

**ATIVIDADE IN VITRO DOS BENZIMIDAZÓIS:
OXFENDAZOLE, FENBENDAZOLE, ALBENDAZOLE E THIABENDAZOLE
EM NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS DE CAPRINOS¹**

LUIZ DA SILVA VIEIRA², PEDRO CABRAL GONÇALVES³,
CARLOS ALBERTO FAGONDE COSTA e MARIA ELIZABETH AIRES BERNE⁴

RESUMO - O trabalho foi executado com o objetivo de determinar e comparar a atividade "in vitro" dos benzimidazóis: oxfendazole, fenbendazole, albendazole e thiabendazole em nematódeos gastrintestinais, de caprinos. Para isto, realizaram-se coproculturas que foram tratadas com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes: 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0 ppm, para cada um dos produtos, com cinco coproculturas por concentração. Grupos de coproculturas que serviram de testemunha receberam água destilada. O thiabendazole e o albendazole, independentemente da concentração testada, apresentaram os maiores percentuais de redução de larvas infectantes de *Haemonchus*, *Strongyloides* e fêmeas, de *Strongyloides* de vida livre, ficando o oxfendazole numa posição intermediária e o fenbendazole na posição mais baixa. Para larvas infectantes de *Trichostrongylus*, o oxfendazole, o albendazole e o thiabendazole apresentaram percentagens de redução acima de 95,0%, sendo que o fenbendazole apresentou percentuais de redução inferiores a 95,0%. Para as larvas infectantes de *Oesophagostomum*, os quatro benzimidazóis testados apresentaram percentagens de redução acima de 96,0%.

Termos para indexação: coprocultura, anti-helmínticos, larvas infectantes.

**IN VITRO ACTIVITY OF BENZIMIDAZOLES:
OXFENDAZOLE, FENBENDAZOLE, ALBENDAZOLE AND THIABENDAZOLE
IN GOAT GASTRINTESTINAL NEMATODES**

ABSTRACT - This study was carried out to determine and to compare the "in vitro" activity of the benzimidazoles: oxfendazole, fenbendazole, albendazole and thiabendazole on caprine gastrointestinal nematodes. Fecal cultures were performed and treated with benzimidazole anthelmintics using five different concentrations: 6.25, 12.5, 25.0, 50.0 and 100.0 ppm. Five fecal cultures were prepared for each concentration, using distilled water in the control cultures. Thiabendazole and albendazole, showed the highest reduction percentage of infective larvae of *Haemonchus*, *Strongyloides* and of free living females of *Strongyloides*. Oxfendazole ranked in an intermediate position, and fenbendazole had the lowest efficacy. Against the infective larvae of *Trichostrongylus*, oxfendazole, albendazole and thiabendazole had efficacy higher than 95%, whereas fenbendazole was lower 95.0%. Infective larvae of *Oesophagostomum* were reduced by all four benzimidazoles tested with efficiencies above 96%.

Index terms: fecal culture, anthelmintics, helminth control, infective larvae.

INTRODUÇÃO

Dentre os problemas sanitários, a nematodose gastrintestinal, constitui um dos principais fatores de perda para produção de caprinos no Nordeste, onde esta atividade é mais intensa e de importância social relevante. Costa & Vieira (1984) citam o *Haemon-*

chus contortus, o *Oesophagostomum columbianum*, o *Strongyloides papillosus* e o *Trichostrongylus colubriformis* como os nematódeos mais patogênicos para caprinos. O *Haemonchus contortus*, sendo hematófago, causa anemia e desidratação nos animais, sendo que as formas imaturas de *Oesophagostomum columbianum* causam nódulos sob a serosa no intestino grosso, destruindo as camadas musculares da parede intestinal, comprometendo o peristaltismo e a absorção por este órgão (Levine 1968).

O controle da verminose caprina é feito principalmente através de medicações anti-helmínticas. Entre as drogas utilizadas para o tratamento das nematodoses gastrintestinais de caprinos, destacam-se os benzimidazóis, os quais, conforme Grisi (1984), interferem nos processos energéticos dos parasitos, levando-os à morte por inanição, após esgotadas suas reservas energéticas.

¹ Aceito para publicação em 10 de fevereiro de 1988.

Parte da dissertação apresentada pelo primeiro autor para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária; área de concentração: Doenças Parasitárias, na Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, RS.

² Méd.-Vet., M.Sc., Doenças Parasitárias, EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (CNPQ), Caixa Postal D-10, CEP 62100 Sobral, CE.

³ Prof.-titular, Curso de Pós-Graduação, Doenças Parasitárias, UFRGS, Caixa Postal 2.172, CEP 90000 Porto Alegre, RS. Bolsista do CNPq.

⁴ Méd.-Vet., M.Sc., Doenças Parasit. EMBRAPA/CNPQ.

