

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS - CCAE
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

MARCUS VINICIUS GONÇALVES VIANA

**RESISTÊNCIA DE UMA POPULAÇÃO DE *Haemonchus contortus* AO
MONEPANTEL NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

ALEGRE-ES

2021

MARCUS VINICIUS GONÇALVES VIANA

**RESISTÊNCIA DE UMA POPULAÇÃO DE *Haemonchus contortus* AO
MONEPANTEL NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Orientadora: Profa. Dra. Isabella Vilhena Freire
Martins

ALEGRE-ES

2021

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

V614r VIANA, MARCUS VINICIUS GONÇALVES, 1991-
Resistência de *Haemonchus contortus* ao monepantel no
Espírito Santo, Brasil : Resistencia ao monepantel em ovelhas /
MARCUS VINICIUS GONÇALVES VIANA. - 2021.
37 f. : il.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Isabella Vilhena Freire Martins.
Coorientador: Prof. Dr. Fabio Barbour Scott.

Tese (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade
Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e
Engenharias.

1. Resistência. 2. ovinos. 3. verminose. I. Martins, Prof^ª.
Dra. Isabella Vilhena Freire. II. Scott, Prof. Dr. Fabio Barbour.
III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências
Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 619

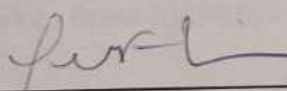
MARCUS VINICIUS GONÇALVES VIANA

**RESISTÊNCIA DE UMA POPULAÇÃO DE *Haemonchus contortus* AO
MONEPANTEL NO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

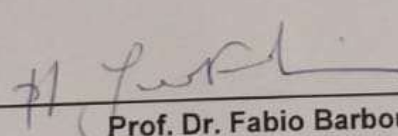
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias – CCAE, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-Cirúrgicas.

Aprovado em 26 de Abril de 2021.

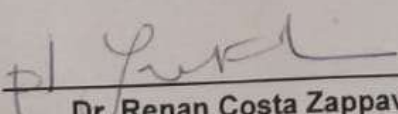
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof.ª Dra. Isabella Vilhena Freire Martins
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientadora



Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



Dr. Renan Costa Zappavigna Starling
Consultor Propagandista Vendedor Jr. da EMS

AGRADECIMENTOS

À Deus pelo dom da vida;

Aos meus pais pelo incansável trabalho e apoio em minha vida;

À Universidade Federal do Espírito Santo através do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e ao Laboratório de Parasitologia da UFES;

À querida professora e orientadora Prof. Dra. Isabela Vilhena Freire Martins pela dedicação e apoio desde do ano 2014, sempre disposta a ajudar e ensinar em qualquer situação;

À Jaqueline Luber, pelo apoio e incentivo em todos os momentos;

Ao Prof. Dr. Fábio Barbour Scott pelo apoio nas diretrizes do projeto e pelo apoio financeiro.

À família do Sr. Júlio Maria Starling pelo acolhimento e orientação em Alegre.

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia pelo apoio durante a execução do experimento.

À equipe do Laboratório de Patologia pelo apoio na segunda fase do experimento, através da Profa. Dra Lousiane de Carvalho Nunes.

Ao amigo Ygor Henrique da Silva pelo companheirismo ao longo dos experimentos.

Ao Sr. Neuzedino Assis e equipe da Fazenda Casablanca por ceder os animais e estrutura para desenvolvimento do projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

VIANA, M.V.G. **Resistência de uma população de *Haemonchus contortus* ao monepantel no Espírito Santo, Brasil, 2021. p. 37.** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2021

Objetivou-se neste trabalho avaliar a eficácia do tratamento com anti-helmíntico (monepantel) sobre as populações de nematoides gastrointestinais em ovinos, sendo o estudo dividido em duas etapas. Na primeira foi realizado o resgate do histórico dos princípios ativos utilizados no rebanho da fazenda ao longo dos últimos cinco anos e três testes de eficácia foram realizados para avaliação dos principais fármacos utilizados ao longo dos anos. Foi verificado que monepantel está sendo utilizado na propriedade desde o ano 2014, apresentando eficácias de 96, 64 e 1%, respectivamente nos anos de 2015, 2017 e 2019. Na segunda etapa, foram selecionados 14 cordeiros, machos e fêmeas com idade média de 130 dias, alocados em dois grupos experimentais: controle e tratado. Após as análises de OPG das amostras fecais, os animais foram divididos em dois grupos, o grupo tratado foi medicado com 1mL/10 kg de monepantel, enquanto o grupo controle não recebeu nenhum tratamento com anti-helmíntico. Após 7 dias da realização do tratamento, os animais foram eutanasiados para recuperação dos parasitos no trato gastrointestinal. O material foi analisado, realizando a contagem e identificação dos parasitos. O cálculo para avaliação da eficácia demonstrou redução de 61%, demonstrando resistência anti-helmíntica de *Haemonchus contortus* e valores sugestivos de resistência de *Oesophagostomum columbianum* ao monepantel.

Palavras-chave: Anti-helmíntico, Controle, Nematoides, Resistência, Ruminantes.

ABSTRACT

VIANA, M.V.G. **Resistência de uma população de *Haemonchus contortus* ao monepantel no Espírito Santo, Brasil, 2021.** p. 37. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias - CCAE, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2021.

The objective of this work was to evaluate the efficacy of treatment with anthelmintic (monepantel) on the populations of gastrointestinal nematodes in sheep, and the study is divided into two studies. In the first, the history of the active ingredients used in the herd of the farm was carried out during the last five years and three efficacy tests were performed to evaluate the main drugs used over the years. It was verified that monepantel is being used in the property since 2014, presenting efficacies of 96, 64 and 1%, respectively in the years 2015, 2017 and 2019. In the second stage, 14 lambs, males and females with a mean age of 130 days, allocated in two experimental groups were selected: control and treated. After the OPG analyses of the fecal samples, the animals were divided into two groups, the treated group was medicated with 1mL/10 kg of monepantel, while the control group did not receive any treatment with anthelmintic. After 7 days of treatment, the animals were euthanized for recovery of parasite in the gastrointestinal tract. The material was analyzed, performing the counting and identification of the parasitos. The calculation for efficacy evaluation showed a reduction of 61%, demonstrating anthelmintic resistance of *Haemonchus contortus* and values suggestive of resistance of *Oesophagostomum columbianum* to monepantel.

Key-words: Anthelmintic, Control, Nematodes, Resistance, Ruminants.

Sumário

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1 Aspectos relacionados a ovinocultura.....	9
2.2 Importância das helmintoses gastrintestinais em ovinos	10
2.3 Métodos de controle de helmintoses gastrintestinais em ovinos.....	11
2.3.1 Controle das helmintoses gastrintestinais em ovinos com uso de anti-helmínticos	12
2.3.2.Monepantel	13
2.4 Resistencia anti-helmíntica	14
2.4.1 Mecanismo de resistência aos fármacos	14
2.4.2 Desenvolvimento genético da resistência anti-helmíntica	15
2.4.3 Diversidade genética de <i>Haemonchus contortus</i>	16
2.4.4 A resistência anti-helmíntica de nematódeos de ovinos	17
3 MATERIAL E MÉTODOS	18
3.1 Caracterização do estudo	18
3.2 Origem dos animais utilizados	18
3.3 Seleção dos animais e randomização dos grupos.	19
3.4 Necropsia dos animais.....	20
3.5 Análise estatística	21
4 RESULTADOS	22
5 DISCUSSÃO	27
6 CONCLUSÃO.....	30
7 REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

As atividades agropecuárias representam 21,4% do produto interno bruto (PIB) brasileiro (CEPEA, 2019), tendo as atividades relacionadas a produção de carne como fator fundamental para essa contribuição. A ovinocultura, que está incluída nesse setor, teve crescimento de cerca de 22,8% e este se deu pelo aumento da demanda interna para consumo. O Brasil também aumentou suas importações de carne ovina, sendo que essa necessidade poderia ser abastecida com produto brasileiro (EMBRAPA, 2019).

Alguns desafios precisam ser enfrentados para melhoria dessa atividade, e a verminose se constitui como um dos principais problemas sanitários dos rebanhos ovinos. Conforme a Embrapa (2019) relatou, o problema é apontado em 84% das propriedades, entre outras doenças como pododermatite, fotossensibilização e linfadenite, além de ser considerada como um dos principais entraves ao crescimento deste segmento, chegando a inviabilizar economicamente a criação (VIEIRA *et al.*, 2008).

