

ATIVIDADE ANTI-HELMÍNTICA DO CLOSANTEL, NAS DOSES DE 10 e 25 Mg/KG, VIA ORAL, CONTRA NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE BOVINOS NATURALMENTE INFECTADOS

ALVIMAR JOSÉ DA COSTA^a
URIEL FRANCO ROCHA^b
IVALDO MELITO^c
ODILON VIDOTTO^d

RESUMO

Dois grupos de bezerros naturalmente infectados (sete animais cada) foram tratados com Closantel a 30%, via oral, nas doses de 10 mg/kg e 25 mg/kg, respectivamente, e um terceiro grupo foi mantido como testemunho, recebendo apenas placebo. Sete dias após os tratamentos, todos os bezerros foram necropsiados, sendo recolhidos "in totum" todos os helmintos presentes nos diferentes órgãos.

O abomaso e o intestino delgado de cada animal foram artificialmente digeridos. Os resultados necroscópicos demonstraram que o Closantel apresentou eficiência A, nas duas dosagens utilizadas, contra as seguintes espécies de nematóides (adultos e imaturos): *Haemonchus contortus*, *H. similis*, *Bunostomum phlebotomum* e *Oesophagostomum radiatum*. Nas outras 6 espécies diagnosticadas sua eficiência variou de Ba U (ARMOUR)². Sobre *Dictyocaulus viviparus* o composto foi ineficiente. A dose de 25 mg/kg mostrou aparente atividade contra *Mammomonogamus laryngeus*. Nenhuma alteração foi observada nos bezerros tratados, quanto aos quadros hematológicos e aos níveis de transaminases (AST e ALT), Desidrogenase lática (LDH) e Creatinina.

PALAVRAS-CHAVES: Closantel, nematóides, bovinos.

1. INTRODUÇÃO

O Closantel (N-5-cloro-4- (clorofenil) cianometil) -2-metilfenil-2-hidroxi-3,5 diiodobenzamida) é um derivado de salicilanilida, descoberto por pesquisadores belgas (JANSSEN PHARMACEUTICA) e patenteado por JANSSEN & SIPIDO^{1,4}. Sua atividade anti-parasitária abrange surpreendente número de invertebrados hematófagos ou invasores de tecidos, pouco aparentados zoológicamente entre si: adultos e larvas de nematóides, trematódeos, cestódeos, ácaros e insetos, habitantes do tegumento, do tubo digestivo ou de vísceras de mamíferos (herbívoros ou carnívoros).

GUERREIRO^{1,1} apresentou ampla revisão, englobando a vasta maioria dos trabalhos realizados no mundo com Closantel, de modo que se decidiu completá-la apenas com a bibliografia nacional ou internacional não incluída naquela revisão.

RASSIER^{1,7} verificou que o Closantel sob a forma de bolus (500 mg), via oral, na dose de 10 mg/kg, reduziu o número de ovos de *F. hepática* em 100%, 75,9% e 93,8% aos 7, 14 e 21 dias após o tratamento, de ovinos naturalmente infectados. Sobre parasitos gastrintestinais, o produto não apresentou eficiência considerável. Salienta-se que esse estudo foi realizado somente através de exames coprológicos.

A atividade de Closantel sobre artrópodes foi ampla-

mente reforçada pelos experimentos realizados na Argentina por ALOISI et alii¹ e no Brasil por COSTA et alii^{4, 5, 6, 7, 8}.

CAUTEREN et alii³ verificaram que o Closantel é bem tolerado por ratos, cães e ovinos, mesmo em doses orais repetidas a cada quatro semanas, durante 40 semanas. Não constataram efeito mutagênico ou carcinogênico decorrente da aplicação do composto.

O objetivo deste experimento foi o de, por vez primeira no Brasil, ensaiar comparativamente, em bovinos naturalmente infectados com nematóides gastrintestinais, as doses 10 mg/kg e 25 mg/ks de Closantel, por via oral.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se Closantel diluído a 30%, fornecido pela JANSSEN VETERINÁRIA, por via oral, nas doses de 10 e de 25 mg/kg.

Através de contagens de ovos de nematóides por grama de fezes - OPG (GORDON & WHITLOCK^{1,9}), coproculturas (GUIMARÃES^{1,2}) e identificação das larvas infectantes (KEITH^{1,5}), foram selecionados 21 bezerros, entre 200 machos ou fêmeas examinados. Esses animais apresentavam-se naturalmente parasitados por *Cooperia*, *Haemonchus*, *Trichostrongylus*, *Bunostomum* e *Oesophagostomum*.