Além da atividade dos benzimidazóis sobre a forma parasitária dos nematódeos, estudos têm mostrado a ação destes fármacos sobre as formas de vida livre destes parasitos. Leland & Bougue (1964) verificaram que o thiabendazole, nas concentrações de 25 a 50 ppm, impediu o desenvolvimento de larvas infectantes de *Strongyloides ransomi* em coproculturas contendo ovos deste nematódeo. Serra (1966) estudou a ação do thiabendazole "in vitro" e no solo sobre ovos de *Ascaridia galli* e *Heterakis gallinarum*, constatando ação ovicida até na diluição de 1:10.000. Egerton (1969) obteve resultados significativos na redução de larvas infectantes de *Strongyloides*, em coproculturas tratadas "in vitro" com thiabendazole, na dose de 1 mg/g de fezes. Frões (1973) observou, no Rio Grande do Sul, a atividade ovicida "in vitro" do thiabendazole até na diluição de 1:10.000. Amato & Gonçalves (1975) testaram a ação ovicida "in vitro" do thiabendazole em ovos de *Fasciola hepatica* de bovinos, e os resultados foram positivos nas diluições de 1:1.000, 1:5.000, 1:10.000, 1:15.000, 1:20.000 e 1:25.000. Nesta última diluição, 98,6% dos ovos tiveram o seu desenvolvimento embrionário inibido. Souza et al. (1979) concluíram que o thiabendazole "in vitro" nas diluições de 1:60.000, 1:80.000, 1:100.000 e 1:120.000, não eliminou todas as larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de ovinos, não as selecionando genericamente.

O estudo da atividade ovicida "in vitro" dos benzimidazóis tem sido usado para o diagnóstico de resistência anti-helmíntica. Este método é rápido, barato, e aplicável na determinação da ocorrência e do nível relativo de resistência, com base no teste de eclosão, "in vitro", de ovos de nematódeos na presença de anti-helmínticos benzimidazóis, em diferentes concentrações (Le Jambre 1976, Hall et al. 1978). Le Jambre (1976) testou o thiabendazole "in vitro" em uma série de concentrações sobre ovos de *Haemonchus contortus* e *Ostertagia circumcincta*, observando que ovos de estirpes resistentes eclodiram em altas concentrações deste produto. Para ovos de estirpes sensíveis, não houve eclosão, quando em contacto com o thiabendazole nas mesmas concentrações. Hall et al. (1978) demonstraram, através do teste de eclosão "in vitro", a resistência de *Haemonchus contortus* e do *T. colubriformis* de ovinos a todos os benzimidazóis, após a seleção com thiabendazole. Estudos semelhantes a estes foram realizados por Simpkin & Coles (1978), Le Jambre et al. (1979), Whitlock et al. (1980) e Kemp & Smith (1982). Kerboeuf & Hubert (1985) realizaram um

estudo com nematódeos gastrintestinais de caprinos na França e verificaram, através do teste de eclosão "in vitro", que 1,28 ppm de thiabendazole foi necessário para inibir a eclosão de 50% de ovos de *Haemonchus contortus* e *T. colubriformis*. Citam, os autores, que estes resultados indicam um alto grau de resistência destas estirpes.

O estudo da atividade ovicida "in vitro" dos benzimidazóis, assim como o diagnóstico de resistência anti-helmíntica através deste método, já são bem conhecidos em nematódeos de ovinos, conforme se observa na literatura revisada; no entanto, com relação a nematódeos de caprinos, estas informações ainda são escassas.

Este trabalho teve como objetivo estudar a atividade ovicida "in vitro" dos benzimidazóis: oxfendazole, fenbendazole, albendazole e thiabendazole em nematódeos gastrintestinais de caprinos.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos (EMBRAPA/CNPC), em Sobral, CE. Foram utilizadas, para a avaliação da atividade ovicida "in vitro" dos benzimidazóis, 25 cabras sem raça definida (SRD), com um a dois anos de idade, portadoras de infecções naturais por nematódeos gastrintestinais. Os animais permaneceram estabulados durante todo o período experimental. Foram avaliados quatro produtos anti-helmínticos pertencentes ao grupo dos benzimidazóis: oxfendazole (2-metoxicarbonilamino-5 fenil sulfinil-benzimidazol), fenbendazole (metil-5-fenil-tio-benzimidazol-2-carbamato), albendazole (metil-5-propil tio-1H-benzimidazol-2-1-carbamato) e thiabendazole (2-4 tiazolil-benzimidazol).

As fezes foram obtidas diretamente da ampola retal de cada caprino, sendo maceradas e homogeneizadas, e em seguida fez-se o diagnóstico quantitativo, através da contagem de ovos por grama de fezes (OPG), segundo a técnica descrita por Gordon & Whitlock (1939) e modificada por Whitlock (1948). O diagnóstico genérico das larvas foi feito através da realização de coproculturas, conforme a técnica de Roberts & O'Sullivan (1950).

Cada princípio ativo foi avaliado na concentração de 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0 ppm. Estas concentrações foram calculadas levando-se em consideração o conteúdo total da coprocultura, a qual foi constituída por 10 g de fezes e 10 ml de solução de princípio ativo (20 g). Para a obtenção destas concentrações nas coproculturas, os produtos foram diluídos em 1:5.000, 1:10.000, 1:20.000, 1:40.000 e 1:80.000. As diluições foram preparadas tomando-se por base a concentração original de cada produto na formulação comercial. Para obter as concentrações de 6,25; 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0 ppm, utilizaram-se, nas coproculturas, respectivamente, 10 ml dos produtos diluídos em 1:80.000, 1:40.000, 1:20.000, 1:10.000 e 1:5.000. Optou-se pelas referidas concentrações com base nos trabalhos de Frões (1973), Zingano (1978) e Souza et al. (1979).

