

COMPARATIVO DE DUAS TÉCNICAS COPROPARASITOLÓGICAS QUANTITATIVAS E AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE TRÊS DIFERENTES ANTI-HELMÍNTICOS EM BOVINOS DA RAÇA NELORE

COMPARATIVE STUDY OF TWO QUANTITATIVE COPROPARASITOLOGICAL
TECHNIQUES AND EVALUATION OF THE EFFICACY OF THREE DIFFERENT
ANTHELMINTHICS IN NELORE CATTLE

*André Vianna Martins, Docente, Medicina Veterinária, UNIFESO.
andremartins@unifeso.edu.br*

*Marcus Vinicius Silva de Souza, Discente, Medicina Veterinária, UNIFESO.
vinnysouza336@gmail.com*

*Bruna Aranda Ferreira Leite, Discente, Medicina Veterinária, UNIFESO.
bruninha.aranda@gmail.com*

Renan de Souza Ferreira, Médico Veterinário autônomo. renandesouzaferreirarf@gmail.com

*Daniela Mello Vianna Ferrer, Docente, Medicina Veterinária, UNIFESO.
danielaferrier@unifeso.edu.br*

*Alynne da Silva Barbosa, Docente Pesquisadora voluntária, Instituto Biomédico, UFF.
alynnedsb@gmail.com*

RESUMO

Este trabalho avaliou o comparativo de duas técnicas coproparasitológicas quantitativas e a eficácia de três diferentes anti-helmínticos, em relação ao controle parasitário em bovinos. As amostras de fezes foram analisadas por duas diferentes técnicas parasitológicas microscópicas quantitativas, de Mini-FLOTAC e de McMaster utilizando solução de NaCl 1.200 g/mL, para verificar a carga parasitária, visando também a comparação das duas técnicas. Além disso, foi avaliada a eficiência da ivermectina, doramectina e levamisol em relação a redução da carga parasitária nestes animais. Utilizou-se 36 bovinos da raça Nelore, machos, com idades entre 12 a 36 meses, sob sistema de criação do tipo extensivo, dos quais foram coletadas amostras fecais direto da ampola retal, com auxílio de uma luva de palpação, devidamente identificadas. As amostras foram coletadas de cada um dos animais, sendo a primeira coleta (Do), antes da aplicação dos antiparasitários. As demais coletas ocorreram 30 dias (D30) após a vermifugação, 60 dias (D60) e 90 dias (D90) após a administração dos anti-helmínticos. Os animais foram divididos em quatro grupos: controle (CL) que não receberam antiparasitários, os que receberam ivermectina (IV), doramectina (DR) e levamisol (LV). Os medicamentos foram administrados aos animais em uma única aplicação no dia zero após a primeira coleta das fezes dos animais e randomização dos grupos a partir dos resultados de OPG. A técnica de Mini-FLOTAC apresentou superioridade no diagnóstico dos estrongilídeos frente à McMaster em todas as coletas realizadas. Todos os fármacos testados apresentaram redução nos valores médios de OPG no D30 em comparação com o Do. Apenas o grupo que recebeu levamisol apresentou valores médios de OPG em todos os períodos analisados menores do que o Do, sendo o fármaco com o melhor desempenho. Verificou-se que nenhum antiparasitário apresentou eficácia $\geq 95\%$, ressaltando possível resistência dos parasitos aos fármacos testados, no entanto, pode-se observar uma superioridade do levamisol no controle desses agentes frente aos outros fármacos analisados.

Palavras-chave: Helmintos; Terapêutica; Diagnóstico.