A distribuição dos bezerros, em três grupos de sete ani-

a Departamento de Patologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias campus de Jaboticabal - UNESP.

b Pesquisador visitante do CNPq, junto a Fac. Ciências Agrárias e Veterinárias campus de Jaboticabal - UNESP.

c Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias campus de Jaboticabal - UNESP

d Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Estadual de Londrina, Londrina - PR.

QUADRO 1

Contagens médias de OPG*, realizadas antes e após os tratamentos de bezerros com closantel a 30%, via oral; e de bezerros testemunhos, com os respectivos percentuais de redução.

Grupo	Tratamento (Closantel)	Antes do tratamento (3 contagens/animal)	Contagens Médias de OPG				% redução
			Dias após Tratamento				
			5	6	7	Média	
I	10,0 mg/kg	1710	289	360	750	466	72,75
II	25,0 mg/kg	1715	275	591	433	433	74,75
III	testemunho	1712	2503	2578	2110	2397	—

* OPG: ovos de nematóides da ordem Strongylidea por grama de fezes.

QUADRO 2

Nematóides adultos (Espécies) recolhidos de bezerros necropsiados sete dias após os tratamentos, via oral, com closantel a 30% (10,0 e 25,0 mg/kg) e de bezerros testemunhos necropsiados na mesma data (sete animais por grupo).

Espécie de Nematóide	Nematóides recolhidos à Necropsia (Formas adultas)						Categoria de Eficiência*	
	GI: 10 mg/kg		GII: 25 mg/kg		GIII: Testemunho		GI	GII
	Nº médio	amplitude total	Nº médio	amplitude total	Nº médio	amplitude total		
<i>Haemonchus contortus</i>	2,3	0-15	0,0	0-0	5072,6	299-12522	A	A
<i>Haemonchus similes</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	4,1	0-29	A	A
<i>Trichostrongylus axei</i>	142,0	0-487	10,6	0-46	41,3	0-147	D	C
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	0,1	0-1	0,0	0-0	30,1	0-80	A	A
<i>Cooperia punctata</i>	689,9	0-2317	1786,0	62-3008	3783,0	20-10769	B	C
<i>Cooperia pectinata</i>	13,9	0-48	20,9	0-40	65,0	0-172	B	C
<i>Cooperia spatulata</i>	28,0	0-88	132,7	80-277	90,3	0-205	C	D
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	196,9	1-766	A	A
<i>Trichuris discolor</i>	104,7	0-616	319,4	36-967	39,9	0-133	D	D
<i>Agriostomum wryburgi</i>	0,6	0-4	0,0	0-0	0,0	0-0	U	U
Média Geral	981,5		2269,6		9323,2		B	B

* ARMOUR, J. *Pharmacological Basis of large Animal Medicina*, p. 174-209, 1983.

QUADRO 3

Nematóides adultos (Espécies) recolhidos de 14 bezerros necropsiados sete dias após os tratamentos, via oral, com closantel a 30% (10,0 e 25,0 mg/kg) e de bezerros testemunhos necropsiados na mesma data.

Espécie de Nematóide	Nematóides recolhidos à Necropsia (Formas adultas)						Categoria de Eficiência*	
	GI: 10 mg/kg		GII: 25 mg/kg		GIII: Testemunho		GI	GII
	Nº médio	amplitude total	Nº médio	amplitude total	Nº médio	amplitude total		
<i>Haemonchus contortus</i>	2,1	0-15	0,0	0-0	1551,0	187-3736	A	A
<i>Haemonchus similes</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	2,9	0-20	A	A
<i>Trichostrongylus axei</i>	4,6	0-20	0,3	0-1	1,1	0-6	D	C
<i>Bunostomum phlebotomum</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	13,0	0-90	A	A
<i>Cooperia punctata</i>	2,6	0-13	0,3	0-2	179,4	0-1248	A	A
<i>Cooperia pectinata</i>	0,3	0-2	0,0	0-0	0,3	0-1	U	U
<i>Cooperia spatulata</i>	0,3	0-1	0,0	0-0	9,9	0-67	A	A
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	29,0	0-55	A	A
<i>Trichuris discolor</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	0,0	0-0	U	U
<i>Agriostomum wryburgi</i>	0,0	0-0	0,0	0-0	0,0	0-0	U	U
Média Geral	9,9		0,6		1786,6		A	A

* ARMOUR, J. *Pharmacological Basis of large Animal Medicina*, p. 174-209, 1983.

