

Resistência de *Haemonchus placei*, *Cooperia punctata* e *Oesophagostomum radiatum* à ivermectina pour-on a 500mcgkg⁻¹ em rebanhos bovinos no Brasil

Haemonchus placei, *Cooperia punctata* and *Oesophagostomum radiatum* resistant to ivermectin pour-on 500mcgkg⁻¹ in cattle from Brazil

Welber Daniel Zanetti Lopes^{1*} Gustavo Felippelli¹ Weslen Fabricio Pires Teixeira¹
Breno Cayeiro Cruz¹ Willian Giquelin Maciel¹ Carolina Buzzulini¹
Lucas Vinicius Shigaki de Matos¹ Lucas Vinicius Costa Gomes¹ João Carlos Melo Pereira¹
Flávia Carolina Fávero¹ Gilson Pereira de Oliveira¹ Alvimar José da Costa¹

RESUMO

O amplo espectro de ação dos endectocidas e a praticidade de aplicação das suas formulações pour-on são fatores que têm estimulado uma maior frequência de utilização destes produtos na criação de bovinos. Neste estudo, avaliou-se a eficácia anti-helmíntica da ivermectina, administrada via pour-on, 500mcgkg⁻¹, contra nematódeos de bovinos provenientes de diferentes rebanhos. Foram adquiridos 12 bezerros de cada um dos quatro rebanhos selecionados. Todos os 48 bezerros utilizados apresentavam médias de ovos por grama de fezes (OPG) maiores que 500, considerando-se três contagens consecutivas. Na sequência, os animais de cada rebanho foram divididos em dois grupos de seis bovinos cada, sendo um tratado com ivermectina 500mcgkg⁻¹ via pour-on e outro mantido como controle. Quatorze dias depois do tratamento, os bovinos foram submetidos à eutanásia para contagem de endoparasitas. A ivermectina demonstrou resultados nulos de eficácia contra *H. placei* nos quatro rebanhos. Contra *C. punctata*, tal formulação teve eficácia nula nos rebanhos provenientes de Jaboticabal, SP, e de Formiga, MG, e eficácias de 75,8% e 58,4% nos rebanhos provenientes de São José do Rio Pardo, SP, e de São Sebastião do Paraíso, MG, respectivamente. Valores de eficácia de 94,2% (Jaboticabal), 0,0% (São José do Rio Pardo), 94,2% (Formiga) e 39,2% (São Sebastião do Paraíso) foram detectados contra *O. radiatum*. Com base nos resultados encontrados, pode-se concluir que as quatro populações de *Haemonchus placei* e de *Cooperia punctata* avaliadas foram resistentes à ivermectina, administrada via pour-on, 500mcgkg⁻¹. Foram observadas cepas de *Oesophagostomum radiatum* resistentes à ivermectina em dois dos quatro rebanhos testados.

Palavras-chave: nematódeos gastrintestinais, lactonas macrocíclicas, resistência múltipla, ruminantes, via tópica.

ABSTRACT

The broad spectrum of endectocides and the easy use mode of their pour-on formulations are factors that have stimulated

a higher frequency of use these drugs in cattle. In this study was evaluated the efficacy of ivermectin pour-on using the dose of 500mcgkg⁻¹, against nematodes in naturally infected cattle from different herds. Twelve calves were brought from each of the four farms selected. All the 48 calves used showed mean of eggs per gram of feces (EPG) greater than 500 considering three consecutive counts. Subsequently, animals from each herd were divided into two groups of six animals each, one treated pour-on with ivermectin 500mcgkg⁻¹ and other kept as untreated control. Calves were euthanized 14 days after treatment for counting the endoparasites. Ivermectin showed null effect against *H. placei* in all the herds evaluated. The drug was also ineffective against *C. punctata* in the herds from Jaboticabal, SP and Formiga, MG, and reached efficacy of 75.8% and 58.4% in herds from São José do Rio Pardo, SP and São Sebastião do Paraíso, MG, respectively. Efficacies of 94.2% (Jaboticabal), 0.0% (São José do Rio Pardo), 94.2% (Formiga) and 39.2% (São Sebastião do Paraíso) were detected against *O. radiatum*. Based on these results obtained on the present study, the four populations of *Haemonchus placei* and *Cooperia punctata* evaluated were resistant to ivermectin pour-on using a dose of 500mcgkg⁻¹. Ivermectin-resistant strains of *Oesophagostomum radiatum* were found in two of the four herds evaluated.