Amarante *et al.* (2004) também descrevem a alta infecção por helmintos como um dos maiores problemas enfrentados pelos criadores de ovinos no Brasil, sendo um fator limitante para a produção, além do agravante problema com a resistência parasitária por helmintos gastrointestinais. Quadros de parasitismo envolvendo *H. contortus* geralmente apresentam diminuição da eficácia ao longo dos tratamentos, possibilitando assim a formação de populações resistentes aos anti-helmínticos, até mesmo aos mais novos compostos, como os derivados da amino-acetonitrila, conforme demonstrado por Albuquerque *et al.* (2017).

Para controle das helmintoses gastrintestinais, a principal ferramenta ainda é o tratamento químico com os anti-helmínticos, como por exemplo o monepantel, que apesar de seu lançamento ter sido realizado em 2009, já existem registros de resistência, inclusive no Brasil (ALBUQUERQUE *et al.*, 2017; STARLING *et al.*, 2019)

O fato do estado do Espírito Santo possuir aptidão para ovinocultura e já desenvolver a atividade, leva a necessidade de estudos relacionados a comprovação da eficácia dos anti-helmínticos e a resistência anti-helmíntica. Assim, o objetivo do presente trabalho foi mensurar a presença de uma população de *H. contortus* em ovinos resistentes ao monepantel numa propriedade localizada no sul do estado do Espírito Santo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos relacionados a ovinocultura

A ovinocultura é uma atividade desenvolvida ao longo de todo os continentes, somando um rebanho aproximado de 1,2 bilhões de cabeças segundo a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura - FAO no ano de 2016, sendo que a atividade se faz como fonte de renda principal de diversos produtores e de toda a cadeia envolvida na atividade, e cada modelo de exploração se adequa com sua região especificamente (FAO, 2017). Silva Sobrinho (2001) comenta que o interesse pela carne e leite levaram a domesticação do animal e posteriormente, com o interesse pela lã, surgiu uma nova modalidade de criação.

No Brasil, conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) em 2016, o rebanho de ovinos era de aproximadamente 18,43 milhões de cabeças (IBGE, 2016). Dessa maneira, estima-se um crescimento anual de 2,1% na produção de carne ovina, registrando-se essa elevação principalmente em países em desenvolvimento, onde o consumo per capita chega-se 52 g/ dia de proteína advinda da carne (FAO, 2017).

Com relação ao consumo da carne de ovino no Brasil, consome-se em média 0,6 kg por pessoa por ano, um consumo baixo quando comparados com a Argentina e o Uruguai, onde o consumo médio é de 1,23 e 4,05, respectivamente. O Brasil produz em média cerca de 93.000 toneladas do produto sendo necessária a importação de mais 7.000 toneladas para atender o mercado interno (ESTURRARI *et al.*, 2017).

Em termos de número de estabelecimentos no Brasil, para caprinos houve um crescimento de 16,5% entre os Censos Agropecuários de 2006 e 2017, enquanto para ovinos o crescimento foi de 20,0% o que demonstra a importância e o crescimento da atividade (EMBRAPA, 2018).

Dados do IBGE em 2016 indicam que a região Nordeste é a maior em número de cabeças, correspondendo a um total de 60,6% da população brasileira, seguido da região Sul com 26,5%, Centro-Oeste (5,6%), Sudeste (3,8%) e Norte (3,6%). No Espírito Santo, segundo o Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo - IDAF (2017), mais de 1000 produtores de ovinos estão oficialmente

registrados no estado, com um total de 38.896 cabeças, inclusive os criadores da região do sul do estado.

2.2 Importância das helmintoses gastrintestinais em ovinos

As enfermidades parasitárias são consideradas como um dos principais problemas sanitários dos rebanhos ovinos. O controle adequado dessa enfermidade se faz obrigatório, caso contrário, a atividade pode se tornar inviável economicamente devido à redução na produtividade e à mortalidade de animais (AMARANTE, 2014). Crescimento atrasado, perda de peso, baixa fertilidade, baixa conversão alimentar e alta taxa de mortalidade são alguns dos fatores que geram uma elevada perda econômica na atividade, chegando até 60% (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2004).

Os ovinos podem ser parasitados ao mesmo tempo por várias espécies de nematódeos. Inúmeras espécies já foram registradas em ovinos no Brasil como *H. contortus* e *Trichostrongylus axei* parasitando o abomaso como sitio final de infecção, *Cooperia punctata*, *Cooperia pectinata*, *Trichostrongylus colubriformis* e *Strongyloides papillosus* tem o intestino delgado como local de parasitismo, e os nematódeos *Oesophagostomum columbianum*, *Trichuris ovis* e *Trichuris globulosa* parasitam o intestino grosso desses ovinos (THOMAZ-SOCCOL *et al.*, 2004; TAYLOR *et al.*, 2007; AMARANTE, 2014). Estima-se que grandes perdas econômicas na ovinocultura sejam decorrentes da ação de parasitos. É de valia ressaltar que a importância relativa das diferentes espécies de nematódeos varia em função da combinação da intensidade da infecção, prevalência e patogenicidade da espécie (AMARANTE, 2004).

O nematódeo *H. contortus* é um parasito hematófago que tem por habitat o abomaso dos ruminantes e quando em desenvolvimento dentro do hospedeiro, causa uma patologia gastrintestinal de grande importância na produção ovinos, sendo limitante para a atividade, chegando a inviabilizar as cadeias produtivas. Este fato pode ocorrer se a mucosa digestiva sofrer lesões, perda sanguínea do organismo, disfunções na absorção dos nutrientes, diarreia com sangue e a ocorrência de anemia, indicadores estes que irão contribuir para determinar a gravidade e o grau da infecção (TAYLOR *et al.*, 2007).

É observado também que os fatores como fase pós-desmama, estado nutricional debilitado, estresse fisiológico (gestação, pré e pós-parto), estado sanitário dos animais, carga parasitária e a espécie de parasito ao qual o animal é exposto influenciam na resposta contra as infecções. Os fatores externos, como as condições climáticas e tipo de gramínea, determinam uma maior ou menor sobrevivência de larvas nas pastagens, e aliado ao comportamento dos animais ao pastejar, alta taxa de lotação e o uso inadequado de vermífugos, influenciam na carga parasitária dos animais (YOSHIHARA *et al.*, 2013).

O principal sinal clínico desta enfermidade é o edema submandibular, conhecido como papeira, causado pela hipoproteïnemia, que aparece em animais geralmente com volume globular abaixo de 23% e proteína total abaixo de 5. Demais aspectos clínicos são anemia severa, perda de apetite e peso, gerando desidratação e podendo levar a morte do ovino (NASCIMENTO *et al.*, 2018)

Um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2019) mostrou que 33,6% das enfermidades encontradas em ovinos eram parasitoses e que a hemoncose/infecções mistas representaram cerca de 78,1%, sendo considerada uma das mais importantes devido a sua alta patogenicidade. Outro estudo evidenciou a alta ocorrência de parasitismo em necropsias realizadas em pequenos ruminantes, principalmente com relação a parasitas gastrointestinais, como *H. contortus*, sendo encontrado em grande parte do território brasileiro, por conta de fatores relacionados ao clima, como alta umidade e calor, facilitando o desenvolvimento do ciclo deste nematoide (RAMOS *et al.*, 2002).

2.3 Métodos de controle de helmintoses gastrointestinais em ovinos

Existem diversos métodos já estudados para controle de helmintoses em animais de produção, e segundo Cezar *et al.* (2008) podem ser citadas dentro do chamado controle integrado de parasitos, o manejo do rebanho e de pastagens, pastoreio rotacionado, descontaminação prévia das pastagens, pastoreio com alternância de categorias e ou espécies de hospedeiros, controle biológico, seleção genética, nutrição e vacinas.

O cruzamento entre raças menos resistentes com raças mais resistentes as infecções parasitárias também é uma opção a fim de diminuir controlar as infecções por nematoides gastrointestinais. Além disso, o manejo nutricional tem forte influência com relação a infecções parasitárias, como apresentado e discutido por Starling *et al.* (2019), onde cordeiros do grupo suplementados e não vermifugados, mostraram desempenho de produção igual ou superior aos animais do grupo vermifugado e recebendo apenas dieta basal, mostrando que a nutrição auxilia na manutenção dos parâmetros plasmáticos e imunológicos.