QUADRO 04: Número de helmintos gastrintestinais (espécies) recuperados de 14 bezerros necropsiados sete dias após os tratamentos, via oral, com closantel a 33% (10,0 e 25,0 mg/Kg) e de sete bezerros testemunhos necropsiados na mesma data.

		E S P E C I E S D E H E L M I N T O S																						
G R U P O S	B E Z E R R O S	<i>Haemonchus contortus</i>		<i>Haemonchus stamineus</i>		<i>Trichostrongylus axei</i>		<i>Bunostomum phlebotomum</i>		<i>Cooperia punctata</i>		<i>Cooperia pectinata</i>		<i>Cooperia spatulata</i>		<i>Oesophagostomum radiatum</i>		<i>Trichouris discolor</i>		<i>Ayriantonium uruguayi</i>		T O T A L		
		A*	I**	A	I	A	I	A	I	A	I	A	I	A	I	A	I	A	I	A	I	A	I	
I (10,0 mg/kg)	203	-	-	-	-	39	-	-	-	132	-	-	-	-	-	-	04	-	-	-	-	175	-	
	206	-	-	-	-	487	01	-	-	144	-	-	-	-	-	-	-	-	-	04	-	-	636	01
	223	15	-	-	-	102	07	-	-	1130	13	48	01	57	01	-	-	-	-	-	-	-	1352	22
	225	01	-	-	-	249	20	-	-	21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	271	20
	228	-	-	-	-	99	03	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	110	03
	281	-	-	-	-	-	-	01	-	1085	02	11	-	51	-	-	-	102	-	-	-	-	1250	02
	289	-	15	-	-	18	01	-	-	2317	03	38	01	88	01	-	-	616	-	-	-	-	3077	21
TOTAL	16	15	-	-	994	32	01	-	4829	18	97	02	196	02	-	-	733	-	04	-	-	6871	69	
MEDIA	2,3	2,1	-	-	142,0	4,6	0,1	-	689,9	2,6	13,9	0,3	28,0	0,3	-	-	104,7	-	0,6	-	-	981,6	9,9	
II (25,0 mg/kg)	209	-	-	-	-	18	-	-	-	62	-	-	-	-	-	-	06	-	-	-	-	-	86	-
	217	-	-	-	-	02	-	-	-	1676	-	33	-	152	-	-	31	-	-	-	-	-	1894	-
	222	-	-	-	-	02	01	-	-	1732	-	-	-	104	-	-	257	-	-	-	-	2095	01	
	226 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	3008	-	12	-	159	-	-	765	-	-	-	-	-	3944	-
	230	-	-	-	-	46	01	-	-	2452	02	32	-	157	-	-	174	-	-	-	-	-	2861	03
	284	-	-	-	-	01	-	-	-	2564	-	29	-	277	-	-	967	-	-	-	-	-	3536	-
	290	-	-	-	-	05	-	-	-	1008	-	40	-	80	-	-	36	-	-	-	-	-	1169	-
TOTAL	-	-	-	-	74	02	-	-	12502	02	146	-	929	-	-	2236	-	-	-	-	-	15887	04	
MEDIA	-	-	-	-	10,6	0,3	-	-	1786,0	0,3	20,9	-	132,7	-	-	319,4	-	-	-	-	-	2269,6	0,6	
III (TESTEMUNHO)	210	7244	1527	-	-	-	-	01	-	7792	-	102	-	205	-	61	15	133	-	-	-	-	15538	1542
	212	12522	558	-	-	01	-	60	-	2747	01	114	01	114	01	64	27	79	-	-	-	-	15701	588
	213	2437	3736	-	-	07	-	80	-	533	-	172	-	-	-	225	34	08	-	-	-	-	3462	3770
	218	4227	1616	-	-	147	06	50	90	3329	1248	-	-	179	67	136	33	08	-	-	-	-	6076	3060
	221	299	187	29	20	113	02	20	01	10769	07	67	01	134	01	776	39	23	-	-	-	-	12230	258
	282	1000	357	-	-	-	-	-	-	1291	-	-	-	-	-	01	-	28	-	-	-	-	2320	357
	286	7779	2876	-	-	21	-	-	-	20	-	-	-	-	-	115	55	-	-	-	-	-	7590	2876
TOTAL	35508	10857	29	20	289	08	211	91	26481	1256	455	02	632	69	1378	203	279	-	-	-	-	65317	12451	
MEDIA	5072,6	1551,0	4,1	2,9	41,3	1,1	30,1	13,0	3783,0	179,4	65,0	0,3	90,3	9,9	196,9	29,0	39,9	-	-	-	-	9331,0	1778,7	

* A = adultos
 **I = imaturos
 a = três dias após o tratamento (morte natural)

mais cada, foi realizada da seguinte forma: não importando de que sexo, os três bezerros de OPG (média de três contagens) mais elevados foram identificados e sorteados um para cada grupo; a seguir foram identificados e sorteados os três animais imediatamente abaixo e assim procedeu-se, sucessivamente, até a identificação e sorteio dos três últimos bezerros.