O experimento foi realizado em quatro etapas, com intervalos de um dia entre elas. Para cada etapa, foram realizadas

30 coproculturas. Na primeira etapa, avaliou-se o oxfendazole nas concentrações mencionadas. Para cada concentração, foram executadas cinco coproculturas e mais uma com água destilada, que serviu de testemunha, o que resultou em cinco repetições para cada concentração testada. As fezes, maceradas e homogeneizadas, contendo ovos de nematódeos, foram distribuídas em copos para coproculturas. Em cada copo, foram colocados 10 g de fezes e 10 ml de oxfendazole na diluição necessária para obtenção da concentração avaliada. As cinco coproculturas que serviram de testemunha receberam 10 g de fezes e 10 ml de água destilada. Cada coprocultura foi homogeneizada com a utilização de um bastão de vidro. Em seguida, e antes de completar uma hora de coleta das fezes, estas foram levadas à estufa a 27°C, onde permaneceram por sete dias. Após este período, as larvas foram recuperadas segundo a técnica descrita por Roberts & O'Sullivan (1950) e colocadas em vidros de, aproximadamente, 15 ml. Estas foram mortas com lugol, conservadas em formol a 5% e, posteriormente, identificadas e contadas. Para a contagem das larvas, foi padronizado o volume de cada amostra para 10 ml, e após homogeneização retirou-se uma alíquota de 2,5 ml (25%), que foi identificada e contada. A identificação genérica das larvas foi realizada conforme descrição de Ueno & Alvarez (1970). A estimativa do número de larvas, por gênero, em cada coprocultura, foi obtida multiplicando-se por 4 o valor encontrado na alíquota examinada (2,5 ml). As etapas 2, 3 e 4 foram executadas da mesma forma que a etapa 1, sendo que naquelas, foram utilizados o fenbendazole, o albendazole e thiabendazole, respectivamente.

Os dados da atividade ovicida "in vitro" dos benzimidazóis sobre a percentagem de redução de larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais nas coproculturas foram submetidos à análise da variância (F - teste), considerando o delineamento completamente casualizado (DCC), com arranjo fatorial 4 x 5 (quatro produtos e cinco concentrações). Para a análise da variância, os dados obtidos em percentagem de redução foram transformados em arcoseno da raiz quadrada da percentagem, pela Tabela de Bliss (Snedecor 1966). As percentagens de redução, por gênero, para cada concentração e por princípio ativo, foram calculadas em relação à média de larvas infectantes obtidas no grupo-testemunha, que foram consideradas como 100% de eclosão. Para evidenciar diferenças entre as médias, utilizou-se o teste de Tukey ao nível de significância de 5%. A partir das percentagens de redução em cada gênero por produto, determinou-se a concentração (ppm) aproximada, necessária para inibir a eclosão de 50% de ovos de nematódeos (CL50). Para isso, as percentagens de redução foram transformadas para Probits (unidade de probabilidade), e as concentrações foram transformadas para Logdose. Esses dados, transformados, foram submetidos à análise de regressão linear, e a CL50 estimada foi obtida através da equação $Y = a + b \cdot \text{Log}x$, de acordo com Hewlett & Plackett (1979).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Através da determinação do número de OPG, verificou-se que os animais apresentavam uma média de 1.100 e 100 OPG de *Strongylida* e *Strongyloides*, respectivamente. Nas coproculturas realizadas, foram identificados os seguintes gêneros: *Haemonchus*

(68,4%), *Oesophagostomum* (28,9%) e *Trichostrongylus* (2,7%). O número de larvas de *Strongyloides* observado nas coproculturas foi bastante elevado, atingindo 93,7% do total de larvas infectantes. Esta percentagem alta de larvas de *Strongyloides*, observada nas coproculturas, está associada com o desenvolvimento e multiplicação de formas de vida livre deste gênero, visto que o OPG para este nematódeo foi baixo (100), em relação ao OPG da ordem *Strongylida* (1.100). Isto é confirmado pelo grande número de fêmeas adultas de *Strongyloides* de vida livre nas coproculturas. No entanto, não foi encontrado nenhum exemplar macho de vida livre. Há algum tempo que a EMBRAPA/CNPC vem observando um elevado número de larvas de *Strongyloides* em coproculturas de caprinos, os quais apresentam baixo número de ovos deste nematódeo nas fezes. O desenvolvimento de machos e fêmeas de vida livre, em coproculturas de ovinos, já foi registrado por Gonçalves (1962).

Os resultados apresentados nas Tabelas 1 a 7, foram avaliados em termos de percentagem de redução de larvas infectantes de nematódeos gastrointestinais e de fêmeas de vida livre, para os diferentes produtos e concentrações testados. A Tabela 1 mostra a análise da variância, onde foram estudados os efeitos do produto, da concentração e da interação produto x concentração, na percentagem de larvas infectantes de nematódeos e de fêmeas de vida livre. Nesta, observa-se que, para todos os gêneros de nematódeos, assim como para as fêmeas de vida livre, houve diferença significativa ($P < 0,01$) entre as percentagens de redução, para as duas fontes de variação (produto e concentração) e para interação destas. As percentagens médias de redução, (dados transformados para arcoseno da raiz quadrada da percentagem) para larvas infectantes de *Haemonchus*, *Strongyloides*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* e fêmeas de vida livre, estão mostradas, respectivamente, nas Tabelas 2, 3, 4, 5 e 7, enquanto na Tabela 6 está expressa a CL50 dos diferentes benzimidazóis testados.