Key words: gastrointestinal nematodes, macrocyclic lactones, multiple resistance, ruminants, topically.

INTRODUÇÃO

A eficiência da produção de gado requer ações conjuntas que influenciem positivamente a sanidade, a nutrição e a reprodução, permitindo que os animais expressem o seu potencial genético (FELIPPELLI, 2012). As helmintoses gastrintestinais estão entre os maiores entraves ao desenvolvimento

¹Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP), Via de acesso prof. Paulo Donatto Castellani, s/n, 14884-900, Jaboticabal, SP, Brasil. E-mail: wdzlopes@hotmail.com. *Autor para correspondência.

econômico da pecuária brasileira. Os bovinos parasitados apresentam retardo no crescimento, queda na produção de carne e leite e baixo desempenho reprodutivo, que resultam em elevados prejuízos aos produtores (STROMBERG et al., 2012). Embora possam ser parasitados em todas as faixas etárias, os bovinos jovens são mais susceptíveis às nematodíases (SANTOS et al., 2010).

O controle dessas parasitoses em bovinos ainda depende da utilização de anti-helmínticos. Entretanto, seu uso indiscriminado e incorreto favorece a seleção de cepas resistentes de nematódeos (SOUTELLO et al., 2007). Os relatos de resistência parasitária são mais frequentes em ovinos e caprinos do que em bovinos (SOUZA et al., 2008), o que se justifica, entre outros fatores, pela maior prevalência do gênero *Haemonchus* sp. em pequenos ruminantes, enquanto o gênero *Cooperia* sp. tende a ser o mais frequente nos bovinos no Brasil. Dessa forma, a maior patogenicidade e o maior potencial biótico de *Haemonchus* sp. acabam levando a uma maior frequência de tratamentos anti-helmínticos e maior pressão de seleção de cepas resistentes (SOUZA et al., 2008).

O caráter endectocida e o amplo espectro de ação das lactonas macrocíclicas, além da sua elevada segurança para os animais, com algumas restrições (no caso da abamectina em bovinos com menos de quatro meses de idade), faz com que este grupo químico seja o mais utilizado no controle de helmintos de pequenos e grandes ruminantes no Brasil (LOPES et al., 2009). Pertencente a esse grupo, a ivermectina de administração pour-on foi lançada no mercado brasileiro na década de 90 (FELIPPELLI, 2012), sendo esta uma via menos invasiva e de fácil administração, quando comparada à via parenteral. Essas características fizeram com que a frequência de utilização deste tipo de formulação aumentasse com o passar dos anos em alguns países, tendo surgido relatos de resistência parasitária a essas formulações em alguns estudos conduzidos fora do Brasil (LYNDAL-MURPHY et al., 2010; BARTLEY et al., 2012; LEATHWICK & MILLER 2013). Contudo, apesar do aumento da utilização da ivermectina pour-on em animais, poucos estudos são encontrados na literatura testando a eficácia dessas formulações sobre cepas de helmintos de bovinos no Brasil. Sendo assim, no presente estudo, teve-se como objetivo, avaliar a eficácia anti-helmíntica da ivermectina, administrada via pour-on, na dose de 500mcgkg⁻¹, contra nematódeos de bovinos, naturalmente infectados, provenientes de diferentes rebanhos no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental

Para realização do presente estudo, 12 propriedades rurais, de corte e de leite, foram visitadas para seleção dos animais durante o mês de Abril de 2012. Foram selecionados quatro rebanhos nos municípios de Jaboticabal e São Jose do Rio Pardo, no estado de São Paulo, SP, e Formiga e São Sebastião do Paraíso, no estado de Minas Gerais, MG. No total, foram adquiridos 48 bovinos, mestiços (12 de cada rebanho), machos e fêmeas, entre seis e doze meses de idade, criados em regime de pastagem (*Brachiaria* spp.) e naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais. O critério para a escolha dos animais foi terem apresentado média de OPG > 500, considerando-se três coletas consecutivas conforme contagem pela técnica de GORDON & WHITLOCK (1939). Os bovinos não receberam qualquer tratamento anti-helmíntico nos 120 dias precedentes ao início do estudo. Sete dias antes do tratamento, esses animais foram transportados para o CPPAR/FCAV/UNESP, onde foram mantidos durante todo o período experimental, em baias individuais suspensas, que impossibilitavam reinfecções helmínticas. Os bovinos foram alimentados com silagem de milho, concentrado, sal mineral e água *ad libitum*.