Compostos os grupos, estes foram sorteados um para cada tratamento, conforme se visualizava no Quadro 1. Salienta-se que os bezerros testemunhos receberam, por via oral, apenas um placebo.

Após os tratamentos com Closantel, os animais permaneceram durante 7 dias em baias individuais com piso de concreto onde recebiam alimentação e água "ad libitum", ou seja foram mantidos em condições de não reinfecção.

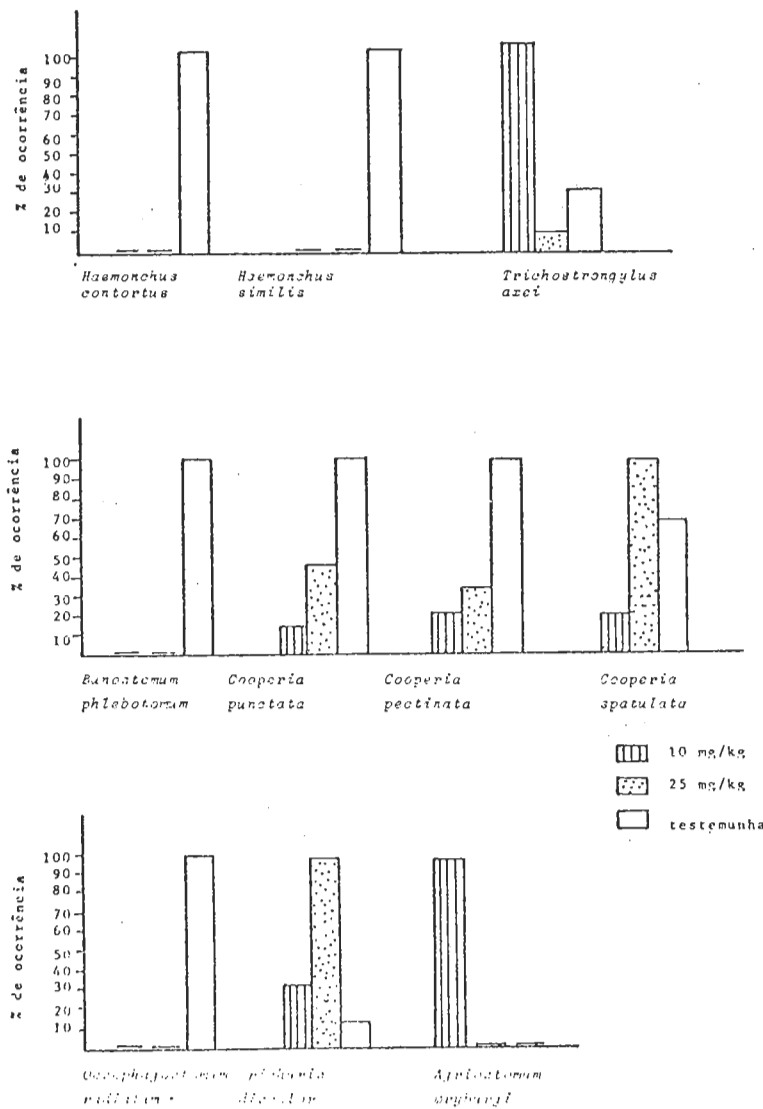
No 5º, 6º e 7º dias após os tratamentos foram realiza-

das contagens de OPG em cada um dos bezerros dos três grupos.

Nos dias 0, 3 e 7 após os tratamentos foram realizados hemogramas e exames bioquímicos (transaminases glutâmico-oxalacética e glutâmico-pirúvica; desidrogenase láctica e creatinina), em todos os bezerros.

As determinações séricas foram realizadas através da utilização de reagentes, distribuídos em Kits, de acordo com as técnicas preconizadas pelo LABTEST - Sistemas Diagnósticos Ltda., com leitura espectrofotométrica processada em um aparelho Procyon SC 90. Os índices hematimétricos relativos (contagem global das hemácias e leucócitos, taxa de hemoglobina e hematócrito) foram avaliados segundo métodos propostos por FERREIRA NETO et alii⁹. A contagem diferencial dos leucócitos foi feita em esfregaços sanguíneos corados de acordo com ROSENFELD¹⁸.