Haemonchus

Através do teste de Tukey, verificou-se que o albendazole e o thiabendazole, nas concentrações de 6,25; 12,5; 25,0 e 50,0 ppm, apresentaram percentuais de redução de larvas de *Haemonchus* superiores ($P < 0,05$) ao fenbendazole, ficando o oxfendazole com as percentagens de redução intermediárias (Tabela 2). Na concentração de 100,0 ppm, não hou-

TABELA 1. Análise de variância das percentagens de redução de larvas infectantes de nematódeos gastrintestinais de caprinos e de fêmeas de *Strongyloides* de vida livre, em coproculturas tratadas "in vitro" com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes.

F.V.	G.L.	Quadrados médios				
		<i>Haemonchus</i>	<i>Oesophagostomum</i>	<i>Trichostrongylus</i>	<i>Strongyloides</i>	Fêmeas de vida livre
Produto	3	9,210**	51,20**	4,757**	4,357**	7,512**
Concentração	4	2,226**	66,84**	510,4**	711,0**	1,355**
P x C	12	198,6**	18,39**	310,9**	513,3**	575,4**
Erro	80	53,33	6,321	46,27	9,27	43,23
Total	90	-	-	-	-	-

** Significativo ($P < 0,01$).

TABELA 2. Percentagens (\pm erro-padrão)¹ de redução de larvas infectantes de *Haemonchus* sp. de caprinos, em coproculturas tratadas "in vitro" com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes (dados transformados para arco seno da raiz quadrada da percentagem)².

Tratamentos	Concentrações (ppm)				
	6,25	12,5	25,0	50,0	100,0
Fenbendazole	28,90 \pm 4,01 a(a)	30,82 \pm 1,40 a(a)	31,95 \pm 5,57 a(a)	45,09 \pm 3,42 a(b)	57,06 \pm 3,29 a(b)
Oxfendazole	43,47 \pm 0,74 b(a)	48,42 \pm 7,65 b(a)	63,82 \pm 0,70 b(b)	70,01 \pm 4,78 b(b)	84,83 \pm 1,38 b(c)
Albendazole	65,25 \pm 4,90 c(a)	65,33 \pm 0,67 c(a)	82,06 \pm 2,97 c(b)	84,98 \pm 3,71 c(b)	81,51 \pm 0,81 b(b)
Thiabendazole	70,85 \pm 2,15 c(a)	81,98 \pm 0,93 d(ab)	82,91 \pm 0,88 c(ab)	86,62 \pm 1,43 c(b)	88,03 \pm 1,21 b(b)

¹ Médias seguidas de letras diferentes, na coluna e de letras diferentes entre parênteses na linha, são significativamente diferentes ($P < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

² Tabela de Bliss, conforme Snedecor (1966).

ve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre o oxfendazole, o albendazole e o thiabendazole, sendo que estes apresentaram percentagens de redução superiores ($P < 0,05$) ao fenbendazole. Hall et al. (1978) também registraram a baixa atividade ovicida "in vitro", do fenbendazole em *H. contortus*. Analisando cada princípio ativo isoladamente, verificou-se que, para o fenbendazole, as percentagens de redução das larvas infectantes de *Haemonchus* não diferiram ($P > 0,05$) nas concentrações de 6,25; 12,5 e 25,0 ppm; no entanto, estas apresentaram percentagens de redução inferiores ($P < 0,05$) às concentrações de 50 e 100 ppm. No que se refere ao oxfendazole e ao albendazole, as percentagens de redução nas concentrações de 6,25 e 12,5 ppm foram inferiores ($P < 0,05$) às percentagens de redução nas concentrações 25,0; 50,0 e 100,0 ppm, sendo que para esta última, em relação ao oxfendazole, a per-

centagem de redução foi superior ($P < 0,05$) às demais. Para o thiabendazole, a percentagem de redução na concentração de 6,25 ppm foi significativamente inferior ($P < 0,05$) apenas em relação às concentrações de 50 e 100 ppm.

A CL50 aproximada, para ovos de *Haemonchus*, foi, respectivamente, de 0,385; 1,09; 8,79 e 43,36 ppm para o thiabendazole, albendazole, oxfendazole e fenbendazole (Tabela 6). Coles & Simpkin (1977) observaram que a CL50 do thiabendazole, para ovos de *H. contortus* de ovinos sensíveis e resistentes a ele, foi, respectivamente, de 0,035 e 0,3 ppm, enquanto Hall et al. (1978), também em ovos de *H. contortus* de ovinos, mostraram que a CL50 do thiabendazole foi de 0,023 ppm para a estirpe sensível, e de 0,42 ppm para a estirpe resistente. Ibarra & Jenkins (1984) verificaram que a CL50 do thiabendazole foi de 0,01 ppm. Em uma estirpe de