No dia zero do experimento, os bovinos foram alocados nos grupos experimentais, levando-se em conta seu rebanho de origem e usando-se a contagem média de ovos de estrongilídeos por grama de fezes (OPG) nos dias -3, -2 e -1, como critério para sua distribuição aos pares em seis blocos por rebanho. Dentro de cada bloco, os animais foram aleatoriamente alocados aos grupos de tratamento. Após esse sorteio, seis animais foram tratados pela via tópica com ivermectina 500mcgkg⁻¹ pour-on, no volume de 1mL10kg⁻¹ de peso corporal, e outros seis animais foram mantidos como controle para cada rebanho.

Necropsias parasitológicas

Os 48 animais foram necropsiados no 14º dia pós-tratamento. Os animais (após jejum de 24 horas) foram eutanasiados conforme as recomendações éticas descritas no *Guidelines on Euthanasia of American Veterinary Medical Association AVMA* - (2007). Na sequência, os tratos gastrintestinais dos bovinos foram removidos, e seus segmentos anatômicos distintos (abomaso, intestino delgado e intestino grosso) foram isolados e separados por ligaduras duplas. Em seguida, cada segmento foi aberto com auxílio de um enterótomo e toda a mucosa foi lavada com água corrente para colheita do conteúdo total e

dos parasitos presentes. Os conteúdos totais extraídos de cada segmento foram submetidos a uma segunda lavagem e à coagem em tamis (tyler 48, abertura 0,297mm) para concentração das amostras, além de armazenagem em potes plásticos acrescidos de formol a 10% pré-aquecido a 70°C. Além da remoção do conteúdo total do abomaso, a mucosa abomasal foi submetida à digestão com solução pepsina/clorídrica previamente aquecida a aproximadamente 37°C de quatro a seis horas para recuperação de eventuais formas larvares de helmintos presentes neste segmento anatômico (WOOD et al., 1995; VICHÍ-GL 12, 2001). Além disso, pulmões e fígados foram dissecados e inspecionados visualmente, com o objetivo de determinar a presença e o número de helmintos (adultos e larvas), possivelmente presentes nesses órgãos (WOOD et al., 1995).

Identificação das espécies de helmintos

Foi coletada uma alíquota de 10% (pós-homogeneização) de cada conteúdo previamente armazenado em formol. Os helmintos foram colhidos usando estereomicroscópio, e as suas identificações específicas foram realizadas por meio da avaliação da bolsa copuladora e/ou pela região anterior do nematódeo, utilizando um microscópio óptico (ampliação de 100-400x), de acordo com os critérios taxonômicos descritos por LEVINE (1968), COSTA (1982) e UENO & GONÇALVES (1998).

Análise dos dados

As contagens de helmintos foram transformadas em logaritmo neperiano [$\ln(\text{contagens de helmintos} + 1)$] antes da análise. O modelo incluiu os efeitos fixos de tratamento. Os efeitos aleatórios incluíram efeito de bloco e residual. Todos os testes de hipóteses foram realizados utilizando-se um nível de significância de 5%.

As médias aritméticas e geométricas foram utilizadas para estimar a percentagem de redução de helmintos, para cada grupo, em cada experimento, pela fórmula preconizada por VERCRUYSSSE et al. (2000), descrita abaixo. Entretanto, para a classificação da cepa em sensível ou resistente, utilizou-se a média aritmética, conforme preconizam recentes estudos (DOBSON et al., 2009; VERCRUYSSSE et al., 2011).

$$\text{Percentual de eficácia} = \frac{\text{Média do número de helmintos do grupo controle} - \text{Média do número de helmintos do grupo tratado}}{\text{Média do número de helmintos do grupo controle}} \times 100$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram detectadas cepas de *H. placei* e de *C. punctata* resistentes à ivermectina pour-on a

500mcgkg⁻¹ parasitando os bovinos provenientes do município de Jaboticabal, SP. A eficácia da ivermectina contra estas espécies de nematódeos foi nula, conforme se observa na tabela 1. Além disso, não houve diferença significativa ($P > 0,05$) nas contagens de *H. placei* e de *C. punctata* entre os grupos tratado e controle. Por outro lado, o tratamento resultou em eficácia superior a 90% sobre *O. radiatum*.

