

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**Felipe Lamberti Pivoto**

**MÉTODOS DE CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO NA PECUÁRIA DE  
CORTE – IMPACTOS ECONÔMICOS E CONSEQUÊNCIAS**

**Santa Maria, RS  
2019**

**Felipe Lamberti Pivoto**

**MÉTODOS DE CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO NA PECUÁRIA DE  
CORTE – IMPACTOS ECONÔMICOS E CONSEQUÊNCIAS**

**Tese apresentada ao Curso de Doutorado do  
Programa de Pós-Graduação em Medicina  
Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia e  
Clínica Veterinária, da Universidade Federal de  
Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial  
para obtenção de grau de Doutor em Medicina  
Veterinária.**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Marta Lizandra do Rego Leal

**Santa Maria, RS  
2019**

Pivoto, Felipe Lamberti  
MÉTODOS DE CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO NA PECUÁRIA DE  
CORTE - IMPACTOS ECONÔMICOS E CONSEQUÊNCIAS / Felipe  
Lamberti Pivoto.- 2019.  
94 p.; 30 cm

Orientadora: Marta Lizandra do Rego Leal  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2019

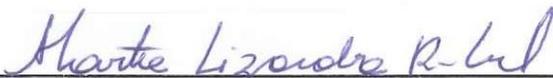
1. Anti-helmíntico 2. Bovinos 3. Nematódeos 4.  
Produtividade 5. Tratamento estratégico I. Leal, Marta  
Lizandra do Rego II. Título.

Felipe Lamberti Pivoto

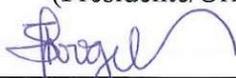
**MÉTODOS DE CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO NA PECUÁRIA DE CORTE –  
IMPACTOS ECONÔMICOS E CONSEQUÊNCIAS**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Cirurgia e Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção de grau de Doutor em Medicina Veterinária.

Aprovado em 08 de março de 2019



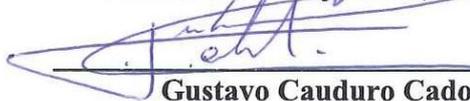
Marta Lizandra do Rego Leal, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)  
(Presidente/Orientador)



Fernanda Silveira Flores Vogel, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)



Alfredo Skrebsky Cezar, Dr. (UNIJUI)



Gustavo Cauduro Cadore, Dr.



Cássia Bagolin da Silva, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)

Santa Maria, RS  
2019

## RESUMO

### MÉTODOS DE CONTROLE ANTI-HELMÍNTICO NA PECUÁRIA DE CORTE – IMPACTOS ECONÔMICOS E CONSEQUÊNCIAS

AUTOR: Felipe Lamberti Pivoto  
ORIENTADORA: Marta Lizandra do Rego Leal

A pecuária de corte brasileira está em constante evolução e atingiu patamares que a tornaram um dos principais setores econômicos do País. As infecções por nematódeos gastrointestinais constituem um importante entrave ao desenvolvimento da bovinocultura de corte. Isso porque, parasitas como *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp. e *Oesophagostomum* spp. causam grandes perdas produtivas - como a redução no ganho de peso – em decorrência da espoliação de seus hospedeiros. O controle químico é o método mais preconizado para reduzir essas perdas e é realizado, especialmente, através do uso de anti-helmínticos das famílias das lactonas macrocíclicas, dos benzimidazóis e dos imidazotiazóis. No entanto, a eficácia dessas moléculas está comprometida em virtude do cenário atual de resistência parasitária. Com isso, o objetivo desta tese foi descrever a manifestação clínica de helmintose em bovinos, demonstrar o manejo adotado para o controle de nematódeos em uma propriedade, avaliar a eficácia dos produtos, analisar a diferença de produtividade e de contagem de ovos por grama de fezes quando se realiza o tratamento supressivo e estratégico com produtos de baixa e alta eficácia, além de quantificar o impacto econômico causado pelo tratamento anti-helmíntico ineficaz utilizado nas propriedades. Para isso, dividimos o trabalho em dois estudos. No primeiro estudo, nós relatamos uma suspeita clínica de helmintose, o histórico de tratamentos antiparasitários de 2006 a 2016 realizados na propriedade, avaliamos a eficácia de sete diferentes produtos anti-helmíntico e com base no resultado do teste de eficácia dois grupos de dez animais foram formados e tratados nos meses de junho, setembro e novembro com produto de baixa (doramectina) e alta (levamisol) eficácia e acompanhados por 252 dias (junho de 2017 a fevereiro de 2018), com avaliação mensal do peso de cada animal e da contagem de ovos por grama de fezes. No segundo estudo, realizou-se testes de eficácia de sete anti-helmínticos e com base nos resultados formamos cinco grupos experimentais: 1. *Strat-Low* tratamento estratégico (fevereiro, maio, setembro e novembro) com produto de baixa eficácia (< 20%), 2. *Supp-Low* tratamento supressivo (mensal) com produto de baixa eficácia, 3. *Strat-High* tratamento estratégico com produto de alta eficácia (> 95%), 4. *Supp-High* tratamento supressivo com produto de alta eficácia, e 5. *Control* animais não tratados. No período experimental realizaram-se, mensalmente, avaliação do peso vivo dos animais, contagem de ovos por grama de fezes, e no fim se calculou o custo total dos tratamentos e o custo benefício de cada tratamento. O resultado do primeiro estudo confirmou a suspeita clínica de helmintose e o histórico de tratamento revelou que 96,5% dos tratamentos foram realizados com lactonas macrocíclicas, as quais no teste de eficácia apresentaram insatisfatória redução da contagem de ovos por grama de fezes, com levamisol e albendazole sendo os princípios ativos com eficácia superior a 95%. Os animais tratados com levamisol ganharam 12,1 kg de peso a mais que os tratados com doramectina. Já no segundo estudo, os resultados demonstraram que após a resistência parasitária estar instalada na propriedade a realização do tratamento supressivo não acarreta em melhora nos parâmetros parasitológicos e produtivos dos animais. Além disso, a relação custo/benefício mais favorável foi observada quando se realizou o tratamento estratégico com produto eficaz. Podemos concluir que as lactonas macrocíclicas são os anti-helmínticos mais utilizados e a resistência parasitária a essas moléculas estão presentes nas propriedades estudadas, perdas produtivas são geradas pelo controle inadequado dos parasitos com aumento da frequência de tratamento não sendo satisfatório para reverter o cenário de resistência parasitária. A realização do teste de eficácia para a escolha do produto antiparasitário é fundamental, com quatro tratamentos anti-helmínticos por ano, utilizando produtos de alta eficácia, sendo indicado para o controle dos nematódeos gastrointestinais em novilhas criadas no sul do Brasil. Além disso, essa abordagem foi economicamente viável e preservou a molécula do uso excessivo.

**Palavras-chave:** Anti-helmíntico. Bovinos. Nematódeos. Produtividade. Tratamento estratégico.

## ABSTRACT

### METHODS OF ANTHELMINTICS CONTROL IN BEEF CATTLE – ECONOMIC IMPACTS AND CONSEQUENCES

AUTHOR: Felipe Lamberti Pivoto

ADVISOR: Marta Lizandra do Rego Leal

Brazilian beef cattle are constantly evolving and has reached levels that have made it one of the main economic sectors of the country. Infections by gastrointestinal nematodes constitute an important obstacle to the development of beef cattle. That is because, parasites such as *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp. and *Oesophagostomum* spp. they cause great productive losses - like the reduction in weight gain - as a result of the spoliation of their hosts. Chemical control is the most recommended method to reduce these losses and is performed, especially, by the use of anthelmintics of the families of macrocyclic lactones, benzimidazoles and imidazothiazoles. However, the efficacy of these molecules is compromised due to the current scenario of parasitic resistance. Hence, the objective of this thesis was to describe the clinical manifestation of helminthosis in cattle, to demonstrate the management adopted for the control of nematodes in a farm, to evaluate the effectiveness of the products, to analyze the difference in productivity and egg count per gram of feces when the suppressive and strategic treatment is carried out with products of low and high efficacy, besides quantifying the economic impact caused by the ineffective anthelmintic treatment used in the farms. For this, we divided the work into two studies. In the first study, we reported a clinical suspicion of helminthosis, the history of antiparasitic treatments from 2006 to 2016 conducted at the farm, we evaluated the efficacy of seven different anthelmintic products and based on the efficacy of the test result, two groups of ten animals were formed and treated during June, September and November with products of low- and high-efficacy, doramectin and levamisole, respectively, and followed up for 252 days (June 2017 to February 2018), with monthly evaluation of the weight of each animal and the count of eggs per gram of feces. In the second study, we performed efficacy tests of seven anthelmintic and based on the results we formed five experimental groups: 1. *Strat-Low* strategic treatment (February, May, September and November) with low-efficacy product (<20% ), 2. *Supp-Low* suppressive (Monthly) treatment with low-efficacy product, 3. *Strat-High* strategic treatment with high-efficacy product (> 95%), 4. *Supp-High* suppressive treatment with high-efficacy product, and 5. *Control* untreated animals. In the experimental period, monthly, the animals' live weight, egg counts per gram of feces were evaluated, and the total cost of the treatments and the cost benefit of each treatment were calculated. The results of the first study confirmed the clinical suspicion of helminthosis and the historical treatment revealed that 96.5% of the treatments were performed with macrocyclic lactones, which in the efficacy test presented an unsatisfactory reduction in the egg count per gram of feces with levamisole and albendazole with the active ingredients being effective over 95%. The animals treated with levamisole gained 12.1 kg more weight than those treated with doramectin. In the second study, the results demonstrated that after the parasitic resistance is installed in the farm, the suppressive treatment does not lead to an improvement in the parasitological and productive parameters of the animals. In addition, the most favorable cost-benefit was observed when the strategic treatment with effective product was performed. We can conclude that macrocyclic lactones are the most used anthelmintic and the parasite resistance to these molecules are present in the studied farms, productive losses are generated by the inadequate control of parasites with increased frequency of treatment not being satisfactory to reverse the scenario parasitic resistance. The perform an efficacy test is mandatory to select an effective anthelmintic drug which allows adoption of an effective and profitable anthelmintic regimen. Our study showed that four anthelmintic treatments per year, using a high-effective drug, are efficient to control GIN of growing heifers raised at cultivated pasture in the conditions of southern Brazil. Moreover, this approach was economic feasible and avoid excessive frequencies of treatments.

**Key words:** Anthelmintic. Bovines. Nematodes. Productivity. Strategic treatment.

## LISTA DE FIGURAS

### ARTIGO I

Figura 1 - Peso vivo (kg) de bovinos infectados naturalmente por nematódeos gastrointestinais e tratados com doramectina 1% (Dora) e levamisol (Leva).....43

### ARTIGO II

Figure 1 - Climate conditions recorded by the National Institute of Meteorology (INMET) at the study location during the Experiment 2 (D0 to D376; May 2017 to May 2018), including atmosphere temperature (minimum and maximum means at °C) and monthly accumulated rainfall (precipitation mm).....73

Figure 2 - Experimental design of the Experiment 2, where: dark arrows indicate strategic treatments, unfilled arrows indicate suppressive treatments, and w indicate weightings and fecal collections performed in grazing heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes.....74

Figure 3 - Means and standard deviations of EPG counts [transformed to  $\log_{10}(\text{EPG} + 1.5)$ ] in heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).....75

Figure 4 - Genera of gastrointestinal nematodes recovered from larvae cultures performed from the feces of heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).....76

Figure 5. Break-even point from which the additional liveweight gain promoted by the treatment was enough to pay the costs of the treatment at the minimum price attributed to each live kilogram of the heifer.....77

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO I

- Tabela 1 - Média de ovos por grama de fezes (OPG) de cada grupo antes do tratamento (D0) e 14 dias após o tratamento (D14), porcentagem de redução (PR) na contagem de OPG e 95 % de limite de confiança mais baixo (LCL) e PR de cada gênero de nematódeo gastrointestinal comparando a cultura de larvas no D0 e D14 de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrointestinais.....44
- Tabela 2 - Histórico de tratamento anti-helmíntico de 2006 a 2016 em bovinos de corte de uma propriedade do município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil.....45
- Tabela 3 - Média de ovos por grama de fezes (OPG) e porcentagem de larvas de terceiro estágio dos gêneros de Strongylida recuperadas por cultura de cada grupo de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrointestinais.....46
- Tabela 4 - Frequência anual de tratamentos anti-helmínticos em bovinos de uma propriedade do município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil.....47

### ARTIGO II

- Table 1 - Percentage of reduction of EPG (PR) and 95 % confidence interval (LCL) and percentage of reduction for each genus of Strongylida comparing larvae cultures before (D0) and after (D14) anthelmintic treatments in calves naturally infected by gastrointestinal nematodes.....78
- Table 2 - Mean liveweight of the heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).....79
- Table 3 - Mean liveweight gain of the heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control)..80
- Table 4 - Total and individual costs of the treatments performed in heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs.....81
- Table 5 - Analysis of the economic viability of the treatments performed in heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs compared to untreated control group (control).....82
- Table 6 - Costs of the efficacy test performed to select the anthelmintic drugs to be used in the target herd.....83

## SÚMARIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>11</b>
2.1	NEMATÓDEOS GASTROINTESTINAIS EM BOVINOS.....	11
2.2	PERDAS ECONÔMICAS EM BOVINOS DE CORTE CAUSADAS POR NEMATÓDEOS GASTROINTESTINAIS.....	13
2.3	CONTROLE QUÍMICO DE NEMATÓDEOS GRASTROINTESTINAIS.....	15
2.4	RESISTÊNCIA PARASITÁRIA AOS ANTI-HELMÍNTICOS EM BOVINOS.....	17
<b>3</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS.....</b>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>ARTIGO I - Nematódeos gastrointestinais em bovinos: Manifestação clínica, histórico de tratamentos, eficácia dos produtos e benefício da utilização de anti- helmíntico eficaz.....</b>	<b>21</b>
<b>5</b>	<b>ARTIGO II - Economic impacts of high or low effective anthelmintic drugs used within strategic or suppressive regimens of treatment in grazing heifers.....</b>	<b>48</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>84</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>87</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>88</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pecuária de corte é uma das principais atividades econômicas do Brasil, com rebanho de aproximadamente 215 milhões de bovinos, distribuídos em 2,5 milhões de estabelecimentos agropecuários (IBGE, 2017). Podemos observar uma significativa evolução da cadeia produtiva, seja pelo aumento do efetivo de animais, aproximadamente dobrou das últimas quatro décadas, ou ainda pelo aumento do ganho de peso dos animais, diminuição na mortalidade, aumento nas taxas de natalidade e expressiva diminuição na idade ao abate, com mais de 2 milhões de Kg de carcaça bovina abatida somente no terceiro trimestre de 2018 (IBGE, 2019) .

Essa evolução ocorreu em meio a vários entraves como redução na área de pastagens, instabilidade no valor comercial do animal, aumento do custo dos insumos pecuários. Somam-se a isso, desafios sanitários que trazem perdas diretas, com redução da produtividade ou até morte dos animais, ou perdas indiretas como, por exemplo, os maiores gastos com o uso de medicamentos para controle e prevenção de enfermidades (CHARLIER et al., 2016; CRAIG, 2018).

Entre os desafios sanitários, os parasitas são responsáveis por grandes perdas econômicas na pecuária de corte (GRISI et al., 2014; JAJA et al., 2017; RAMOS et al., 2018), destacando-se os nematódeos gastrointestinais que ocasionam redução da produtividade nos bovinos (CANDY et al., 2018; STROMBERG et al., 2012). Para minimizar essas perdas, os proprietários rurais realizam o controle parasitário basicamente através de produtos químicos como benzimidazóis, lactonas macrocíclicas, imidazotiazóis e salicilanalidas (SANGSTER, 2001). No entanto, o atual cenário é preocupante, com relatos de resistência parasitária aos anti-helmínticos em várias regiões do mundo e para todos os grupos químicos dessas drogas (BAIAK et al., 2018). Esse cenário, de resistência parasitária, é ignorado ou negligenciado por grande parte dos produtores, que no intuito de melhorarem a performance de seus rebanhos realizam tratamentos anti-helmínticos em intervalos de tempo reduzidos, por exemplo, mensalmente (SUAREZ E CRISTEL, 2014) e com produtos de baixa eficácia (BORGES et al., 2015), o que reduz o desempenho do animal infectado (STROMBERG et al., 2012; SUTHERLAND E LEATHWICK, 2011).

Na maioria das propriedades rurais pouco são os critérios adotados para o controle dos nematódeos gastrointestinais. Há carência de informações aos produtores acerca de quais critérios e protocolos poderiam ser adotadas nas fazendas para o tratamento anti-helmíntico ser economicamente viável. Nossas hipóteses são: (i) que nenhum critério epidemiológico é

preconizado para a realização do controle anti-helmíntico; (ii) os proprietários estão tratando seus animais com produtos de baixa eficácia anti-helmíntica; (iii) grandes perdas econômicas por nematódeos gastrointestinais são presentes na propriedades em virtude da utilização de produtos com baixa eficácia; e (iv) maior lucratividade na pecuária seria alcançada se a análise da eficácia de cada produto fosse realizado previamente ao tratamento.

Para comprovar essas hipóteses e preencher essas lacunas científicas dividimos essa tese em dois trabalhos com o objetivo de descrever a manifestação clínica de helmintose em bovinos, demonstrar o manejo adotado para o controle de nematódeos em uma propriedade, avaliar a eficácia dos produtos, analisar a diferença de produtividade e de contagem de ovos por grama de fezes quando se realiza o tratamento supressivo e estratégico com produtos de baixa e alta eficácia, além de quantificar o impacto econômico causado pelo tratamento anti-helmíntico ineficaz utilizado nas propriedades.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 NEMATÓDEOS GASTROINTESTINAIS EM BOVINOS

Nematódeos gastrointestinais são parasitas que acometem tanto pequenos quanto grandes ruminantes. Entre os grandes ruminantes podemos considerar os bovinos como os mais susceptíveis a esses parasitas, principalmente os dos gêneros *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., *Trichostrongylus* spp., *Cooperia* spp., *Nematodirus* spp. e *Oesophagostomum* spp. (CRAIG, 2018). Com prevalência variável e relacionada às diferenças climáticas de cada região a cada estação do ano. No Brasil, *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. são os gêneros predominantes em bovinos do Rio Grande do Sul (CEZAR et al., 2010; RAMOS et al., 2018), Mato Grosso do Sul (BORGES et al., 2015) e São Paulo (SOUTELLO et al., 2007).

Variações na prevalência dos gêneros, ao longo do ano, ocorrem em virtude de fatores como temperatura e a presença do hospedeiro, uma vez que o ciclo parasitário dos nematódeos gastrointestinais é direto com fases de vida livre e parasitária. Na fase de vida livre os ovos que saem nas fezes eclodem dando origem a larvas de primeiro estágio que se alimentam de bactérias nas fezes, tornam-se larvas de segundo estágio e, posteriormente, através da retenção da cutícula, passam a fase infectante (L3 - larva de terceiro estágio). Esse último estágio de vida livre não se alimenta e permanecem nas fezes até as condições climáticas serem favoráveis, principalmente umidade, quando então migram das fezes para a vegetação onde são ingeridas pelo hospedeiro (CHARLIER et al., 2016; CRAIG, 2018). O tempo de evolução da fase de vida livre depende de fatores ambientais como umidade e temperatura. Embora a umidade presente no bolo fecal demonstre ser suficiente para a maturação do ovo, eclosão e muda das fases, a temperatura exerce correlação negativa com o tempo de desenvolvimento da fase de vida livre. Assim, o desenvolvimento ocorre em uma semana com temperatura média de 20°C e em seis semanas com temperatura média de 4°C. Em climas similares ao do Rio Grande do Sul, o desenvolvimento de ovo até L3 ocorre entre 4 a 6 semanas no inverno, entre 1 a 4 semanas na primavera, entre 1 a 2 semanas no verão e entre 3 a 5 semanas no outono (FIEL et al., 2012).

Pode-se observar, ainda, que cada espécie de parasita tem um comportamento diferente quanto ao seu desenvolvimento na fase de vida livre, em que nas estações mais frias, outono, inverno e primavera, o desenvolvimento é mais favorável para *Ostertagia* spp., *Cooperia* spp. e *Trichostrongylus* spp. e na estação mais quente, verão, para *Haemonchus* spp. (CRAIG, 2018; FIEL et al., 2012).

As L3, que permanecem 89% em forrageiras distantes até 15 cm do bolo fecal e 11% entre 15 e 30 cm distantes do bolo fecal (ALMEIDA et al., 2005), após serem ingeridas pelo hospedeiro dão início a fase de vida parasitária infectando diferentes órgãos, dependendo do gênero do parasito. Os nematódeos gastrointestinais *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Ostertagia* spp. se alojam na mucosa do abomaso, *Cooperia* spp. na mucosa do intestino delgado e *Oesophagostomum* spp. na mucosa do intestino grosso, locais onde realizam duas mudas até se tornarem parasitas adultos, os quais eliminam ovos para o ambiente junto com as fezes dos animais. Esse processo ocorre em aproximadamente três semanas (CHARLIER et al., 2016; CRAIG, 2018).

Cada gênero de nematódeos tem suas particularidades, a *Ostertagia* spp. por exemplo, apresenta um curioso fenômeno que é a hipobiose das L4 na mucosa do abomaso. A hipobiose, que é a inibição do desenvolvimento da L4, é induzida por vários fatores como: (i) imunidade adquirida pelo hospedeiro; (ii) competição intragênero, mecanismo de regulação exercida pelo parasita em virtude da carga parasitária; (iii) ambientais, quando esses não são favoráveis para o desenvolvimento do ciclo de vida desse parasita (FERNÁNDEZ et al., 1999), como se fosse um mecanismo de proteção da perpetuação da espécie. A doença causada por esse gênero de parasito - Ostertagiose, ocorre de duas formas: Tipo I – em virtude de larvas imaturas emergirem das glândulas gástricas 10 a 14 dias após a ingestão; Tipo II – que ocorre pelas larvas adultas que estavam em hipobiose emergirem das glândulas gástricas do abomaso (CRAIG, 2018). Essa saída de larvas adultas das glândulas gástricas causa alterações estruturais e físicas no abomaso como a hipertrofia da mucosa e degeneração ou substituição de células especializadas das glândulas gástricas, que reduz a produção de ácido clorídrico e pepsinogênio, o que culmina no aumento do pH abomasal com consequente proliferação bacteriana na superfície epitelial e diarreia no hospedeiro (MENDES et al., 2016; RINALDI et al., 2011).