O controle estratégico é também uma opção a ser utilizado, baseando-se em tratamentos estratégicos relacionadas ao período chuvoso e de maior umidade, período considerado crítico para quadros relacionados as verminoses, podendo estar associada ao uso de homeopáticos e seleção de linhagens de animais menos susceptíveis as verminoses (EMBRAPA., 2007). A vacinação poderá ser também como um método para controle e prevenção contra haemoncose, sendo que os ovinos que receberam as doses com antígenos mostraram uma redução na média de ovos quando comparados ao grupo controle, conforme demonstrado nos estudos realizados por Basseto *et al.* (2015).

Uma das metodologias mais recomendadas é a utilização do exame coproparasitológico dos animais para avaliar a carga parasitária de cada animal e mediante este resultado, realizar a aplicação do anti-helmíntico, sendo de extrema importância para as decisões referentes à aplicação de anti-helmíntico , podendo ter impacto na epidemiologia da verminose, ao interferir indiretamente na população do parasito presente no ambiente, e conseqüentemente, na reinfecção dos animais (CEZAR *et al.*, 2008; AMARANTE, 2014).

2.3.1 Controle das helmintoses gastrintestinais em ovinos com uso de anti-helmínticos

Na década de 60 foram lançados os primeiros anti-helmínticos de largo espectro, sendo os benzimidazóis uma destas primeiras classes de antiparasitários. Eles atuam fazendo bloqueio da polimerização da tubulina, levando a inibição da fumarato-redutase, causando quebra na produção de energia com conseqüente paralisia muscular e morte dos parasitos (VIANA, 2014). Sua atuação é ampla, onde funciona frente nematódeos, cestódeos e trematódeos (ANDRADE, 2008). Outra

classe conhecida é a classe das lactonas macrocíclicas, que possuem ação para eliminação de nematódeos e ectoparasitos (GERENUTTI; SPINOSA, 1997). O grupamento dos imidotiazóis começou a ser utilizado nos anos 60, sendo o primeiro fármaco disponível o tetramisol, posteriormente desenvolvido o levamisol, sendo este o único que ainda apresenta efeito (LIMA *et al.*, 2010; VIEIRA *et al.*, 2008).

Os derivados da amino-acetonitrila são considerados como fármacos recentemente desenvolvidos, com o objetivo de controlar nematoides em ruminantes, incluindo aqueles resistentes a outros fármacos (HOSKING *et al.*, 2010). O ingrediente ativo, no caso o monepantel, tem ação sobre um único receptor nicotínico, encontrado apenas em nematoides, atuando como agonista direto nos canais iônicos, causando hiperconcentração, levando a uma paralisia espástica do nematoide (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI, 2011).

2.3.2.Monepantel

O monepantel (C₂₀H₁₃F₆N₃O₂S) surgiu no mercado veterinário primeiramente na Nova Zelândia em 2009 e posteriormente no Brasil em 2012. O mecanismo de ação ocorre sobre os receptores nicotínico nAChR, receptores esses que se encontra apenas em nematódeos agindo mais especificamente em duas subunidades, a Cel-acr-23 e na Hco-mptl-1, que são membros da subfamília DEG-3 de genes das subunidades do receptor de acetilcolina, atuando como agonista de canais iônicos causando hipercontração e paralisia dos nematódeos, atuando portanto, como agonista dos canais iônicos. Esta é a primeira função biológica a ser descrita para o receptor HcoMPTL-1 e por essa razão o monepantel é eficaz contra nematódeos resistentes a outras classes de anti-helmínticos (SPINOSA; GÓRNIK; BERNADI; 2011; SPINOSA *et al.*, 2014).

Os primeiros estudos de descoberta deste fármaco foram realizados por Prichard e Geary em 2008 e o mecanismo de ação deste grupo de anti-helmínticos foram realizados em *Caenorhabditis elegans*. Para isolados de *H. contortus*, foi relatado o gene monepantel-1 (Hco-mptl-1) como maior candidato para ação desse fármaco (KAMINSKY *et al.*, 2008).

Após estudo com algumas espécies de nematoides pesquisando outras 6 subunidades dos receptores nicotínicos, Rufener *et al.* (2010) sugeriram que, além do MPTL-1, que é o alvo primário do monepantel, o DES-2 pode ser um alvo secundário. Certas subunidades da superfamília de ligantes de canais iônicos proporcionam alvos específicos de fármacos anti-helmínticos. Os imidazotiazóis também agem como agonistas de nAChR, entretanto, em subunidades distintas do monepantel.

Foi verificado que o monepantel possui baixa toxicidade e boa tolerabilidade para ruminantes e roedores, com uma meia vida terminal de 215 horas (KAMINSKY *et al.*, 2008).

2.4 Resistencia anti-helmíntica

Segundo Vieira (2008), a resistência anti-helmíntica é definida como o aumento no número de espécimes em uma determinada população, que são capazes de suportar doses de um composto químico já provado ser letal para a maioria dos indivíduos de uma população geralmente sensível.

Quando comparados, os nematoides resistentes apresentam diferenças com relação às sensíveis, sendo algumas características relacionadas com a patogenicidade são mais pronunciadas (HENNON, 1993), podendo ainda essas disfunções serem letais em alguns parasitos (PRICHARD, 2001).

O parasito *H. contortus*, é o maior responsável pelo rápido desenvolvimento da resistência em nematódeos de pequenos ruminantes (SANGSTER, 2001), provavelmente, devido ao seu alto potencial biótico (ECHEVARRIA e TRINDADE, 1989), grande variabilidade genética e por albergar o alelo que causa a diminuição da susceptibilidade a um fármaco (BLACKHALL *et al.*, 1998).

2.4.1 Mecanismo de resistência aos fármacos

Os mecanismos de resistência podem ser classificados como específicos ou sem especificidade sendo que os específicos estão relacionados à ação do fármaco

anti-helmíntico, enquanto os outros se referem a alterações no receptor do fármaco ou na modulação da concentração do fármaco (WOLSTENHOLME *et al.*, 2004).

Os anti-helmínticos benzimidazóis ligam-se a tubulina alterando o equilíbrio tubulina/microtúbulos, estruturas essas que formam o citoesqueleto da célula (LACEY, 1988). Acredita-se ainda que a modulação da concentração do fármaco mediada pelas p-glicoproteínas no receptor alvo pode ser um outro potencial mecanismo de resistência (KERBOEUF *et al.*, 2003), assim como acontece para as lactonas macrocíclicas. As p-glicoproteínas são proteínas transmembranárias que têm um papel protetor contra xenobióticos potencialmente tóxicos ingeridos na dieta (SCHWAB *et al.*, 2003). Estas proteínas que são produtos do gene MDR1, aparentemente removem seus substratos da dupla camada de lipídeos da membrana para o espaço extracelular, agindo como bombas de efluxo de xenobióticos (MOLENTO e PRICHARD, 1999).

Para monepantel, não se sabe ainda exatamente quais são os marcadores específicos para resistência, mas em estudo realizado utilizando *H. contortus*, foi possível identificar alguns marcadores, como: transportadores ABC; glicoproteína-P; peptidases, kinases; fosfatases e proteínas de canal (EMBRAPA, 2018).

2.4.2 Desenvolvimento genético da resistência anti-helmíntica

A resistência apresenta um processo envolvendo três componentes sendo eles o estabelecimento, desenvolvimento e a dispersão. O estabelecimento da resistência é amplamente influenciado pelo tamanho e diversidade da população e taxa de mutação do gene envolvido (SUTHERST; COMINS, 1979), sendo que quanto mais elevados estes fatores, maior será a chance da existência do alelo para a resistência (GEARY *et al.*, 1999). Já o desenvolvimento da resistência está relacionado ao uso do agente seletivo, neste caso, o anti-helmíntico (SUTHERST; COMINS, 1979). O número excessivo de tratamentos seleciona para resistência diminuindo a vida útil do fármaco sendo que o desenvolvimento da resistência a um fármaco geralmente acontece dentro de cinco a oito gerações após a introdução da nova classe de composto (GRANT, 2001). Por último, o processo de dispersão dos genes na população é realizado pela migração e fluxo gênico (HUMBERT *et al.*, 2001).

Dessa forma, os processos de desenvolvimento e dispersão são influenciados pela biologia e manejo dos parasitos responsáveis pela resistência.