ABSTRACT

This study evaluated the comparative efficacy of two quantitative coproparasitological techniques and three different anthelmintic in relation to parasite control in cattle. Fecal samples were analyzed using two different quantitative microscopic parasitological techniques, Mini-FLOTAC and McMaster, using a 1200 g/mL NaCl solution, to verify the parasite load, also aiming at comparing the two techniques. In addition, the efficiency of ivermectin, doramectin, and levamisole in reducing the parasite load in these animals was evaluated. Thirty-six male Nelore cattle, aged between 12 and 36 months, under an extensive rearing system, were used. Fecal samples were collected directly from the rectal ampulla using a palpation glove and properly identified. Samples were collected from each animal, with the first collection (Do) before the application of antiparasitic drugs. Subsequent collections occurred 30 days (D30) after deworming, 60 days (D60), and 90 days (D90) after the administration of anthelmintic. The animals were divided into four groups: control (CL) that did not receive antiparasitic, those that received ivermectin (IV), doramectin (DR), and levamisole (LV). The medications were administered to the animals in a single application on day zero after the first collection of animal feces, and the groups were randomized based on the OPG results. It was observed that Mini-FLOTAC showed superiority in the diagnosis of strongylids compared to McMaster in all collections performed. All drugs tested showed a reduction in the average OPG values on D30 compared to Do. Only the group that received levamisole showed average OPG values in all analyzed periods lower than Do, being the drug with the best performance. It was found that no antiparasitic drug showed efficacy $\geq 95\%$, highlighting possible parasite resistance to the tested drugs; however, levamisole showed superiority in controlling these agents compared to the other drugs analyzed.

Keywords: Helminths; Therapeutics; Diagnosis.

1. INTRODUÇÃO

As helmintíases em bovinos representam um sério problema socioeconômico, uma vez que os prejuízos gerados por elas trazem perdas significativas para a pecuária, principalmente. O retardo no desenvolvimento dos bovinos, que, consequentemente, diminui sua produção de leite e carne, é um exemplo destes prejuízos. Além disso, há um aumento da taxa de morbidade e de mortalidade nos rebanhos (Domingues; Langoni, 2001; Almeida *et al.*, 2016).

É fundamental o conhecimento das espécies de nematódeos que acometem os bovinos, para a elaboração adequada de tratamentos e utilização de fármacos, além da elaboração de planos sustentáveis, para reduzir o consumo de anti-helmínticos (Neves, 2014). Os avanços no desenvolvimento de anti-helmínticos se intensificaram nos últimos 30 anos, tornando-os mais eficazes, mais seguros e com maior facilidade quanto a sua aplicação (Taylor, 2008; Santarém; Andrade; Alberti, 2016).

A vermifugação dos animais é uma importante estratégia para manter o controle destes parasitos. Porém, o uso de produtos antiparasitários sem a devida orientação técnica aliado ao fácil acesso destes produtos pelo produtor, levam ao aparecimento do aumento da resistência desses parasitos, principalmente quando se trata de helmintos (Bianchin; Catto, 2008).

Além do uso frequente e indiscriminado destes produtos, a resistência dos helmintos tem também, como principais causas, subdosagens, diagnósticos incorretos e falta de rotatividade entre os diferentes princípios ativos (Fiel *et al.*, 2001). Acredita-se que a resistência dos anti-helmínticos tenha sido desenvolvida principalmente pela utilização profilática desses medicamentos (Da Cruz *et al.*, 2010).

A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) foi desenvolvida por Gordon e Whitlock (1939), e utiliza a câmara de McMaster. Esta técnica foi desenvolvida para contagem de ovos de helmintos

em ovinos, embora seja amplamente utilizada para ruminantes em geral e equinos. Ela objetiva avaliar a quantidade de ovos por grama de fezes em um animal ou rebanhos (Fernandes *et al.*, 2005). À medida que os bovinos vão se desenvolvendo e se tornando adultos, os valores de OPG, consequentemente, diminuem, pois, os animais adquirem imunidade (Neves, 2014).

Além desta e de outras técnicas quantitativas tradicionais, a técnica de Mini-FLOTAC desenvolvida por um grupo de pesquisa italiano reúne maior sensibilidade na flutuação das estruturas parasitárias do que as demais técnicas supracitadas. A técnica de Mini-FLOTAC é uma variação do FLOTAC que dispensa o uso de centrífuga e foi desenvolvida desde 2013 como um método novo direto para o diagnóstico de infecções intestinais parasitárias. (Cringoli *et al.*, 2017).