*Haemonchus* spp. são parasitos hematófago que se aloja no abomaso dos hospedeiros, sendo considerado um dos parasitos mais prolíficos (CRAIG, 2018). Bovinos parasitados por *Haemonchus* spp. podem apresentar anemia, hipoproteïnemia, perda excessiva de ferro, edema submandibular, caquexia, eritema e anorexia (FELIPPELLI et al., 2014).

*Cooperia* spp. habita o intestino delgado dos ruminantes e causa anorexia, atrofia das vilosidades intestinais e diarreia, sendo considerada o nematódeo gastrointestinal menos patogênico, mas que em grandes quantidades pode desencadear perdas produtivas no hospedeiro (CANDY et al., 2018) em decorrência da redução da absorção de nutrientes e da hiporexia/anorexia dos animais (STROMBERG et al., 2012).

*Trichostrongylus* spp. habita o abomaso dos bovinos e em casos de supressão da resposta imunológica dos animais, observa-se curso da doença similar à da infecção por *Ostertagia* spp. *Oesophagostum* spp. habita o intestino grosso dos bovinos e 7 a 10 dias após a ingestão das L3 desse parasito, as L4 emergem da mucosa e ocorre formação de nódulos que consequentemente levam a diarreia dos animais acometidos (CRAIG, 2018).

## 2.2 PERDAS ECONÔMICAS EM BOVINOS DE CORTE CAUSADAS POR NEMATÓDEOS GASTROINTENTINAIS

A rentabilidade da pecuária está atrelada a adoção de medidas de manejo que possibilitem aos animais expressarem todo seu potencial genético, com o máximo de produtividade no menor tempo possível. Para que isso ocorra, é fundamental que desde o nascimento os animais estejam em condições que possibilitem o seu máximo desempenho, o qual é obtido através da redução de fatores limitantes, como a infecção por nematódeos gastrointestinais. Essa redução de produtividade dos bovinos depende da patogenicidade de cada gênero de nematódeo gastrointestinal (CHARLIER et al., 2016; CRAIG, 2018).

Bezerros desmamados apresentaram, no período de 6 meses, diferença de 12,9 kg entre os tratados com produtos de eficácia satisfatória e os tratados com produtos ineficazes contra *Cooperia oncophora* (CANDY et al., 2018). Isso demonstrou as perdas produtivas causadas pelas espoliações que esse nematódeo ocasiona em bovinos jovens. Em outro estudo, o ganho de peso médio diário de bovinos jovens não infectados e infectados por *Cooperia punctata* foi de 1,47 kg e 1,36 kg, respectivamente, representando ganho de 7,5% a mais nos animais não infectados por esse parasito (STROMBERG et al., 2012).

Nos EUA, EDMONDS et al. (2018) avaliaram 176 novilhos, com idade entre 6 e 8 meses, criados a pasto e infectados naturalmente por nematódeos gastrointestinais, e observaram que em 118 dias o ganho médio diário foi de 530 g nos animais não tratados e de 680 g nos animais tratados, diferença de 150 g de peso vivo por dia. Em Campo Grande, MS, Brasil, 100 novilhos nelore com 15 meses de idade apresentaram em um período de 112 dias ganho médio diário de 410 g e 300 g entre animais tratados com anti-helmíntico e não tratados, respectivamente (BORGES et al., 2013).

Em relação a recria de fêmeas bovinas, é importante notar que o acasalamento deixou de ocorrer aos 36 meses de idade, passando para os 24 meses e, mais recentemente, para aos 14 meses de idade. No entanto, para se atingir esse objetivo práticas rigorosas de manejo são

necessárias no intuito de prevenir e controlar agentes nocivos à produção animal. Nematódeos gastrointestinais interferem na taxa de crescimento das fêmeas bovinas, com novilhas não tratadas com anti-helmínticos apresentando ganho de peso médio diário de 650 g, enquanto que novilhas tratadas com anti-helmínticos ganharam 800 g de peso vivo médio diário, tendo os dois grupos peso inicial de aproximadamente 200 kg (FORBES et al., 2000). Nessa mesma linha de pensamento, no Mato Grosso do Sul, Brasil, fêmeas nelores com peso inicial de aproximadamente 152 kg e com idade entre 8 e 10 meses, foram avaliadas por dois anos em diferentes protocolos de tratamentos anti-helmínticos. Os animais tratados obtiveram ganho superior aos não tratados de 86 g por dia no primeiro ano e 115 g por dia no segundo ano de estudo. Os animais não tratados, no final do segundo ano apresentaram peso vivo de 308 kg, enquanto os animais tratados apresentaram, no mesmo período, peso vivo de 347 kg. Observou-se também que as novilhas tratadas atingiram o peso de 308 kg com antecedência de 56 dias em relação às aquelas não tratadas (HECKLER et al., 2016).

A terminação de bovinos para o abate pode ser realizada em campo nativo, estando os animais em constante contato com os nematódeos, ou ainda em confinamento, onde a reinfecção é praticamente nula, principalmente quando se trata de oferta de dietas compostas basicamente por grãos. No entanto, o controle de parasitas é fundamental na entrada dos animais ao sistema de terminação, evitando com isso a redução na absorção de nutrientes e a redução do apetite, ocasionados pela infecção por nematódeos, que culminará em menor conversão alimentar e, conseqüentemente, menor rentabilidade da atividade. Como pode ser observado pelo estudo realizado por FAZZIO et al. (2014), que observaram que bovinos tratados com anti-helmínticos e confinados por 126 dias ganharam 17 kg a mais do que aqueles não tratados.

A realização de tratamento com produtos de alta eficácia em relação àqueles de baixa eficácia também demonstra diferenças quando se analisa a produtividade dos animais em confinamento, com ganho superior de 8,3% nos bovinos tratados com produtos de alta eficácia em relação aos tratados com produtos de baixa eficácia (FAZZIO et al., 2012) ou ainda acréscimo de 160 g por dia quando seguido o mesmo sistema de tratamento (eficaz x ineficaz) durante 47 dias de confinamento (FAZZIO et al., 2016). Além disso, o peso da carcaça também sofre interferência da infecção por nematódeos gastrointestinais, com redução em média de 2,19 kg por carcaça dos animais infectados em relação a animais não infectados, o equivalente a 1,07% do peso final de carcaça (MENDES et al., 2016).

No entanto, ao analisarem-se as perdas econômicas ocasionadas pelos nematódeos gastrointestinais devemos observar outros fatores envolvidos e não somente a perda de peso dos animais. As despesas com medicamentos, com mão de obra, com instalações e com

equipamentos, apesar de contribuir sobremaneira para as perdas econômicas causadas por infecções por nematódeos gastrointestinais, pouco foram quantificadas para demonstrar o real prejuízo que esses parasitos acarretam para a atividade pecuária.

### 2.3 CONTROLE QUÍMICO DE NEMATÓDEOS GASTROINTESTINAIS

Visto as perdas ocasionadas pelos nematódeos fica evidente que o controle parasitário é fundamental para obterem-se índices produtivos satisfatórios em bovinos de corte. O método de controle mais difundido e realizado pelas fazendas é o tratamento químico (GEURDEN et al., 2015) que, na maioria esmagadora das vezes, é realizado com uso de lactonas macrocíclicas, benzimidazóis ou imidazotiazóis (CHARLIER et al., 2016).

Ivermectina, abamectina, doramectina, moxidectina e eprinomectina são princípios ativos de anti-helmínticos da família das lactonas macrocíclicas (CHARLIER et al., 2016). Nessa família, estão as drogas mais frequentemente utilizadas para o controle de parasitos (GASBARRE, 2014), principalmente por apresentarem eficácia por várias semanas e contra todos os estágios de vida parasitária dos nematódeos, inclusive em larvas em hipobiose, e por serem endectocidas, ou seja, apresentarem ação contra endo- e ectoparasitas (CHARLIER et al., 2016; MOREL et al., 2017), o que possibilita um controle integrado dos parasitos.

O mecanismo de ação das lactonas macrocíclicas é através do aumento da permeabilidade dos canais de cloro, especificamente aqueles bloqueados pelo glutamato, que estão presentes nos nematódeos e não em vertebrados, conferindo ampla margem de segurança dessas drogas aos mamíferos. No entanto, outro caminho de ação também é observado, agindo através da interação de canais ligados ao GABA, glicina, histamina e receptores nicotínicos de acetilcolina, os quais estão presentes em vertebrados e invertebrados. Esses dois mecanismos de ação afetam a motilidade, alimentação e reprodução dos nematódeos (LAING et al., 2017). Fármacos à base de lactonas macrocíclicas possuem característica lipofílicas e hidrofóbicas, e podem ser aplicados por via oral, subcutânea ou tópica (pour on), com estudos demonstrando diferença na eficácia anti-helmíntica conforme a via de administração (LIFSCHITZ et al., 2017).

O pico plasmático de ivermectina em animais tratados por via subcutânea é maior em relação aos animais tratados por via oral, mas a concentração desse princípio ativo nas fezes é maior quando administrado por via oral, e resulta em maior eficácia contra os nematódeos,

provavelmente em virtude do contato direto da droga com o parasito no local da infecção (CANTON et al., 2018).

Em relação a moxidectina, a via oral apresentou melhor eficácia, seguido da via subcutânea e posteriormente da pour on, essa última sendo a via com maior variabilidade na concentração plasmática de ativos após o tratamento, em virtude de fatores climáticos que podem interferir na absorção do produto (LEATHWICK E MILLER, 2013).

Benzimidazóis são anti-helmínticos com ação em cestodas, trematodas e nematódeos que em bovinos podem ser utilizados por via oral ou subcutânea, ocasionando a morte dos helmintos através da inibição da formação de microtúbulos (estruturas formadas por heterodímeros de  $\alpha$ - $\beta$ -tubulina) por ligação dos benzimidazóis a  $\beta$ -tubulina. Esses microtúbulos exercem funções primordiais na homeostase celular dos parasitas e em virtude dessa inibição as drogas dessa família têm ação ovicida, larvicida e adulticida (FURTADO et al., 2016).

Entre os imidazotiazóis temos o levamisol que, além de ser um potente anti-helmíntico, tem ação anti-inflamatória, antioxidante, imunomoduladora e propriedades antineoplásicas (CHANDY et al., 2016; LIU et al., 2018; MARTIN et al., 2012). Como anti-helmíntico o levamisol age abrindo os canais iônicos do receptor de acetilcolina, permitindo a entrada de íons de cálcio, causando despolarização dos nervos dos nematódeos e contração muscular espástica, expelindo os nematódeos do sistema gastrointestinal. Outro mecanismo de ação do levamisol é através do bloqueio da conversão do fumarato em succinato, inibindo assim a produção de trifosfato de adenosina (CHANDY et al., 2016).

Programas de controle anti-helmíntico devem se basear principalmente em dois fatores, a epidemiologia e a eficácia de cada anti-helmíntico dentro da propriedade. A partir daí, buscando o equilíbrio entre a menor frequência de tratamento e a maior produtividade animal (RAMOS et al., 2018). Esse equilíbrio será alcançado visando-se o tratamento com produtos de alta eficácia anti-helmíntica na propriedade e em momentos que possamos reduzir ao máximo a translação de larvas do pasto para o hospedeiro, o que está diretamente ligado a fatores como chuva e temperatura (FIEL et al., 2012; HECK et al., 2005). Deve-se levar em conta, ainda, que bovinos mais jovens são mais susceptíveis a helmintoses que os adultos (ANTONELLO et al., 2010).

A utilização de produtos de longa ação para o controle de nematódeos, com até 150 dias (SOLL et al., 2013), é outra prática frequentemente utilizada pelos proprietários, e vem despertando interesse de pesquisadores, principalmente em virtude da resistência parasitária (LOPES et al., 2013). Nesses casos o mais importante é ter cautela, avaliando todos os fatores envolvidos no sistema de produção para se adotar ou não a utilização de produtos com

persistência elevada no organismo animal, não esquecendo da importância de se avaliar se a molécula é eficaz nas cepas de parasitas presentes na propriedade.

Estratégias de controle parasitário mais recentes sugerem a avaliação da microbiota de cada propriedade para a decisão da realização ou não do tratamento anti-helmíntico, avaliando a dinâmica populacional de nematódeos através da técnica de contagem de larvas no pasto que possibilita o diagnóstico mais preciso da necessidade da realização do tratamento (MOLENTO et al., 2016). Além disso, o tratamento seletivo de bovinos vem sendo preconizado, a partir do qual são tratados somente os animais mais susceptíveis a infecção, permanecendo o restante do rebanho, bovinos resilientes e resistentes, sem serem tratados. Esse manejo limita a pressão de seleção nos alelos susceptíveis da população de nematódeos presente nos animais não tratados (KENYON E JACKSON, 2012), formando uma população de refugia, cepas de parasitas que não tiveram contato com anti-helmíntico, uma vez que reduz em mais de 50% o uso de anti-helmíntico na propriedade (MOLENTO, 2009; O'SHAUGHNESSY et al., 2015). Porém, essa técnica não está totalmente difundida, principalmente pela dificuldade em unificar um indicador que possa reportar quais bovinos que devem ser tratados em determinado momento, já tendo sido analisados indicadores patofisiológico (ganho de peso), parasitológico (contagem de ovos por grama de fezes) e imunológico (níveis de pepsinogênio), todos demonstrando resultados satisfatórios para um determinado parasito e insatisfatório para outro parasito (MERLIN et al., 2017).

Contudo, o controle químico é fundamental para a lucratividade da pecuária de corte e estudos que avaliam quais são os melhores momentos e formas de aplicação devem ser incentivados, sempre visando preservar ao máximo as moléculas existentes no mercado.

#### 2.4 RESISTÊNCIA PARASITÁRIA AOS ANTI-HELMÍNTICOS EM BOVINOS

A resistência a anti-helmínticos é um dos principais problemas atuais para o controle de nematódeos gastrointestinais em bovinos. Esse problema ocorre em todas as partes do mundo, com relatos recentes de resistência parasitária na América do Sul (BORGES et al., 2015; CEZAR et al., 2010; CRISTEL et al., 2017; RAMOS et al., 2016), América Central (ALONSO-DÍAZ et al., 2015; BECERRA-NAVA et al., 2014), América do Norte (EDMONDS et al., 2010; GASBARRE et al., 2009), Europa (DEMELER et al., 2009; GEURDEN et al., 2015; MARTÍNEZ-VALLADARES et al., 2015) e Oceania (COTTER et al., 2015; WAGHORN et al., 2016).

Na América do Sul, analisando-se a eficácia das lactonas macrocíclicas na região sul do Brasil, detectou-se resistência a doramectina e ivermectina, moléculas frequentemente utilizadas (CEZAR et al., 2010). Esses mesmos autores observaram que a abamectina também foi ineficaz no controle de nematódeos gastrointestinais, embora no histórico da propriedade avaliada, essa molécula nunca houvesse sido utilizada, caracterizando o fenômeno de resistência lateral. No Rio Grande do Sul, Brasil, observou-se que todas as lactonas macrocíclicas foram ineficazes no controle de nematódeos gastrointestinais, com mais de 60% das propriedades estudadas apresentando multi-resistência (RAMOS et al., 2016). No Mato Grosso do Sul, Brasil, ivermectina e doramectina, foram ineficazes no controle dos nematódeos (BORGES et al., 2015). Em outros países da América do Sul, como Argentina a resistência à anti-helmínticos é similar ao do Brasil, com resistência a pelo menos um grupo químico entre os testados em mais de 95% das propriedades analisadas (CRISTEL et al., 2017).

Na América Central, a presença de resistência ao levamisol foi reportada primeiramente no México, em estudo realizado por BECERRA-NAVA et al. (2014), no ano de 2012, onde de onze propriedades analisadas, quatro as populações parasitárias foram classificadas como resistentes, quatro com suspeita de resistência e três como susceptíveis ao levamisol. Quando avaliada a ivermectina, observou-se frequência de 71,4% das fazendas do México com nematódeos resistentes (ALONSO-DÍAZ et al., 2015). Na América do Norte, GASBARRE et al. (2009) relataram resistência parasitária a avermectinas, milbemicinas e benzimidazóis ao avaliarem um rebanho comercial de bovinos nos Estados Unidos da América.

Na Europa, vários países têm relatos de resistência a anti-helmínticos, como Alemanha, Bélgica, Suíça (DEMELER et al., 2009), Reino Unido, Itália, França (GEURDEN et al., 2015) e Espanha (MARTÍNEZ-VALLADARES et al., 2015), com destaque para as lactonas macrocíclicas que em todos esses estudos foram ineficazes no controle dos nematódeos gastrointestinais. Na Oceania, a presença de resistência a ivermectina em bovinos foi relatada na Austrália (COTTER et al., 2015) e na Nova Zelândia (WAGHORN et al., 2016).

Ao analisar os testes de eficácia de anti-helmínticos realizados nos mais diversos locais do mundo, fica evidente que as lactonas macrocíclicas são moléculas que atualmente há baixa frequência de propriedades em que apresentem eficácia satisfatória, principalmente a ivermectina, a qual é o princípio ativo anti-helmíntico com mais relatos de resistência parasitária do mundo. Outras famílias de anti-helmíntico também têm suas eficácias comprometidas em algumas fazendas, contudo a frequência de resistência a moléculas, como os benzimidazóis e imidazotiazóis, é menor quando comparada às lactonas macrocíclicas (BAIAK et al., 2018; CRISTEL et al., 2017; SUTHERLAND E LEATHWICK, 2011).

Há fatores biológicos, genéticos e operacionais que podem acelerar o desenvolvimento da resistência parasitária, sendo fundamental o conhecimento desses fatores para que possamos retardar ao máximo a ocorrência desse fenômeno. Dentre esses fatores, os operacionais são os que mais podemos interferir através da adequação de manejos sanitários. A frequência de tratamento pode ser considerada um dos principais mecanismos que aceleram a resistência parasitária, pois a cada tratamento a droga utilizada elimina as cepas susceptíveis e seleciona as cepas resistentes, tornando a população de parasitos predominantemente resistentes, sendo o uso excessivo de anti-helmínticos estritamente associado a ocorrência de resistência parasitária (SUAREZ E CRISTEL, 2014). Utilização de produtos de longa ação também contribui sobremaneira para acelerar o surgimento da resistência parasitária, pois a redução nos níveis das drogas de longa ação permite que as larvas resistentes se estabeleçam, enquanto que as susceptíveis não (SUTHERLAND E LEATHWICH, 2011). Do mesmo modo, a utilização de produtos em sub dosagem entra como um fator de risco, em decorrência da seleção de parasitos resistentes devido a eliminação somente dos genótipos mais susceptíveis, os quais são eliminados mesmo com baixas doses do princípio ativo (LEATHWICH E LUA, 2017).

Com a presença da resistência parasitária aos anti-helmínticos em várias regiões do mundo (BAIAK et al., 2018), estratégias de manejo são descritas e podem ser utilizadas para o desenvolvimento de protocolos de tratamentos anti-helmínticos em propriedades com resistência parasitária, sendo os seguintes: I - Identificar e minimizar as práticas que aceleram a resistência, como por exemplo alta frequência de tratamentos; II – Manter a população de nematódeos susceptíveis, refugia, que pode ser alcançado, por exemplo, com a realização do tratamento seletivo; III – Otimizar a escolha dos anti-helmínticos, principalmente através da realização de teste de eficácia prévio ao tratamento e, quando necessário, adotar a associação de produtos com mecanismos de ações distintas (GEARY et al., 2012), nunca associando fármacos com mecanismo de ação similar ou dobrando a dose de moléculas para as quais os parasitos já apresentam resistência (CEZAR et al., 2010), assim como não utilizar produtos com concentrações mais elevadas e de longa ação (BORGES et al., 2015); IV – Prevenir a introdução de nematódeos resistentes na propriedade, pela não aquisição de novos animais ou através da realização de quarentena em animais adquiridos de outras propriedades (LEATHWICH E BESIER, 2014).

Visto a distribuição mundial dos nematódeos gastrointestinais e as perdas econômicas geradas pela infecção desses parasitos em bovinos de corte, é evidente a necessidade da realização de práticas de controle adequadas, que reduzem a pressão de seleção de parasitos resistentes, almejando proporcionar o bem-estar animal e o aumento da produtividade.

### **3 ARTIGOS CIENTÍFICOS**

Os resultados desta tese estão sob a forma de dois artigos científicos. Os itens materiais e métodos, resultados, discussão e referências bibliográficas estão descritos nos mesmos.

#### 4 ARTIGO I

### **Nematódeos gastrointestinais em bovinos: Manifestação clínica, histórico de tratamentos, eficácia dos produtos e benefício da utilização de anti-helmíntico eficaz**

Felipe Lamberti Pivoto<sup>a\*</sup>, Alfredo Skrebsky Cezar<sup>b</sup>, Fernanda Silveira Flores Vogel<sup>c</sup>, Marta

Lizandra do Rego Leal<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Clínica de Grandes Animais (DCGA), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brasil.

<sup>b</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), Ijuí, RS, Brazil.

<sup>c</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Santa Maria, RS, Brazil.

\*Autor para correspondência: felipe.pivoto@gmail.com (F.L. Pivoto)

## RESUMO

Visto que parasitos são entraves na produtividade de bovinos, que é fundamental a realização de tratamento anti-helmíntico, mas a resistência parasitária está presente em várias regiões, este estudo teve como objetivo: (i) relatar a manifestação clínica de helmintose em bovinos; (ii) apresentar o sistema de tratamento anti-helmíntico adotado na propriedade; (iii) avaliar a eficácia dos produtos; e (iv) comparar o ganho de peso de animais tratados com produtos de baixa e alta eficácia. Uma suspeita clínica de helmintose em bovinos foi acompanhada e o histórico de tratamentos antiparasitários realizados de 2006 a 2016 foi avaliado. Posteriormente, foi realizado teste de eficácia anti-helmíntico em sete princípios ativos, levamisol, albendazole, moxidectina, abamectina, eprinomectina, ivermectina e doramectina (experimento 1), e com base no resultado do teste de eficácia dois grupos de dez animais foram formados (experimento 2) e tratados nos meses de junho, setembro e novembro com produto de baixa (doramectina) e alta (levamisol) eficácia e acompanhados por 252 dias (junho de 2017 a fevereiro de 2018), com avaliação mensal do peso de cada animal e da contagem de ovos por grama de fezes. A suspeita clínica de helmintose se confirmou e o histórico de tratamento revelou que 96,5% dos tratamentos foram realizados com lactonas macrocíclicas, as quais no teste de eficácia apresentaram insatisfatória redução da contagem de ovos por grama de fezes, com levamisol e albendazole sendo os princípios ativos com eficácia superior a 95%. No experimento 2, os animais tratados com levamisol ganharam 12,1 kg de peso a mais que os tratados com doramectina. No fim, podemos concluir que há negligência na realização do controle anti-helmíntico por parte dos proprietários, e que a escolha da droga a ser utilizada com base no teste de eficácia é uma estratégia de controle adequada, visto os benefícios em relação ao ganho de peso dos animais tratados com produtos de alta eficácia.