Considerando os bovinos provenientes da cidade de São José do Rio Pardo, SP, observa-se que as cepas de *H. placei*, *C. punctata* e *O. radiatum* foram classificadas como resistentes à ivermectina (500mcgkg⁻¹) (Tabela 1). De acordo com os resultados da análise estatística, é possível verificar que as médias de *H. placei* e *O. radiatum* recuperadas nos animais tratados com ivermectina pour-on (500mcgkg⁻¹) foram significativamente superiores ($P \leq 0,05$) às contagens médias de helmintos encontradas nos bovinos mantidos como controle (não medicados). Apesar de se ter observado diferença estatística significativa ($P \leq 0,05$) para as contagens médias de *C. punctata* entre os grupos tratado e controle, deve-se considerar que a eficácia da ivermectina pour-on (500mcgkg⁻¹) contra *C. punctata* foi de apenas 75,8% (Tabela 1), conforme calculado com base nas médias aritméticas de parasitos adultos recuperados em cada grupo, configurando resistência parasitária (Tabela 1).

Nos bovinos selecionados no município de Formiga, MG, *H. placei* e *C. punctata* foram considerados resistentes à ivermectina (500mcgkg⁻¹), sendo que a referida formulação demonstrou valores nulos de eficácia contra estas duas espécies de nematódeos (Tabela 1). Da mesma forma que no rebanho proveniente de Jaboticabal, elevada eficácia da ivermectina foi observada apenas contra *O. radiatum* (94,2%, médias aritméticas). Além disso, conforme se observa na tabela 1, a análise estatística dos dados reforça as inferências realizadas por meio do cálculo de eficácia do tratamento.

Em relação aos resultados encontrados nos animais oriundos da cidade de São Sebastião do Paraíso, MG, valores de eficácia de 0,0%, 58,4% e 39,2% foram alcançados usando ivermectina pour-on (500mcgkg⁻¹), contra *H. placei*, *C. punctata* e *O. radiatum*, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa ($P > 0,05$) entre as contagens médias de helmintos recolhidas dos animais tratados e controle para estas três espécies de helmintos.

Embora outras espécies de helmintos tenham sido encontradas nos diferentes rebanhos (*H. similis*, *C. pectinata*, *C. spatulata*, *Trichostrongylus axei*, *Trichostrongylus colubriformis*, *Bunostomum*

Tabela 1 - Médias das contagens das espécies de helmintos recolhidas de bezerros mantidos como controle e tratados (ivermectina 500mcgkg⁻¹pour-on, via tópica), provenientes de diferentes rebanhos e percentuais de eficácia de cada tratamento.