O monitoramento parasitológico dos rebanhos é muito importante, pois auxilia na identificação dos animais cuja imunidade não é capaz de combater esses agentes. O diagnóstico parasitológico das helmintíases gastrintestinais e pulmonares é feito através de técnicas que identificam a contagem de ovos nas fezes, permitindo quantificar a carga parasitária do animal. Este tem grande importância para a terapêutica anti-helmíntica, pois indica o momento adequado para o tratamento e auxilia na escolha dos princípios ativos a serem utilizados. Além disso, o diagnóstico correto pode limitar o uso indiscriminado de fármacos, reduzindo, por consequência, os gastos econômicos com estes produtos e a resistência dos helmintos (Neves, 2014).

O objetivo deste experimento foi avaliar a frequência de parasitos gastrointestinais em fezes de bovinos da raça Nelore, utilizando duas diferentes técnicas quantitativas, bem como comparar a eficácia de três anti-helmínticos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O crescimento na exploração mais intensiva da pecuária bovina ocasiona aumento na lotação das pastagens, observando-se que, em geral, o manejo adotado é de pastejo contínuo, sem rotação de piquetes. Isso acarreta o aumento dos problemas sanitários. Entre os principais, há as infestações pelas mais variadas parasitoses, causadas por hemoparasitose, ectoparasitos e helmintos gastrintestinais e pulmonares. Entretanto, ocorrem problemas para a identificação da alta prevalência dos helmintos gastrintestinais, devido ao fato de a maioria dos animais apresentarem infecção subclínica, cujos sinais clínicos não são visíveis no animal, que, embora pareça estar saudável, não atinge seu potencial máximo de produtividade (Lima, 1998)

As infecções por helmintos gastrintestinais e a flutuação estacional na produção de pastagens são os principais fatores que prejudicam a diminuição dos índices produtivos do rebanho bovino. A soma desses dois fatores resulta na baixa conversão alimentar, no atraso no crescimento e no menor ganho de peso dos animais. Durante as estações frias, as perdas causadas por esses parasitos podem atingir de 15 a 20 % do peso corporal, com a mortalidade de animais mais jovens e a queda no índice de fertilidade das vacas (Leite *et al.*, 1981).

No território nacional, os bovinos criados em sistema extensivo a pasto, estão mais expostos a contaminação por formas larvares de nematódeos gastrintestinais e pulmonares, particularmente do gênero: *Cooperia* spp., *Haemonchus* spp., *Ostertagia* spp., *Strongyloides* spp., *Trichostrongylus* spp., *Oesophagostomum* spp., e *Dictyocaulus* spp. (Figura 1). A incidência e distribuição destes parasitos mudam de região para região e sazonalidade, dependendo de vários fatores como regime pluvial, ecossistema, manejo, raça e idade dos animais. Mesmo em períodos secos, encontram-se consideráveis quantidades de larvas, principalmente de *Cooperia* spp., nos pastos ocupados por esses animais (Bianchin; Melo, 1985).

O efeito da verminose é a diminuição da disponibilidade de nutrientes para os animais. A diminuição na ingestão voluntária, digestão e absorção resulta na perda significativa de proteínas endógenas no trato gastrointestinal, que são responsáveis pelas funções do sistema imune e reparação tecidual. Os helmintos têm uma ação relevante, impedindo o apetite dos animais hospedeiros, auxiliando, assim, na digestão dos nutrientes, causando infecção do trato digestivo e comprometendo a absorção dos alimentos pelos animais. Assim, animais em bom estado nutricional são mais suscetíveis ao parasitismo, reduzindo a chance de infecções secundárias. Em geral, os sinais clínicos das infecções helmínticas são subclínicos, ou seja, não são visíveis a olho nu, prejudicando a produtividade e favorecendo o tratamento equivocado do produtor, ou até mesmo o não tratamento (Venturini; Menezes, 2016).