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

2.4.3 Diversidade genética de *Haemonchus contortus*

Entre os nematódeos existem diferenças relacionadas a susceptibilidade ao desenvolvimento da resistência. Alguns fatores, obrigatoriamente, devem estar atuando em conjunto para que uma população de organismos resistentes possa ser selecionada pela pressão do fármaco. Dentre estes, o mais importante é a diversidade genética da população tratada, pois o fármaco não cria organismos resistentes, apenas seleciona os indivíduos que levam um alelo do gene ou genes que reduz a susceptibilidade a um fármaco. A resistência só pode surgir se o alelo para a resistência estiver presente na população tratada. Logo, quanto mais elevada for a diversidade genética de uma espécie, maior será a chance da existência deste alelo (GEARY *et al.*, 1999).

No caso de *H. contortus*, este possui uma taxa de mutação do DNA mitocondrial dez vezes maior que nos vertebrados e o DNA nuclear extremamente diverso, mostrando grande variabilidade genética, tanto em uma população quanto entre populações geograficamente separadas, sendo encontrado em diferentes espécies de ruminantes desde os trópicos úmidos até as áreas de clima com temperaturas mais frias. Além disso, apresenta uma alta fecundidade, sua fêmea pode eliminar entre 5.000 e 10.000 ovos por dia (JENO, 1998). Sua população efetiva é muito grande, sendo mais encontrada no meio, ou seja, nas pastagens e forragens do que no interior de seus hospedeiros (PRICHARD, 2001). A alta diversidade genética associada ao elevado tamanho da população efetiva é uma condição ideal para a resistência seja disseminada (GEARY *et al.*, 1999).

Alguns aspectos como a morfometria dos machos, proporções entre a morfologia das fêmeas e frequências aloenzimáticas foram evidenciados em cepas de *H. contortus* isoladas em áreas geográficas diferentes com condições climáticas diversas (SAULAI *et al.*, 2000).

2.4.4 A resistência anti-helmíntica de nematódeos de ovinos

Santos e Gonçalves (1967) relataram o primeiro caso de resistência anti-helmíntica no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, verificando resistência de *H. contortus* ao tiabendazol. O uso indiscriminado de fármacos, com consequentes aplicações, faz com que ocorra seleção de helmintos resistentes aos fármacos, causando grande prejuízo aos produtores (AMARANTE *et al.*, 1992). Diversos são os estudos que trazem relatos de resistência anti-helmíntica em nematoides de ovinos (Quadro 1).

Quadro 1. Autores, ano, molécula anti-helmíntica, local de ocorrência e helmintos identificados como resistentes no Brasil.

Autores	Ano	Molécula	Local	Parasito
Santos & Gonçalves <i>et al</i>	1967	tiabendazol	Rio Grande do Sul	<i>H. contortus</i>
Amarante <i>et al</i>	1992	oxifendazol/ levamisol	Brasil	<i>Haemonchus/Trichostrongylus</i>
Thomaz-Soccol <i>et al</i>	1996	albendazol/ ivermectina/ levamisol	Paraná	<i>Haemonchus/Trichostrongylus</i>
Ramos <i>et al</i>	2002	albendazol/ ivermectina	Santa Catarina	<i>Haemonchus/Trichostrongylus</i>
Rosalinski-Moraes <i>et al</i>	2007	ivermectina/ moxidectina	Santa Catarina	<i>Haemonchus/Trichostrongylus</i>
Sczesny-Moraes <i>et al</i>	2010	albendazol/ ivermectina	Mato Grosso do Sul	<i>Haemonchus/Trichostrongylus</i>
Scott <i>et al</i>	2013	monepantel	Nova Zelândia	<i>T. colubriformis</i>
Mederos <i>et al</i>	2014	monepantel	Uruguai	<i>H. contortus</i>
Cintra <i>et al</i>	2016	monepantel	Brasil	<i>T. colubriformis</i>
Martins <i>et al</i>	2017	monepantel	Brasil	<i>Haemonchus</i> spp.
Albuquerque <i>et al</i>	2017	monepantel	São Paulo	<i>Haemonchus</i> spp.
Mallmann <i>et al</i>	2018	monepantel	Brasil	<i>Haemonchus</i> spp.
Starling <i>et al</i>	2019	monepantel	São Paulo	<i>H. contortus</i>

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização do estudo

O estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) nº protocolo 018/2018.

O experimento foi realizado em uma fazenda, localizada na zona rural do município de Alegre, estado do Espírito Santo, Brasil (20°40'47"S 41°32'04"W) A propriedade desenvolve atividades relacionadas a pecuária de corte e criação de ovinos com fins comerciais. O manejo dos ovinos é realizado em um módulo de piquetes rotacionados, com 12 divisões, o que compreende cerca de 4,8 hectares, formado por *Brachiaria* sp. Possui um aprisco com 220 m² para manejo dos animais, onde estes recebem á noite alimentação suplementar com silagem de milho e concentrado e água *ad libitum*.

3.2 Origem dos animais utilizados

O rebanho de ovinos da propriedade é composto por aproximadamente 160 animais (*Ovis aries*), sendo 85 animais da raça Santa Inês utilizadas como matrizes reprodutivas para fornecimento de cordeiros. Além desses animais, a fazenda conta com 35 fêmeas e quatro reprodutores da raça White Dorper e aproximadamente 40 borregos mestiços (Santa Inês x White Dorper).

Na primeira fase do estudo foi realizado o resgate do histórico dos princípios ativos utilizados no rebanho da fazenda ao longo dos últimos cinco anos, além da aplicação de um questionário com perguntas relacionadas ao manejo de aplicação e critério de seleção dos animais para tratamento. O rebanho da fazenda foi monitorado ao longo dos anos de 2015, 2017 e 2019 por meio de testes de redução na contagem

de ovos por grama de fezes (TRCOF) em 2015, 2017 e 2019, para identificar as espécies de nematódeos predominantes e determinar a eficácia dos princípios ativos utilizados, como descrito por Coles *et al.* (1992).

3.3 Seleção dos animais e randomização dos grupos.

Na segunda fase do estudo, borregos foram selecionados e submetidos a duas coletas de fezes prévias, nos dias -10 e -2 antes do tratamento, para verificação dos valores de OPG, segundo a técnica de Gordon e Whitlock (1939). As amostras fecais dos animais foram coletadas diretamente da ampola retal com auxílio de sacos de polietileno previamente identificados e mantidas resfriadas até o momento do processamento, que foram realizadas imediatamente após as coletas, no Laboratório de Parasitologia do Hospital Veterinário do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo (HOVET-CCAUE-UFES).

Posteriormente ao OPG do dia -10 foi realizada os exames de coproculturas segundo metodologia descrita por Roberts e O'Sullivan (1950) e identificação dos gêneros segundo Ueno e Gonçalves (1998).

Foram separados 20 cordeiros e após observar os resultados dos exames dos dias -10 e -2, foram selecionados 14 cordeiros, de acordo com as recomendações da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). Os animais foram ovinos de cruzamento industrial (White Dooper x Santa Inês) (sendo cinco machos inteiros e nove fêmeas), com média de idade de 100 dias, peso inicial médio de 17,5 kg que apresentaram ovos nas fezes (OPG > 1000) Foram separados em dois lotes contendo sete animais cada, sendo que o primeiro lote recebeu tratamento e o segundo lote foi considerado como controle, não recebendo tratamento.

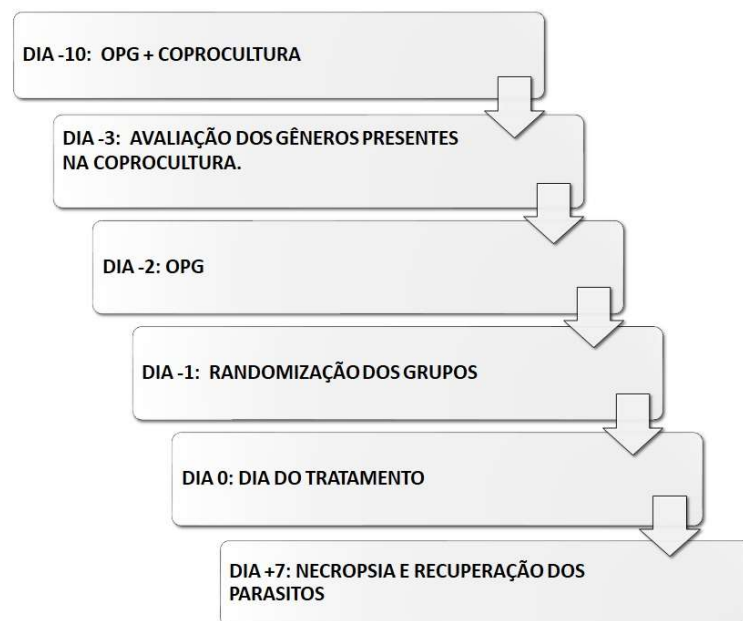
Os animais foram submetidos a pesagem com balança mecânica para aferição do peso para formulação da dose administrada. O medicamento utilizado no tratamento foi o monepantel, (2,5 mg/kg) - (produto Zolvix®, Novartis) por via oral, de acordo com a recomendação do fabricante, sendo realizada no dia 0, com auxílio de uma seringa dosadora.