**Palavras chave:** Bovinos; Nematódeos gastrointestinais; Produtividade; Sinal clínico; Teste de eficácia;

## 1. Introdução

A infecção por nematódeos gastrointestinais é responsável por limitar a produtividade dos bovinos, reduzindo consideravelmente o ganho de peso (Candy, et al., 2018; Edmonds, et al., 2018; Heckler, et al., 2016). Esses parasitos em seus hospedeiros ocasionam espoliações que tornam o controle parasitário fundamental, o qual ocorre basicamente através da utilização de produtos químicos (Geurden, et al., 2015), como as lactonas macrocíclicas, os benzimidazóis e os imidazotiazóis (Charlier, et al., 2016).

As lactonas macrocíclicas, como ivermectina, abamectina, doramectina, moxidectina e eprinomectina são os princípios ativos mais utilizados para o controle parasitário (Gasbarre, 2014), embora haja relatos de baixa eficácia dessas moléculas no controle de nematódeos gastrointestinais (Canton, et al., 2018; Cristel, et al., 2017; Ramos, et al., 2016). A redução da eficácia de anti-helmínticos contra nematódeos, resistência parasitária, é um problema emergente tanto para pequenos (Cezar, et al., 2011) quanto para grandes ruminantes (Ramos, et al., 2016), com histórico de presença de multi-resistência em vários países do mundo (Baiak, et al., 2018). No entanto, esse cenário de resistência parasitária aparentemente é negligenciado pelos proprietários no momento de definir quais produtos utilizar no tratamento dos animais.

Visto que parasitos são entraves na produtividade de bovinos, que é fundamental a realização de tratamento anti-helmíntico, com a resistência parasitária presente em várias regiões do mundo, sendo muitas vezes negligenciada pelos proprietários. Nesse estudo nós relatamos uma suspeita clínica de helmintose, o histórico de tratamentos antiparasitários realizados na propriedade, avaliamos a eficácia de diferentes produtos anti-helmíntico e analisamos o efeito no controle parasitário e no ganho de peso de tratamentos com produtos de alta e baixa eficácia anti-helmíntica na propriedades, com o objetivo de: (i) relatar a manifestação clínica de helmintose em bovinos; (ii) apresentar o sistema de tratamento anti-helmíntico adotado na propriedade problema; (iii) avaliar quais produtos são alternativas

cabíveis para o controle anti-helmíntico na propriedade; e (iv) comparar as consequências em relação a parâmetros parasitológicos e produtivos da utilização de produtos com baixa e alta eficácia.

## **2. Materiais e métodos**

Todos procedimentos com os animais foram previamente aprovados pelo comitê de ética de uso de animais da Universidade Federal de Santa Maria, sobre protocolo número 6085150718.

### *2.1. Suspeita clínica de helmintose*

Em novembro de 2016, o proprietário de uma fazenda de criação de gado de corte, da raça Devon, localizada em São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil (30°12'57.8"S 54°15'27.6W) relatou que, em um piquete com 72 bovinos machos com idade entre 10 e 14 meses, três bovinos apresentaram perda de peso acentuada em relação aos demais animais do mesmo lote, evoluindo para caquexia, decúbito lateral e posterior morte. Em 01 dezembro de 2016, nessa mesma propriedade, mais 24 bovinos do mesmo lote demonstraram o mesmo quadro clínico dos três animais que morreram no mês anterior, com morte de um animal no dia 18 de dezembro de 2016, data que foi solicitada a visita de um médico veterinário a propriedade para acompanhamento do caso.

#### *2.1.1 Exame clínico*

O exame clínico foi realizado inicialmente pela anamnese, aonde o proprietário foi questionado acerca do histórico de tratamento anti-helmíntico, de quais produtos e com que frequência eram utilizados, sobre a disponibilidade de forragem para os animais, sobre as condições de acesso e qualidade da água, bem como acerca de possíveis manejos realizados

recentemente. Posterior a anamnese, o exame físico foi realizado através de palpação, auscultação e percussão da região torácica e abdominal.

### *2.1.2 Avaliação do histórico de tratamentos anti-helmínticos*

A avaliação do histórico dos manejos antiparasitários efetuados na propriedade foi realizada mediante consulta de dados, compilados em cadernos, desde o ano de 2006 até dezembro de 2016, período onde foi realizado o estudo.

### *2.1.3 Diagnóstico baseado na terapia*

Em decorrência da suspeita clínica, da urgência do caso e em virtude do histórico de tratamento anti-helmíntico realizado anteriormente nos bovinos da propriedade, se optou por realizar a terapia dos animais com albendazole 13,6% (4.5 mg/kg, subcutânea, Ricoben<sup>®</sup> Noxon), buscando confirmar a suspeita clínica de infecções por nematódeos gastrointestinais.

## *2.2 Experimento 1*

No intuito de avaliar a eficácia dos produtos na propriedade e, posteriormente, elaborar um protocolo de tratamento anti-helmíntico, realizou-se em abril de 2017 o teste de redução de contagem de ovos fecais conforme descrito por Torgerson, et al. (2014), utilizando-se sete produtos comerciais como demonstrado na tabela 1. Para isso, 70 bovinos machos da raça Devon, entre 5 e 7 meses de idade, foram identificados com brinco auricular numerado e divididos em 7 grupos aleatórios de 10 animais cada. No primeiro momento fezes dos 70 bovinos foram coletadas direto da ampola retal, armazenadas em caixa térmica, em temperatura entre 5 e 10°C, e enviadas até o laboratório de doenças parasitárias da Universidade Federal de Santa Maria (LADOPAR-UFSM), onde foram analisadas em até 12 horas após a coleta conforme recomendação de McKenna (1998). A quantificação individual de ovos por grama de

fezes (OPG) foi realizada através da técnica de McMaster, com sensibilidade de 50 OPG (Coles, et al., 2006). A cultura de larvas, uma por grupo, foi efetuada mediante homogeneização do pool de fezes pela técnica de Roberts e O'Sullivan, com incubação do material por 14 dias e identificação de 100 larvas de terceiro estágio por cultura (van Wyk, et al., 2004).

No momento da primeira coleta de fezes cada grupo de animais foi tratado com seus respectivos produtos, sendo: ivermectin, 1% (0.2 mg/kg, subcutânea, Ivonox<sup>®</sup> Noxon); doramectin, 1% (0.2 mg/kg, subcutânea, Dectomax<sup>®</sup> Zoetis); abamectin, 1% (0.2 mg/kg, subcutânea, Abanox<sup>®</sup> Noxon); eprinomectin, 3.6% (0.36 mg/kg, subcutânea, Eprino<sup>®</sup> Clarion); moxidectin, 1% (0.2 mg/kg, subcutânea, Cydectin<sup>®</sup> Zoetis); levamisol, 22.3% (4.5 mg/kg, subcutânea, Levamisol<sup>®</sup> Noxon); and albendazole, 13.6% (3.4 mg/kg, subcutânea, Ricoben<sup>®</sup> Noxon).

Uma nova coleta de fezes foi realizada 14 dias após o tratamento dos animais conforme recomendado por Coles, et al. (2006), sendo o processamento das amostras realizado de acordo com a técnica descrita anteriormente.

### 2.3 Experimento 2

No intuito de avaliar o controle de helmintos e o ganho de peso de animais tratados com produtos de baixa e alta eficácia (dados obtidos do experimento 1), vinte fêmeas bovinas, da raça Devon, com aproximadamente oito meses de idade, previamente identificados com brinco auricular, foram divididas em dois grupos experimentais com 10 animais: Grupo doramectina (*Dora*), bovinos tratados com produto de baixa eficácia na propriedade (Doramectin, 1%, 0.2 mg/kg, subcutânea, Dectomax<sup>®</sup> Zoetis) e o grupo levamisol (*Leva*), bovinos tratados com produto de alta eficácia na propriedade (Levamisol, 22.3%, 4.5 mg/kg, subcutânea, Levamisol<sup>®</sup> Noxon).

Preconizou-se a realização de três tratamentos anti-helmínticos nos grupos experimentais, sendo em junho de 2017 (D0 experimental), setembro de 2017 (D99) e novembro de 2017 (D153), com dose e via de aplicação conforme recomendações dos fabricantes dos produtos. As análises parasitológicas foram realizadas mensalmente de junho de 2017 (D0) até fevereiro de 2018 (D252), contemplando os dias experimentais 0, 36, 56, 99, 128, 153, 174, 204 e 252. As fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais, identificadas e encaminhadas em caixa térmica até o LADOPAR-UFSM. A quantificação de OPG individual foi realizado mediante técnica de McMaster, com sensibilidade de 50 OPG, e a cultura de larvas, uma por grupo, realizou-se pela técnica de Roberts and O'Sullivan, com identificação de 100 larvas de terceiro estágio por cultura (Coles, et al., 1992, 2006; van Wyk, et al., 2004). O ganho de peso foi mensurado mensalmente, em balança digital, nos mesmos momentos experimentais da coleta de fezes, com os bovinos permanecendo 12 horas em restrição de água e alimento.

#### *2.4 Analise estatística*

No experimento 1, a contagem de OPG pré-tratamento e 14 dias após tratamento foram usadas para calcular a eficácia de cada produto baseado na redução do OPG, seguindo a abordagem descrita por Torgerson, et al. (2014), disponível em <http://www.math.uzh.ch/as/index.php?id=254&L=1>, com intervalo de confiança de 95%. A redução do número de cada gênero de nematódeo foi calculado através do RESO FECRT, com base nos resultados da cultura de larvas:  $PR = 100 \times (1 - PER_{final} / PER_{inicial})$ , aonde PR é a porcentagem de redução por gênero,  $PER_{final}$  é a porcentagem de cada gênero no 14 dias após tratamento e  $PER_{inicial}$  é a porcentagem de cada gênero no dia pré-tratamento.

No experimento 2, os valores de OPG não apresentaram distribuição normal (teste Kolmogorov-Smitnov) e foram transformados para  $\log_{10} (OPG+1,5)$  quando então

apresentaram distribuição normal, assim como o ganho de peso. Para comparação das medias entre os grupos de LogOPG e ganho de peso foi realizado o test t, com intervalo de confiança de 95%, com auxílio do GraphPad Prism v. 5.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

### **3. Resultados**

#### *3.1 Exame clínico*

Na anamnese o proprietário relata que foram realizados tratamentos anti-helmínticos em todos os animais do lote, seguindo as recomendações de dose e via de aplicação do fabricante. Os animais foram trocados de piquetes em maio de 2016, juntamente com o desmame, e a disponibilidade de forragem, campo nativo, era a corriqueira da propriedade, com livre acesso a água natural de açudes. No exame físico, através da avaliação visual pode-se observar caquexia, dificuldade de locomoção e edema submandibular, na auscultação torácica os animais apresentaram taquipneia, já na palpação e percussão nenhuma alteração significativa foi observada.

#### *3.2 Histórico de tratamentos anti-helmínticos*

O compilado dos manejos anti-helmínticos realizados na propriedade estão representados na tabela 2 e demonstra que em 2006 as vacas (referente a bovinos fêmeas com mais de 36 meses de idade), os novilhos (bovinos machos castrados com idade entre 08 e 36 meses), as novilhas (bovinos fêmeas com idade entre 08 e 36 meses) e os touros (bovinos machos não castrados com mais de 24 meses de idade) foram tratadas com ivermectina em março, setembro, outubro (exceto as vacas) e dezembro, e com albendazole em junho. Nesse mesmo ano os bezerros (bovinos de ambos os sexos com idade entre 3 e 8 meses) foram tratados com doramectina em outubro. Em setembro de 2007 as vacas, os touros, os novilhos e as novilhas foram tratadas com ivermectina, sendo que essa lactona macrocíclica também foi

utilizada nos novilhos em dezembro. Nesse ano os bezerros foram tratados com abamectina em novembro. Em 2008, ivermectina mais albendazole foram utilizados para o tratamento anti-helmíntico das vacas, touros, novilho e novilhas em fevereiro, já em junho e novembro essas categorias animais foram tratadas com abamectina. Em março e agosto de 2008 os novilhos foram tratados com abamectina, já os bezerros foram tratados com moxidectina em setembro desse ano. Em 2009, vacas, touros, novilho e novilhas foram tratados em abril com ivermectina e em novembro com moxidectina, já os bezerros receberam ivermectina em fevereiro e junho e doramectina em outubro. Vacas, touros, novilho e novilhas foram tratados em abril e julho de 2010 com moxidectina e em novembro de 2010 com abamectina. Nesse ano touros, novilho e novilhas foram também tratados em agosto com ivermectina, já os bezerros foram tratados com doramectina em outubro e ivermectina em novembro de 2010.

Em 2011, vacas, touros, novilho e novilhas foram tratados com moxidectina em março e abamectina em abril, junho, julho e novembro, os bezerros receberam ivermectina em junho e doramectina em setembro. Em 2012, vacas, touros, novilho e novilhas foram tratados com abamectina em março, com ivermectina em junho e julho e com moxidectina em novembro, bezerros em setembro foram tratados com doramectina. Em 2013, vacas, touros, novilho e novilhas foram tratados com ivermectina em março, junho e novembro e bezerros em agosto com doramectina. Em 2014, ivermectina foi utilizada em março e outubro em vacas, touros, novilho e novilhas. Abamectina em julho de 2014 foi aplicado nos novilhos e novilhas, já os bezerros foram tratados com ivermectina e doramectina em fevereiro e setembro de 2014, respectivamente. Em 2015, ivermectina foi utilizado em janeiro, maio, outubro e novembro em vacas, touros, novilho e novilhas, essas mesmas categorias no ano de 2016 foram tratados com ivermectina em janeiro, abril, junho, setembro e novembro e com abamectina em dezembro.

Os dados representam um histórico de tratamento de 132 meses (11 anos), no qual ocorreram 58 tratamentos anti-helmíntico em 54 meses, com as lactonas macrocíclicas sendo

utilizadas em 56 tratamentos (96,5% dos tratamentos), com ivermectina sendo utilizada em 51,7% dos tratamentos (30/58) em todos os anos analisados. Abamectina foi utilizada em 22,4% dos tratamentos (13/58) nos anos de 2007, 2008, 2010, 2011, 2012, 2014 e 2016, doramectina foi utilizada em 12,1% dos tratamentos (7/58) nos anos de 2006, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014 e a moxidectina foi utilizada em 10,3% dos tratamentos (6/58) nos anos de 2008, 2009, 2010, 2011 e 2012. O tratamento com albendazole foi realizado duas vezes, uma em 2006 e outra em 2008.

### *3.3 Diagnostico baseado na terapia*

Os 23 animais tratados com albendazole 13,6% (4.5 mg/kg, subcutânea, Ricoben<sup>®</sup> Noxon), apresentaram melhora no quadro clínico, com avaliação em rebanho sendo possível observar que os animais não apresentavam apatia e que iniciavam uma melhora na condição corporal.

### *3.4 Experimento 1*

Os resultados do teste de eficácia realizado no experimento 1 estão demonstrados na tabela 1, com levamisol e albendazole apresentando 96% de eficácia na redução da contagem de OPG. As lactonas macrocíclicas apresentaram redução da contagem de OPG de 63%, 59%, 52%, 43% e 18% para moxidectina, ivermectina, eprinomectina, abamectina e doramectina, respectivamente.

### *3.5 Experimento 2*

Os resultados de OPG e porcentagem de larvas de cada gênero de nematódeo gastrointestinal, dos dois grupos nos diferentes dias experimentais são descritos na tabela 3.

O peso médio dos animais no D0 dos grupos *Dora* e *Leva* foram de 180,8 kg e 182,4 kg respectivamente. No grupo *Dora* o peso médio foi de 170,4 kg no dia 36, 165,4 kg no dia 56, 166,8 kg no dia 99, 168,2 kg no dia 128, 169,7 kg no dia 153, 177,6 kg no dia 174, 189,6 kg no dia 204 e 209,1 kg no dia 252. No grupo *Leva*, o peso médio foi de 172,8 kg no dia 36, 168,3 kg no dia 56, 172,6 kg no dia 99, 175,8 kg no dia 128, 179,2 kg no dia 153, 188,0 kg no dia 174, 201,1 kg no dia 204 e 222,8 kg no dia 252 (Figura 1).

Um animal no dia 204 experimental do grupo *Dora*, durante o experimento 2, apresentou caquexia, edema submandibular e mucosa ocular branca, com prevalência de 42% *Oesophagostomum* spp., 24% *Haemonchus* spp., 22% *Ostertagia* spp., 8% *Cooperia* spp. e 4% *Trichostrongylus* spp.. O peso vivo desse animal no dia experimental 204 foi de 178 kg.

#### **4. Discussão**

O nosso estudo fez o acompanhamento de um caso clínico em bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrointestinais e através do compilado de dados da propriedade avaliou os tratamentos anti-helmínticos realizados. Posteriormente, optou-se por realizar o teste de eficácia de sete anti-helmínticos comerciais e para finalizar, avaliou a eficácia e o ganho de peso de bovinos submetidos a dois diferentes tratamentos, com produtos sabidamente de baixa e alta eficácia na propriedade, doramectina e levamisol, respectivamente.

O exame clínico dos 23 animais enfermos deu indícios de infecção por nematódeos gastrointestinais, principalmente por esses animais estarem em piquetes com disponibilidade adequada de forrageira e água natural a vontade, além de que, no exame físico nenhuma alteração tenha sido observada a nível de sistema respiratório, exceto taquipneia, sistema cardiovascular e sistema digestivo. No entanto, o principal fator para a suspeita de infecção por nematódeos gastrointestinal foi o histórico de tratamento anti-helmíntico da propriedade (Tabela 2), no qual as lactonas macrocíclicas foram utilizadas em 96,5% dos tratamentos

realizados nos últimos 11 anos. A resistência parasitária as lactonas macrocíclicas está amplamente distribuída, com relatos em várias regiões do mundo, como na América do Norte (Edmonds, et al., 2010), na América Central (Alonso-Díaz, et al., 2015), na Europa (Geurden, et al., 2015), assim como na América do Sul, com destaque para o Brasil (Borges, et al., 2015; Cezar, et al., 2010), e em regiões com fatores culturais (manejo dos animais) e climáticos similares ao da propriedade estudada (Ramos, et al., 2016), que reforça a suspeita clínica.

O histórico de tratamento anti-helmíntico de 2006 a 2016 revelou que as categorias de vacas, touros, novilhas e novilhos foram tratadas mais de 3 vezes nos anos de 2006, 2008, 2010 (exceto as vacas), 2011, 2012, 2015 e 2016 (tabela 4). O maior número de tratamento por ano aumenta a pressão de seleção de alelos resistentes, e conseqüentemente mais rápido se seleciona parasitos resistentes a drogas anti-helmínticas (Suarez and Cristel, 2014). Outro fator de aumento do risco de resistência parasitária reportado por Suarez and Cristel (2014) é a realização de tratamentos sem avaliações epidemiológicas da região que a propriedade se encontra, prática que pode ser observada através do histórico de tratamento, uma vez que, os tratamentos anti-helmínticos foram realizados em meses aleatórios com novembro sendo o mês com maior frequência de tratamento, nove dos onze anos analisados. A frequência de tratamento nos demais meses foram de 7 em setembro e junho, 6 em março, 5 em outubro, 4 em abril e julho, 3 em fevereiro, agosto e dezembro, 2 em janeiro e 1 em maio (Tabela 2). Práticas errôneas no conceito de preservação de moléculas para o controle anti-helmíntico foram corriqueiramente utilizadas na propriedade estudada, como por exemplo, predominância de um único grupo de anti-helmíntico nos tratamentos dos bovinos (96,5% dos tratamentos com lactonas macrocíclicas), alta frequência de tratamento por ano (mais que 3) e tratamentos sem avaliações epidemiológicas da propriedade (tratamento em meses aleatórios).

A ivermectina foi o princípio ativo mais utilizado nos tratamentos anti-helmínticos da propriedade (51,7%; 30/58), com ao menos uma aplicação em todos os anos analisados. Esse

antiparasitário apresenta características que favorecem a sua escolha pelos proprietários, como por exemplo, ação por várias semanas e para todos os estágios de vida dos nematódeos, incluindo larvas inibidas (Charlier, et al., 2016) assim como, eficácia no controle do *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Morel, et al., 2017). A ação endectocida, provavelmente, foi o motivo da maior frequência de utilização da ivermectina, uma vez que, frequentemente no caderno de anotação do proprietário foi possível observar o relato de presença de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* nos animais e a intenção de controle desse ácaro. Motivo idêntico ao que levou a utilização em grande escala da ivermectina nos últimos trinta anos na Argentina (Cristel, et al., 2017).

Outras lactonas macrocíclicas, como abamectina e moxidectina foram utilizadas ao longo dos anos, no entanto, a doramectina foi o antiparasitário mais frequentemente utilizado nos bezerros, 7 dos 14 tratamentos, e sempre no momento em que se realizava a castração dos bezerros machos, no intuito de prevenir miíase, reforçando a teoria da utilização das lactonas macrocíclicas em grande escala em virtude de sua ação endectocidas (Gasbarre, 2014). A categoria animal com menor frequência de tratamento foram os bezerros (Tabela 4), embora bovinos jovens necessitam mais de tratamento anti-helmíntico que bovinos adultos (Antonello, et al., 2010), além de que, com base na produção e resposta parasitológica é mais favorável realizar o tratamento em bezerros do que em bovinos adultos (Keyyu, et al., 2005).

O tratamento com albendazole nos 23 animais que manifestaram sinais clínicos foi satisfatório para a melhora do quadro clínico e recuperação dos animais, o que veio confirmar a suspeita clínica de infecção por nematódeos gastrointestinais. Benzimidazóis foram pouco utilizados na propriedade, duas vezes nos últimos 11 anos, sendo a última aplicação oito anos anterior a manifestação clínica (em 2008, tabela 2). O mecanismo de ação dos benzimidazóis ocorre através da inibição da formação de microtúbulos por ligações dos benzimidazóis a  $\beta$ -tubulina interferindo na homeostase celular dos parasitas (Furtado, et al., 2016). Já das lactonas

macrocíclicas, o mecanismo de ação ocorre por aumento da permeabilidade dos canais de cloro e interação de canais ligados ao GABA e receptores nicotínicos de acetilcolina (Laing, et al., 2017). Esses caminhos distintos para controle dos nematódeos gastrointestinais entre benzimidazóis e lactonas macrocíclicas provavelmente favoreceram o sucesso do tratamento, uma vez que, Cezar, et al. (2010) apontam como uma das alternativas em caso de resistência parasitária, alterar o grupo químico do anti-helmíntico que vem sendo frequentemente utilizado. Em casos de resistência parasitária, aumentar a frequência de tratamento, assim como, alterar princípios ativos do mesmo grupo químico não são alternativas satisfatórias (Cezar, et al., 2010, 2011), que ficam evidentes, uma vez que, o proprietário em 2016 realizou 6 tratamentos com lactonas macrocíclicas, sendo cinco tratamentos com ivermectina e um com abamectina (Tabela 2).