H. contortus de caprinos, Kerboeuf & Hubert (1985) observaram que a CL50 do thiabendazole foi de 1,28 ppm, o que, conforme os autores, demonstra um alto grau de resistência desta estirpe a este produto. Quanto ao albendazole, Hall et al. (1978) observaram que a CL50 para ovos de *H. contortus* de ovinos, sensíveis e resistentes a ele, foi, respectivamente, de 0,034 e 0,22 ppm. Coles & Briscoe (1978) constataram que a CL50 do albendazole em ovos de *H. contortus* foi de 0,05 ppm, enquanto Ibarra & Jenkins (1984) verificaram que esta foi de 0,02 ppm. Com relação ao oxfendazole e fenbendazole, Ibarra & Jenkins (1984) verificaram que as CL50 destes produtos, para ovos de *H. contortus*, foram, respectivamente, de 0,5 e 0,3 ppm. Estes trabalhos mostram que a concentração (ppm) dos benzimidazóis, necessária para inibir o desenvolvimento embrionário de 50% de ovos de *H. contortus*, resistentes a estes produtos, é superior à concentração (ppm) necessária para inibir este mesmo percentual em estirpes sensíveis. As CL50 dos benzimidazóis testados, observadas neste trabalho, são superiores às registradas por Coles & Simpkin (1977), Hall et al. (1978), Coles & Briscoe (1978) e Ibarra & Jenkins (1984), mesmo em relação às estirpes resistentes. No entanto, aqueles autores trabalharam com ovos de *H. contortus* livres de material fecal, e, conforme Coles & Simpkin (1977), a presença de material fibroso não digerido interfere na atividade ovicida dos benzimidazóis, pelo fato de dificultar o contacto direto do princípio ativo com os ovos dos nematódeos.

Strongyloides

Para este gênero, as percentagens de redução promovidas pelo thiabendazole e albendazole foram superiores (P < 0,05) às percentagens de redução

obtidas com o fenbendazole e o oxfendazole, em todas as concentrações testadas. No entanto, este último apresentou percentagens de redução superiores (P < 0,05) ao fenbendazole apenas nas concentrações de 50,0 e 100,0 ppm (Tabela 3). Analisando, ainda, esta Tabela, observa-se que, para o fenbendazole, houve diferença (P < 0,05) nas percentagens de redução entre todas as concentrações utilizadas, ou seja: à medida que aumenta a concentração, a percentagem de redução tende a aumentar. No entanto, para o oxfendazole, o albendazole e o thiabendazole, as percentagens de redução de larvas infectantes de *Strongyloides* não foram influenciadas (P > 0,05) pelas concentrações testadas.

As CL50 foram, respectivamente, de 1,22 x 10⁻¹³, 9,12 x 10⁻⁹, 6,66 x 10⁻⁵ e 1,13 x 10¹ ppm para o thiabendazole, o oxfendazole, o albendazole e o fenbendazole (Tabela 6).

Trichostrongylus

As percentagens de redução de larvas infectantes de *Trichostrongylus* para o fenbendazole foram inferiores (P < 0,05) às dos demais produtos nas concentrações de 6,25; 12,5; 25,0 e 50 ppm, não se verificando diferença (P > 0,05) apenas na concentração de 100 ppm (Tabela 4). Para todas as concentrações testadas, não houve diferenças (P > 0,05) nas percentagens de redução entre o oxfendazole, o albendazole e o thiabendazole, o mesmo acontecendo com relação às diferentes concentrações para cada um destes produtos. Já no que se refere ao fenbendazole, as concentrações de 6,25; 12,5 e 25 ppm apresentaram percentuais de redução inferiores (P < 0,05) às de 50 e 100 ppm.

TABELA 3. Percentagens médias (± erro-padrão)¹ de redução de larvas infectantes de *Strongyloides* sp. de caprinos, em coproculturas tratadas "in vitro" com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes (dados transformados para arcoseno da raiz quadrada da percentagem)².

Tratamentos	Concentrações (ppm)				
	6,25	12,5	25,0	50,0	100,0
Fenbendazole	27,77 ± 3,62 a(a)	53,75 ± 2,97 a(b)	60,52 ± 3,11 a(c)	75,44 ± 1,69 a(d)	81,69 ± 0,77 a(e)
Oxfendazole	78,98 ± 0,78 b(a)	79,47 ± 0,72 b(a)	79,52 ± 0,67 b(a)	79,62 ± 0,69 a(a)	81,88 ± 0,73 a(a)
Albendazole	85,88 ± 0,27 c(a)	86,16 ± 0,39 c(a)	87,78 ± 0,34 c(a)	88,57 ± 0,64 b(a)	88,73 ± 0,46 b(a)
Thiabendazole	87,23 ± 0,32 c(a)	87,72 ± 0,29 c(a)	88,46 ± 0,50 c(a)	88,50 ± 0,45 b(a)	88,84 ± 0,11 b(a)

¹ Médias seguidas de letras diferentes, na coluna e de letras diferentes entre parênteses na linha, são significativamente diferentes (P < 0,05), de acordo com o teste de Tukey.

² Tabela de Bliss, conforme Snedecor (1966).

TABELA 4. Percentagens médias (\pm erro-padrão)¹ de redução de larvas infectantes de *Trichostrongylus* sp. de caprinos, em coproculturas tratadas "in vitro" com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes (dados transformados para arcoseno da raiz quadrada da percentagem)².

Tratamentos	Concentrações (ppm)				
	6,25	12,5	25,0	50,0	100,0
Fenbendazole	45,69 \pm 4,99 a(a)	48,03 \pm 5,40 a(a)	56,15 \pm 2,30 a(a)	77,84 \pm 7,67 a(a)	80,14 \pm 6,04 a(b)
Oxfendazole	80,86 \pm 3,73 b(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)			
Albendazole	90,00 \pm 0,00 b(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)			
Thiabendazole	85,93 \pm 4,07 b(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)			

¹ Médias seguidas de letras diferentes, na coluna e de letras diferentes entre parênteses, na linha, são significativamente diferentes ($P < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

² Tabela de Bliss, conforme Snedecor (1966).

