimentos

Apoio financeiro da Embrapa – Macroprograma 3.

Referências

ALMEIDA, M. A. O.; AYRES, M. C. C. Considerações gerais sobre os anti-helmínticos. In: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 401-106.

ALVAREZ-SÁNCHEZ, M. A.; PÉREZ-GARCÍA, J.; CRUZ-ROJO, M. A.; ROJO-VÁZQUEZ, F. A. Real time PCR for the diagnosis of benzimidazole resistance in trichostrongylids of sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 129, n. 3-4, p. 291-298, 2005.

AMARANTE, A. F. T.; BARBOSA, M. A.; OLIVEIRA, M. A. G.; CARMELLO, M. J.; PADOVANI, C. R. Efeito da administração de oxfendazol, ivermectina e levamisol sobre os exames coproparasitológicos de ovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 29, p. 31-38, 1992.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of Santa Ines, Suffolk and Ile de France sheep to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 1-2, p. 91-106, 2004.

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

COLES, G. C.; JACKSON, F.; POMROY, W. E.; PRICHARD, R. K.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M. A.; VERCRUYSSSE, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 136, n. 3-4, p. 167-185, 2006.

COSTA, R. L. D.; BUENO, M. S.; VERÍSSIMO, C. J.; CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E.; OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E.; OTSUK, I. P. Performance and nematode infection of ewe lambs on intensive rotational grazing with two different cultivars of *Panicum maximum*. **Tropical Animal Health and Production**, v. 39, n. 4, p. 255-263, 2007.

CUNHA, E. A.; SANTOS, L. E.; BUENO, M. S.; VERÍSSIMO, C. J. **Produção de ovinos para corte**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 2007. 141 p. (Série Tecnologia Apta. Boletim Técnico, 48).

ECHEVARRIA, F. A. M. Resistência anti-helmíntica. In: PADILHA, T. (Ed.). **Controle dos nematódeos gastrintestinais em ruminantes**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1996. p. 53-75.

MOUSSAVOU-BOUSSOUGOU, M. N.; SILVESTRE, A.; CORTET, J.; SAUVE, C.; CABARET, J. Substitution of benzimidazole-resistant nematodes for susceptible nematodes in grazing lambs. **Parasitology**, v. 134, n. 4, p. 553-560, 2007.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. J. Methods for egg counts and larval cultures for Strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 1, n. 1, p. 99-102, 1950.

SARGISON, N. D.; JACKSON, F.; BARTLEY, D. J.; WILSON, D. J.; STENHOUSE, L. J.; PENNY, C. D. Observations on the emergence of multiple anthelmintic resistance in sheep flocks in the south-east of Scotland. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 1-2, p. 65-76, 2007.

THOMAZ-SOCCOL, V.; SOUZA, F. P.; SOTOMAIOR, C.; CASTRO, E. A.; MILCZEWSKI, V.; MOCELIN, G.; SILVA, M. C. P. Resistance of gastrointestinal nematodes to anthelmintics in sheep (*Ovis aries*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 41-47, 2004.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4. ed. Tokio: Japan International Cooperation, 1998. 143p.
VAN WYK, J. A.; CABARET, J.; MICHAEL, L. M. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n. 4, p. 277-306, 2004.

VERÍSSIMO, C. J. Causas de mortalidade em um criatório ovino no Estado de São Paulo, Brasil. In: REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001, São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 68 (supl.), p. 103, 2001.

VERÍSSIMO, C. J., OLIVEIRA, S. M., SPÓSITO-FILHA, E. Eficácia de alguns anti-helmínticos em uma ovinocultura no Estado de São Paulo, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002.

VERÍSSIMO, C. J.; MÉO, S. C.; CARDOSO, D.; CURCI, V. C. L. M.; UENO, T. E. H.; COSTA, R. L. D.; PEREIRA, J. R.; MARGATHO, L. F. F.; MOLENTO, M. B. Monitoring the efficacy of anthelmintic drugs in small ruminants in the State of São Paulo, Brazil: preliminary results. In: WORLD ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF VETERINARY PARASITOLOGY CONFERENCE, 22., 2009, Calgary, Canadá. **Proceedings...** Calgary: WAAVP, p. 40, 2009.

WURSTHORN, L.; MARTIN, P. **Reso: faecal egg count reduction test (FECRT) Analysis Program. 2.01**. Parkville: CSIRO Animal Health Research Laboratory, 1990.

ZAJAC, A. M.; CONBOY, G. A. **Veterinary clinical parasitology**. 7. ed. Ames: Blackwell Publishing, 2006. 320p.