PRANCHA 1: Percentuais de ocorrência de nematóides adultos em 14 bezerros necropsiados sete dias após os tratamentos com closantel a 30% (10 e 25mg/kg) e de sete bezerros testemunhos.



PRANCHA 1

Percentuais de ocorrência de nematóides adultos em 14 bezerros necropsiados sete dias após os tratamentos com closantel a 30% (10 e 25mg/kg) e de sete bezerros testemunhos.

Decorridos sete dias após a aplicação do Closantel os bezerros tratados e os testemunhos foram sacrificados e necropsiados. O abomaso e os intestinos delgado e grosso foram cuidadosamente abertos recolhendo-se-lhes os conteúdos, sendo as respectivas mucosas devidamente raspadas. Todo material obtido (conteúdos e raspados) foi individualmente lavado em tamis (0,297mm, "tyler" 48), fixado em formol a 10% a quente e guardado em frascos identificados. Os helmintos presentes foram colhidos, identificados e contados "in totum", mediante técnicas helmintológicas convencionais.

Procedeu-se também a exames qualitativos nos brônquios e bronquíolos, de cada bezerro, para colheita de vermes pulmonares, porventura presentes.

O abomaso e o intestino delgado, de cada animal, após serem submetidos à raspagem, foram digeridos individualmente com uma solução de pepsina clorídrica segundo o método descrito por POWERS et alii¹⁶.

Adotou-se a classificação de ARMOUR² para avaliação de compostos anti-parasitários, mediante categorias de eficiências.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do experimento foram condensados nos Quadros 1 a 4, ordem pela qual serão, assim, apresentados e discutidos.

O Quadro 1 condensa as informações sobre a variável OPG antes dos tratamentos (dia zero) e também nos dias 5, 6 e 7 após a medicação, tanto em grupos tratados quanto no testemunho. Começando por este grupo, vê-se que a contagem média de OPG foi menor no dia zero que nas três amostragens subsequentes; em contrapartida para os dois grupos tratados esta variável foi substancialmente maior no dia zero do que nas três amostragens posteriores, o que dispensa análise estatística para poder-se afirmar que o tratamento, tanto com a dose de 10 mg/kg, quanto com a dose de 25 mg/kg, conduziu a uma diminuição de OPG. De fato, em relação à contagem do dia zero, em seu respectivo grupo, houve redução de 72,75% para a dose de 10 mg/kg e de 74,75% para a dose de 25 mg/kg; tal redução ganha expressão um pouco maior se for comparada com a contagem média de OPG no grupo testemunho, nas três últimas amostragens: 80,6% e 82,0%, respectivamente. Convém observar que as contagens médias não diferem estatisticamente entre os três grupos no dia zero, mas diferem significativamente, para mais no grupo testemunho, entre o dia zero (1712) e a média das três contagens finais (2397). Isto sugere que há

substitutiva de eficiência no primeiro caso (entre 72% a 75%) e que o valor médio de decréscimo de OPG das três contagens finais é mais fidedigno no julgamento do benefício (80,6% a 82,0%).

Embora o teste de redução de OPG apresente muitas desvantagens (HONER¹³) as duas doses, 10 mg/kg e 25 mg/kg, diminuíram significativamente as contagens de OPG em relação ao grupo testemunho. Salienta-se, entretanto, que as dosagens não revelaram diferença estatística quanto ao efeito terapêutico.

Passando ao estudo do Quadro 2, verifica-se que o composto, nas duas doses, teve eficiência A (ARMOUR²) contra formas adultas de quatro espécies de nematóides (*H. contortus*, *H. similis*, *B. phlebotomum* e *O. radiatum*), variando de categoria B a U para as demais espécies presentes em suas formas adultas. Esses valores, que devem ser interpretados com reserva, por serem fruto de ensaio único, demonstram claramente que o princípio ativo tem real valor contra verminose bovina.

Os resultados do Quadro 2 explicam razoavelmente os do Quadro 1, esclarecendo que a diminuição de *H. contortus* deve ser atribuído o maior contingente na expressão da variável OPG antes do tratamento. Reforça também a inferência de que o aumento de 10 mg para 25 mg de princípio ativo, por quilo de hospedeiro, não aumenta a eficiência anti-helmíntica do preparado.

Os resultados do Quadro 3 apontam nos mesmos senti-

dos que os dos Quadros de números 1 e 2 e revelam categoria A de atividade para formas imaturas de seis espécies de nematóides. Ao contrário das formas adultas, as imaturas de *C. punctata* e *C. spatulata* foram sensivelmente afetadas pelo Closantel (categoria A).