O diagnóstico das helmintíases gastrintestinais e pulmonares é feito *in vivo*, através de técnicas laboratoriais, como a contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Esta técnica foi desenvolvida por Gordon e Whitlock (1939), e utiliza a câmara de McMaster. Esta técnica foi desenvolvida para contagem de ovos de helmintos em ovinos, embora seja amplamente utilizada para ruminantes em geral e equinos. Ela objetiva avaliar quantitativamente o número de ovos por grama de fezes em um animal ou rebanhos (Fernandes *et al.*, 2005).

A contagem de ovos pela técnica de McMaster apresenta grandes vantagens comparadas às outras técnicas laboratoriais, pois é uma técnica de fácil obtenção de resultados, rápida e muito utilizada para estudos epidemiológicos em rebanhos de animais (Rossanigo; Gruner, 1991 apud Fernandes *et al.*, 2005).

O Mini-FLOTAC tem como objetivo superar o desafio de empregar alta sensibilidade e acessibilidade em um dispositivo moderno. É possível realizar este procedimento em amostras de fezes frescas e fixadas, sem necessidade de etapas de centrifugação. A preparação prévia à análise microscópica tem menos de 15 minutos (Cringoli *et al.*, 2017).

Essa técnica apresenta diversas vantagens, como a versatilidade para detectar vários tipos de parasitos, sensibilidade superior a métodos tradicionais, praticidade e rapidez, além de maior segurança para o operador em alguns sistemas. Embora permita a quantificação da carga parasitária, possui algumas desvantagens, incluindo o custo inicial dos materiais, a dificuldade de aquisição visto que não há empresa fornecedora em mercado nacional e a variabilidade da sensibilidade dependendo do parasito e da solução de flutuação utilizada (Class *et al.*, 2023; Martins *et al.*, 2023).

A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) auxilia no monitoramento parasitológico do grau de infecção dos animais, permitindo avaliar o momento adequado para a vermifugação (Neves, 2014). Contudo, a contagem de OPG não representa um indicativo de infecção real. Um valor de OPG baixo, não representa uma pequena população de helmintos presentes no trato gastrointestinal dos animais, pois, uma infecção severa é causada pelas formas imaturas das espécies de helmintos, antes destas produzirem ovos. Já um valor alto de OPG pode significar sim uma grande população de helmintos presentes no animal (Ueno; Gonçalves, 1998).

Além disso, diversos fatores influenciam na quantidade de ovos presentes nas fezes, como, por exemplo, hora do dia da coleta de amostras; patogenicidade do parasito; idade, nutrição, imunidade do hospedeiro; como também alterações fisiológicas e patológicas do trato gastrointestinal do hospedeiro (Minho; Gaspar; Yoshihara, 2015). A época do ano também é um fator que interfere na quantidade de ovos presentes nas fezes, segundo estudos, de contagens de ovos, realizados entre a época seca do ano e a época chuvosa (Catto *et al.*, 2009).

À medida que os bovinos vão se desenvolvendo e se tornando adultos, os valores de OPG, consequentemente, diminuem, pois, os animais adquirem imunidade (Neves, 2014).

Os diferentes tratamentos anti-helmínticos, com fármacos diferentes, também têm influência sobre a diminuição dos valores de OPG, como, por exemplo, a redução do OPG tratados com endectocidas foi maior que a redução observada em animais tratados com levamisol, em determinada época do ano (Catto *et al.*, 2009).

No controle das helmintoses dos animais, deve-se fazer um planejamento de forma integrada, relacionando algumas medidas sincronizadas e racionais para diminuir a utilização de anti-helmíntico, a fim de melhorar a produtividade e a qualidade dos produtos pecuários. É importante levar em conta a administração da propriedade, métodos de controle biológico e a utilização de medicamentos anti-helmínticos. É importante também levar em conta o manejo de pastagens considerando o clima de cada região na propriedade, fazer piqueteamentos para interromper o ciclo dos parasitas, colocar diversas espécies de animais para pastejar, aprimorar as condições da pastagem para aumentar a lotação e favorecer a fixação do parasito no hospedeiro, o que implica em uma maior vigilância dos animais e maior frequência de tratamentos (Venturini; Menezes, 2016).