Espécies de helmintos	--T01: controle (Não tratado)--		--T02: Ivermectina (500mcg kg ⁻¹)--		-----Eficácia (%)-----		Classificação da cepa à ivermectina ⁴
	Contagem média ¹	Número de animais infectados	Contagem média ¹	Número de animais infectados	Média aritmética	Média geométrica ³	
-----Experimento - Jaticabal-SP-----							
<i>Haemonchus placei</i>	3027,0 A	6	4359,5 A	6	0,0	0,00	Resistente
<i>Haemonchus similis</i>	223,0 A	3	0,9 A	1	99,6	99,8	Inconclusivo
<i>Cooperia punctata</i>	5500,0 A	6	5573,8 A	6	0,0	0,0	Resistente
<i>Cooperia pectinata</i>	3,0 A	3	1,3 A	2	56,7	65,1	Inconclusivo
<i>Cooperia spatulata</i>	2,0 A	1	17,6 A	2	0,0	0,0	Inconclusivo
<i>Trichostrongylus axei</i>	9,0 A	1	0,1 A	1	98,9	99,1	Inconclusivo
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	251,0 A	6	14,5 B	2	94,2	96,7	Sensível
<i>Trichuris discolor</i>	3,0 A	2	3,4 A	1	0,0	0,0	Inconclusivo
<i>Capillaria bovis</i>	2,0 A	1	0,0 A	1	100,0	100,0	Inconclusivo
-----Experimento - São José do Rio Pardo-SP-----							
<i>Haemonchus placei</i>	787,8 B	6	1562,8 A	6	0,0	0,0	Resistente
<i>Cooperia punctata</i>	115184 A	6	279,0 B	4	75,8	84,3	Resistente
<i>Cooperias patulata</i>	9,8 A	3	11,1 A	2	0,0	0,0	Inconclusivo
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	41,4 B	4	145,4 A	6	0,0	0,0	Resistente
<i>Strongyloides papillosus</i>	0,7 A	1	0,0 A	0	100,0	100,0	Inconclusivo
<i>Trichuris discolor</i>	1,3 A	1	3,4 A	1	0,0	0,0	Inconclusivo
-----Experimento - Formiga-MG-----							
<i>Haemonchus placei</i>	2377,5 B	6	4359,5 A	6	0,0	0,0	Resistente
<i>Haemonchus similis</i>	222,8 A	2	0,9 A	1	99,6	99,6	Inconclusivo
<i>Cooperia punctata</i>	5499,7 A	6	5573,7 A	6	0,0	0,0	Resistente
<i>Cooperia spatulata</i>	2,2 A	1	17,8 A	2	0,0	0,0	Inconclusivo
<i>Cooperia pectinata</i>	3,0 A	2	1,3 A	1	57,0	63,0	Inconclusivo
<i>Trichostrongylus axei</i>	8,6 A	3	0,1 A	1	98,6	98,9	Inconclusivo
<i>Trichostrongylus colubriformis</i>	0,4 A	2	0,0 A	0	100,0	100,0	Inconclusivo
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	251,4 A	6	14,4 B	2	94,2	96,7	Sensível
<i>Bunostromum phobotomum</i>	2,6 A	2	3,4 A	1	0,0	0,0	Inconclusivo
<i>Trichuris discolor</i>	2,3 A	2	0,0 A	0	100,0	100,0	Inconclusivo
<i>Capillaria bovis</i>	0,4 A	1	0,0 A	0	100,0	100,0	Inconclusivo
-----Experimento - São Sebastião do Paraíso-MG-----							
<i>Haemonchus placei</i>	749,91 A	6	1002,6 A	6	0,0	0,0	Resistente
<i>Haemonchus similis</i>	0,59 A	1	0,0 A	0	100,0	100,0	Inconclusivo
<i>Cooperia punctata</i>	567,25 A	6	235,8 A	5	58,4	65,4	Resistente
<i>Cooperia spatulata</i>	8,94 A	2	0,6 A	1	93,3	96,7	Inconclusivo
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	160,00 A	5	97,2 A	4	39,2	50,1	Resistente
<i>Capillaria bovis</i>	2,19 A	1	1,4 A	1	33,8	40,5	Inconclusivo

1: Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si (P>0,05).

2: Formulação comercial adquirida no mercado brasileiro.

3: Média geométrica=antilog[1/n ∑ log(x+1)]-1.

4: Classificação da cepa realizada com base na média aritmética.

phebotomum, *Strongyloides papillosus*, *Trichuris discolor* e *Capillaria bovis*), o baixo número de bovinos do grupo controle parasitados pelas referidas espécies impossibilita inferir sobre os resultados de eficácia ou a comparação estatística das contagens médias de cada uma dessas espécies de helminto entre grupos tratados e controles em questão (Tabela 1). A observação visual dos fígados e pulmões neste estudo, durante a necropsia dos bovinos, não revelou a presença de nenhum parasito. Tais resultados estão de acordo com os descritos por SANTOS et al. (2010), FELIPPELLI (2012) e LOPES et al. (2013).

De acordo com VERCRUYSSSE et al. (2001), uma cepa de nematódeo é considerada resistente quando a eficácia de determinada droga, calculada por meio de médias geométricas, é inferior a 90%. Além disso, o VICH GL12 (2001) ressalta a importância de se considerar a diferença estatística entre os grupos controle e tratados, ao nível de 5% de probabilidade na comparação das médias de cada espécie de helminto. Recentes estudos indicam que a média aritmética deve ser utilizada para se diagnosticar uma cepa de helminto resistente a uma determinada droga antiparasitária, ao invés da geométrica (DOBSON et al., 2009; VERCRUYSSSE et al., 2011). O guia da *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP) de avaliação de eficácia de formulações anti-helmínticas associadas para ruminantes e equinos, publicado por GEARY et al. (2012), relata que a resistência pode ser atribuída a uma população de espécies de helmintos que demonstram redução substancial na susceptibilidade ($\leq 80\%$) a um anti-helmíntico que historicamente apresentava eficácia acima de 95% contra cada uma destas espécies.