Sobre *T. axei*, adultos e imaturos, os resultados deste experimento comprovam, semelhantemente ao que se lê em GUERRERO¹¹, a ineficácia do composto na dose de 10 mg/kg. Eficácia de 50% (categoria C) foi verificada com a dosagem de 25 mg/kg.

O Quadro 4 nada mais é que uma apresentação mais minuciosa, isto é, em termos de hospedeiros individuais, das mesmas informações contidas nos Quadros de números 2 e 3, que são apresentações dessas informações em termos médios.

Na Prancha 1 podem ser visualizados os histogramas sobre as freqüências das espécies de nematóides diagnosticadas neste experimento.

A principal conclusão a que se chega é a de que este ensaio veio a confirmar resultados de outros autores, com bovinos, segundo a lúcida, minuciosa e recente revisão feita por GUERRERO¹¹, ficando bem patente que a droga tem especial indicação contra nematóides hematófagos e suas formas imaturas em migração tecidual. E a principal restrição que o mesmo experimento revelou, novamente em harmonia com a literatura compulsada, foi a evidência de que há na população nematótica de ruminantes, nesta região de Jaboticabal e possivelmente em outras do País, uma taxa superior a 20% de indivíduos resistentes à ação anti-helmíntica do Closantel, especialmente os dos gêneros *Coope-ria* e *Trichostrongylus*, quando o medicamento é administrado por via oral, nas doses de 10 mg/kg e de 25 mg/kg.

Os resultados qualitativos sobre a presença de *Dictyocaulus viviparus* e de *Mammomonogamus laryngeus* sugerem que o Closantel tenha sido eficaz somente contra esta última espécie de nematóide, assim mesmo na dose mais alta testada (25 mg/kg).

Os resultados dos exames hematimétricos e bioquímicos (AST, ALT, LDH e creatinina), realizados nos dias 0, 3 e 7, não revelaram alterações que pudessem ser atribuídas ao Closantel. Estes dados corroboram aqueles obtidos por COSTA et alii⁴ e por CAUTEREN et alii³, além daqueles citados por GUERRERO¹¹.

Em síntese, os resultados deste experimento permitem afirmar que a dose de 10 mg/kg de Closantel poderá ser amplamente utilizada no tratamento contra os principais nematóides parasitos de bovinos no Brasil (*Haemonchus*, *Bunostomum* e *Oesophagostomum*). Para os demais gêneros, considerando que às vezes os animais tratados se apresentavam até mais infectados que os testemunhos, novas e mais profundas investigações precisam ser feitas, de modo a permitirem melhor avaliação do efeito da supressão de algumas espécies sensíveis à droga sobre a dinâmica populacional das espécies resistentes.

ABSTRACT

Assay on the Anthelmintic activity of Closantel, at the oral doses of 10 mg/kg and 25 mg/kg, against gastrointestinal nematodes in naturally infected cattle were conducted. Two groups of calves naturally infected with gastrointestinal nematodes were treated "per os" with a 30% Closantel solution at the doses of 10 mg/kg and 25 mg/kg respectively and a third similar group only a placebo. Seven days later the 21 calves were slaughtered, all species of heminths found were counted "in totum" from each segment of the digestive tube. The abomasum and the small intestine of each animal were artificially digested.

The necroscopic results showed that the Closantel presented efficiency "A" in the two dosages used against the following species of nematodes (adults and imatures): *Haemonchus contortus*, *H. similis*, *Bunostomum plebotomum* and *Oesophagostomum radiatum*. The other 6 diagnosed species the efficiency varied from "B" to "U" (ARMOUR). About *Dictyocaulus viviparus* the compound was inefficient. The dosage of 25 mg/kg showed aparent activity against *Mammomonogamus laryngeus*. No alteration was observed to the treated yearling-calves, concerning to hematological chart, transaminosis (AST and ALT), desidrogenosis (LDH) and creatinine). No activity was against *Dictyocaulus viviparus*, but some efficiency became evidente against *Mammomonogamus laryngeus*. No toxic effect was apparent through haematological or haemochemical criteria.