A eficácia anti-helmíntica de sete princípios ativos na propriedade é quantificado no experimento 1 (Tabela 1). Os produtos à base de levamisol e albendazole, que nunca foram utilizados e/ou foram pouco utilizados na propriedade, respectivamente, apresentaram eficácia satisfatória no controle de nematódeos gastrointestinais (> 95% de redução na OPG) segundo Coles, et al. (2006). Já as lactonas macrocíclicas foram todas ineficazes (< 95%), com a droga da classe das milbemicinas apresentando maior eficácia em relação as avermectinas. Resistência parasitária a lactonas macrocíclicas vem sendo descritas em rebanhos bovinos do sul do Brasil (Cezar, et al., 2010; Ramos, et al., 2016), mas como podemos observar, a utilização em grande escala desses princípios ativos é comum e nesse estudo pode ser considerada como principal fator da resistência parasitária, uma vez que 96,5% dos tratamentos, nos últimos 11 anos, foram realizados com lactonas macrocíclicas. No entanto, a eprinomectina, que entrou no mercado como alternativa para o controle de nematódeos (Soll, et al., 2013), em nenhum momento foi utilizada na propriedade e apresentou eficácia de 52%, revelando uma possível

resistência lateral entre princípios ativos do grupo das lactonas macrocíclicas, assim como observado para a abamectina por Cezar, et al. (2010).

O experimento 2 avaliou a diferença no controle parasitário e no ganho de peso entre bovinos tratados com produto de baixa e alta eficácia anti-helmíntica na propriedade, doramectina e levamisol, respectivamente. O OPG dos animais do grupo *Leva* foram inferiores ao do grupo *Dora*, desde o primeiro tratamento até o último dia experimental, com diferença estatística ( $p < 0,05$ ), entre grupos, nos dois momentos experimentais subsequentes ao segundo e terceiro tratamento (Tabela 3). Isso remete em maior liberação de ovos nas fezes dos animais do grupo *Dora*, e conseqüentemente maior contaminação das pastagens por parasitos resistentes. O conceito de refúgio está bem estabelecido e vem demonstrando ser um importante aliado na redução do desenvolvimento da resistência parasitária (Kenyon and Jackson, 2012), no entanto, para ser possível a redução do número de animais tratados é fundamental que quando se realize o tratamento, esse seja realizado com produtos com alta eficácia na propriedade, o que reforça a necessidade da realização do teste de eficácia prévio a escolha dos anti-helmínticos. Se analisarmos a eficácia do tratamento do grupo *Dora* com o histórico de tratamento da propriedade, podemos concluir que ao longo dos últimos 11 anos os tratamentos anti-helmínticos realizados não foram efetivos para o controle dos nematódeos, com possível aumento da contaminação da pastagem em virtude do manejo inadequado e, conseqüentemente, maior desafio dos bovinos (Molento, et al., 2016), que resultou no cenário descrito, com animais manifestando sinais clínicos de helmintose e nos casos mais graves morte.

Os animais do grupo *Leva* no dia 0 do experimento 2 apresentaram 1,6 kg a mais de peso médio em relação ao grupo *Dora*, e essa diferença ao longo do período experimental foi aumentando, chegando a 13,7 kg no dia experimental 252 (Figura 1), um ganho real de 12,1 kg do grupo *Leva* em relação ao grupo *Dora*, durante o período experimental. Essa diferença de ganho de peso entre animais tratados com produtos de alta eficácia e com eficácia incompleta

também foi relatado por Candy, et al. (2018), e reforça os dados no nosso estudo, que demonstra a importância de se preconizar a utilização de produtos de alta eficácia quando se busca potencializar o ganho na atividade pecuária. Outros autores relatam perdas produtivas de bovinos infectados por nematódeos gastrointestinais, como Borges, et al. (2013) em bezerros desmamados e Fazzio, et al. (2014) em bovinos confinados, o que reforça a necessidade do controle anti-helmíntico com produtos eficazes.

Outro fato acompanhado, durante o experimento 2, foi a presença de um animal do grupo *Dora* (baixa eficácia) manifestando sinais clínicos semelhantes ao que tinha ocorrido na propriedade no ano de 2016. Logo, se na fazenda se mantivesse o sistema de tratamento dos últimos anos, sem a realização do teste de eficácia anti-helmíntica, provavelmente as perdas produtivas permaneceriam, tornando a atividade mais onerosa. Poucos são os relatos de manifestações clínicas por helmintose em bovinos naturalmente infectados, com bovinos experimentalmente infectados por *Haemonchus placei* e *Haemonchus contortus* manifestando discreto edema submandibular (Fávero, et al., 2016). Nesse estudo, embora tenha ocorrido infecção mista, com predominância de *Oesophagostomum* spp., foi observado edema submandibular típico de infecções por *Haemonchus contortus* em ovinos (Khan, et al., 2012) e mucosa ocular branca, curso da doença diferente do reportado por Fávero, et al. (2016) em infecção experimental por *Haemonchus* spp.. Esse bovino que apresentou caquexia e dificuldade de locomoção no dia experimental 204 apresentou o mesmo peso do dia experimental 0, o equivalente a 11,6 kg a menos que os animais do mesmo grupo experimental (*Dora*) e 23,1 kg a menos que os animais do grupo *Leva*. Perda de peso similar ao observado por Forbes, et al. (2000) em novilhas não tratadas em relação a novilhas tratadas com anti-helmíntico.

No fim, observamos que infecções por nematódeos gastrointestinais desencadeiam em manifestações clínicas em bovinos, podendo ocasionar a morte desses animais e concluimos

que há negligência na realização do controle anti-helmíntico por parte dos proprietários, preconizando o tratamento acaricida (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*), através do uso de lactonas macríclicas, e que a escolha da droga a ser utilizada com base no teste de eficácia é uma estratégia de controle adequada, visto os benefícios em relação ao ganho de peso dos animais tratados com produtos de alta eficácia.

### **Agradecimentos**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio com equipamentos necessários para a realização das técnicas parasitológicas.

### **Referências**

- Alonso-Díaz, M. A., Arnaud-Ochoa, R. A., Becerra-Nava, R., Torres-Acosta, J. F. J., Rodriguez-Vivas, R. I., and Quiroz-Romero, R. H., 2015. Frequency of cattle farms with ivermectin resistant gastrointestinal nematodes in Veracruz, Mexico. *Veterinary Parasitology* 212, 439-443.
- Antonello, A. M., Cezar, A. S., Sangioni, L. A., and Vogel, F. S. F., 2010. Eggs per gram of feces counting for anthelmintic control in dairy cattle of distinct age groups. *Ciência Rural* 40, 1227-1230.
- Baiak, B. H. B., Lehnen, C. R., and da Rocha, R. A., 2018. Anthelmintic resistance in cattle: A systematic review and meta-analysis. *Livestock Science* 217, 127-135.
- Borges, F. A., Almeida, G. D., Heckler, R. P., Lemes, R. T., Onizuka, M. K. V., and Borges, D. G. L., 2013. Anthelmintic resistance impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. *Tropical Animal Health and Production* 45, 723-727.

- Borges, F. d. A., Borges, D. G. L., Heckler, R. P., Neves, J. P. L., Lopes, F. G., and Onizuka, M. K. V., 2015. Multispecies resistance of cattle gastrointestinal nematodes to long-acting avermectin formulations in Mato Grosso do Sul. *Veterinary Parasitology* 212, 299-302.
- Candy, P. M., Waghorn, T. S., Miller, C. M., Ganesh, S., and Leathwick, D. M., 2018. The effect on liveweight gain of using anthelmintics with incomplete efficacy against resistant *Cooperia oncophora* in cattle. *Veterinary Parasitology* 251, 56-62.
- Canton, C., Canton, L., Domínguez, M. P., Moreno, L., Lanusse, C., Alvarez, L., and Ceballos, L., 2018. Field trial assessment of ivermectin pharmacokinetics and efficacy against susceptible and resistant nematode populations in cattle. *Veterinary Parasitology* 256, 43-49.
- Cezar, A. S., Ribas, H. O., Pivoto, F. L., Sangioni, L. A., and Vogel, F. S. F., 2011. Combination of drugs as an alternative to control multi-resistant gastrointestinal nematodes in sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31, 151-157.
- Cezar, A. S., Vogel, F. S. F., Sangioni, L. A., Antonello, A. M., Camillo, G., Toscan, G., and Araujo, L. O. d., 2010. Anthelmintic action of different formulations of macrocyclic lactones on resistant strains of nematodes of cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30, 523-528.
- Charlier, J., Claerebout, E., and Vercruyse, J., 2016. Gastrointestinal Nematode Infections in Adult Dairy Cattle, Reference Module in Food Science. Elsevier.
- Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., and Waller, P. J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 44, 35-44.

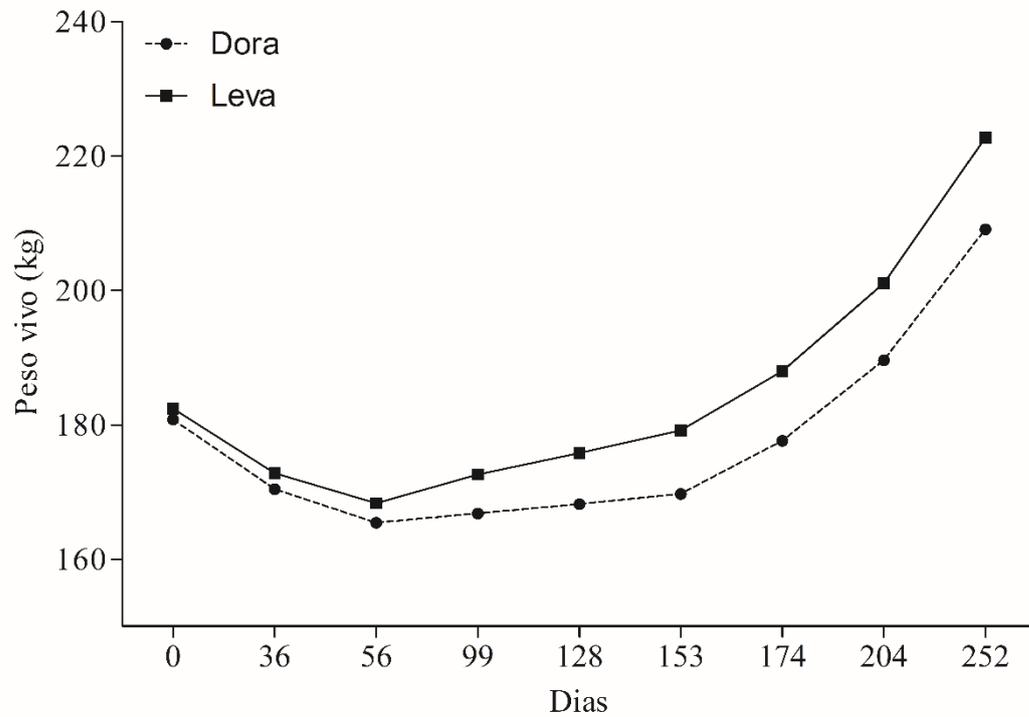
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A., and Vercruysse, J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136, 167-185.
- Cristel, S., Fiel, C., Anziani, O., Descarga, C., Cetrá, B., Romero, J., Fernández, S., Entrocasso, C., Lloberas, M., Medus, D., and Steffan, P., 2017. Anthelmintic resistance in grazing beef cattle in central and northeastern areas of Argentina — An update. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 9, 25-28.
- Edmonds, M. D., Johnson, E. G., and Edmonds, J. D., 2010. Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States. *Veterinary Parasitology* 170, 224-229.
- Edmonds, M. D., Vatta, A. F., Marchiondo, A. A., Vanimisetti, H. B., and Edmonds, J. D., 2018. Concurrent treatment with a macrocyclic lactone and benzimidazole provides season long performance advantages in grazing cattle harboring macrocyclic lactone resistant nematodes. *Veterinary Parasitology* 252, 157-162.
- Fávero, F. C., Buzzulini, C., Cruz, B. C., Felippelli, G., Maciel, W. G., Salatta, B., Siniscalchi, D., Lopes, W. D. Z., Teixeira, W. F. P., Soares, V. E., de Oliveira, G. P., and da Costa, A. J., 2016. Experimental infection of calves with *Haemonchus placei* or *Haemonchus contortus*: Assessment of clinical, hematological and biochemical parameters and histopathological characteristics of abomasums. *Experimental Parasitology* 170, 125-134.
- Fazzio, L. E., Sánchez, R. O., Streitenberger, N., Galvan, W. R., Giudici, C. J., and Gimeno, E. J., 2014. The effect of anthelmintic resistance on the productivity in feedlot cattle. *Veterinary Parasitology* 206, 240-245.

- Forbes, A. B., Huckle, C. A., Gibb, M. J., Rook, A. J., and Nuthall, R., 2000. Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. *Veterinary Parasitology* 90, 111-118.
- Furtado, L. F. V., de Paiva Bello, A. C. P., and Rabelo, É. M. L., 2016. Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis. *Acta Tropica* 162, 95-102.
- Gasbarre, L. C., 2014. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in the US. *Veterinary Parasitology* 204, 3-11.
- Geurden, T., Chartier, C., Fanke, J., di Regalbono, A. F., Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Vanimisetti, H. B., Bartram, D. J., and Denwood, M. J., 2015. Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 5, 163-171.
- Heckler, R. P., Borges, D. G. L., Vieira, M. C., Conde, M. H., Green, M., Amorim, M. L., Echeverria, J. T., Oliveira, T. L., Moro, E., Van Onselen, V. J., and Borges, F. A., 2016. New approach for the strategic control of gastrointestinal nematodes in grazed beef cattle during the growing phase in central Brazil. *Veterinary Parasitology* 221, 123-129.
- Kenyon, F. and Jackson, F., 2012. Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches. *Veterinary Parasitology* 186, 10-17.
- Keyyu, J. D., Kyvsgaard, N. C., Monrad, J., and Kassuku, A. A., 2005. Epidemiology of gastrointestinal nematodes in cattle on traditional, small-scale dairy and large-scale dairy farms in Iringa district, Tanzania. *Veterinary Parasitology* 127, 285-294.
- Khan, F. A., Sahoo, A., Sonawane, G. G., Karim, S. A., Dhakad, S., Pareek, A. K., and Tripathi, B. N., 2012. Effect of dietary protein on responses of lambs to repeated *Haemonchus contortus* infection. *Livestock Science* 150, 143-151.

- Laing, R., Gillan, V., and Devaney, E., 2017. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? Trends in Parasitology 33, 463-472.
- McKenna, P. B., 1998. The effect of previous cold storage on the subsequent recovery of infective third stage nematode larvae from sheep faeces. Veterinary Parasitology 80, 167-172.
- Molento, M. B., Buzatti, A., and Sprenger, L. K., 2016. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. Livestock Science 192, 48-54.
- Morel, N., Signorini, M. L., Mangold, A. J., Guglielmone, A. A., and Nava, S., 2017. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in Panicum maximum grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. Preventive Veterinary Medicine 144, 179-183.
- Ramos, F., Portella, L. P., Rodrigues, F. d. S., Reginato, C. Z., Pötter, L., Cezar, A. S., Sangioni, L. A., and Vogel, F. S. F., 2016. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of beef cattle in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance 6, 93-101.
- Soll, M. D., Kunkle, B. N., Royer, G. C., Yazwinski, T. A., Baggott, D. G., Wehner, T. A., Yoon, S., Cramer, L. G., and Rehbein, S., 2013. An eprinomectin extended-release injection formulation providing nematode control in cattle for up to 150 days. Veterinary Parasitology 192, 313-320.
- Suarez, V. H. and Cristel, S. L., 2014. Risk factors for anthelmintic resistance development in cattle gastrointestinal nematodes in Argentina. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária 23, 129-135.

- Torgerson, P. R., Paul, M., and Furrer, R., 2014. Evaluating faecal egg count reduction using a specifically designed package "eggCounts" in R and a user friendly web interface. *International Journal for Parasitology* 44, 299-303.
- van Wyk, J. A., Cabaret, J., and Michael, L. M., 2004. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary Parasitology* 119, 277-306.

**Figura 1.** Peso vivo (kg) de bovinos infectados naturalmente por nematódeos gastrointestinais e tratados com doramectina 1% (Dora) e levamisol (Leva).



*Dora* grupo de animais (n= 10) tratados com doramectin, 1% (0,2 mg/kg, subcutânea, Dectomax<sup>®</sup> Zoetis), *Leva* grupo de animais (n= 10) tratados com levamisol, 22,3% (4,5 mg/kg, subcutânea, Levamisol<sup>®</sup> Noxon).

**Tabela 1.** Média de ovos por grama de fezes (OPG) de cada grupo antes do tratamento (D0) e 14 dias após o tratamento (D14), porcentagem de redução (PR) na contagem de OPG e 95 % de limite de confiança mais baixo (LCL) e PR de cada gênero de nematódeo gastrointestinal comparando a cultura de larvas no D0 e D14 de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrointestinais.

Anti-helmíntico testado (n=10)	Classe	Dose (mg kg <sup>-1</sup> )	Média de OPG		PR % (LCL)	PR (%)		
			DO	D14		<i>H</i>	<i>Coo</i>	<i>Oe</i>
Albendazole <sup>a</sup> 13,6%	Benzimidazóis	3,4	890	30	96 (93)	96 RS	100 RS	100 RS
Levamisol <sup>a</sup> 22,3%	Imidazotiazóis	4,5	380	10	96 (91)	*	*	*
Moxidectina <sup>a</sup> 1%	Milbemicina <sup>b</sup>	0,2	635	225	63 (51)	59 R	100 RS	65 R
Ivermectina <sup>a</sup> 1%	Avermectina <sup>b</sup>	0,2	405	160	59 (41)	55 R	80 R	93 R
Eprinomectina <sup>a</sup> 3,6%	Avermectina <sup>b</sup>	0,36	320	145	52 (31)	45 R	100 RS	63 R
Abamectina <sup>a</sup> 1%	Avermectina <sup>b</sup>	0,2	490	270	43 (24)	51 R	100 RS	0 R
Doramectina <sup>a</sup> 1%	Avermectina <sup>b</sup>	0,2	417	344	18 (0)	0 R	100 RS	100 RS

\* Indica não recuperação de larvas de terceiro estágio 14 dias após o tratamento.

*R* resistente, *RS* susceptível resistente, *H* *Haemonchus* spp., *Coo* *Cooperia* spp., *Oe* *Oesophagostomum* spp.

<sup>a</sup> Subcutânea.

<sup>b</sup> Lactona macrocíclica

**Tabela 2.** Histórico de tratamento anti-helmíntico de 2006 a 2016 em bovinos de corte de uma propriedade do município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil.

Mês	Produto utilizado										
	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
<b>Jan</b>										Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>
<b>Fev</b>			Iver <sup>1</sup> Albe <sup>1</sup>	Iver <sup>2</sup>					Iver <sup>2</sup>		
<b>Mar</b>	Iver <sup>1</sup>		Aba <sup>3</sup>			Mox <sup>1</sup>	Aba <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>		
<b>Abr</b>				Iver <sup>1</sup>	Mox <sup>1</sup>	Aba <sup>1</sup>					Iver <sup>1</sup>
<b>Mai</b>										Iver <sup>1</sup>	
<b>Jun</b>	Albe <sup>1</sup>		Aba <sup>1</sup>	Iver <sup>2</sup>		Iver <sup>2</sup> Aba <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>			Iver <sup>1</sup>
<b>Jul</b>					Mox <sup>1</sup>	Aba <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>		Aba <sup>5</sup>		
<b>Ago</b>			Aba <sup>3</sup>		Iver <sup>4</sup>			Dora <sup>2</sup>			
<b>Set</b>	Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>	Mox <sup>2</sup>			Dor <sup>2</sup>	Dor <sup>2</sup>		Dor <sup>2</sup>		Iver <sup>1</sup>
<b>Out</b>	Iver <sup>1</sup> Dor <sup>2</sup>			Dor <sup>2</sup>	Dor <sup>2</sup>				Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>	
<b>Nov</b>		Aba <sup>2</sup>	Aba <sup>1</sup>	Mox <sup>1</sup>	Iver <sup>2</sup> Aba <sup>1</sup>	Aba <sup>1</sup>	Mox <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>		Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>1</sup>
<b>Dez</b>	Iver <sup>1</sup>	Iver <sup>3</sup>									Aba <sup>1</sup>

*Jan* Janeiro, *Fev* Fevereiro, *Mar* Março, *Abr* Abril, *Mai* Maio, *Jun* Junho, *Jul* Julho, *Ago* Agosto, *Set* Setembro, *Out* Outubro, *Nov* Novembro, *Dez* Dezembro.

*Iver* Ivermectina, *Aba* Abamectina, *Mox* Moxidectina, *Dora* Doramectina, *Albe* Albendazole.

<sup>1</sup>Tratamentos em Vacas (bovinos fêmeas com mais de 36 meses de idade), Novilhos (bovinos machos castrados com idade entre 8 e 36 meses), Novilhas (bovinos fêmeas com idade entre 8 e 36 meses) e Touro (bovinos machos não castrados com mais de 24 meses de idade), <sup>2</sup>Tratamento em Bezerro (bovinos de ambos os sexo com idade entre 3 e 8 meses), <sup>3</sup>Tratamento em novilhos, <sup>4</sup>Tratamento em touros, novilhos e novilhas, <sup>5</sup>Tratamento em novilhos e novilhas.

**Tabela 3.** Média de ovos por grama de fezes (OPG) e porcentagem de larvas de terceiro estágio dos gêneros de Strongylida recuperadas por cultura de cada grupo de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrointestinais.