3.4 Necropsia dos animais

Após sete dias da realização da vermifugação, os animais foram eutanasiados para recuperação dos parasitos no trato gastrointestinal. A eutanásia foi realizada com o uso de anestesia prévia com xilazina (0,1 -0,2 mg/kg/ IM e anestesia geral com tiopental sódico (10-15mg/kg) seguida de cloreto de potássio,, conforme preconizado na resolução N° 1000 do CFMV, sendo que a escolha do protocolo de medicamentos anestésicos para eutanásia de acordo com os critérios do setor de patologia do HOVET-CCAUE-UFES).

De acordo com as recomendações da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) o conteúdo do abomaso, intestino delgado e intestino grosso foi recuperado e fixado com formalina 10% ou outros fixadores para preservar os espécimes e uma amostra de 5% do volume total do conteúdo do abomaso foi coletada. Todos os parasitos da sub-alíquota de 10% deste total foram identificados quanto ao gênero, espécie e estágio de desenvolvimento de acordo com os métodos de Ueno e Gonçalves (1998).

Figura 01: Fluxograma com etapas do teste de eficácia controlado em ovinos naturalmente infectados com nematoides gastrintestinais.



3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos a avaliação para obter média e desvio padrão dos helmintos recuperados nos grupos tratado e controle, utilizando o programa (R Core Tem, 2020), sendo aplicada a média geométrica seguindo as recomendações da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) e da Organização das nações unidas para alimentação e agricultura (FAO). Com o valor da média geométrica de helmintos recuperados de cada grupo, foi aplicado o teste para avaliação do percentual de eficácia no programa Microsoft Excel (2016) com a seguinte fórmula: % de eficácia = (média de helmintos dos animais controle - média de helmintos dos animais tratados) / (média de helmintos dos animais controle) x 100.

Após a contagem individual dos parasitos de cada animal, estes valores foram submetidos ao teste de Levene para avaliar se os dados eram homogêneos ou não e ao teste de Shapiro-Wilk para avaliar se os dados tinham distribuição normal ou não, sendo posteriormente aplicado o Teste de Dunn para verificação do nível de significância ($p \leq 0,05$) dos valores das médias de helmintos recuperados utilizando o programa (R CORE TEM, 2020).

4 RESULTADOS

Após análise das respostas ao questionário aplicado foi possível identificar os princípios ativos utilizados com rotina na fazenda, como albendazol, ivermectina, levamisol e monepantel, sendo os primeiros utilizados desde o início da criação e o monepantel com uso a partir de 2014.

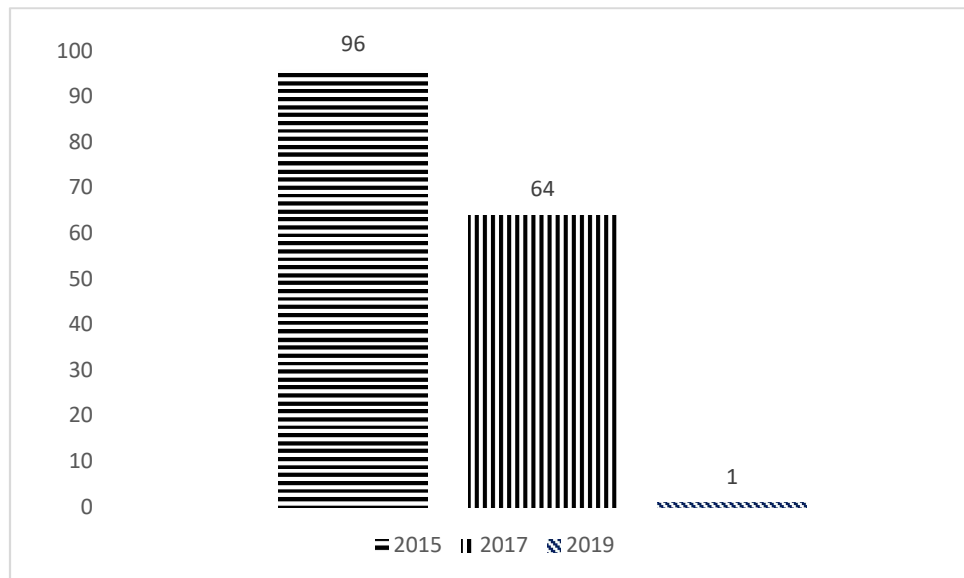
O critério de seleção para realização do tratamento em algumas situações era baseado no valor de OPG dos animais ou no método FAMACHA, porém de maneira geral eram utilizados de forma indiscriminada nos animais com frequência mensal ou bimestral, alternando as bases utilizadas de acordo com a disponibilidade no momento da aplicação.

Em 2015, nesta mesma propriedade, em um teste de redução na contagem de ovos por grama de fezes (TRCOF) realizado por Starling *et al.* (2017), utilizando 58 ovinos, monepantel apresentou uma eficácia de 96,20% em ovinos infectados naturalmente por nematoides gastrointestinais, após 14 dias do tratamento, sendo considerado como altamente eficaz.

Já em 2017, um teste (TRCOF) realizado por Garcia (2019) utilizando 24 ovinos, monepantel apresentou uma eficácia de 64,30% em ovinos naturalmente infectados por nematoides gastrointestinais, 14 dias após o tratamento, sendo considerado como baixa eficácia.

Em 2019, ainda na mesma propriedade, um teste (TRCOF) realizado pela equipe (dados não publicados), utilizando 21 ovinos, monepantel apresentou eficácia próxima a 1%, 14 dias após o tratamento, sendo considerado como ineficaz, tratando-se de um quadro possivelmente relacionado a resistência parasitária.

Figura 2: Eficácia do monepantel em testes a campo utilizando ovinos naturalmente infectados, durante os anos de 2015, 2017 e 2019.



De acordo com os resultados dos ensaios, quando comparados em sequência, os resultados apresentados em 2017 e 2019 mostram que os valores médios do OPG dos grupos tratados com monepantel tiveram baixa redução no número de ovos após o tratamento.

Com relação a segunda fase do estudo, que compreende o teste de eficácia controlado, os animais foram selecionados ao exame de OPG para seleção e randomização dos grupos tratado e controle, de acordo com os valores de números de ovos encontrados, como mostra a tabela a seguir:

Tabela 1: Seleção dos ovinos naturalmente infectados por nematoides gastrointestinais para formação de grupo tratamento e grupo controle baseado nos valores de OPG, através da média geométrica e desvio padrão dos dias -10 e -2.

GRUPO	ANIMAL	PESO(kg)	DOSE(mL)	OPG	MÉDIA ¹	DESV.PAD
TRATADO	527	13,5	1	5733	2548,6	1585,5
	151	13,0	1	3949		
	565	20,0	2	3388		
	87	17,5	2	2466		
	556	18,0	2	1877		
	229	19,5	2	1488		
	93	16,0	2	1322		
CONTROLE	122	18,0	2	4433	2093,2	1320,3
	250	13,0	1	3699		
	630	14,5	2	2799		
	536	18,0	2	2422		
	54	20,5	2	1633		
	47	16,5	2	1433		
	572	18,5	2	677		

1. Uso da média geométrica

Os gêneros encontrados nas coproculturas de acordo com suas características morfológicas foram larvas características de tricostrongilídeos, predominantemente *Haemonchus* spp. As espécies recuperadas em necropsia foram classificadas de acordo com suas características morfológicas e órgão que parasitavam, sendo que o gênero *Haemonchus* spp. foi encontrado em ambos os grupos com média de 379 por animal do grupo tratado e 980 por animal do grupo controle.