KEY-WORDS: Closantel, nematodes, cattle.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALOISI, G.; SCHMIED, L.; PÉREZ ARRIETA, A.; MARTIVIDAL, J.; CARACOSTANTÓGALO, J.; FERNÁNDEZ, E. *Prueba de registro de Closantel 30% oral (sepo-ver-janssen) como garrapaticida. Relatório Técnico*, Johnson e Johnson da Argentina - Divisão Veterinária, 1983.
- ARMOUR, J. Modern Anthelmintcs for farm animals. In: BORGAN, J. A.; LEES, P.; YOXALL, A.T. *Pharmacological basis of large animal medicine*. Blackwell, 1983. p. 174-209.
- CAUTEREN, H. VAN.; VANDENBERGUE, J.; HÉRIN, V.; VANPARYS, P.; MARSBOOM, R. Toxicological properties of Closantel. *Drugchem toxicol.* 8(3) : 101-123, 1985.
- COSTA, A.J.; KASAI, N.; KRONKA, S.N.; CHAIA, G. Avaliação da eficiência do Closantel (R. 31.520) no tratamento de bovinos naturalmente infestados por *Boophilus microplus* Canestrini, 1818). *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, U.F.M.G., 35(1): 21-31, 1983 a.
- COSTA, A.J.; VASCONCELOS, O.T.; ROCHA U.F. Ação ovariastática e ovostática sobre *Boophilus microplus* de Closantel a 30% administrado por via oral a *Bos taurus*. In: CONGRESSO DE LA FEDERATION LATINO-AMERICANA DE PARASITÓLOGOS, 6º, São Paulo, 1983 b *Anais* p. 275.
- COSTA, A.J.; ROCHA, U.F.; SALANI, E.C.; RESENDE, D.J. Efeito antiembriogênico do Closantel 30% em diferentes doses sobre *Boophilus microplus*. São Paulo, Janssen Veterinária, 1984a. (Report Janssen Farmacêutica).
- COSTA, A.J.; SALANI, E.C.; RESENDE, D.J.; ROCHA, U.F. Avaliação comparativa entre o Closantel e Ivermectin no desenvolvimento ponderal de bovinos naturalmente infestados por larvas de *Dermatobia hominis* São Paulo, Janssen Veterinária, 1984 b. (Report Janssen Farmacêutica).
- COSTA, A.J.; VASCONCELOS, O.T.; ROCHA, U.F.; RESENDE, D.J. The anti-tock activity of an orally administered 30% solution of Closantel upon *Coophilus microplus* (Canestrini). In: WORLD ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF VETERINARY PARASITOLOGY, Rio de Janeiro, 11 th, Rio de Janeiro, 1985, Abstracts p. 13.
- FERREIRA NETO, J.M.; VIANA, E.S.; MAGALHÃES, L.M. *Patologia Clínica Veterinária* Belo Horizonte, RABELO & BRASIL, 1978 279 p.
- GORDON, H.M. & WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *J. Coun. Sci. Ind. Res. Aust.*, 12:50-2, 1939.
- GUERRERO, J. Closantel: a review of its antiparasitic activity, In; RIEMANN, H.P. & BURRIDGE, M. *Impact of disease of livestock production in the tropics* Elsevii, New York, 1984. p. 317-27.
- GUIMARÃES, M.P. *Desenvolvimento das helmintoses gastrintestinais em bovinos de corte em pastagem no cerrado*. Belo Horizonte, Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas, 1977. 81p. (Tese de Doutorado).
- HONER, M.R. Tipos de testes de anti-helmínticos. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 2º., Fortaleza-CE, 1980. p. 235-250.
- JANSSEN, M.A.C. & SIPIDO, V.K. *Antiparasitic salicylanilide derivatives*. U.S. Patente Nº 4,005, 218. 1977.
- KEITH, R.K. The differentiation of the infective larval of some common nematode parasites of cattle. *Aust. J. Zoot.*, 1(2):223-35, 1953.
- POWERS, K.G.; WOOD, I.B.; ECKERT, J.; GIBSON, T.; SMITH, H.J. World association for the advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovines and ovine). *Vet. Parasitol*, 10:265-284, 1982.
- RASSIER, D.S. *Eficácia do Closantel (bolus) no controle de Fasciola hepatica e de helmintos gastrintestinais de ovinos*. São Paulo, Janssen Veterinária, 1982. (Report Janssen Farmacêutica).
- ROSENFELD, G. Etilenodiamina tetracética dissótica (EDTA) como anticoagulante para técnica hematológica. *Rev. Clin. S. Paulo, São Paulo*, 31:65-75, 1955.

ISOLAMENTO, CARACTERIZAÇÃO E SUSCEPTIBILIDADE A ANTIMICROBIANOS DE ESTAFILOCOCOS COAGULASE-POSITIVOS (*Staphylococcus aureus* e *intermedius*) DE CÃES COM LESÕES DE PELE, NA REGIÃO DE LONDRINA, PR.