Tratamento	Grupo	Dia	OPG	Porcentagem de larvas de terceiro estágio				
				<i>H</i>	<i>Coo</i>	<i>Oe</i>	<i>Ost</i>	<i>Tric</i>
Primeiro	Dora	0	105	88	10	02	00	00
Primeiro	Leva	0	172	92	00	08	00	00
	Dora	36	160	68	06	26	00	00
	Leva	36	110	82	10	08	00	00
	Dora	56	194	68	10	22	00	00
	Leva	56	20	74	10	16	00	00
Segundo	Dora	99	435	70	00	30	00	00
Segundo	Leva	99	130	46	00	56	00	00
	Dora	128	416**	46	40	14	00	00
	Leva	128	30	46	40	14	00	00
Terceiro	Dora	153	345	20	42	36	02	00
Terceiro	Leva	153	138	46	54	00	00	00
	Dora	174	390**	60	16	22	00	02
	Leva	174	05	*	*	*	*	*
	Dora	204	318	72	18	02	08	00
	Leva	204	80	*	*	*	*	*
	Dora	252	283	88	00	00	00	12
	Leva	252	195	72	00	00	19	09

\* Indica não recuperação de larvas de terceiro estágio.

\*\* Indica diferença estatística entre os valores OPG dos grupos ( $p < 0,05$  por test t) nos momentos experimentais.

*Dora* grupo de animais (n= 10) tratados com doramectin, 1% (0,2 mg/kg, subcutânea, Dectomax® Zoetis), *Leva* grupo de animais (n= 10) tratados com levamisol 22,3% (4,5 mg/kg, subcutânea, Levamisol® Noxon).

**Tabela 4.** Frequência anual de tratamentos anti-helmínticos em bovinos de uma propriedade do município de São Gabriel, Rio Grande do Sul, Brasil.

Categoria animal	Número de tratamentos anti-helmínticos										
	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016
Vaca	5	1	4	2	3	5	4	3	2	4	6
Novilho	5	2	6	2	4	5	4	3	3	4	6
Novilha	5	1	4	2	4	5	4	3	3	4	6
Touro	5	1	4	2	4	5	4	3	2	4	6
Bezerro	1	1	1	3	2	2	1	1	2	0	0

*Vacas* bovinos fêmeas com mais de 36 meses de idade, *Novilhos* bovinos machos castrados com idade entre 8 e 36 meses, *Novilhas* bovinos fêmeas com idade entre 8 e 36 meses, *Touro* bovinos machos não castrados com mais de 24 meses de idade, *Bezerro* bovinos de ambos os sexos com idade entre 3 e 8 meses.

## 5 ARTIGO II

### **Economic impacts of high or low effective anthelmintic drugs used within strategic or suppressive regimens of treatment in grazing heifers**

Felipe Lamberti Pivoto<sup>a\*</sup>, Alfredo Skrebsky Cezar<sup>b</sup>, Fernanda Silveira Flores Vogel<sup>c</sup>, Camila Balconi Marques<sup>c</sup>, Marta Elena Machado Alves<sup>c</sup>, Camila Coelho Becker<sup>d</sup>, Marta Lizandra do Rego Leal<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Clínica de Grandes Animais (DCGA), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima 1000, Santa Maria, RS 97105-900, Brazil.

<sup>b</sup> Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), Ijuí, RS, Brazil.

<sup>c</sup> Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), UFSM, Santa Maria, RS, Brazil.

<sup>d</sup> Departamento de Agrometeorologia, UFSM, Santa Maria, RS, Brazil.

\*Corresponding author. Tel.: +55 55 3220 8815; fax: +55 55 3220 8257

E-mail address: felipe.pivoto@gmail.com (F.L. Pivoto)

## Abstract

Parasite resistance is widespread in cattle farms throughout the world as a consequence of the massive use of anthelmintic drugs. Macrocyclic lactones are endectocides largely used to control gastrointestinal nematodes (GIN), ticks, and other ectoparasites in Brazilian farms, followed by benzimidazoles, and imidazothiazoles. However, the actual efficacy of these drugs against GIN are generally not known by the farmers. In this context, the objectives of this study were to evaluate the cost-benefit ratio of the use of high- or low-effective anthelmintic drugs within strategic or suppressive regimens of treatment on regards to EPG counts, liveweight gain, and economic income obtained from grazing heifers raised at a commercial farm system. An efficacy test was performed to select both high- or low-effective drugs to be tested in the target herd. These high-effective (High) or low-effective (Low) drugs were then used within strategic (Strat; four times a year) or suppressive (Supp; once a month) treatment regimens applied in heifers during a year period at a farm in southern Brazil. The experimental groups formed were: Strat-Low (n=24), strategic treatments with a low-effective drug; Supp-Low (n=26), suppressive treatments with a low-effective drug; Strat-High (n=23), strategic treatments with a high-effective drug; Supp-High (n=22), suppressive treatments with a high-effective drug; and Control (n=10), untreated group. Heifers were monthly weighed and had fecal samples collected to evaluate eggs per gram of feces (EPG) counts and the percentage of each genera of GIN present in the feces. The costs of the treatments were calculated using an economic model and the cost-benefit ratio of each treatment regimen was assessed as the difference between the revenue obtained due to the additional liveweight gain promoted by the treatment (compared to the liveweight gain of the control group) and the costs generated by the treatments performed in each experimental group. Efficacy test revealed that levamisole had the higher efficacy against GIN, on the other hand, ivermectins were not effective against GIN in the studied herd. Thus, levamisole was used in Supp-High and Strat-High groups, while ivermectin was used in Supp-Low and Strat-Low groups. EPG mean from Supp-High group was significantly lower compared to untreated control group at experimental days 33, 70, 221, 257, 294, 349, and 376; while this condition was detected in the group Strat-High at experimental days 33, 70, 221, and 312. *Haemonchus* spp. was the most prevalent in all groups during the experimental period. Mean liveweight gain (kg) observed from each experimental group was 126.7 (Strat-Low), 133.6 (Supp-Low), 141.3 (Strat-High), 142.9 (Supp-High), and 125.8 (Untreated control). Total costs of the treatments per each heifer were of US\$ 3.05, US\$ 10.66, US\$ 3.53 and US\$ 10.80 for Strat-Low, Supp-Low, Strat-High and Supp-High, respectively. Treatments with a high-effective drug resulted in monetary gains of US\$ 19.56 (Strat-High) and US\$ 14.98 (Supp-High) in comparison to the untreated control group. Otherwise, Supp-Low and Strat-Low were not profitable. The total cost of the efficacy test was estimated at US\$ 374.79 in the context of the farm studied. In summary, to perform an efficacy test is mandatory to select an effective anthelmintic drug which allows adoption of an effective and profitable anthelmintic regimen. Our study showed that four anthelmintic treatments per year, using a high-effective drug, are efficient to control GIN of growing heifers raised at cultivated pasture in the conditions of southern Brazil. Moreover, this approach was economic feasible and avoid excessive frequencies of treatments.

**Keywords:** Cattle; Economic; Nematodes; Parasite resistance; Weight gain

## 1. Introduction

Infections by gastrointestinal nematodes (GIN) affect the cattle industry throughout the world. Economic impacts caused by GIN spoliation are related to production losses, as decreased liveweight gain, delayed reproductive maturity, decreased milk yield, and mortality, allied to the costs generated by the anthelmintic treatments (Borges, et al., 2013; Candy, et al., 2018; Charlier, et al., 2009; Forbes, et al., 2000; Stromberg, et al., 2012). Anthelmintic drugs - especially macrocyclic lactones (MLs), benzimidazoles, and imidazothiazoles - are the main tools from which farmers can take advantage to control GIN that infect cattle. Nevertheless, the frequent use of these drugs already selected resistant parasite populations in herds from most of the great cattle producer countries (Alonso-Díaz, et al., 2015; Becerra-Nava, et al., 2014; Borges, et al., 2015; Cotter, et al., 2015; Cristel, et al., 2017; Ramos, et al., 2016; Waghorn, et al., 2016).

In Brazil, most of the cattle herds are raised at extensive or semi-intensive grazing systems where they are naturally infected by endo- and ectoparasites. Generally, Brazilian farmers use to perform several anthelmintic treatments along the year, commonly including endectocides as MLs (Ramos, et al., 2016). With this approach, farmers aim to control both GIN, ticks, and myiasis, expecting to warrant the profitability of their production systems. However, the actual efficacy of the drugs used in front of the parasite resistance and, consequently, the actual economic benefits of these treatments are not known in most of the cases (Grisi, et al., 2014).

It is already known that cattle treated with a low effective anthelmintic drug present a minor increase of the liveweight gain in comparison to non-treated control cattle (Edmonds, et al., 2018; Fazzio, et al., 2014). However, little is known about the actual economic impact of this kind of procedure on the profitability of a commercial system. Also, it is important to investigate how much income could be obtained into a farm system when good practices on

GIN control are adopted, as monitoring parasite resistance using efficacy tests and planning a strategic control scheme (Fazio, et al., 2012; Hawkins, 1993).

Therefore, the aims of this study were to quantify: i. the influence of the (high or low) efficacy of the drugs used within (strategic or suppressive) regimens of treatment on eggs per gram of feces (EPG) counts and liveweight gain of growing heifers; and, ii. the economic impact caused by inefficacious anthelmintic treatments used at a commercial farm system.

## **2. Material and methods**

All procedures with animals were approved by the Committee of Ethics in the Use of Animals of the Federal University of Santa Maria under the protocol no. 6085150718.

### *2.1 Farm and animals*

This study was performed using 98 male calves (Experiment 1) and 130 heifers (Experiment 2) of the Angus breed raised at a commercial farm located at coordinates 29°59'11.6"S 54°40'43.0"W in the central region of the state of Rio Grande do Sul into the subtropical area of southern Brazil.

### *2.2 Experiment 1 (efficacy test)*

An efficacy test was performed between April 6<sup>th</sup> (D0) and April 20<sup>th</sup> (D14), 2017, aiming to know the situation of parasite resistance in the target herd. Besides, these results were used to guide the choice of the drugs - with high or low efficacy against the parasite population existing in the herd - that would be used in the Experiment 2.

Thus, 91 from a total of 98 male calves aging between 5 to 7 months old and naturally infected by gastrointestinal nematodes (EPG > 100) were distributed in seven random blocks with similar EPG means. Each group (n=13) was subjected to one of the following treatments:

G1. ivermectin 1% (0.2 mg/kg, subcutaneous, Ivonox<sup>®</sup> Noxon); G2. doramectin 1% (0.2 mg/kg, subcutaneous, Dectomax<sup>®</sup> Zoetis); G3. abamectin 1% (0.2 mg/kg, subcutaneous, Abanox<sup>®</sup> Noxon); G4. eprinomectin 3.6% (0.36 mg/kg, subcutaneous, Eprino<sup>®</sup> Clarion); G5. moxidectin 1% (0.2 mg/kg, subcutaneous, Cydectin<sup>®</sup> Zoetis); G6. levamisole 22.3% (4.5 mg/kg, subcutaneous, Levamisol<sup>®</sup> Noxon); and G7. albendazole 13.6% (3.4 mg/kg, subcutaneous, Ricoben<sup>®</sup> Noxon).

Comparison of EPG counts performed by the McMaster technique and nematodes genera recovered from the larvae cultures performed using the Roberts & O'Sullivan technique at day zero (D0) and day fourteen (D14) post-treatment were used to calculate the efficacy of each drug against the gastrointestinal nematodes present in the herd. A drug was considered highly effective against the gastrointestinal nematodes population when the treatment resulted in a percentage reduction of EPG (PR%) > 95% and the lower confidence limit (LCL) was > 90% at a 95% confidence interval (CI). Parasites were considered resistant to the drug when PR% < 95% and LCL < 90% at a 95% CI. If none of these two conditions was fulfilled, then the parasite resistance was considered as suspected.

### *2.3 Experiment 2*

This experiment was designed to evaluate the effects of the use of high or low efficacious drugs within strategic or suppressive regimens of treatment on EPG reduction and liveweight gain of grazing heifers; and to calculate the economic impact of each treatment regimen tested on the production system. For this purpose, we choose drugs considered as of low efficacy (EPG reduction < 20%; ivermectin 1% at 0.2 mg/kg, subcutaneous, Ivonox<sup>®</sup> Noxon) or high efficacy (EPG reduction > 95%; levamisole 22.3% at 4.5 mg/kg, subcutaneous, Levamisol<sup>®</sup> Noxon) on the parasite population present in the target herd (based on the results of the Experiment 1). In addition, we defined the strategic regimen as four treatments per year

performed at May, September, November, and February; and suppressive regimen as one treatment per month during the experimental period.

During this experiment, heifers were subsequently grazed on winter- and summer-seasonal cultivated pastures at two different field areas. Therefore, at first, a total of 130 Angus heifers were introduced into a winter-seasonal *Lolium multiflorum* cultivated pasture, at a density of 3 heifers/hectare, when they were at fifty-one days after weaning. Heifers were kept in this area from D0 to D140 of the experimental period, comprising the period between May 5<sup>th</sup> and September 20<sup>th</sup>, 2017. Thereafter, these heifers were moved and kept on summer-seasonal *Brachiaria decumbens* cultivated pasture at a density of 2.1 heifers/hectare until the end of the study (D376 at 15<sup>th</sup> May, 2018).

A total of 25 heifers that were either not present at a day of collection or presented clinical signs of bovine anaplasmosis and/or myiasis were taken off from the experimental groups along the experimental period. Thus, 105 heifers remained distributed in five experimental groups that were strategically (Strat) or suppressively (Supp) treated with a high or low efficacious drug, as follows: Strat-Low (n=24); Supp-Low (n=26); Strat-High (n=23); Supp-High (n=22); and Control (n=10), which was the untreated control group.

The climate conditions (rainfall and atmosphere temperature) occurring during the Experiment 2 are described in the Figure 1. Heifers had a fecal sample collected and were individually weighed (at a 100g digital scale) once a month as showed in the Figure 2, which summarizes the experimental design. Before weighing, animals were deprived of food and water for a 12h period.

#### 2.4 Parasitological analysis

Fecal samples were collected directly from the rectum of each animal and individually stored inside identified plastic bags which were kept at approximately 5-10°C into an isothermal

box until be processed at the laboratory (up to 12 h after collection). EPG was assessed using the McMaster technique, with a sensitivity of 50 EPG.

The larvae cultures were performed using the Roberts and O’Sullivan technique (one per group at each sampling, using a homogenized pool of feces). After incubation and baermanization, the genera of a total of 100 third-stage larvae were identified from each culture (Coles et al., 1992, 2006; van Wyk et al., 2004).

### 2.5 Economic analysis

The cost-benefit ratio of each treatment regimen was calculated as the difference between the cost of the treatments and the revenue generated by their benefits on the additional weight gain of the treated animals (compared to the untreated control animals). For this purpose, a model proposed by Rodrigues et al. (2017) was adapted and used as follows:

(1) The cost of the drug used per animal ( $Cd$ ) was calculated using the following equation:

$$\text{Strat-Low and Strat-High: } Cd = (0.02 \cdot \sum_{k=1}^4 Pk) \cdot price$$

$$\text{Supp-Low and Supp-High: } Cd = (0.02 \cdot \sum_{k=1}^{12} Pk) \cdot price$$

Where 0.02 is the volume ( $\text{ml kg}^{-1}$ ) of the drug (levamisole 22.3% or ivermectin 1%) administered to each experimental group; and  $Pk$  is the sum of the expected mean weight of an animal at the day of each treatment (this was performed to adjust the model to the increasing liveweight of the heifers that caused an increase in the volume of the drug administered at each treatment during the experimental period). Therefore, the variable  $Pk$  was defined as the mean liveweight of the animal at each day  $k$  of the treatment, with  $k \in \{1, 2, 3, 4\}$  considering the four treatments performed in the strategic regimen (groups Strat-Low and Strat-High) or  $k \in \{1,$

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12} considering twelve treatments performed in the suppressive regimen (groups Supp-Low and Supp-High). In addition, *price* represented the price of 1 ml of the drug used, being US\$ 0.027 for levamisole or US\$ 0.025 for ivermectin.

(2) The cost of the work ( $C_w$ ) employed to perform the treatments was calculated using the following equation:

$$C_w = t \cdot ph \cdot nw \cdot nt$$

Where,  $C_w$  was assessed as the product of the time ( $t$ ) spent to treat each animal, the hourly wage of a farm worker ( $ph$ ), the number of workers ( $nw$ ) required, and the number of treatments required ( $nt$ ) to each experimental group. The time spent to treat each animal was estimated as 0.08 h. The hourly wage of the Brazilian agricultural worker was calculated as US\$ 1.91; the number of 5 workers was needed to managing the herd and perform the treatments.

(3) The total cost for all the treatments per animal ( $C_t$ ) was then calculated using the following equation:

$$C_t = Cd + C_w$$

(4) The additional monetary gain ( $Ag$ ) resulting from the increase of the mean liveweight of a treated heifer compared to an untreated heifer was calculated as:

$$Ag = (T_{wg} - C_{wg}) \cdot V_{kg}$$

Where,  $T_{wg}$  was the mean of the liveweight gain obtained from treated heifers (calculated to each experimental group) at the end of the experiment 2;  $C_{wg}$  was the mean of the liveweight gain of the heifers kept into the untreated control group at the end of the experiment 2; and  $V_{kg}$  was the value paid for each kilogram of liveweight of a heifer at the Brazilian market at the end of the experimental period (which was of US\$ 1.49 following the EMATER/RS official quotation, available at: [http://www.emater.tche.br/site/info-agro/precos\\_semanais](http://www.emater.tche.br/site/info-agro/precos_semanais)).

Thereafter, the cost-benefit of each treatment regimen was calculated as the difference between  $A_g$  and  $C_t$ . In addition, the break-even point from which a treatment regimen become economically feasible (profitable) was calculated as the additional liveweight gain that a heifer need to have to pay the costs of its treatment.

In addition, the cost of the efficacy test was estimated and included as a cost inherent to the treatment regimens that were performed using a proven effective drug (Strat-High or Supp-High).

Finally, the costs of the efficacy test were estimated using a minimum of ten animals per group ( $n=10$ ) with a mean liveweight of 150 kg per animal. Thus, the costs of the efficacy test included: i. the costs of the drugs considering the volume of each drug (MLs, albendazole, and levamisole) needed to treat ten animals of 150 kg and the price of these drugs at the Brazilian market; ii. The cost of the work employed to treat (D0) and collect fecal samples (D0 and D14) from the animals (calculated as described above); iii. The costs of the travels from the farm to the laboratory where the samples were processed as a distance of 121 km traveled four times (D0 and D14), with a gas consumption of 1 liter of gas at each 12 km traveled with a price of gas of US\$ 1.21 per liter; iv. the cost of the parasitological analysis paid to the laboratory (EPG counts and larvae cultures).

All of the values, including the price of the drugs, the salaries of the workers, and the price paid by each live kilogram of the heifers, which were originally obtained in Brazilian *reais* (R\$) were converted to US dollars (US\$) at a rate of R\$ 3.2608 to US\$ 1.00 (corresponding to the mode of the quotation of the US dollars during the experimental period, available at: <http://www.idealsoftwares.com.br/indices/dolar>).

### *2.6 Statistical analysis (Experiment 2)*

As EPG counts were not normally distributed they were transformed to normal distribution by  $\log_{10}(\text{EPG}+1.5)$  and then their means were compared using ANOVA followed by the post hoc Tukey test.

The variables liveweight gain, total cost of the treatment per heifer, monetary gain promoted by each treatment regimen relative to the untreated control group and cost/benefit ratio of each treatment regimen per heifer were normally distributed (Kolmogorov-Smirnov test,  $p > 0.05$ ). Therefore, their means were compared by ANOVA and the post hoc Tukey test. These statistical tests were performed with a 95% confidence interval and 5% significance level. The Kolmogorov-Smirnov test and the ANOVA and post hoc Tukey test were performed using SAS<sup>®</sup> software (SAS Institute, 2011). Liveweight gain data were analyzed using a mixed procedure and GraphPad Prism v. 5.0 (GraphPad Software, San Diego, USA).

## **3. Results**

### *3.1 Efficacy test*

Efficacy test results are described in the Table 1. Levamisole had the higher efficacy (PR%= 96 with LCL = 93%) against gastrointestinal nematodes and it could be advisable to control these parasites in the target herd. On the other hand, avermectins were not effective against GIN in the studied herd. Therefore, levamisole was chosen as the high effective drug

while ivermectin (PR% = 14 with LCL = 0%) was chosen as the low effective drug to be used in the Experiment 2.

### 3.2 EPG means and larvae cultures from the heifers (experiment 2)

The means of EPG found at each collection day from each experimental group are described in the Figure 3. As showed in the Figure 1, environmental conditions were favorable to the GIN life cycle accomplishment during all the experimental period. Therefore, as expected, heifers from the group Supp-High had consistently low EPG counts throughout the experimental period. Besides, heifers strategically treated with a high effective drug had low counts of EPG up to a month after each treatment. Statistical analysis revealed that EPG mean from Supp-High group was significantly lower ( $p < 0.05$ ) compared to untreated control group at D33, D70, D221, D257, D294, D349, and D376; while this condition was detected in the group Strat-High at D33, D70, D221, and D312. Otherwise, EPG means from heifers strategically or suppressively treated with a low effective drug (Strat-Low and Supp-Low) had no difference ( $p > 0.05$ ) from EPG means observed in the untreated control group, excepting at D33 (Strat-Low) or D294 (Strat-Low and Supp-Low).

Genera of gastrointestinal nematodes found during the experimental period are described in the Figure 4. *Haemonchus* spp. was the most prevalent in all groups during the experimental period, followed by *Cooperia* spp., and *Ostertagia* spp., whilst *Trichostrongylus* spp. and *Oesophagostomum* spp. were present at low percentages. All the infections by GIN were characterized as subclinical, since no clinical signs related to helminthic infections were detected during the experimental period.

### 3.3 Liveweight gain of the heifers (Experiment 2)

Mean liveweight of the heifers and their mean liveweight gain are presented in the Tables 2 and 3, respectively. The initial liveweight means (kg) registered for each experimental group were 152.4 (Strat-Low), 149.5 (Supp-Low), 152.6 (Strat-High), 148.2 (Supp-High) and 151.3 (Untreated control).

At the end of the experimental period, mean liveweight gain (kg) observed from each experimental group was 126.7 (Strat-Low), 133.6 (Supp-Low), 141.3 (Strat-High), 142.9 (Supp-High), and 125.8 (Untreated control).

### *3.4 Economic analysis (Experiment 2)*

The costs of the treatments performed during the experimental period are described in the Table 4. Total costs of the treatments per each heifer were of US\$ 3.05 (Strat-Low), US\$ 10.66 (Supp-Low), US\$ 3.53 (Strat-High), and US\$ 10.80 (Supp-High). The costs of the drug per animal were of US\$ 0.43 (strategic treatments) or US\$ 1.49 (suppressive treatments) for ivermectin; and US\$ 0.48 (strategic treatments) or US\$ 1.63 (suppressive treatments) for levamisole.