A vermifugação dos animais é uma importante estratégia para manter o controle destes parasitos. Porém, a utilização de produtos antiparasitários sem a devida orientação técnica aliado ao fácil acesso destes produtos pelo produtor, levam ao aparecimento do aumento da resistência desses parasitos, principalmente, quando se trata de helmintos (Bianchin; Catto, 2008). Além do uso frequente e indiscriminado destes produtos, a resistência dos helmintos tem também, como principais causas, subdosagens, diagnósticos incorretos e falta de rotatividade entre os diferentes princípios ativos (Fiel *et al.*, 2001).

Existe um grande número de anti-helmínticos disponível no mercado. Contudo, não existe nenhum produto milagroso, o uso racional destes produtos que é o grande desafio. A escolha do produto ideal obedecendo especificações de administração que ajudarão a atingir os benefícios esperados (Vidotto, 2002).

O controle da utilização de anti-helmínticos, na maioria das vezes, é feito de forma equivocada pelos proprietários, com base em propagandas e nos valores dos produtos e serviços. Assim, o ciclo dos princípios ativos é aleatório e, às vezes, realizado em intervalos curtos, em períodos inadequados para o tratamento e categorias animais inadequadas, além de utilizar princípios ativos ineficazes contra a espécie de helminto que está causando problemas. (Ferraz da Costa, 2007).

Com planejamento estratégico, é viável determinar a quantidade ideal de doses a serem aplicadas, de acordo com a necessidade de uma propriedade específica, e obter um controle mais eficiente das verminoses por meio da utilização de anti-helmínticos em determinadas épocas do ano, principalmente no ciclo de vida dos nematódeos gastrintestinais (Mello *et al.*, 2006).

Existem planos de vermifugação como o curativo, que consiste em vermifugar os animais quando eles apresentam sinais clínicos. Isso reduz os custos de tratamento, embora o animal já tenha sofrido danos pelo agente, resultando em perdas. Um dos principais problemas encontrados nesse tratamento é a alta prevalência de casos subclínicos acometendo os animais no rebanho, juntamente com a alta contaminação de ovos dos agentes nas pastagens, tornando inviável essa estratégia relacionada ao custo/benefício (Honer; Bianchin, 1987).

Preventivo ou supressivo, neste caso, são utilizados vermífugos com intervalos regulares pré-estabelecidos, planejando o manejo de todo o ano, procedimento que, entretanto, pode implicar na utilização de doses de vermífugos desnecessárias, além de favorecer o surgimento da resistência na população de vermes com cepas resistentes que estão acometendo o rebanho. A principal vantagem desse método é a redução no total de manejos nos períodos em que ocorrem os maiores índices de infecções (Venturini; Menezes, 2016).

Tático, que consiste em vermifugar os animais em períodos em que o ambiente favorece o crescimento dos vermes, como a época de transição entre o período seco e o período chuvoso ou associado às práticas de manejo, como entrada dos animais em novas áreas de pastagens ou no confinamento, entrada de novos animais na propriedade vindos de outras propriedades, o que torna possível a prevenção. Assim, o proprietário precisa ter conhecimento do ciclo dos parasitas e da epidemiologia das infecções para executar um plano de ação adequado (Honer; Bianchin, 1987).

Estratégico, que dentre as práticas de controle é a que tem o melhor custo/benefício, pois é baseada na prevenção de novas infestações nas pastagens, com obtenção de resultados em médio e longo prazo. As principais características deste método são a utilização racional de vermífugos e a manutenção de cargas parasitárias adequadas à produção animal, o que contribui para o desenvolvimento da imunidade do hospedeiro (Venturini; Menezes, 2016).