TABELA 5. Percentagens médias (\pm erro-padrão)¹ de larvas infectantes de *Oesophagostomum* sp. de caprinos, em coproculturas tratadas "in vitro" com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes (dados transformados para arcoseno da raiz quadrada da percentagem)².

Tratamentos	Concentrações (ppm)				
	6,25	12,5	25,0	50,0	100,0
Fenbendazole	79,64 \pm 1,64 a(a)	84,76 \pm 1,31 a(b)	90,00 \pm 0,00 a(c)	90,00 \pm 0,00 a(c)	90,00 \pm 0,00 a(c)
Oxfendazole	85,60 \pm 1,85 b(a)	86,56 \pm 1,41 ab(a)	88,00 \pm 2,00 a(a)	88,00 \pm 2,00 a(a)	87,70 \pm 1,41 a(a)
Albendazole	88,74 \pm 1,26 b(a)	88,74 \pm 1,26 ab(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)
Thiabendazole	87,48 \pm 1,54 b(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)

¹ Médias seguidas de letras diferentes, na coluna e de letras diferentes entre parênteses na linha, são significativamente diferentes ($P < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

² Tabela de Bliss, conforme Snedecor (1966).

TABELA 6. Concentrações (ppm) de anti-helmínticos benzimidazóis necessárias para inibir, "in vitro", a eclosão de 50% de ovos de nematódeos gastrintestinais de caprinos (CL 50).

Gênero	Benzimidazóis			
	Oxfendazole	Fenbendazole	Albendazole	Thiabendazole
<i>Haemonchus</i>	8,79 $\times 10^0$	4,63 $\times 10^1$	1,09 $\times 10^0$	3,85 $\times 10^{-1}$
<i>Oesophagostomum</i>	4,68 $\times 10^{-11}$	7,19 $\times 10^{-2}$	1,22 $\times 10^{-13}$	4,09 $\times 10^{-8}$
<i>Trichostrongylus</i>	1,70 $\times 10^{-2}$	7,82 $\times 10^0$...	1,80 $\times 10^{-2}$
<i>Strongyloides</i>	9,12 $\times 10^{-9}$	1,13 $\times 10^1$	6,66 $\times 10^{-5}$	1,22 $\times 10^{-13}$

... * CL50 não obtida: 100% de inibição em todas as concentrações testadas.

As CL50, aproximadas, foram de $1,7 \times 10^{-2}$, $1,8 \times 10^{-2}$ e $7,82 \times 10^0$ ppm para o oxfendazole, o thiabendazole e o fenbendazole, respectivamente (Tabela 6). Com relação ao albendazole, a CL50 não foi obtida, visto que, em todas as concentrações testadas, a

percentagem de redução foi de 100%, não permitindo análise de regressão. Coles & Simpkin (1977) mostraram que as CL50 do thiabendazole para ovos de *T. axei* e *T. colubriformis* sensíveis a ele, foram, respectivamente, de 0,07 e 0,08 ppm. Conforme os

TABELA 7. Percentagens médias (\pm erro-padrão)¹ de redução de fêmeas de *Strongyloides* de vida livre, em coproculturas de caprinos, tratadas "in vitro" com anti-helmínticos benzimidazóis, em cinco concentrações diferentes (dados transformados para arco-seno da raiz quadrada da percentagem)².

Tratamentos	Concentrações (ppm)				
	6,25	12,5	25,0	50,0	100,0
Fenbendazole	21,00 \pm 4,14 a(a)	42,97 \pm 5,22 a(b)	48,13 \pm 7,56 a(b)	67,46 \pm 5,00 a(c)	82,96 \pm 2,23 a(d)
Oxfendazole	72,33 \pm 2,53 b(a)	77,25 \pm 3,25 b(ab)	76,95 \pm 3,04 b(ab)	86,01 \pm 1,91 b(b)	87,94 \pm 0,84 a(b)
Albendazole	88,86 \pm 1,14 c(a)	88,86 \pm 1,14 c(a)	90,00 \pm 0,00 c(a)	90,00 \pm 0,00 b(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)
Thiabendazole	83,41 \pm 2,85 c(a)	90,00 \pm 0,00 c(a)	90,00 \pm 0,00 c(a)	90,00 \pm 0,00 b(a)	90,00 \pm 0,00 a(a)

¹ Médias seguidas de letras diferentes, na coluna, e de letras diferentes entre parênteses na linha, são significativamente diferentes ($P < 0,05$), de acordo com o teste de Tukey.