Em intestino delgado foram recuperados parasitos do gênero *Moniezia*, em ambos os grupos do estudo, sendo que no grupo tratado foram recuperados 25,7 parasitos por animal e no grupo controle 24,3 parasitos por animal.

No intestino grosso foram recuperados helmintos dos gêneros *Oesophagostomum* e *Trichuris* spp. Foram encontrados respectivamente 10 e 68,6 parasitas por animal no grupo tratado. Já no grupo controle 47,1 e 7,1 respectivamente por animal (Tabela 2)

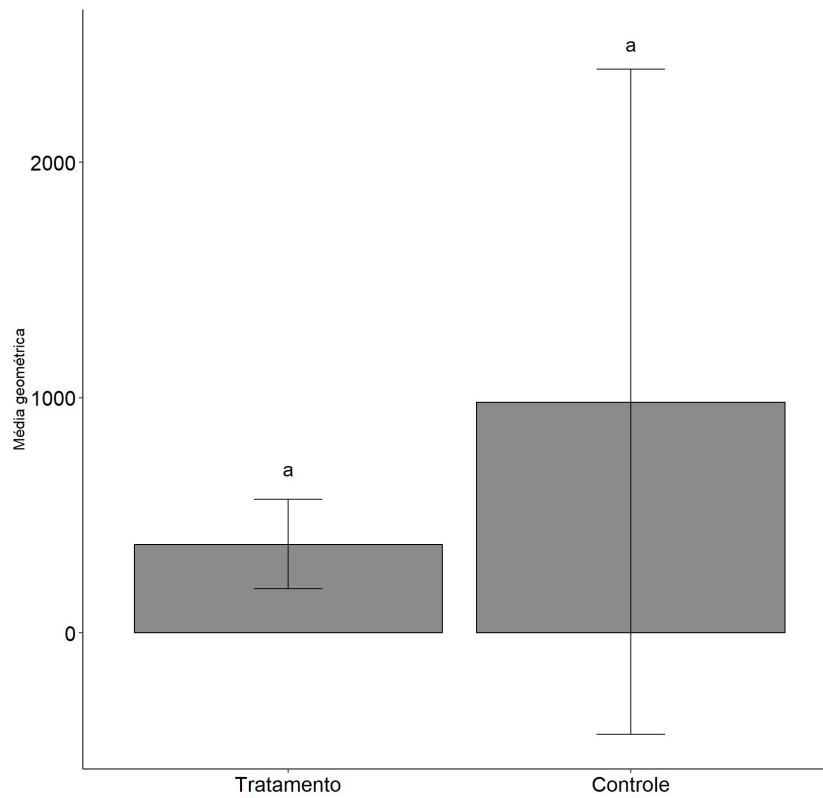
Tabela 2: Parasitos recuperados em necropsia de ovinos naturalmente infectados após tratamento com monepantel.

Animal	<i>H.contortus</i>	<i>Moniezia</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Trichuris</i>
Tratado				
527	330	30	0	0
151	430	20	0	0
565	260	0	10	0
87	240	20	50	340
556	630	20	0	140
229	280	10	10	0
93	720	80	0	0
Média	379	25	10	68
Desv.pad	191	23	17	121
Controle				
122	3520	10	20	0
250	2700	10	60	20
630	3170	10	20	0
536	2700	40	0	10
54	1790	20	220	10
47	150	20	0	0
572	40	60	10	10
Média	980	24	47	7
Desv.pad	1412	19	79	7
Eficácia	61%		78,8%	

Após a recuperação e identificação e contagem de todos os parasitos, os helmintos recuperados do abomaso foram montados entre lâmina e lamínula e confirmada a identificação como *H. contortus* de acordo com as características morfológicas encontradas, sendo aplicado o cálculo afim de verificar qual a eficácia do tratamento com monepantel, comparando as médias entre grupo controle e tratado para *H. contortus*, tendo como resultado uma eficácia de 61%.

Analisando os resultados, foi possível observar que não houve diferença significativa entre as médias dos grupos tratado e controle, com médias estatisticamente iguais ($p = 0,896$), conforme mostra a figura 3.

Figura 3: Gráfico com valores de média dos grupos tratamento e controle de ovinos naturalmente infectados com nematoides gastrointestinais.



5 DISCUSSÃO

De acordo com o levantamento histórico da propriedade, os animais receberam aproximadamente 15 tratamentos com monepantel (produto Zolvix® – Novartis) nos últimos 18 meses de manejo contra helmintoses, mostrando que o tratamento supressivo com anti-helmínticos como monepantel, levam a quadros de resistência parasitária. Resultados parecidos foram observados por Albuquerque *et al.* (2017) que observaram que, com tratamento supressivo, dentro de 3 meses ocorreu aparecimento de uma população de *Haemonchus* spp. resistentes ao tratamento com monepantel.

É possível observar que ao longo do tempo de uso do monepantel, os resultados dos testes de redução mostraram uma diminuição da eficácia deste produto, sendo que Starling *et al.* (2017), em 2015, realizaram um teste redução na contagem de ovos por grama de fezes (TRCOF) na mesma propriedade onde foram obtidos resultados de eficácia de 95,6%, o que demonstra que anteriormente esse mesmo antiparasitário era considerado altamente eficaz, de acordo com (COLES *et al.*, 2006).

Os resultados do teste de eficácia realizados em 2017 e 2019 mostram a diminuição da eficácia ao longo do tempo nesta mesma propriedade. No teste de redução, o grupo que recebeu o anti-helmíntico apresentou apenas 64,30% de redução, mostrando que o anti-helmíntico já foi reduzindo sua eficácia ao longo dos anos de uso sugerindo que essa população foi sendo selecionada com o passar do tempo.

Estes resultados do histórico de anti-helmínticos utilizados na fazenda e do manejo de vermifugação associados aos resultados encontrados no cálculo de eficácia deste trabalho demonstram que o uso excessivo de anti-helmínticos junto com a falta de critério específico para tratamento, levam a uma seleção de indivíduos na população de *Haemonchus* spp, resistentes aos princípios ativos utilizados, como mostrou Mallmann *et al.* (2018) em seus estudos. Quando se trata principalmente do

monepantel, a situação é mais crítica ainda, pelo fato de ser um medicamento específico para controle de nematoides em ovinos e por ter sido a última molécula inserida no mercado brasileiro de antiparasitários (SPINOSA; GÓRNIAK; BERNARDI; 2011).

Este parasito é um dos maiores responsáveis pelos quadros de resistência de nematoides em pequenos ruminantes e já teve resistência relatada ao monepantel em alguns estudos, como os realizados por Mederos *et al.* (2014), que confirmaram a resistência de *H. contortus* a este fármaco através do teste de redução na contagem de ovos nas fezes (TRCOF) no Brasil e também alguns relatos já foram registrados para *Haemonchus* spp. (ALBUQUERQUE *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2017; MALLMANN *et al.*, 2018; RAMOS *et al.*, 2018; STARLING *et al.*, 2019).

No teste controlado realizado neste trabalho, quando comparadas as médias do gênero *Haemonchus* nos grupos tratado e controle, a diferença entre as médias deveria ser mais evidente, o que mostra que o grupo tratado não teve redução tão expressiva quanto deveria, no caso, de pelo menos 95%, comparado ao grupo que não recebeu tratamento. Isso mostra e comprova que o monepantel não foi capaz de reduzir de maneira eficiente a população de *Haemonchus* deste rebanho, reduzindo apenas 61,35%, se demonstrando assim baixa eficácia, nos demonstrando a resistência anti-helmíntica do nematódeo a este princípio ativo.

De acordo com as recomendações da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) os valores de eficácia devem ser classificados da seguinte maneira: altamente eficaz > 90%; moderadamente eficaz 80 a 90%; e baixa efetividade de 60 a 80%. Eficácias inferiores a 60% o medicamento será considerado ineficaz.

Além de *H. contortus*, *Oesophagostomum columbianum* é outro parasito que o fármaco monepantel possui ação, segundo a recomendação da bula do produto. No presente estudo apresentou eficácia de 78,8%, valor considerado como de baixa efetividade segundo as recomendações da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP), sugerindo assim um possível quadro de resistência.

Assim, comparando os valores encontrados no presente estudo com as recomendações WAAVP e da portaria 48 do MAPA podemos comprovar a resistência anti-helmíntica de *H. contortus* ao monepantel nessa população.