ERNST ECHEHARDT MULLER^a
JULIO CESAR DE FREITAS^a
AMAURI ALCINDO ALFIERI^a

RESUMO

Foram estudadas 71 cepas de estafilococos coagulase-positivas isoladas de cães com lesões características de piodermatite. Através das diferentes provas bioquímicas utilizadas, 52(73,24%) amostras foram identificadas como *S. intermedius* e 19 (26,26%) como *S. aureus*. Todas as cepas foram testadas frente a 10 substâncias antimicrobianas, demonstrando uma acentuada resistência para a penicilina G, ampicilina, tetraciclina e cloranfenicol.

PALAVRAS-CHAVE: Piodermatite; *S. intermedius*; *S. aureus*; Resistência a drogas.

1. INTRODUÇÃO

Os estafilococos coagulase-positivos são os mais frequentemente isolados a partir de amostras clínicas de cães, onde como patógenos oportunistas, são responsáveis por uma série de infecções (COX et alii, 1984). Entre as diferentes manifestações clínicas, a piodermatite é a de maior ocorrência (KUNKLE, 1979).

Por muitos anos, e mesmo em trabalhos mais recentes, os estafilococos coagulase-positivos de origem canina foram enquadrados na espécie *S. aureus* (BLOBEL & SCHLIESER, 1980 e CALVERT, 1982). Mas já em 1976, HÁJEK propôs a denominação de *S. intermedius* para as cepas caninas. Desde então uma série de publicações demonstraram a predominância desta espécie em cães (PHILLIPS & KLOOS, 1981; RAUS & LOVE, 1983 e BERG et alii 1984). Estudos taxonômicos baseados na biotipagem e homologia de DNA, permitem dividir os estafilococos coagulase-positivos em *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* (KLOOS, 1980).

Em função do caráter muitas vezes crônico, localização das lesões e conseqüente dificuldade de tratamento, o uso sistemático e indiscriminado de substâncias antimicrobianas nas infecções estafilocócicas tem aumentado significativamente o número de amostras resistentes, e levado cada vez mais pesquisadores a estudar o espectro de susceptibilidade (COLES, 1963; COX et alii, 1984 e HOSKINS et alii, 1984).

Sendo os estafilococos coagulase-positivos, os organismos isolados com maior freqüência pelo laboratório de microbiologia e moléstias infecciosas em amostras clínicas de cães, enviadas pelo Hospital Veterinário da UEL e clínicas particulares de Londrina, este trabalho tem como objetivo verificar a prevalência do *S. aureus* e *S. intermedius* nestas infecções assim como caracterizá-los bioquimicamente e verificar a resistência dos mesmos frente a substâncias anti-microbianas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho foram examinadas 71 amostras de estafilococos. Todas foram isoladas de cães com lesões características de piodermatite. As amostras foram coletadas com cotonetes estéreis e submetidas a isolamento de rotina em ágar sangue ovino.

A identificação da família *Micrococcaceae* se deu através das características culturais, tintoriais e produção de catalase (BAIRD-PARKER, 1974). A diferenciação entre os estafilococos e micrococos realizou-se pela fermentação anaeróbica da glucose (I.C.S.B., 1965), crescimento anaeróbico e aeróbico em tioglicolato semi-sólido (EVANS & KLOOS, 1972) e sensibilidade à lisostafina (LACHICA et alii, 1971).

Para a identificação das espécies foi empregado basicamente o esquema proposto por HÁJEK em 1976, utilizado a prova da coagulase em tubo com plasma humano e de coelho (I.C.S.B., 1965), detecção de "Clumping Factor" com fibrinogênio bovino (BRUCKLER et alii, 1981), produção de ácido a partir de carboidratos sob condições aeróbicas e anaeróbicas (KLOOS et alii, 1974), produção de acetoina pelo método de BARRIT (1936), recomendado por RAUS & LOVE (1983), produção de termonuclease (LACHICA, 1976), tipo de crescimento em ágar cristal violeta (HÁJEK, 1976), presença de hemólise em ágar sangue ovino (DEVRIESE & HÁJEK, 1980) e produção de pigmento em ágar P (BAIRD-PARKER, 1979).

Todas as cepas, preliminarmente identificadas, foram testadas quanto a resistência frente a substâncias antimicrobianas, pela técnica de BAUER et alii (1966), em caldo e ágar de Mueller Hinton com discos de sensibilidade da Difco.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 71 amostras estudadas apresentaram as células arre-

^a Professor do Depto. de Medicina Veterinária Preventiva, Patologia Animal e Zootecnica, CCA/UUEL.