² Tabela de Bliss, conforme Snedecor (1966).

autores, para estirpe resistente de *T. colubriformis*, a CL50 do thiabendazole foi de 0,05 ppm. Hall et al. (1978) verificaram que as CL50 do thiabendazole para ovos de *T. colubriformis* foram, respectivamente, de 0,015 e 0,045 ppm para a estirpe sensível, e de 0,85 e 0,20 ppm para a estirpe resistente. Ibarra & Jenkins (1984) observaram que as CL50 para ovos de *T. colubriformis* foram de 0,002 ppm para o thiabendazole, 0,006 ppm para o albendazole, 0,3 ppm para o fenbendazole e 1,0 ppm para o oxfendazole. A CL50 do thiabendazole para ovos de *Trichostrongylus* spp, observada no presente trabalho, foi um pouco inferior às CL50 registradas por Coles & Simpkin (1977) para a estirpe de *T. axei* e *T. colubriformis*, sensíveis ao thiabendazole, bem como de *T. colubriformis*, resistente a ele. Para o oxfendazole a CL50, aqui observada, foi inferior à relatada por Ibarra & Jenkins (1984). Já com relação ao fenbendazole, a CL50 para ovos de *Trichostrongylus* spp., observada neste trabalho, foi mais alta do que a registrada por Ibarra & Jenkins (1984).

Oesophagostomum

As percentagens de redução de larvas infectantes de *Oesophagostomum*, nas coproculturas tratadas com oxfendazole, albendazole e thiabendazole, na concentração de 6,25 ppm, foram superiores ($P < 0,05$) à percentagem de redução observada para o fenbendazole nesta mesma concentração (Tabela 5). Na concentração de 12,5 ppm, a percentagem de redução para este último produto foi significativamente inferior ($P < 0,05$) apenas em relação à percentagem de redução promovida pelo thiabendazole, não diferindo ($P > 0,05$) das percentagens de

redução observadas para o oxfendazole e o albendazole. Nas concentrações de 25,50 e 100 ppm, não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre os quatro benzimidazóis testados. Para o fenbendazole, as concentrações de 6,25 e 12,5 ppm apresentaram percentuais de redução inferiores ($P < 0,05$) às percentagens de redução observadas nas concentrações de 25,0; 50,0 e 100,0 ppm. Com relação ao oxfendazole, albendazole e ao thiabendazole, não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) entre as diferentes concentrações utilizadas.

As CL50 foram de $4,68 \times 10^{-11}$ ppm para o oxfendazole, $7,19 \times 10^{-2}$ ppm para o fenbendazole, $1,22 \times 10^{-13}$ ppm para o albendazole e $4,09 \times 10^{-8}$ ppm para o thiabendazole (Tabela 6).

Fêmeas de *Strongyloides* de vida livre

Quanto ao desenvolvimento de fêmeas de vida livre nas coproculturas (Tabela 7), verificou-se que as percentagens de redução promovidas pelo oxfendazole, albendazole e thiabendazole, nas concentrações de 6,25; 12,5; 25 e 50 ppm, foram superiores ($P < 0,05$) às percentagens de redução observadas para o fenbendazole nas mesmas concentrações. O oxfendazole, por sua vez, apresentou percentagens de redução inferiores ($P < 0,05$) às do albendazole e às do thiabendazole, apenas nas concentrações de 6,25; 12,5 e 25,0 ppm. Nessas concentrações e na concentração de 50 ppm, não foram verificadas diferenças ($P > 0,05$) entre o albendazole e o thiabendazole. Na concentração de 100 ppm, não houve diferenças ($P > 0,05$) entre os quatro benzimidazóis testados. Estudando as diferentes concentrações dentro de cada princípio ativo, verificou-se que para o oxfendazole só não houve diferença ($P > 0,05$)

entre as concentrações de 12,5 e 25 ppm. Para o oxfendazole, a percentagem de redução observada na concentração de 6,25 ppm foi significativamente inferior ($P < 0,05$) às percentagens de redução observadas nas concentrações de 12,5; 25,0; 50,0 e 100,0 ppm, sendo que estas últimas não diferiram ($P > 0,05$) entre si. Com relação ao thiabendazole e albendazole, não houve diferenças ($P > 0,05$) entre as cinco concentrações testadas.

CONCLUSÕES

1. É possível realizar análise comparativa da atividade ovicida dos benzimidazóis, utilizando testes "in vitro", através do percentual de redução de larvas infectantes nas coproculturas tratadas com estes produtos.

2. O albendazole e o thiabendazole apresentaram maiores percentagens de redução de larvas infectantes de *Haemonchus*, *Strongyloides* e de fêmeas de *Strongyloides* de vida livre, ocupando o oxfendazole uma posição intermediária, sendo que o fenbendazole foi o produto que apresentou menores percentuais de redução.

3. Para larvas infectantes de *Trichostrongylus*, o oxfendazole, o albendazole e o thiabendazole apresentaram percentuais de redução acima de 95,0%, sendo que o fenbendazole apresentou percentuais de redução inferiores a 95,0%.

4. Para larvas infectantes de *Oesophagostomum*, todos os benzimidazóis testados apresentaram percentuais de redução acima de 96,0%.