Compreender a epidemiologia e a dinâmica dos parasitos em bovinos e pastagem durante todo o ano é fundamental para determinar a melhor maneira de vermifugar os animais. As larvas dependem, principalmente, das condições do pasto para se desenvolverem e se tornarem adultas, especialmente durante períodos chuvosos. Elas encontram as condições ideais para completar o ciclo, chegando a níveis de 90 a 95 % de parasitas presentes nas pastagens, migrando para os animais em períodos de alta temperatura.

Dessa forma, não é viável e indicado a aplicação de vermífugos na estação das chuvas devido ao baixo índice de controle, causada pela decorrente da grande quantidade de parasitas presentes nas pastagens ocasionando reinfecção nos animais. É recomendável utilizar os medicamentos durante o período seco do ano, o que aumenta a exposição dos vermes aos antiparasitários, resultando em uma menor carga de parasitas nos animais no próximo período chuvoso, o que ajuda a reduzir a contaminação das pastagens por ovos (Venturini; Menezes, 2016).

As lactonas macrocíclicas (LMs) disponíveis para aplicação em bovinos apresentam-se em diversas formulações, com diferentes princípios ativos, concentrações e associações - dando alternativas ao produtor para a escolha de drogas eficazes no seu rebanho e adequadas ao seu manejo. Porém, é necessário que se encontrem meios para estender a vida-útil destes e dos demais fármacos antiparasitários, caso contrário, o desenvolvimento de resistência múltipla aos anti-helmínticos pode dificultar, ou mesmo, inviabilizar o controle das nematodíases no rebanho (Coles 2002; Kaplan 2004). Dentre estas lactonas temos a ivermectina, a doramectina e a abamectina que pertencem ao grupo das lactonas macrocíclicas, que tem atuação nos canais do íon Cl, interferindo na ação do neurotransmissor GABA (ácido gamaminobutírico), assim realizando paralisia e morte dos parasitas susceptíveis (Bastianetto; Leite, 2005).

Já o levamisol é um anti-helmíntico sintético de amplo espectro, pertencente ao grupo dos imidazotiazóis, sendo utilizado para o controle de parasitose em bovinos, com formas de apresentação para administração por via oral ou via subcutânea com rápida absorção e excreção. Este fármaco tem a capacidade de potencializar a produção de interferons e aumenta a atividade fagocitária de macrófagos e neutrófilos gerando uma normalização na resposta imunológica inadequada, assim, restaurando um melhor funcionamento dos mecanismos de defesa do animal. Por possuir uma capacidade na melhora da resposta a antígenos, é usado para potencializar o efeito protetor de algumas vacinas (Cazella, 2008).

3. METODOLOGIA

3.1 Considerações Éticas

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Serra do Órgãos (CEUA – UNIFESO) em 05 de março de 2024, sob o número CEUA nº 572/24.

3.2 Coleta de dados

Neste experimento foram utilizados 36 bovinos (*Bos taurus indicus*), da raça Nelore, machos, com idades entre 12 a 36 meses, alojados em uma propriedade no município de Sumidouro, RJ. Esses animais eram mantidos sob o sistema de criação do tipo extensivo, sendo fornecido pasto com forragem adequada, recebendo suplementação em cochos nos próprios pastos, composta apenas por sal proteinado.

As amostras de fezes dos animais envolvidos neste estudo foram obtidas da ampola retal usando luva de palpação, pelos pesquisadores integrantes desse projeto, estando os animais devidamente contidos em brete de contenção. As informações correspondentes aos bovinos utilizados, como idade, sexo, peso e número de registro, foram devidamente registradas em fichas técnicas. Os bovinos integrantes deste experimento se encontravam naturalmente infectados e sem administração de qualquer fármaco anti-helmíntico, no mínimo nos dois meses anteriores às coletas das fezes submetidas para as análises.