Este resultado demonstra que cada vez mais o controle de nematoides gastrointestinais não deve ser realizado apenas com o uso de anti-helmínticos e sim com um conjunto de medidas preventivas, buscando sempre diminuir os fatores predisponentes para o surgimento da resistência parasitária, tendo em vista o grande número de relatos já apresentados abordando este tema.

Estas medidas estão relacionadas ao manejo correto das forragens na propriedade, seleção de linhagens de raças de ovinos menos susceptíveis ao nematoides gastrointestinais, orientação com relação a dieta nutricional dos ovinos, sempre mantendo os níveis de nutrição adequados de acordo com a categoria animal.

Outro fator muito importante a ser levado em consideração e a realização de exames de fezes antes da entrada dos animais introduzidos de outros rebanhos, como matrizes e reprodutores, evitando que novas cepas de nematódeos resistentes além da realização da quarentena destes animais. A realização mensal ou bimestral de exames de fezes e coprocultura dos animais a fim de verificar a carga parasitária do rebanho, também se faz necessário para monitorar o grau de parasitismo dos ovinos e a partir desses valores, criar o critério de seleção para tratamento dos animais anti-helmíntico.

Desta forma, deve-se diminuir o rodizio de bases de anti-helmínticos nas propriedades e o número de tratamentos realizados, diminuindo assim as chances de estabelecimento de populações resistentes, além da realização de estudos complementares com relação aos marcadores moleculares relacionados a identificação do gene da resistência, para que possa controlar de maneira mais assertiva as parasitoses gastrointestinais, melhorando assim a qualidade de vida dos animais e mantendo a ovinocultura uma atividade sustentável para os produtores.

6 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados encontrados e discutidos, foi possível através deste trabalho confirmar a presença de uma população de *H. contortus* em ovinos resistentes ao monepantel no Espírito Santo e um possível quadro de resistência parasitária de *Oesophagostomum columbianum* ao monepantel.

7 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. C. A.; BASSETTO, C. C.; ALMEIDA, F. A.; AMARANTE, A. F. Development of *Haemonchus contortus* resistance in sheep under suppressive or targeted selective treatment with monepantel. **Veterinary Parasitology**, v. 246, n. 1, p. 112-117, 2017.

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

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

AMARANTE, A. F. T. **Os parasitas de ovinos**. Editora UNESP, 263 p. 2014. Disponível em: https://www1.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/Parasitologia/eventos3779/atualizaacaocontroladaverminoseovina-cursoteorico-pratico/os_parasitas_de_ovinos.pdf. Acesso em 12 de fevereiro de 2019

ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária**. 3 ed: Roca, 2008.

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

BARRETO, M.A.; SILVA, J.S. Avaliação da resistência anti-helmíntica de nematódeos gastrintestinais em rebanhos caprinos do estado da Bahia. In: **XI seminário brasileiro de parasitologia veterinária, ii seminário de parasitologia veterinária dos países do mercosul, i simpósio de controle integrado de parasitos de bovinos**. p. 160, 1999.

BARRETO, M.A.; ALMEIDA, M.A.O.; SILVA, A.; REBOUÇAS, I.; MENDONÇA, L. R. Eficácia anti-helmíntica do cloridrato de Levamisole, Albendazol e Ivermectina em caprinos, na região semi-árida da Bahia. **Anais 12º Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 2002.

BASSETTO, César Cristiano. **Proteção de ovinos e bovinos contra haemonchoses após imunização com antígenos oriundos da membrana intestinal de *Haemonchus contortus***. 2015. 67 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Biociências de Botucatu, 2015.

BLACKHALL W. J., POULIOT, J. F. PRICHARD, R. K. *Haemonchus contortus*: selection at a glutamate-gated chloride channel gene in ivermectin- and moxidectin-selected strains. **Experimental Parasitology**, v. 190, p. 42-48,1998.

CINTRA, M. C. R.; TEIXEIRA, V. N.; NASCIMENTO, L. V.; SOTOMAIOR, C. S. Lack of efficacy of monepantel against *Trichostrongylus colubriformis* in sheep in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 216, n. 1, p. 4-6, 2016.

CEZAR A.S., CATTO J.B. & BIANCHIN I. Controle alternativo de nematódeos gastrintestinais dos ruminantes: atualidade e perspectivas. **Ciência Rural**, v.38, n.7, p.2083-2091, 2008.

CLARK, C.J., TUCKER, A.M. AND TURTON, J.A., Sampling technique for estimating roundworm burdens of sheep and cattle. **Experimental Parasitology**, v. 30: p.181-186,1971.

CLARK, C.J. AND TURTON, J.A. Estimating roundworm burden and group sizes in anthelmintic trials with sheep and cattle. **Experimental Parasitology**, v. 34, p. 69-75,1973.

COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H. M.; GEERTS, S.; KLEI, T. R.; TAYLOR, M. A. WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for detection of anthelmintic resistance in nematodes of Veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v.44, n. 1-2, p. 35-44, 1992.

COLES, G.C.; JACKSON, F.; POMROY, W.E. et al. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**. v.136, p.167-185, 2006.

CUNHA-FILHO, L.F.C.; PEREIRA, A.B.L.; YAMAMURA M.H. Resistência a anti-helmínticos em ovinos na região de Londrina, PR, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.19, n.1, p. 31-37, 1998.

DOBSON, R.J.; HOSKING, B.C.; JACOBSON, C.L. et al. Preserving new anthelmintics: a simple method for estimating faecal egg count reduction test (FECRT) confidence limits when efficacy and/or nematode aggregation is high. **Veterinary Parasitology**, v. 186, p. 79–92, 2012.

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

Embrapa caprinos e ovinos- **Ovinocultura: controle da verminose, mineralização, reprodução e cruzamentos na Embrapa Pecuária Sudeste**, 2007. Disponível em https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Documentos65+SANIDADE+NU TRICAO+REPRODUCAO+Falta+Catalogar_000g4o78ppy02wx5ok0iuqaqkqpytqhy.pdf. Acesso em 12 de fevereiro de 2020

EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS - **Análise de conjuntura do mercado de caprinos e ovinos: sinais, tendências e desafios** – Embrapa - 2018. Disponível em <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/190565/1/CNPC-2018-BCIM-n6.pdf>. Acesso em 12 de fevereiro de 2020

EMBRAPA CAPRINOS E OVINOS- **Atualização das demandas de pesquisa em ovinos de corte no Brasil Central**-Embrapa-2019. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/202196/1/CNPC-2019-Boletim-Cl-n8.pdf>. Acesso em 12 de fevereiro de 2020

ESTURRARI, E. F. **Oferta e demanda do mercado de ovinos de corte: um panorama nacional de perspectivas, tendências e oportunidades**. Mestrado (Administração de Negócios; MBA em Gestão do Agronegócio) – Universidade Federal do Paraná, 2017.

FAO – **Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2017**. FAOSTAT. Disponível em: <https://www.un.org/youthenvoy/2013/09/fao-food-and-agriculture-organization-of-the-united-nations/>. Acesso em 12 de janeiro de 2021.

GARCIA. ANDRÉ OLIVEIRA L. **TESTE DE REDUÇÃO DE OVOS DE NEMATÓIDES GASTROINTESTINAIS UTILIZANDO LEVAMISOL, OXFENDAZOL E MONEPANTEL EM CRIAÇÃO DE OVINOS NO MUNICÍPIO DE ALEGRE - ESPÍRITO SANTO** Orientador: Prof. Dra. Isabella Vilhena Freire Martins. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo.

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

GORDON, H. M. C. L.; WHITLOCK, H. V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal of Commonwealth Science and Industry Research Organization**, v.12, n.1, p.50-52, 1939.

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

GRIFFITHS, A J. F., MILLER, J. H., SUZUKI, D. T., LEWONTIN, R. C., GELBART, W. M. **Introdução a Genética**. Koogan. Tradução de: MOTTA, P. A. 780p, 1998

HENNON, P. S. **Les résistances aux anthelminthiques: synthèse bibliographique des connaissances actuelles**. Tese Docteur Veterinaire. École Nationale Vétérinaire de Toulouse, 67 p.1993.