Calculated revenues and economic cost/benefit ratio obtained using each experimental treatment regimen are described in the Table 5. On regards to the monetary gain, treatments with the low-effective drug (Strat-Low or Supp-Low) were around the untreated control group results. On the other hand, treatments with a high effective drug resulted in monetary gains of US\$ 19.56 (Strat-High) and US\$ 14.98 (Supp-High) in comparison to the untreated control group.

The break-even point from which each treatment could be economically feasible (paid by the additional liveweight gain resulting from the treatments) are showed in the Figure 5. Therefore, at the price of US\$ 1.49 paid by the live kilogram of the heifers, the costs of the treatments of the group Strat-Low could not be covered and a small margin could be reached

(US\$ 0.13 per live kg) after treatments performed in the group Supp-Low. However, margins of US\$ 0.86 or US\$ 1.27 per live kg could be reached using the treatments performed in the groups Sup-High or Strat-High, respectively.

The costs of the efficacy test are described in the Table 6. The total cost of the efficacy test was estimated at US\$ 374.79 in the context of the farm studied. Therefore, if this test would be used to this particular herd of heifers, it would to add a cost of US\$ 2.88 per heifer.

#### **4. Discussion**

The efficacy test results showed that the parasite population present in the target herd, including *Haemonchus* spp., *Cooperia* spp., and *Oesophagostomum* spp. was resistant to all the MLs available at the Brazilian market. This scenario was not uncommon in southern Brazil (Cezar, et al., 2010, 2011; Ramos, et al, 2016) and it can be explained by the very frequent and massive use of the avermectins by the Brazilian farmers aiming to control GIN and ticks in cattle (Borges, et al., 2008). Resistance of *Haemonchus* spp. to albendazole was also detected. However, levamisole showed high efficacy against the GIN that were infecting cattle from the target herd. Therefore, these results were used to select a high effective (levamisole) and a low effective (ivermectin) drugs to the second phase of this study. In the Experiment 2, the effects and cost/benefit ratio of the use of low- or high-effective anthelmintic drugs within strategic or suppressive regimens of treatment were evaluated in grazing heifers. The experiment 2, was designed to reproduce a situation that is commonly found at the field in Brazil: the use of a high frequency of treatments with not fully effective drugs. Additionally, this situation was compared to the use of a high effective drug identified after an efficacy test, as recommended by Pivoto, et al. (2014).

Macrocyclic lactones (MLs) constitute a group of endectocide drugs massively used to control livestock parasites (Gasbarre, 2014; Ramos et al., 2016). MLs are very potent against

all parasitic life stages of nematodes, including inhibited fourth stage larvae with a persistent efficacy for several weeks (Charlier et al., 2016). These drugs are also useful to perform an integrated control of endoparasites and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick infestation (Morel et al., 2017). However, its massive use resulted in the current scenario, with anthelmintic resistance reported in cattle from Europe, the Americas (North, Central and South) and Oceania (Alonso-Díaz et al., 2015; Cristel et al., 2017; Edmonds et al., 2010; Geurden et al., 2015; Martínez-Valladares et al., 2015; Ramos et al., 2016; Waghorn et al., 2016).

Parasitological results from the Experiment 2 showed that EPG means were kept at consistently low levels in heifers monthly treated with levamisole (Supp-High). However, a monthly frequency of treatments is not advisable at the field conditions, because this approach promotes a great selection pressure that tends to accelerate the parasite resistance process (Suarez and Cristel, 2014). On the other hand, EPG counts observed from heifers subjected to the strategic regimen of treatments with a high effective drug (Strat-High) were not different from that of the untreated control group during most of the experimental period, probably due to the reinfection of the heifers during the period between the strategic treatments. As expected, heifers treated with the low effective drug had EPG means similar to that of the untreated control group during most of the experimental period, as also observed by Edmonds, et al. (2018) and Heckler, et al. (2016).

Interestingly, all of the experimental groups (including the untreated control) presented a decrease of the EPG means in the period between D70 and D140 (Figure 3). It is probably due to a combination of a good nutrition and a decrease of the challenge faced by the animals after their introduction on the winter-seasonal cultivated pasture, since this is intercropped with soybean cultivation during the summer season. Thus, it is possible that the use of this kind of pasture can be acting as a limiting factor that diminishes the reinfection rate of grazing heifers by GIN (Molento et al., 2016). Therefore, future studies are required to evaluate the actual need

for anthelmintic treatments in heifers grazed on this kind of pasture. Additionally, these findings reinforce that many of the treatments performed by the farmers in certain periods of the year are just not required with basis on the epidemiology of the GIN infections in cattle in southern Brazil as advised in other parts of the country (Heckler, et al., 2016; Molento, et al., 2016).

Anthelmintic treatments performed at Brazilian farms are generally a result of the farmer decision, without the aid or assistance of veterinarians. This practice can lead to either inadequate use (an event that is not rare) or the excessive treatment of the animals (Delgado et al., 2009; Lopes et al., 2013). Commonly, the farmer's choice on a drug is also dependent on its commercial availability, endectocide potential, and price (Ramos et al., 2016). All of these factors contribute to accelerate the selection of resistant strains of GIN infecting Brazilian cattle and the consequent failure of the treatments (Cezar, et al., 2010; Cristel, et al., 2017; Ramos, et al., 2016; Soutello, et al., 2007).

Levamisole was effective against GIN in the target herd. Anyway, the decrease of the EPG counts observed in all of the groups (including the untreated control) that takes place after the introduction of the heifers in the winter-seasonal pasture (Figure 3) allied to the similar results obtained in the liveweight gain comparing the groups Supp-High and Strat-High clarified that monthly treatments are not required. Instead of it, a strategic regimen of treatments should be used, similarly to that recommended by Heckler, et al. (2016) in central Brazil. Therefore, acceptable growth rates can be achieved in cattle with modest levels of treatment which can avoid a continuous exposure of the nematode population to the active ingredient of the drug. By performing such actions, selection pressure for resistance would be mitigated by increasing the size of the refugia in both host and pasture (Jackson et al., 2017).

The results for weight gain agreed with our hypothesis as the groups treated with an ineffective drug did not experience an increase of the liveweight gain compared to the untreated group, and/or they experienced a lower weight gain when compared to groups treated with an

effective drug (Tables 2 and 3). The above results are in accordance to a study performed in feedlot cattle, where the animals treated with high effective anthelmintic (100% efficacy against GIN) gained an extra 11 kg compared to animals treated with a low effective anthelmintic (18% of efficacy against GIN), and 14 kg compared to untreated animals (Fazzio et al., 2014).

As shown in the Table 3, at the end of the experimental period both groups treated with high effective anthelmintic drugs (Supp-High or Strat-High) presented a greater cumulative liveweight gain relative to the control group ( $p < 0.05$ ); what did not occur among Supp-Low, Strat-Low, and the control group ( $p > 0.05$ ). Our results align with those reported by Candy et al. (2018), where growing cattle had a final liveweight difference of 12.9 kg in one year, when anthelmintics with incomplete efficacy (51%) and satisfactory efficacy (98.5%) were used. These studies together indicate that the use of low effective drugs against GIN in growing cattle causes negative impact on their liveweight gain, causing losses due to both the costs of the ineffective treatments and the decreased development of the cattle due to the spoliation caused by GIN.

In our study, cattle were mainly infected by the genus *Haemonchus* spp. followed by *Cooperia* spp. and *Ostertagia* spp. (Figure 4). Thus, heifers were submitted to a constant spoliation by *Haemonchus* spp. that are bloodsucker parasites that cause hypertrophy and hyperplasia of the abomasum wall, causing anemia in the host (Fávero et al., 2016). Other genera, especially *Cooperia* and *Ostertagia* were also present at considerable levels since D202 of the experimental period. Infection by *Cooperia* causes substantial swelling of mesenteric lymph nodes, with a significant increase in the density of goblet cells within the epithelium of the proximal small intestine. This results in crucial effects on appetite, nutrient uptake and/or utilization (Stromberg et al., 2012). *Ostertagia* causes damage to the abomasum that becomes edematous with hypertrophy of the gastric mucosa specialized cells of the gastric glands. These cells either degenerate or are replaced by cuboidal mucus-secreting cells, resulting in a lowered

production of chlorhidric acid and pepsinogen (Craig, 2018). Therefore, the efficacy of the anthelmintic drug used should be considered against all of these genera, but specially against *Haemonchus* and secondly against *Ostertagia* and *Cooperia*. If these effects were not found from a single active ingredient, possibly a combination of active ingredients with different modes of action should be used (Cezar, et al., 2011; Ramos, et al., 2016).

The importance of using anthelmintic drugs of proven efficacy against the GIN population in the target herd is also corroborated by the economic issue. In our study, Supp-High or Strat-High regimens of treatment promoted gains of US\$ 14.68 or US\$ 19.56 per heifer a year compared to untreated heifers, and after the costs of the treatments were discounted. However, these monetary results were of US\$ 0.96 (Supp-Low group) or US\$ - 2.14 (Strat-Low group) on regards to the heifers treated with the low-effective drug. Thus, a surprising scenario was observed concerning the economic analysis of the anthelmintic treatments using low-effective drugs, where to keep heifers without any treatment would be more suitable than to treat them with the Strat-Low regimen.

Between both regimens using a high-effective drug, Strat-High had the best economic cost-benefit ratio (Table 5). It was due to the high frequency of treatments used in the Supp-High regimen. Therefore, Supp-High regimen could not be advisable because this approach could be an important factor of selection pressure in the parasite population with consequent increase in the proportion of resistant strains, in this case, to levamisole active ingredient (Suarez and Cristel, 2014).

Recently, Heckler, et al. (2016) proposed a strategic regimen of anthelmintic control using three treatments per year at the months of May, August, and November, in a tropical region of central Brazil. However, cattle raised at the central Brazil is predominantly *Bos indicus* and the climate present both well-defined wet and dry seasons; while *Bos taurus* is predominant in the subtropical area of southern Brazil, where the rains are well-distributed

during all the months of the year. Therefore, in the conditions of the present study, we recommended the use of four treatments per year, at the months of May, September, November, and February, constituting a strategic regimen of anthelmintic control adequate to southern Brazil.

Since our study included the results of an efficacy test, which is mandatory to evaluate and select effective drugs to be used in each particular herd, the costs of the efficacy test were also calculated and considered as costs inherent to the adoption of the Strat-High regimen of treatments at a commercial farm. In this context, when the costs of the efficacy test are included to the farm studied generates an additional cost of US\$ 2.88 per heifer (considering 130 heifers raised at the farm). Anyway, this cost could be easily paid by the additional liveweight gain of the heifers from the Strat-High group. Furthermore, the break-even point analysis can be used to confirm the economic viability of the Strat-High regimen, since it will be reached at a price of US\$ 0.18 per kg of heifer, which is 7-fold lower than the market price (US\$ 1.19).

In summary, the effectiveness of an anthelmintic treatment program is linked to the efficacy of the drugs used in each farm. Performing an efficacy test is also mandatory to select an effective drug and to monitor its efficacy along the years of use. In conclusion, our results indicate that four anthelmintic treatments per year, using a high-effective drug, are efficient to control GIN of growing heifers raised at cultivated pasture in the conditions of southern Brazil. Moreover, this approach was economic feasible and avoid excessive frequencies of treatments.

### **Conflicts of interest**

The authors of this manuscript have no financial or personal relationships with other people or organization that could inappropriately influence or bias the content of the paper.

### **Acknowledgments**

The authors are grateful for the support of equipment necessary for the accomplishment of parasitological techniques of *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES).

## References

- Alonso-Díaz, M. A., Arnaud-Ochoa, R. A., Becerra-Nava, R., Torres-Acosta, J. F. J., Rodríguez-Vivas, R. I., and Quiroz-Romero, R. H., 2015. Frequency of cattle farms with ivermectin resistant gastrointestinal nematodes in Veracruz, Mexico. *Veterinary Parasitology* 212, 439-443.
- Becerra-Nava, R., Alonso-Díaz, M. A., Fernández-Salas, A., and Quiroz, R. H., 2014. First report of cattle farms with gastrointestinal nematodes resistant to levamisole in Mexico. *Veterinary Parasitology* 204, 285-290.
- Borges, F. A., Almeida, G. D., Heckler, R. P., Lemes, R. T., Onizuka, M. K. V., and Borges, D. G. L., 2013. Anthelmintic resistance impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. *Tropical Animal Health and Production* 45, 723-727.
- Borges, F. A., Silva, H. C., Buzzulini, C., Soares, V. E., Santos, E., Oliveira, G. P., and Costa, A. J., 2008. Endectocide activity of a new long-action formulation containing 2.25% ivermectin+1.25% abamectin in cattle. *Veterinary Parasitology* 155, 299-307.
- Borges, F. d. A., Borges, D. G. L., Heckler, R. P., Neves, J. P. L., Lopes, F. G., and Onizuka, M. K. V., 2015. Multispecies resistance of cattle gastrointestinal nematodes to long-acting avermectin formulations in Mato Grosso do Sul. *Veterinary Parasitology* 212, 299-302.

- Candy, P. M., Waghorn, T. S., Miller, C. M., Ganesh, S., and Leathwick, D. M., 2018. The effect on liveweight gain of using anthelmintics with incomplete efficacy against resistant *Cooperia oncophora* in cattle. *Veterinary Parasitology* 251, 56-62.
- Cezar, A. S., Ribas, H. O., Pivoto, F. L., Sangioni, L. A., and Vogel, F. S. F., 2011. Combination of drugs as an alternative to control multi-resistant gastrointestinal nematodes in sheep. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31, 151-157.
- Cezar, A. S., Vogel, F. S. F., Sangioni, L. A., Antonello, A. M., Camillo, G., Toscan, G., and Araujo, L. O. d., 2010. Anthelmintic action of different formulations of macrocyclic lactones on resistant strains of nematodes of cattle. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30, 523-528.
- Charlier, J., Claerebout, E., and Vercruysse, J., 2016. Gastrointestinal Nematode Infections in Adult Dairy Cattle, Reference Module in Food Science. Elsevier.
- Charlier, J., Höglund, J., von Samson-Himmelstjerna, G., Dorny, P., and Vercruysse, J., 2009. Gastrointestinal nematode infections in adult dairy cattle: Impact on production, diagnosis and control. *Veterinary Parasitology* 164, 70-79.
- Coles, G. C., Bauer, C., Borgsteede, F. H. M., Geerts, S., Klei, T. R., Taylor, M. A., and Waller, P. J., 1992. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 44, 35-44.
- Coles, G. C., Jackson, F., Pomroy, W. E., Prichard, R. K., von Samson-Himmelstjerna, G., Silvestre, A., Taylor, M. A., and Vercruysse, J., 2006. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. *Veterinary Parasitology* 136, 167-185.

- Cotter, J. L., Van Burgel, A., and Besier, R. B., 2015. Anthelmintic resistance in nematodes of beef cattle in south-west Western Australia. *Veterinary Parasitology* 207, 276-284.
- Craig, T. M., 2018. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 34, 185-199.
- Cristel, S., Fiel, C., Anziani, O., Descarga, C., Cetrá, B., Romero, J., Fernández, S., Entrocasso, C., Lloberas, M., Medus, D., and Steffan, P., 2017. Anthelmintic resistance in grazing beef cattle in central and northeastern areas of Argentina — An update. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports* 9, 25-28.
- Delgado, F. E. F., Lima, W. S., da Cunha, A. P., Bello, A. C. P. P., Domingues, L. N., Wanderley, R. P. B., Leite, P. V. B., and Leite, R. C., 2009. Cattle helminthiasis: Farmers perception in Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 18, 29-33.
- Edmonds, M. D., Johnson, E. G., and Edmonds, J. D., 2010. Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States. *Veterinary Parasitology* 170, 224-229.
- Edmonds, M. D., Vatta, A. F., Marchiondo, A. A., Vanimisetti, H. B., and Edmonds, J. D., 2018. Concurrent treatment with a macrocyclic lactone and benzimidazole provides season long performance advantages in grazing cattle harboring macrocyclic lactone resistant nematodes. *Veterinary Parasitology* 252, 157-162.
- Fávero, F. C., Buzzulini, C., Cruz, B. C., Felippelli, G., Maciel, W. G., Salatta, B., Siniscalchi, D., Lopes, W. D. Z., Teixeira, W. F. P., Soares, V. E., de Oliveira, G. P., and da Costa, A. J., 2016. Experimental infection of calves with *Haemonchus placei* or *Haemonchus contortus*: Assessment of clinical, hematological and biochemical parameters and

- histopathological characteristics of abomasums. *Experimental Parasitology* 170, 125-134.
- Fazio, L. E., Sánchez, R. O., Streitenberger, N., Galvan, W. R., Giudici, C. J., and Gimeno, E. J., 2014. The effect of anthelmintic resistance on the productivity in feedlot cattle. *Veterinary Parasitology* 206, 240-245.
- Fazio, L. E., Yacachury, N., Galvan, W. R., Peruzzo, E., Sánchez, R. O., and Gimeno, E. J., 2012. Impact of ivermectin-resistant gastrointestinal nematodes in feedlot cattle in Argentina. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32, 419-423.
- Forbes, A. B., Huckle, C. A., Gibb, M. J., Rook, A. J., and Nuthall, R., 2000. Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. *Veterinary Parasitology* 90, 111-118.
- Gasbarre, L. C., 2014. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in the US. *Veterinary Parasitology* 204, 3-11.
- Geurden, T., Chartier, C., Fanke, J., di Regalbono, A. F., Traversa, D., von Samson-Himmelstjerna, G., Demeler, J., Vanimisetti, H. B., Bartram, D. J., and Denwood, M. J., 2015. Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 5, 163-171.
- Grisi, L., Leite, R. C., Martins, J. R. d. S., Barros, A. T. M. d., Andreotti, R., Cançado, P. H. D., León, A. A. P. d., Pereira, J. B., and Villela, H. S., 2014. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23, 150-156.

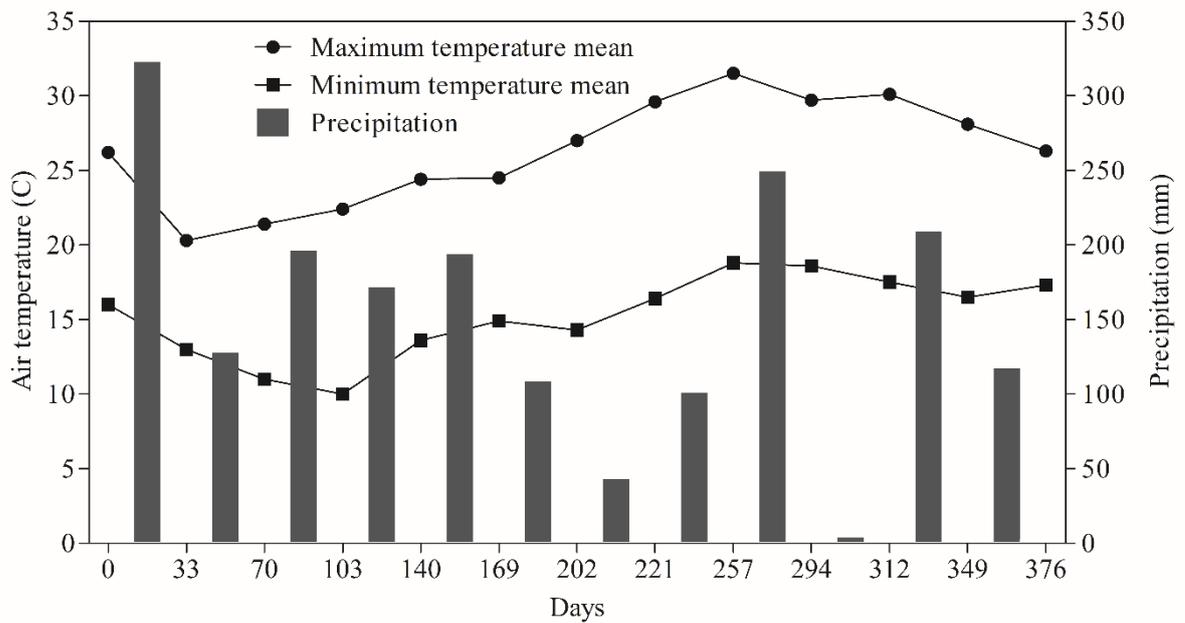
- Hawkins, J. A., 1993. Economic benefits of parasite control in cattle. *Veterinary Parasitology* 46, 159-173.
- Heckler, R. P., Borges, D. G. L., Vieira, M. C., Conde, M. H., Green, M., Amorim, M. L., Echeverria, J. T., Oliveira, T. L., Moro, E., Van Onselen, V. J., and Borges, F. A., 2016. New approach for the strategic control of gastrointestinal nematodes in grazed beef cattle during the growing phase in central Brazil. *Veterinary Parasitology* 221, 123-129.
- Jackson, A., Ellis, K. A., McGoldrick, J., Jonsson, N. N., Stear, M. J., and Forbes, A. B., 2017. Targeted anthelmintic treatment of parasitic gastroenteritis in first grazing season dairy calves using daily live weight gain as an indicator. *Veterinary Parasitology* 244, 85-90.
- Lopes, W. D. Z., dos Santos, T. R., Sakamoto, C. A. M., de Lima, R. C. A., Valarelli, R. L., Paiva, P., and da Costa, A. J., 2013. Persistent efficacy of 3.5% doramectin compared to 3.15% ivermectin against gastrointestinal nematodes in experimentally-infected cattle in Brazil. *Research in Veterinary Science* 94, 290-294.
- Martínez-Valladares, M., Geurden, T., Bartram, D. J., Martínez-Pérez, J. M., Robles-Pérez, D., Bohórquez, A., Florez, E., Meana, A., and Rojo-Vázquez, F. A., 2015. Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in Spain. *Veterinary Parasitology* 211, 228-233.
- Molento, M. B., Buzatti, A., and Sprenger, L. K., 2016. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. *Livestock Science* 192, 48-54.
- Morel, N., Signorini, M. L., Mangold, A. J., Guglielmone, A. A., and Nava, S., 2017. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. *Preventive Veterinary Medicine* 144, 179-183.