Seguindo os critérios supracitados, pode-se afirmar que as populações de *H. placei* e *C. punctata*, de todas as propriedades de onde foram obtidos os animais, são resistentes à ivermectina (500mcgkg⁻¹), administrada via pour-on. Vale ressaltar que *H. placei* e *C. punctata* são os dois mais importantes helmintos parasitos de bovinos no Brasil Central, correspondendo aproximadamente a 90% da carga parasitária destes animais (BIANCHIN et al., 1996; LANDIM et al., 2001; SANTOS et al., 2010). Foram detectadas cepas resistentes de *O. radiatum* em duas das quatro populações avaliadas. Resistência desta espécie de helminto à ivermectina (200 e 630mcgkg⁻¹, via subcutânea) foi diagnosticada pela primeira vez no Brasil, por LOPES et al. (2009), em uma cepa proveniente da cidade de Caldas, Minas Gerais.

A redução da eficácia de produtos pertencentes ao grupo das lactonas macrocíclicas,

administrados via subcutânea, em concentração convencional (200mcgkg⁻¹) e elevada (630mcgkg⁻¹), vem se tornando comum no Brasil (PAIVA et al., 2001; AGUIAR 2004; RANGEL et al., 2005; MELLO et al., 2006; SOUTELLO et al., 2007; SOUZA et al., 2008; CONDI et al., 2009; FELIPPELLI 2012; LOPES et al., 2013). Resultados semelhantes foram obtidos na Bélgica por GRAEF et al. (2012) em bovinos experimentalmente infectados por *Ostertagia ostertagi* e *C. oncophora* resistentes à ivermectina 200mcgkg⁻¹. Nesse caso, os autores observaram, após a necropsia, uma eficácia contra *O. ostertagi* de 89% para a ivermectina e 99% para a moxidectina. Contra *C. oncophora*, tanto a ivermectina quanto a moxidectina demonstraram baixa eficácia (48% e 59%, respectivamente).

De acordo com LOPES et al. (2013), o elevado número de cepas de nematódeos gastrintestinais de bovinos resistentes às lactonas macrocíclicas pode ser atribuído ao frequente uso, principalmente da ivermectina injetável, nos rebanhos brasileiros. Além disso, existem diversas marcas comerciais dessa droga disponíveis no mercado brasileiro, o que por sua vez contribuiu para reduzir o preço desses produtos, aumentando a utilização de tais compostos, o que pode ter resultado em uma elevada pressão de seleção de nematódeos resistentes à ivermectina (FELIPPELLI, 2012).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados no presente estudo, pode-se concluir que as quatro populações de *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* avaliadas são resistentes à ivermectina, administrada via pour-on, na dose de 500mcgkg⁻¹. Contra *O. radiatum*, foi possível observar a ineficácia dessa formulação em duas das quatro populações parasitárias envolvidas neste estudo.

COMITÊ DE ÉTICA E BIOSSEGURANÇA

Este trabalho foi submetido e aprovado pelo comitê de ética do Instituto de Pesquisas em Saúde Animal Ltda., sob processo n.002F3/2012.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D.M. et al. Eficácia da ivermectina 3,5% injetável contra infecção natural por nematóides gastrintestinais em bezerros. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.71, p.749-751, 2004.
- BARTLEY, D.J. et al. Characterisation of macrocyclic lactone resistance in two field-derived isolates of *Cooperia oncophora*. *Veterinary Parasitology*, v.190. p.454-460, 2012. Disponível em:

- <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22884912>>. Acesso em: 11 abr. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.07.022.
- BIANCHIN, I. et al. **Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil**. Campo Grande: EMBRAPA - CNPGC, 1996. (Circular Técnica, 24).
- CONDI, G.K. et al. Moxidectin-resistant nematodes in cattle in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.161, p.213-217, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19251366>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.01.031.
- COSTA, A.J. **Diagnóstico laboratorial em parasitologia**. I. Helmintologia. Jaboticabal-SP: FCAV-UNESP, 1982. 89p.
- DOBSON, R.J. et al. Geometric means provide a biased efficacy result when conducting a faecal egg count reduction test (FECRT). **Veterinary Parasitology**, v.161, p.162-167, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19135802>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.12.007.
- FELIPPELLI, G. **Diagnóstico da resistência de nematódeos à ivermectina (630 e 700mcgkg⁻¹) em bovinos necropsiados procedentes das regiões Sul e Sudeste do Brasil**. 2012. 121f. Dissertação (Mestrado em Patologia Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, SP.
- 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 ruminates and horses. **Veterinary Parasitology**, v.190, p.306-316, 2012. Disponível em: <http://journals.ohiolink.edu/ejc/article.cgi?issn=03044017&issue=v190i1-2&article=306_waftaoniorah>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.09.004.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V.A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **Journal Comminute Science Research Australian**, v.12, p.50-52, 1939.
- GRAEF, J. et al. Assessing resistance against macrocyclic lactones in gastro-intestinal nematodes in cattle using the faecal egg count reduciotm and the controlled efficacy test. **Veterinary Parasitology**, v.189, p.378-382, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22647465>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.040.
- LANDIM, V.J.C. et al. Parasitic nematodes in weaned calves from the northe-east region of São Paulo State, Brazil. **Ars Veterinária**, v.17, p.42-50, 2001.
- LEATHWICH, 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, p.291-300, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23063773>>. Acesso em: 11 abr. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.09.020.
- LEVINE, N.D. **Nematode parasites of domestic animals and of man**. Minneapolis: Burgess Publishing, 1968. 600p.
- LOPES, W.D.Z. et al. Anthelmintic efficacy of oral trichlorfon solution against ivermectin resistant nematode strains in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.166, p.98-102, 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19709817>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.07.045.
- 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, p.290-294, 2013. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23102648>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.rvsc.2012.09.022.
- LYNDAL-MURPHY, et al. Reduced efficacy of macrocyclic lactone treatments in controlling gastrointestinal nematode infections of weaner dairy calves in subtropical eastern Australia. **Veterinary Parasitology**, v.168, p.146-150, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19932565>>. Acesso em: 11 abr. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.10.016.
- MELLO, M.H.A. et al. Side-resistance to macrolactones in cattle nematodes. **Archives of Veterinary Science**, v.11, p.8-12, 2006.
- NOTE for Guidelines on Euthanasia. (American Veterinary Medical Association). 2007. 36p Disponível em: <<https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2013.
- PAIVA, F. et al. Resistência a ivermectina em *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* em bovinos. **A Hora Veterinária**, v.120, p.29-32, 2001.
- RANGEL, V.B. et al. Resistência de *Cooperia* spp. e *Haemonchus* spp. às ivermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, p.186-190, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352005000200008>. Acesso em: 01 mar 2013. doi: dx.doi.org/10.1590/S0102-09352005000200008.
- SANTOS, T.R. et al. Helminth fauna of cattle from Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. **Ciência Rural**, v.40, p.934-938, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782010000400029&script=sci_arttext>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: dx.doi.org/10.1590/S0103-84782010005000040.
- SOUTELLO, R.G et al. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.148, p.360-364, 2007. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17656022>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2007.06.023.
- SOUZA, A.P. et al. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v.38, p.1363-1367, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n5/a26v38n5.pdf>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1590/S0103-84782008000500026.
- STROMBERG, B.E. et al. *Cooperia punctata*: effect on cattle productivity?. **Veterinary Parasitology**, v.183, p.284-291, 2012. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21821358>>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.07.030.
- UENO, H.; GOLÇALVES, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. 4.ed.Japão: JICA, 1998. 166p.
- VERCRUYSSSE, J. et al. Evaluation of persistent efficacy of doramectin and ivermectin injectable against *Ostertagia ostertagi*

and *Cooperia oncophora* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.89, p.63-69, 2000. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10729646>>. Acesso em: 01 mar. 2013.

VERCRUYSSSE, J. et al. International harmonization of anthelmintic efficacy guidelines. **Veterinary Parasitology**, v.96, p.171-193, 2001. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11240092>>. Acesso em: 01 mar. 2013.

VERCRUYSSSE, J. et al. Is the antihelmintic resistance a concern for the control of human soil-transmitted helminths? **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v.1, p.14-27, 2011. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/>

science/article/pii/S2211320711000042>. Acesso em: 01 mar. 2013. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpddr.2011.09.002>.

VICH, Guideline 12. **Effectiveness of antihelmintics**: specific recommendations for bovine – march of 2001. Disponível em: <http://www.vichsec.org/pdf/2000/GL12_ST7.pdf>. Acesso em: 01 mar. 2013.

WOOD, I.B. et al. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP): second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, v.58, p.181-213, 1995. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7571325>>. Acesso em: 01 mar. 2013.