HOSKING, B.C., KAMINSKY R., SAGER H., ROLFE PF. Pooled analysis of the efficacy of monepantel, an amino-acetonitrile derivative against gastrointestinal nematodes of sheep. **Parasitology Research Journal**, v. 106, n.2, p.529-532, 2010.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Anuário Estatístico 2016**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em: 15 de Novembro de 2020

INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA E FLORESTAL DO ESPÍRITO SANTO (IDAF). **Ovinos e caprinos serão contabilizados no Espírito Santo**. Disponível em: < <https://idaf.es.gov.br/Not%C3%ADcia/ovinos-e-caprinos-serao-contabilizados-no-espírito-santo>> Acesso em: 15 de novembro de 2020

KAMINSKY, R., GAUVRY, N., SCHORDERET WEBER, S. Identificação do derivado amino-acetonitrila monepantel (AAD 1566) como um novo candidato ao desenvolvimento de fármaco anti-helmíntico. **Parasitology research** 103, 931–939 2008.

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

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

LIMA, M.M.; FARIAS, M.P.O.; ROMEIRO, E.T.; FERREIRA, D.R. A.; ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. Eficácia da moxidectina, ivermectina e albendazole contra helmintos gastrintestinais em propriedades de criação caprina e ovina no estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, p. 94-100, 2010.

MALLMANN JÚNIOR, P,M; RAIMONDO, R, F, S, RIVERO,B,R,C; JACONDINO, L, R; GONÇALVES, A, SILVEIRA, B, O; OBERST, E,R. Resistance to monepantel in multiresistant gastrointestinal nematodes in sheep flocks in Rio Grande do Sul. Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n.1, p.48-52, 2018.

MARTINS, A. C.; BERGAMASCO, P. L. F.; FELIPPELLI, G.; TEBALDI, J. H.; DUARTE, M. M. F.; TESTI, A. J. P.; LAPERA, I. M.; HOPPE, E. G. L. *Haemonchus contortus* resistance to monepantel in sheep: fecal egg count reduction tests and randomized controlled trials. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 1, p. 231-238, 2017.

MARTINS, IVF. **Parasitologia Veterinária**: 2º ed., Vitória, EDUFES,2019.

MEDEROS, E.; RAMOS, Z.; BANCHERO, G. First report of monepantel *Haemonchus contortus* resistance on sheep farms in Uruguay América. **Parasites & Vectors**, v. 7, p. 598-602, 2014.

MOLENTO, M. B., PRICHARD, R. K. Effects of the multidrug-resistance-reversing agents verapamil and CL347,099 on the efficacy of ivermectin or moxidectin against unselected and drug-selected strains of *Haemonchus contortus* in jirds (*Meriones unguiculatus*). **Parasitology Research**.v. 85, p. 1007-10011,1999.

NASCIMENTO LEMOS HUPP, B.; TEMPORIM NOVAES, M.; SANTOS SENA MARTINS, M.; CONTI HUPP, A.; OLIVEIRA TRIVILIN, L.; VILHENA FREIRE MARTINS, I. Alterações clínicas e laboratoriais como indicadores para o tratamento anti-helmíntico em ovinos experimentalmente infectados com *Haemonchus contortus*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-10, 2018.

OLIVEIRA, Rafael Santos de; SILVA, Andrezza Miguel da; Fabrício Leonardo Alves Ribeiro. Status de parasitas gastrintestinais em ovinos no estado de Rondônia. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v.13, n.3, p. 401 - 410, 2019.

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

PRICHARD, R; TAIT, A. The role of molecular biology in veterinary parasitology. **Veterinary Parasitology**. v.98, p.169-194,2001.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, 2013.

RAMOS C.I.; BELLATO V.; ÁVILA V.S.; COUTINHO G.C.; SOUZA A.P. Resistência de parasitos gastrintestinais de ovinos a alguns anti-helmínticos no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência Rural**, v. 32, p. 473-477, 2002.

RAMOS, F. ; PORTELLA , L,P; RODRIGUES , F,S;REGINATO, C,Z; CEZAR, A,S ; SANGIONI, L,A; VOGEL, F,S, F. Anthelmintic resistance of gastrointestinal nematodes in Rio Grande do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinaria Brasileira**, v.38, n.1, p.48-52, 2018.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, P. I. Methods for egg counts and larval cultures for *Strongyles* infecting the gastro-intestinal tract of cattle. **Australian Journal of Agriculture Research**, v.1, p.99-192. 1950.

ROSALINSKI-MORAES F.; MORETTO L.H.; BRESOLIN W.S.; GABRIELLI I.; KAFER L.; ZANCHET I.K.; SONAGLIO F.; THOMAZ-SOCCOL, V. Resistência anti-helmíntica em rebanhos ovinos da região da Associação dos Municípios do Alto Irani (AMAI), Oeste de Santa Catarina. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 3, p. 559-565, 2007.

RUFENER , R. B. , RONALD K. , PASCAL M., ERWIN S. **Molecular Pharmacology**, , v.78, n.5, p.895-902, 2010.

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

SANTIAGO, M.A.M.; COSTA, U.C. Resistência de *Haemonchus contortus*, *Trichostrongylus colubriformis* e *Ostertagia* spp. ao levamisole. **Revista do Centro de Ciências Rurais**, v. 9, p. 315-318, 1979.

SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpes de *Haemonchus contortus* resistentes ao tiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**, v. 9, p. 201-211, 1967.

SAULAI, M.; HOSTACHE, G.; CABARET, J. . From isolates to a synthetic laboratory population: maintenance of variability in the nematode *Haemonchus contortus*. **Parasites & Vectors**.v. 7, p. 31-38, 2000.

SCOTT, I.; POMROY, W. E.; KENYON, P. R.; SMITH, G.; ADLINGTON, B.; MOSS, A. Lack of efficacy of monepantel against *Teladorsagia circumcincta* and *Trichostrongylus colubriformis*. **Veterinary Parasitology**, v. 196, p. 166–171, 2013.

SCZESNY-MORAES, E.A; BIANCHIN, I.; SILVA, K.F.; CATTO, J.B.; HONER, M.R.; PAIVA, F. Resistência anti-helmíntica de nematoides gastrointestinais em ovinos, Mato Grosso do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 3, p.229-236, 2010.

SILVA SOBRINHO, A.G. **Criação de ovinos**. Jaboticabal: Funep, 2001. p.302.

SOCCOL V.T.; SOTOMAIOR C.; SOUZA F.R.; CASTRO E.A. Occurrence of resistance to anthelmintics in sheep in Paraná state, Brazil. **Veterinary Record**, v. 139, p. 421-422, 1996.

SPINOSA, H. S., GORNIAC, S. L., BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à Medicina Veterinária**, 5 ed., 972 p. 2011.

SPINOSA H.S., GÓRNIAC S.L., BERNARDI M.M. Farmacologia aplicada à medicina veterinária. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 5 edição, p. 646, 2014.

STARLING, R. Z. C.; MARTINS, I. V.; ALVES, C. S.; VIANA, M. V. G.; DIETRICH, W. S. Diagnóstico *in vivo* da sensibilidade de nematoides a diferentes antihelmínticos em ovinos criados em sistema semi-intensivo. **Archives of Veterinary Science**, v. 22, n. 2, p. 38-47, 2017.

STARLING, R. Z. C, Almeida, F.A de, Viana, M.V.G, Castilhos, A. M. de, Amarante, A. F. T. Losses caused by gastrointestinal nematode infections in Dorper lambs under two nutritional status. Rev. Bras. **Parasitology Veterinary**., v. 28, n. 4, p. 652-660, 2019

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

TAYLOR, M.A., COOP, R.L., WALL, R.L. **Veterinary Parasitology**. 3^o edição. Blackweell Publishing. p. 902 , 2007.

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

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

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

VIANA, F. A. B. **Guia Terapêutico Veterinário**. 3. ed. Lagoa Santa: Editora Cem, p. 68-360, 2014.

VIANA, F.A.B. et al. **Fundamentos da Medicina Veterinária**, ed. UFMG, v. 1, p. 324, 2000.

VIEIRA, L.S. Métodos alternativos de controle de nematóides gastrintestinais em 508 caprinos e ovinos. **Tecnologia Ciência Agropecuária**, v. 2, p. 49-56, 2008.

WOLSTENHOLME, A. J., FAIRWEATHER, I., PRICHARD, R., SAMSONHIMMELSTJERNA, G. V., SANGSTER, N. C. Drug resistance in veterinary helminths. **Trends in Parasitology**.v. 20, p.469-476, 2004.

YOSHIHARA, E., MINHO, A. P., YAMAMURA, M. H.. Efeito anti-helmíntico de taninos condensados em nematódeos gastrintestinais de ovinos (*Ovis aries*). **Semina: Ciências Agrárias**,v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3935-3950, 2013