AGRADECIMENTOS

Os autores expressam o seu reconhecimento à Sra. Helena Araújo da Ponte e ao Sr. Felipe Cavalcante Machado, pela assistência laboratorial, imprescindível à realização deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AMATO, S.B. & GONÇALVES, P.C. Ação ovicida "in vitro" do 2-(4'tiazolil) - Benzimidazole em *Fasciola hepatica* (trematoda, Fasciolidae). *Arq. Univ. Fed. Rural Rio de Janeiro*, **4**(2):49-51, 1975.
- COLES, G.C. & BRISCOE, M.G. Benzimidazoles and fluke eggs. *Vet. Rec.*, **103**:360-1, 1978.
- COLES G.C. & SIMPKIM, K.G. Resistance of nematode eggs to the ovicidal activity of benzimidazoles. *Res. Vet. Sci.*, **22**:386-7, 1977.
- COSTA, C.A.F. & VIEIRA, L. da S. Controle de nematódeos gastrintestinais de caprinos e ovinos no Estado do Ceará. Sobral, CE. EMBRAPA-CNPC, 1984. 5p. (EMBRAPA-CNPC. Comunidade Técnico, 13)
- EGERTON, J.R. The ovicidal and larvicidal effect of thiabendazole on various helminths species. *Texas Rep. Biol. Med.*, **27**(2):561-80, 1969. Suppl.
- FRÓES, O.M. Atividade do 2-(4'tiazolil) benzimidazol "in vitro" e no solo sobre ovos de nematódeos de ovinos. Porto Alegre, UFRGS, 1973. 27p. Tese Mestrado.
- GONÇALVES, P.C. *Strongyloides papillosus* (Wede, 1985) em ovinos do Rio Grande do Sul (Nematoda Strongyloididae). *R. Fac. Agron. Univ. Fed. Rio Grande do Sul*, **5**(2):89-92, 1962.
- GORDON, H.M. & WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Counc. Sci. Indust. Res.*, **12**(1):50-2, 1939.
- GRISI, L. Mecanismo de ação dos principais anti-helmínticos utilizados em Medicina Veterinária. *Vet. bras.*, São Paulo, **2**(2):33, 1984.
- HALL, C.A.; CAMPBELL, N.J.; RICHARDSON, N.L. Levels of benzimidazole resistance in *Haemonchus contortus* and *Trichostrongylus colubriformis* recorded from an egg hatch procedures. *Res. Vet. Sci.*, **25**:360-3, 1978.
- HEWLETT, P.S. & PLACKETT, R.L. An introduction to the interpretation in biology. London, E. Arnold, 1979. p.12-7.
- IBARRA, O.F. & JENKINS, D.C. The relevance of "in vitro" anthelmintic screening tests employing the free-living stages of trichostrongylid nematodes. *Helminthol.*, **58**:107-12, 1984.
- KEMP, G.K. & SMITH, C.F. Anthelmintic resistance survey in New Zealand. *N. Z. Vet. J.*, **30**(9):141-4, 1982.
- KERBOEUF, D. & HUBERT, J. Benzimidazole resistance in field strains of nematodes from goats in France. *Vet. Rec.*, **116**:133, 1985.
- LE JAMBRE, E.F.; MARTIN, P.J.; WEBB, R.F. Thiabendazole resistance in field populations of *Haemonchus contortus*. *Aust. Vet. J.*, **55**:163-66, 1979.
- LE JAMBRE, L.F. Egg hatch as an in vitro assay of thiabendazole resistance in nematodes. *Vet. Parasitol.*, **2**:385-91, 1976.
- LELAND, S.E. & BOUGUE, J.H. Laboratory tests on the anthelmintic activity of thiabendazole against the free living stages of *Strongyloides ransomi*. *J. Parasitol.*, **50**(3):61, 1964.
- LEVINE, N.D. *Nematodes parasites of domestic animals and of Man*. Minneapolis, Burgess, 1968. p.224.
- ROBERTS, F.H.S. & O'SULLIVAN, J.P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastro-intestinal tract of cattle. *Aust. Agric. Res.* **1**:99, 1950

- SERRA, R.G. Atividade de 2-(4'tiazolil) benzimidazol, "in vitro" e em solo experimentalmente contaminado, sobre ovos de *Ascaridia galli* (Schrank, 1788) e *Heterakis gallinarum* (Smidth 1985). *R. Fac. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo*, 4(2):329-47, 1966.
- SIMPKIM, K.G. & COLES, G.C. Instability of benzimidazole resistance in nematode eggs. *Res. Vet. Sci.*, 25:249-50, 1978.
- SNEDECOR, G.W. *Métodos estatísticos aplicados a la investigación agrícola e biológica*. México, Continental, 1966. p.376-9.
- SOUZA, A.P.; GONÇALVES, P.C.; SOUZA, S.M.G. de. Efeito ovicida do 2-(4'tiazolil) benzimidazol em nematóides de ovinos: Possibilidade de seleção genérica de larvas infectantes. *Arq. Fac. Vet. Univ. Rio G. Sul*, Porto Alegre, 7:23-6, 1979.
- UENO, H. & ALVAREZ, J.M.V. *Manual de laboratorio para el diagnóstico de helmintos en ruminantes*. Rep. Dominicana, Univ. Aut. Stº Domingo, 1970. 122p.
- WHITLOCK, H.V. Some modification of the MacMaster egg counting technique and apparatus. *J. Counc. Sci. Ind. Res.*, 21:177-80, 1948.
- WHITLOCK, H.V.; KELLY, J.D.; PORTER, C.J.; GRIFFIN, D.D.; MARTIN, I.C.A. "In vitro" field screening for anthelmintic resistance in Strongyles of sheep and horses. *Vet. Parasitol.*, 7:215-32, 1980.
- ZINGANO, A.G. *Atividade do thiabendazol, parbendazol e mebendazol in vitro com larvicida de nematódeos de ovinos*. Porto Alegre, UFRGS, 1978. 27p. Tese Mestrado.