- Pivoto, F. L., Machado, F. A., Anezi-Junior, P. A., Weber, A., Cezar, A. S., Sangioni, L. A., and Vogel, F. S. F., 2014. Improving liveweight gain of lambs infected by multidrug-resistant nematodes using a FECRT-based schedule of treatments. *Parasitology Research* 113, 2303-2310.
- Ramos, F., Portella, L. P., Rodrigues, F. d. S., Reginato, C. Z., Pötter, L., Cezar, A. S., Sangioni, L. A., and Vogel, F. S. F., 2016. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of beef cattle in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 6, 93-101.
- Rodrigues, F. d. S., Cezar, A. S., Menezes, F. R. d., Sangioni, L. A., Vogel, F. S. F., and Botton, S. d. A., 2017. Efficacy and economic analysis of two treatment regimens using toltrazuril in lambs naturally infected with *Eimeria* spp. on pasture. *Parasitology Research* 116, 2911-2919.
- SAS Institute, 2011. *Statistical analysis system user's guide: statistics, version 9.3*. Cary, USA.
- Soutello, R. G. V., Seno, M. C. Z., and Amarante, A. F. T., 2007. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology* 148, 360-364.
- Stromberg, B. E., Gasbarre, L. C., Waite, A., Bechtol, D. T., Brown, M. S., Robinson, N. A., Olson, E. J., and Newcomb, H., 2012. *Cooperia punctata*: Effect on cattle productivity? *Veterinary Parasitology* 183, 284-291.
- Suarez, V. H. and Cristel, S. L., 2014. Risk factors for anthelmintic resistance development in cattle gastrointestinal nematodes in Argentina. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23, 129-135.

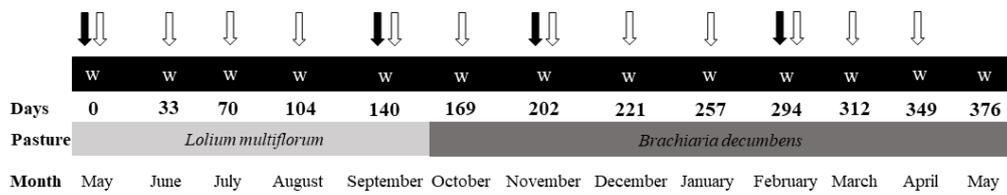
van Wyk, J. A., Cabaret, J., and Michael, L. M., 2004. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary Parasitology* 119, 277-306.

Waghorn, T. S., Miller, C. M., and Leathwick, D. M., 2016. Confirmation of ivermectin resistance in *Ostertagia ostertagi* in cattle in New Zealand. *Veterinary Parasitology* 229, 139-143.

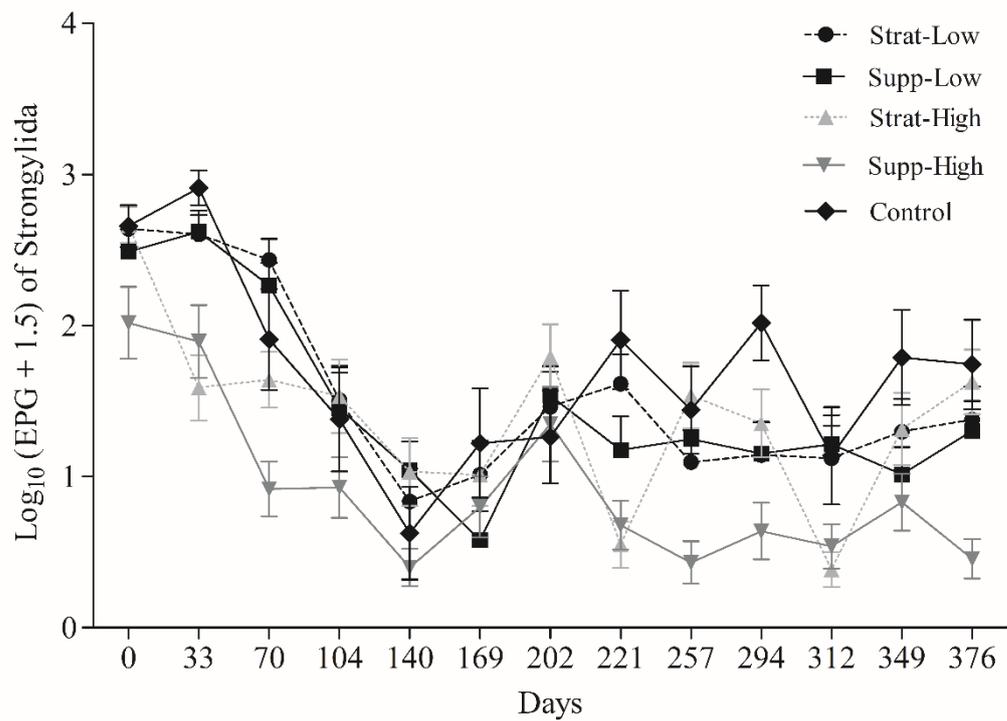
**Figure 1.** Climate conditions recorded by the National Institute of Meteorology (INMET) at the study location during the Experiment 2 (D0 to D376; May 2017 to May 2018), including atmosphere temperature (minimum and maximum means at °C) and monthly accumulated rainfall (precipitation mm).



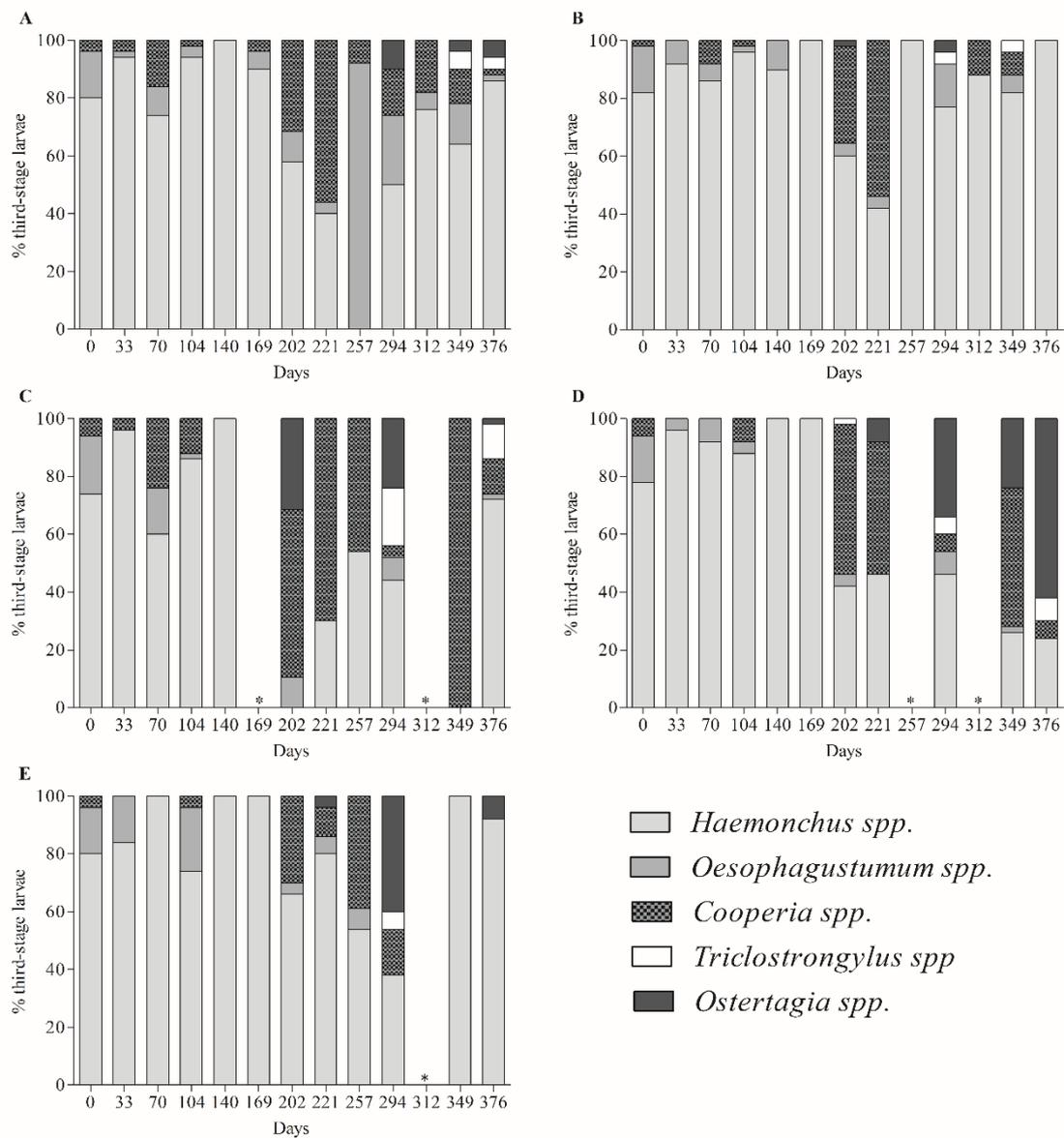
**Figure 2.** Experimental design of the Experiment 2, where: dark arrows indicate strategic treatments, unfilled arrows indicate suppressive treatments, and *w* indicate weightings and fecal collections performed in grazing heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes.



**Figure 3.** Means and standard deviations of EPG counts [transformed to  $\log_{10}(\text{EPG} + 1.5)$ ] in heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).

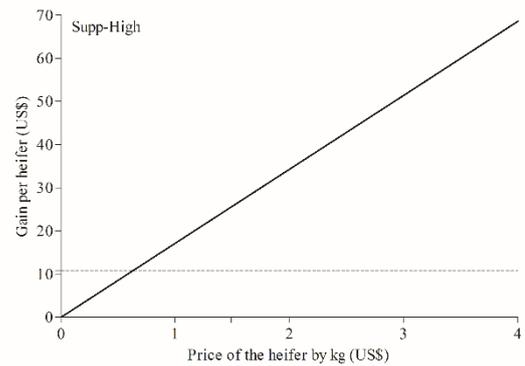
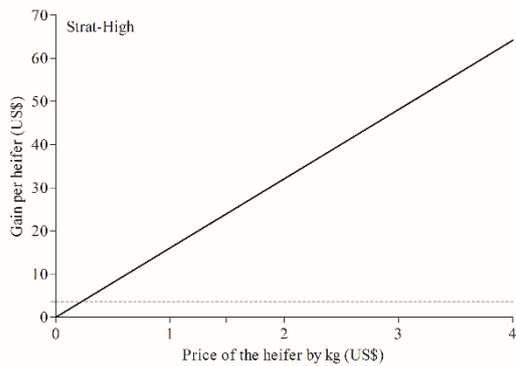
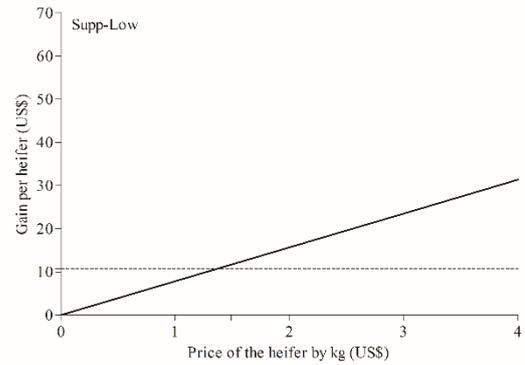
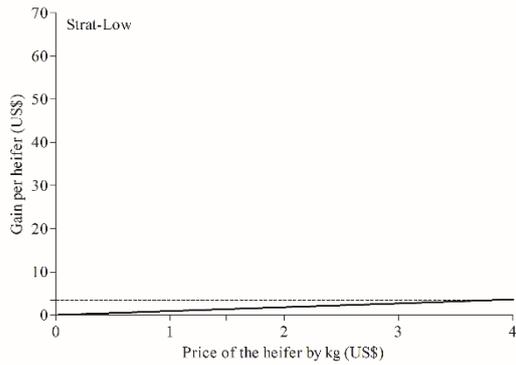


**Figure 4.** Genera of gastrointestinal nematodes recovered from larvae cultures performed from the feces of heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).



(\*) indicate the absence of viable third-stage larvae from the larvae culture at collections in which the EPG means found were very low.

**Figure 5.** Break-even point from which the additional liveweight gain promoted by the treatment was enough to pay the costs of the treatment at the minimum price attributed to each live kilogram of the heifer.



**Table 1.** Percentage of reduction of EPG (PR) and 95 % confidence interval (LCL) and percentage of reduction for each genus of *Strongylida* comparing larvae cultures before (D0) and after (D14) anthelmintic treatments in calves naturally infected by gastrointestinal nematodes.

Active ingredient (mg kg <sup>-1</sup> )	Class	EPG mean		PR% (LCL)	PR (%)		
		D0	D14		<i>H</i>	<i>Coo</i>	<i>Oe</i>
Levamisole 22.3% (4.5)	Imidazothiazole	632	21	96 (93)	96 RS	*	99 S
Albendazole 13.6% (3.4)	Benzimidazole	593	38	93 (89)	92 R	100 RS	97 S
Moxidectin 1% (0.2)	Milbemycin <sup>1</sup>	625	127	79 (70)	78 R	80 R	90 R
Abamectin 1% (0.2)	Avermectin <sup>1</sup>	683	279	58 (46)	61 R	100 RS	36 R
Eprinomectin 3.6% (0.36)	Avermectin <sup>1</sup>	619	338	47 (32)	55 R	100 RS	0 R
Ivermectin 1% (0.2)	Avermectin <sup>1</sup>	688	600	14 (0)	5 R	100 RS	0 R
Doramectin 1% (0.2)	Avermectin <sup>1</sup>	668	625	9 (0)	0 R	63 R	25 R

<sup>1</sup> Macrocyclic lactone. The asterisk (\*) indicate that the genus was not present before or after treatment. *R* = resistance; *RS* = resistance suspected; *S* = sensitive. *H* = *Haemonchus* spp.; *Coo* = *Cooperia* spp.; *Oe* = *Oesophagostomum* spp.

**Table 2.** Mean liveweight of the heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).

Days	Mean liveweight (kg) $\pm$ SEM				
	Strat-Low	Supp-Low	Strat-High	Supp-High	Control
0	152 $\pm$ 4.9	149 $\pm$ 4.2	152 $\pm$ 5.1	148 $\pm$ 4.1	151 $\pm$ 3.0
33	170 $\pm$ 5.0	167 $\pm$ 4.3	172 $\pm$ 5.3	166 $\pm$ 4.0	169 $\pm$ 2.5
70	190 $\pm$ 5.3	188 $\pm$ 4.6	195 $\pm$ 5.7	188 $\pm$ 4.1	189 $\pm$ 2.2
104	209 $\pm$ 5.5	207 $\pm$ 4.9	216 $\pm$ 6.2	208 $\pm$ 4.4	209 $\pm$ 2.0
140	219 $\pm$ 5.6	218 $\pm$ 4.9	227 $\pm$ 6.2	220 $\pm$ 4.6	218 $\pm$ 2.1
169	228 $\pm$ 5.6	227 $\pm$ 5.0	236 $\pm$ 6.3	230 $\pm$ 4.8	227 $\pm$ 2.5
202	238 $\pm$ 5.8	239 $\pm$ 5.2	247 $\pm$ 6.7	242 $\pm$ 5.1	237 $\pm$ 2.9
221	242 $\pm$ 5.6	243 $\pm$ 5.0	253 $\pm$ 6.4	246 $\pm$ 4.9	242 $\pm$ 2.5
257	251 $\pm$ 5.3	253 $\pm$ 4.8	265 $\pm$ 6.5	256 $\pm$ 4.7	252 $\pm$ 2.5
294	260 $\pm$ 5.2	263 $\pm$ 4.7	277 $\pm$ 6.6	267 $\pm$ 4.6	263 $\pm$ 3.1
312	264 $\pm$ 5.2	267 $\pm$ 4.7	280 $\pm$ 6.5	271 $\pm$ 4.7	265 $\pm$ 3.2
349	272 $\pm$ 5.2	276 $\pm$ 4.8	287 $\pm$ 6.5	282 $\pm$ 4.9	272 $\pm$ 3.8
376	279 $\pm$ 5.4	283 $\pm$ 4.9	293 $\pm$ 6.5	291 $\pm$ 5.1	277 $\pm$ 4.4

**Table 3.** Mean liveweight gain of the heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs in comparison to the untreated control group (control).

Days	Cumulative mean of liveweight gain (kg) $\pm$ SEM				
	Strat-Low	Supp-Low	Strat-High	Supp-High	Control
33	17.79 $\pm$ 0.6	18.07 $\pm$ 0.7	19.78 $\pm$ 0.7	18.59 $\pm$ 0.8	17.70 $\pm$ 0.6
70	38.29 $\pm$ 1.3	38.73 $\pm$ 1.6	42.52 $\pm$ 1.6	40.31 $\pm$ 1.9	38.40 $\pm$ 1.4
104	57.41 $\pm$ 1.9	58.15 $\pm$ 2.3	63.73 $\pm$ 2.4	60.68 $\pm$ 2.8	57.70 $\pm$ 2.1
140	67.54 $\pm$ 2.1	69.26 $\pm$ 2.3	75.00 $\pm$ 2.6	72.50 $\pm$ 2.7	67.60 $\pm$ 1.9
169	75.62 $\pm$ 2.3	78.42 $\pm$ 2.5	84.17 $\pm$ 2.7	82.09 $\pm$ 2.9	75.80 $\pm$ 1.9
202	85.75 $\pm$ 2.7	89.50 $\pm$ 2.8	95.47 $\pm$ 3.0	93.86 $\pm$ 3.1	85.70 $\pm$ 2.2
221	90.04 $\pm$ 2.5	94.19 $\pm$ 2.5	101.04 $\pm$ 3.2	98.54 $\pm$ 2.9	90.80 $\pm$ 2.2
257	98.62 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	103.69 $\pm$ 2.1 <sup>ab</sup>	112.43 $\pm$ 3.4 <sup>a</sup>	108.18 $\pm$ 2.8 <sup>ab</sup>	100.70 $\pm$ 2.7 <sup>ab</sup>
294	108.41 $\pm$ 2.9 <sup>b</sup>	114.19 $\pm$ 2.0 <sup>ab</sup>	124.82 $\pm$ 3.8 <sup>a</sup>	119.00 $\pm$ 3.0 <sup>ab</sup>	111.80 $\pm$ 3.6 <sup>ab</sup>
312	111.95 $\pm$ 2.9 <sup>b</sup>	117.92 $\pm$ 2.0 <sup>ab</sup>	127.87 $\pm$ 3.7 <sup>a</sup>	123.68 $\pm$ 3.0 <sup>ab</sup>	114.50 $\pm$ 3.5 <sup>b</sup>
349	120.25 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>	126.80 $\pm$ 2.3 <sup>ab</sup>	135.39 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	134.63 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>	120.90 $\pm$ 3.4 <sup>b</sup>
376	126.70 $\pm$ 3.5 <sup>bc</sup>	133.57 $\pm$ 2.6 <sup>abc</sup>	141.26 $\pm$ 3.6 <sup>ab</sup>	142.86 $\pm$ 3.5 <sup>a</sup>	125.80 $\pm$ 3.6 <sup>c</sup>

Different letters (a,b,or c) in each line indicate significant difference among the experimental groups at each collection of feces ( $p < 0.05$  by Tukey test).

**Table 4.** Total and individual costs of the treatments performed in heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs.

Costs of the treatments (US\$)	Strat-Low (n=24)	Supp-Low (n=26)	Strat-High (n=23)	Supp-High (n=22)
Total cost of the drug per group <sup>a</sup>	10.45	38.82	11.10	35.89
Total cost of the drug per animal	0.43	1.49	0.48	1.63
Total cost of the work per group	73.20	238.42	70.15	201.74
Total cost of the work per animal	3.05	9.17	3.05	9.17
Total cost of the treatment per group	83.65	277.24	81.25	237.63
Total cost of the treatment per animal	3.48	10.66	3.53	10.80

<sup>a</sup> Total volume of each drug used during the experimental period in each group: 418.18 ml (Strat-Low) or 1553.0 ml (Supp-Low) of ivermectin 1%; and 411.26 m (Strat-High) or 1329.38 ml (Supp-High) of levamisole 22.3%.

**Table 5.** Analysis of the economic viability of the treatments performed in heifers naturally infected by gastrointestinal nematodes and subjected to strategic (Strat) or suppressive (Supp) treatments with low (Low) or high (High) effective drugs compared to untreated control group (control).

Revenue obtained due to the liveweight gain of the heifers (US\$) <sup>a</sup>	Strat-Low (n=24)	Supp-Low (n=26)	Strat-High (n=23)	Supp-High (n=22)	Control (n=10)
Average revenue per animal <sup>b</sup>	188.78	199.06	210.53	212.92	187.44
Relative gain per heifer compared to the control group <sup>c</sup>	1.34	11.62	23.09	25.48	-
Cost/benefit ratio of the treatment regimen per animal <sup>d</sup>	- 2.14	0.96	19.56	14.68	-

<sup>a</sup> Price of the live kilogram of the heifer in the Brazilian market = US\$ 1.49 per kg (Emater quotation 2018)

<sup>b</sup> Based on the mean liveweight gain of the heifers from D0 up to D376.

<sup>c</sup> Difference of the mean liveweight gain (kg) compared to the untreated control at the last experimental day.

<sup>d</sup> Calculated as the difference between the revenue obtained due to the treatments (in comparison to the untreated control group) minus the total costs of the treatments per animal.

**Table 6.** Costs of the efficacy test performed to select the anthelmintic drugs to be used in the target herd.

Steps involved in the efficacy test	Costs (US\$)
Anthelmintic or endectocide drugs <sup>a</sup>	15.41
Work employed to perform the test at the farm	53.48
Transport of the samples to the laboratory	48.86
Laboratorial analysis <sup>b</sup>	257.04
Total cost of the efficacy test	374.79

<sup>a</sup> ivermectin 1% (30 ml  $\times$  US\$ 0.025 = US\$ 0.75) + abamectin 1% (30 ml  $\times$  US\$ 0.024 = US\$ 0.72) + doramectin 1% (30 ml  $\times$  US\$ 0.098 = US\$ 2.94); eprinomectin 3.6% (30 ml  $\times$  US\$ 0.18 = US\$ 5.40); moxidectin 1% (30 ml  $\times$  US\$ 0.107 = US\$ 3.21); albendazole 13.6% (37.5 ml  $\times$  US\$ 0.042 = US\$ 1.58); levamisole 22.3% (30 ml  $\times$  US\$ 0.027 = 0.81).

<sup>b</sup> McMaster technique = US\$ 1.53 per sample; Roberts and O'Sullivan technique = US\$ 3.06 per group.

## 6 DISCUSSÃO

O controle adequado de nematódeos gastrointestinais na bovinocultura de corte é fundamental para se estabelecer uma atividade competitiva perante as demais atividades do agronegócio, fazendo com que os bovinos manifestem todo o seu potencial produtivo. No entanto, na pecuária há adoção de várias práticas inadequadas no combate aos parasitos as quais contribuem significativamente para a ocorrência de resistência aos diferentes grupos de anti-helmínticos (JABBAR et al., 2006). Nesse sentido, à adoção de medidas apropriadas no controle de nematódeos gastrointestinais devem ser fomentadas para que ao longo do tempo possamos reduzir os prejuízos causados por estes agentes infecciosos na pecuária de corte.

A predominância da utilização de lactonas macrocíclicas para o controle de parasitos foi anteriormente relatada na literatura (GASBARRE, 2014), e evidenciada em nosso estudo, o qual analisou o histórico do tratamento anti-helmíntico de 2006 a 2016 de uma propriedade do Rio Grande do Sul, Brasil. O principal motivo pelo qual os proprietários optam em utilizar produtos à base de lactonas macrocíclicas é devido a ação destes fármacos como endectocidas (CRISTEL et al., 2017), motivo também observado em nosso estudo. Isso culmina em uma alta frequência de tratamento com estas moléculas que, conseqüentemente, aumenta a pressão de seleção de cepas resistentes, acelerando o desenvolvimento da resistência parasitária. Essa consequência, resistência à lactonas macrocíclicas, pode ser observada em ambos os estudos realizados nessa tese, com todas as lactonas macrocíclicas apresentando redução de ovos por grama de fezes inferior a 95%, valor mínimo desejado para considerar a droga como eficaz (COLES et al., 1992). Em contrapartida, levamisol e benzimidazol foram eficazes no teste de eficácia realizado em nossos estudos, reforçando que a frequência de utilização é um fator de risco para o surgimento da resistência parasitária (SUAREZ E CRISTEL, 2014), uma vez que essas drogas foram pouco e/ou nunca utilizadas previamente nas propriedades.

É de suma importância definir um protocolo de tratamento anti-helmíntico para cada propriedade, e alguns critérios devem ser minuciosamente analisados para a tomada de decisão, entre os quais podemos citar a idade dos animais e fatores epidemiológicos como as variações climáticas, principalmente temperatura e umidade. No entanto, o emprego destes critérios pouco é utilizado nas propriedades. No artigo I dessa tese, observamos que os tratamentos anti-helmínticos foram realizados em meses aleatórios sem a avaliação epidemiológica do local, o que, de acordo com a literatura, favorece o desenvolvimento da resistência parasitária (SUAREZ E CRISTEL, 2014). Ainda, o tratamento foi realizado em

categorias menos suscetíveis aos danos causados pelos nematódeos (ANTONELLO et al., 2010), uma vez que, os tratamentos foram predominantemente realizados em animais adultos.

O tratamento estratégico com anti-helmínticos em bovinos vem sendo discutido em diferentes regiões climáticas, com indicações de dois ou três tratamentos por ano, em meses distintos (HECKLER et al., 2016). Em nosso estudo, foi possível obter resultados de controle anti-helmíntico satisfatório realizando quatro tratamentos ao ano, nos meses de fevereiro, maio, setembro e novembro, desde que realizado utilizando produtos com redução de ovos por grama de fezes superior à 95% na propriedade. Não se observou diferença entre a realização do tratamento estratégico e o tratamento supressivo (mensal), no que se diz respeito a fatores parasitológicos, logo não se justifica a implantação do tratamento supressivo. Aumentar a frequência de tratamento quando se utiliza produtos de baixa eficácia não acarretará na redução desejada da carga parasitária animal, assim como, dobrar a dose recomendada ou aumentar a concentração do produto também não reduz satisfatoriamente a carga parasitária (BORGES et al., 2015; CEZAR et al., 2010). Cinco tratamentos com ivermectina foram realizados em 2016 (artigo I), nesse mesmo ano vinte e quatro novilhos manifestaram sinais clínicos característicos de helmintose. Após tratamento com albendazole, produto sabidamente eficaz na propriedade, observou-se resolução dos sinais clínicos. Isso reforça a ideia de que não se deve intensificar o tratamento anti-helmíntico se o mesmo for realizado com produto de baixa eficácia na propriedade, como observou-se com o uso da ivermectina na fazenda avaliada no artigo I.

O grande *case* do nosso estudo estava em sanar uma lacuna científica a respeito do impacto econômico do controle anti-helmíntico na pecuária de corte. Estudos demonstraram a diferença na produtividade entre animais tratados com produtos de alta e baixa eficácia (CANDY et al., 2018; FAZZIO et al., 2012; FAZZIO et al., 2016), resultado também observado pelo nosso grupo de pesquisa, onde animais tratados com produtos de alta eficácia obtiveram maior ganho de peso que animais tratados com produtos de baixa eficácia. Isso nos remete ao caso de perdas produtivas em manifestações subclínicas que ocorrem em virtude da redução do apetite e má absorção dos nutrientes ingeridos pelos animais infectados por nematódeos gastrointestinais (CHARLIER et al., 2016; CRAIG, 2018). O tratamento anti-helmíntico com produtos ineficazes, provavelmente foi realizado ao longo dos anos na fazenda estudada, uma vez que o controle anti-helmíntico foi realizado predominantemente com lactonas macrocíclicas e essas no teste de eficácia demonstraram baixa redução na contagem de ovos por grama de fezes, tendo como provável consequência redução na produtividade do rebanho e significativas perdas econômicas que não foram mensuradas.

Ao analisar as perdas econômicas ocasionadas pelos nematódeos gastrointestinais deve-se considerar, além da perda de peso, as despesas com medicamentos e com mão de obra. No artigo II buscou-se avaliar os custos dos tratamentos em diferentes protocolos de controle anti-helmíntico, e observou-se que a frequência com que se realiza os tratamentos interfere diretamente no custo final do controle anti-helmíntico, uma vez que os protocolos de tratamento supressivo foram significativamente mais onerosos que os protocolos de tratamento estratégico.

A lucratividade é alcançada realizando o tratamento com produtos eficazes, pois esses permitem maior produtividade do rebanho e tornam o tratamento economicamente viável, como foi observado no artigo II desse estudo, sendo indicado a realização do teste de eficácia para se determinar qual droga será utilizada. No entanto, deve-se levar em consideração o custo para o diagnóstico de quais produtos são eficazes na propriedade. Para obter-se o custo final da realização do teste de eficácia é necessário quantificar: (i) o custo laboratorial, para realização da técnica de McMaster e da técnica de Roberts & O'Sullivan, (ii) o valor gasto com medicamento, que varia conforme o peso dos animais testados, quantos e quais produtos são utilizados, (iii) o custo da mão de obra, que se obtém avaliando o tempo necessário para realizar a coleta e o tratamento, o número de trabalhadores necessário e o valor da hora de trabalho, e (iv) o custo de deslocamento da amostra da propriedade até o laboratório. No artigo II, o custo para realizar o teste de eficácia de sete produtos foi de U\$S 374,78, com o protocolo de tratamento estratégico com produto eficaz apresentou custo benefício de U\$S 19,56, logo o custo do teste de eficácia é o equivalente ao lucro do tratamento de 19,16 animais, podendo então ser considerado irrisório em virtude dos benefícios ocasionados ao rebanho.

Outro ponto interessante do estudo, e que provavelmente muitos proprietários desconhecem, é quantos quilogramas o animal precisa ganhar a mais do que os não tratado para se justificar a realização do tratamento, chamado de ponto de equilíbrio (*break-even point*). No artigo II, observamos que realizando o tratamento com produto eficaz se justifica a realização do tratamento (ganho de peso superior ao *break-even point*), já quando se utilizou produto de baixa eficácia o ganho de peso foi inferior ao *break-even point*.

Nessa tese podemos observar que as lactonas macrocíclicas foram os anti-helmínticos mais utilizados, principalmente a ivermectina. Além disso, critérios epidemiológicos da propriedade devem ser levados em consideração para definir o protocolo anti-helmíntico. Podemos concluir, ainda, que aumentar a frequência de tratamento não é satisfatório para se obter o controle da carga parasitária e das perdas produtivas causadas por nematódeos gastrointestinais, sendo indicado quatro tratamentos anti-helmínticos por ano em fazendas com clima similar ao da estudada, tendo como base fatores parasitológicos e produtivos. O custo do

tratamento anti-helmíntico está diretamente relacionado com a frequência de tratamento, e, quando optamos por realizar o controle estratégico com produto eficaz obtêm-se ótimo custo benefício. Por fim, fica evidente que a infecção por nematódeos gastrointestinais tem grande impacto econômico na produção de bovinos de corte, reduzindo significativamente o ganho de peso desses animais, em contrapartida o tratamento anti-helmíntico, se realizado com produto eficaz, traz alta viabilidade econômica, logo é fundamental a realização do teste de eficácia na propriedade para a escolha do produto antiparasitário.

## **7 CONCLUSÕES**

As lactonas macrocíclicas foram os anti-helmínticos mais utilizados;

Critérios epidemiológicos não eram avaliados para definir o protocolo anti-helmíntico da fazenda;

Instalou-se um cenário de resistência parasitária a todas as lactonas macrocíclicas;

Perdas produtivas, seja por infecções subclínicas ou ainda por manifestações clínicas e consequentemente morte de animais foram presentes;

Aumentar a frequência de tratamento não é satisfatório para reverter a resistência parasitária;

Quatro tratamentos anti-helmínticos por ano é satisfatório em fazendas da região sul do Brasil;

O custo do tratamento anti-helmíntico está diretamente relacionado com a frequência de tratamento;

Infecção por nematódeos gastrointestinais tem grande impacto econômico na produção de bovinos de corte;

O tratamento anti-helmíntico, se realizado com produto eficaz, tem alta viabilidade econômica;

É fundamental a realização do teste de eficácia para a escolha do produto antiparasitário.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. R. et al. Development, survival and distribution of infecting larvae of gastrointestinal nematodes of ruminants at dry period in Baixada Fluminense, RJ. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 14, n. 3, p. 89-94, 2005. Disponível em: < [http://rbpv.org.br/download/1432005/c14389\\_94](http://rbpv.org.br/download/1432005/c14389_94) >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- ALONSO-DÍAZ, M. A. et al. Frequency of cattle farms with ivermectin resistant gastrointestinal nematodes in Veracruz, Mexico. **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3, p. 439-443, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401715003520> >. Acesso em: 15 fev 2019.
- ANTONELLO, A. M. et al. Eggs per gram of feces counting for anthelmintic control in dairy cattle of distinct age groups. **Ciência Rural**, v. 40, p. 1227-1230, 2010. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782010000500038&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782010000500038&nrm=iso) >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- BAIAK, B. H. B.; LEHNEN, C. R.; DA ROCHA, R. A. Anthelmintic resistance in cattle: A systematic review and meta-analysis. **Livestock Science**, v. 217, p. 127-135, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141318304311> >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- BECERRA-NAVA, R. et al. First report of cattle farms with gastrointestinal nematodes resistant to levamisole in Mexico. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n. 3, p. 285-290, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714002283> >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- BORGES, F. A. et al. Anthelmintic resistance impact on tropical beef cattle productivity: effect on weight gain of weaned calves. **Tropical Animal Health and Production**, v. 45, n. 3, p. 723-727, 2013. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0280-4> >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- BORGES, F. D. A. et al. Multispecies resistance of cattle gastrointestinal nematodes to long-acting avermectin formulations in Mato Grosso do Sul. **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3, p. 299-302, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401715002964> >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- CANDY, P. M. et al. The effect on liveweight gain of using anthelmintics with incomplete efficacy against resistant *Cooperia oncophora* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 56-62, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401717305356> >. Acesso em: 15 fev. 2019.
- CANTON, C. et al. Field trial assessment of ivermectin pharmacokinetics and efficacy against susceptible and resistant nematode populations in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 256, p. 43-49, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030440171830164X> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

CEZAR, A. S. et al. Anthelmintic action of different formulations of macrocyclic lactones on resistant strains of nematodes of cattle. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 523-528, 2010. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2010000700002&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2010000700002&nrm=iso) >. Acesso em: 15 fev. 2019.

CHANDY, M. L. et al. Understanding molecular mechanisms in multivariant actions of levamisole as an anti-helminthic, anti-inflammatory, antioxidant, anti-neoplastic and immunomodulatory drug. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology**, v. 28, n. 4, p. 354-357, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212555816300023> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

CHARLIER, J.; CLAEREBOUT, E.; VERCRUYSSSE, J. Gastrointestinal Nematode Infections in Adult Dairy Cattle. In: (Ed.). **Reference Module in Food Science**: Elsevier, 2016. ISBN 978-0-08-100596-5. Acesso em: 15 fev. 2019.

COLES, G. C. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, n. 1, p. 35-44, 1992. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030440179290141U> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

COTTER, J. L.; VAN BURGEL, A.; BESIÉ, R. B. Anthelmintic resistance in nematodes of beef cattle in south-west Western Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3, p. 276-284, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714006190> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

CRAIG, T. M. Gastrointestinal Nematodes, Diagnosis and Control. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 34, n. 1, p. 185-199, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0749072017300889> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

CRISTEL, S. et al. Anthelmintic resistance in grazing beef cattle in central and northeastern areas of Argentina — An update. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 9, p. 25-28, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939016302763> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

DEMELER, J. et al. Monitoring the efficacy of ivermectin and albendazole against gastrointestinal nematodes of cattle in Northern Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 1, p. 109-115, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401708005554> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

EDMONDS, M. D.; JOHNSON, E. G.; EDMONDS, J. D. Anthelmintic resistance of *Ostertagia ostertagi* and *Cooperia oncophora* to macrocyclic lactones in cattle from the western United States. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 3, p. 224-229, 2010. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401710001299> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

EDMONDS, M. D. et al. Concurrent treatment with a macrocyclic lactone and benzimidazole provides season long performance advantages in grazing cattle harboring macrocyclic lactone resistant nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 252, p. 157-162, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030440171830058X> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FAZZIO, L. E. et al. The effect of anthelmintic resistance on the productivity in feedlot cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n. 3, p. 240-245, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714005378> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FAZZIO, L. E. et al. Efficacy and productive performance of moxidectin in feedlot calves infected with nematodes resistant to ivermectin. **Veterinary Parasitology**, v. 223, p. 26-29, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401716300826> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FAZZIO, L. E. et al. Impact of ivermectin-resistant gastrointestinal nematodes in feedlot cattle in Argentina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 5, p. 419-423, 2012. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2012000500010&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2012000500010&nrm=iso) >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FELIPPELLI, G. et al. Nematode resistance to ivermectin (630 and 700µg/kg) in cattle from the Southeast and South of Brazil. **Parasitology International**, v. 63, n. 6, p. 835-840, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138357691400107X> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FERNÁNDEZ, A. S.; FIEL, C. A.; STEFFAN, P. E. Study on the inductive factors of hypobiosis of *Ostertagia ostertagi* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 81, n. 4, p. 295-307, 1999. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401798002520> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FIEL, C. A. et al. Observations on the free-living stages of cattle gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1, p. 217-226, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712000143> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FORBES, A. B. et al. Evaluation of the effects of nematode parasitism on grazing behaviour, herbage intake and growth in young grazing cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 1, p. 111-118, 2000. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401700002181> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

FURTADO, L. F. V.; DE PAIVA BELLO, A. C. P.; RABELO, É. M. L. Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis. **Acta Tropica**, v. 162, p. 95-102, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001706X16304028> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

GASBARRE, L. C. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in the US. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n. 1, p. 3-11, 2014. Disponível em: <

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714001782> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

GASBARRE, L. C. et al. The identification of cattle nematode parasites resistant to multiple classes of anthelmintics in a commercial cattle population in the US. **Veterinary Parasitology**, v. 166, n. 3, p. 281-285, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401709005044> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

GEARY, T. G. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) Guideline: Anthelmintic combination products targeting nematode infections of ruminants and horses. **Veterinary Parasitology**, v. 190, n. 1, p. 306-316, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712004591> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

GEURDEN, T. et al. Anthelmintic resistance to ivermectin and moxidectin in gastrointestinal nematodes of cattle in Europe. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 5, n. 3, p. 163-171, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211320715300087> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1984-29612014000200150&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-29612014000200150&nrm=iso) >. Acesso em: 15 fev. 2019.

HECK, I. et al. Efeito do clima sobre a infecção parasitária em bezerros e presença de larvas em manejo rotativo de pasto em Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 35, p. 1461-1464, 2005. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-84782005000600039&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782005000600039&nrm=iso) >. Acesso em: 15 fev. 2019.

HECKLER, R. P. et al. New approach for the strategic control of gastrointestinal nematodes in grazed beef cattle during the growing phase in central Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 221, p. 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401716300632> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

IBGE. Censo Agropecuária. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017-censo-agropecuario.html?=&t=resultados> >. Acesso em: 10 fev. 2019.

IBGE. Pesquisa Trimestral do Abate de Animais. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2019. Disponível em: < <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/9203-pesquisas-trimestrais-do-abate-de-animais.html?=&t=o-que-e> >. Acesso em: 10 fev. 2019.

JABBAR, A. et al. Anthelmintic resistance: The state of play revisited. **Life Sciences**, v. 79, n. 26, p. 2413-2431, 2006. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320506006436> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

JAJA, I. F. et al. Financial loss estimation of bovine fasciolosis in slaughtered cattle in South Africa. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 2, n. 4, p. 27-34, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405673117300326> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

KENYON, F.; JACKSON, F. Targeted flock/herd and individual ruminant treatment approaches. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 1, p. 10-17, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401711007734> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LAING, R.; GILLAN, V.; DEVANEY, E. Ivermectin – Old Drug, New Tricks? **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 6, p. 463-472, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492217300624> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LEATHWICK, D. M.; BESIÉ, R. B. The management of anthelmintic resistance in grazing ruminants in Australasia—Strategies and experiences. **Veterinary Parasitology**, v. 204, n. 1, p. 44-54, 2014. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401713006882> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LEATHWICK, D. M.; LUO, D. Managing anthelmintic resistance—Variability in the dose of drug reaching the target worms influences selection for resistance? **Veterinary Parasitology**, v. 243, p. 29-35, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401717302571> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LEATHWICK, D. M.; MILLER, C. M. Efficacy of oral, injectable and pour-on formulations of moxidectin against gastrointestinal nematodes in cattle in New Zealand. **Veterinary Parasitology**, v. 191, n. 3, p. 293-300, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401712004773> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LIFSCHITZ, A.; LANUSSE, C.; ALVAREZ, L. Host pharmacokinetics and drug accumulation of anthelmintics within target helminth parasites of ruminants. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 65, n. 4, p. 176-184, 2017. Disponível em: < <http://doi.org/10.1080/00480169.2017.1317222> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LIU, R.-F. et al. The effect of levamisole in the treatment of recalcitrant recurrent erythema multiforme major: An observational study. **Journal of Dermatological Science**, v. 92, n. 1, p. 38-44, 2018. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0923181118303025> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

LOPES, W. D. Z. et al. Persistent efficacy of 3.5% doramectin compared to 3.15% ivermectin against gastrointestinal nematodes in experimentally-infected cattle in Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 94, n. 2, p. 290-294, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528812003001> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MARTIN, R. J. et al. Levamisole receptors: a second awakening. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 7, p. 289-296, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492212000670> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MARTÍNEZ-VALLADARES, M. et al. Resistance of gastrointestinal nematodes to the most commonly used anthelmintics in sheep, cattle and horses in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 211, n. 3, p. 228-233, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401715002733> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MENDES, J. et al. Prevalence of *Ostertagia ostertagi* lesions in slaughtered dairy cattle from São Miguel Island, Azores, Portugal. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 3-4, p. 60-65, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939016300065> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MERLIN, A. et al. End-season daily weight gains as rationale for targeted selective treatment against gastrointestinal nematodes in highly exposed first-grazing season cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 138, p. 104-112, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587716302872> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MOLENTO, M. B. Parasite control in the age of drug resistance and changing agricultural practices. **Veterinary Parasitology**, v. 163, n. 3, p. 229-234, 2009. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401709003471> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MOLENTO, M. B.; BUZATTI, A.; SPRENGER, L. K. Pasture larval count as a supporting method for parasite epidemiology, population dynamic and control in ruminants. **Livestock Science**, v. 192, p. 48-54, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1871141316301962> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

MOREL, N. et al. Strategic control of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation on beef cattle grazed in *Panicum maximum* grasses in a subtropical semi-arid region of Argentina. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 144, p. 179-183, 2017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587717302660> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

O'SHAUGHNESSY, J. et al. Controlling nematodes in dairy calves using targeted selective treatments. **Veterinary Parasitology**, v. 209, n. 3, p. 221-228, 2015. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401715000977> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

RAMOS, F. et al. Economic viability of anthelmintic treatment in naturally infected beef cattle under different nutritional strategies after weaning. **Parasitology Research**, v. 117, n. 12, p. 3993-4002, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6108-z> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

RAMOS, F. et al. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of beef cattle in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 6, n. 1, p. 93-101, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211320716300094> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

RINALDI, M. et al. Infection with the gastrointestinal nematode *Ostertagia ostertagi* in cattle affects mucus biosynthesis in the abomasum. **Veterinary Research**, v. 42, n. 1, p. 61, 2011. Disponível em: < <https://doi.org/10.1186/1297-9716-42-61> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1, p. 89-109, 2001. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401701004253> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

SOLL, M. D. et al. An eprinomectin extended-release injection formulation providing nematode control in cattle for up to 150 days. **Veterinary Parasitology**, v. 192, n. 4, p. 313-320, 2013. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030440171200636X> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

SOUTELLO, R. G. V.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 3, p. 360-364, 2007. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401707003184> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

STROMBERG, B. E. et al. *Cooperia punctata*: Effect on cattle productivity? **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3, p. 284-291, 2012. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401711004997> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

SUAREZ, V. H.; CRISTEL, S. L. Risk factors for anthelmintic resistance development in cattle gastrointestinal nematodes in Argentina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 129-135, 2014. Disponível em: < [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1984-29612014000200129&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1984-29612014000200129&nrm=iso) >. Acesso em: 15 fev. 2019.

SUTHERLAND, I. A.; LEATHWICK, D. M. Anthelmintic resistance in nematode parasites of cattle: a global issue? **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 176-181, 2011. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492210002370> >. Acesso em: 15 fev. 2019.

WAGHORN, T. S.; MILLER, C. M.; LEATHWICK, D. M. Confirmation of ivermectin resistance in *Ostertagia ostertagi* in cattle in New Zealand. **Veterinary Parasitology**, v. 229, p. 139-143, 2016. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401716304095> >. Acesso em: 15 fev. 2019.