As amostras foram coletadas de cada um dos animais, contidos em brete e as suas fezes coletadas diretamente da ampola retal com luvas de palpação longa, sendo a primeira coleta (Do), antes da aplicação dos antiparasitários. As demais coletas ocorreram 30 dias (D30) após a vermifugação, 60 dias (D60) e 90 dias (D90) após a administração dos anti-helmínticos. Após as coletas, as amostras de fezes foram adequadamente identificadas e armazenadas em caixas de isopor para transporte em temperatura ideal 2°C a 8°C, sendo encaminhadas para análise no Laboratório de Parasitologia Animal do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Serra dos Órgãos - UNIFESO e no Laboratório de Parasitologia do Instituto Biomédico da Universidade Federal Fluminense - UFF. Análises foram realizadas mediante a contagem dos ovos por grama de fezes em todos os períodos de tempo do estudo, sempre aplicando as técnicas quantitativas de Mini-FLOTAC (Cringoli *et al.*, 2017) e de McMaster (Gordon; Whitlock, 1939).

3.3 Técnica coproparasitológica quantitativa de Mini – Flotac

Para a realização do diagnóstico da estimativa da carga parasitária de cada bovino, após as coletas e a aplicação dos antiparasitários, foi utilizada a técnica de Mini – Flotac (Cringoli *et al.*, 2017), utilizando a solução de flutuação de cloreto de sódio d=1,200 g/dl. As câmaras de Mini - FLOTAC contendo o material fecal foram lidas em microscópio óptico com aumento de 100x para identificar e contar ovos de helmintos.

Para realizar a técnica foi utilizado o dispositivo tipo copo Fill – FLOTAC para herbívoros (Cringoli *et al.*, 2017). A partir do copo Fill – FLOTAC foi retirado cinco gramas das amostras fecais. Neste copo foi adicionado 45 mL da solução de flutuação e o material devidamente homogeneizado. Em seguida, a solução fecal foi aplicada na câmara do Mini – FLOTAC, ficando em repouso por 10 minutos. Após esse período, a chave do dispositivo do Mini-FLOTAC foi girada em ângulo de 90°C e logo em seguida procedeu-se a leitura de cada câmara dos discos do Mini-FLOTAC em microscópio óptico.

Cada estrutura parasitária visualizada ao microscópio foi contabilizada com o auxílio de um contador numérico. Ao final da contagem, o somatório de cada táxon de parasito identificado, é submetido ao fator de multiplicação, que nesse caso foi 5. Cada câmara do dispositivo de Mini-FLOTAC cabe 1mL de solução fecal, como são lidas as duas câmaras totaliza-se 2 mL de volume na leitura. Considerando o volume final da amostra de 50 mL (5 g de fezes + 45 mL de solução), vê-se que 2 mL dividido em 50 mL equivale a 25. A partir dessa proporção pode-se estimar o número de ovos na amostra multiplicando-se a quantidade do somatório obtido por 25.

No entanto, a quantidade no OPG, é determinada levando em consideração um grama de material fecal, por isso além de se multiplicar por 25, deve-se dividir por 5, que é a mesma coisa que multiplicar diretamente por 5, ou seja, o fator de correção.

3.4 Técnica coproparasitológica quantitativa de McMaster

Paralelamente à técnica anterior, foi realizado o método de McMaster (Gordon; Whitlock, 1939) modificada para contagem de ovos por grama de fezes (OPG), também utilizando a solução de flutuação de cloreto de sódio $d=1,200$ g/dl. Usando o mesmo copo Fill – FLOTAC com cinco gramas das amostras fecais, no qual havia sido adicionado 45 mL da solução de flutuação. Após homogeneização do material, a solução fecal foi aplicada na câmara McMaster, ficando em repouso por 10 minutos. Em seguida realizou-se a etapa de visualização no microscópio mediante a lente objetiva de 40x, onde o campo $A + \text{campo } B/2 \times 100 = N^\circ$ de ovos por grama de fezes.

3.5 Teste de eficácia de anti-helmínticos

Os antiparasitários escolhidos para este estudo foram a ivermectina (1ml para cada 50kg), doramectina (1ml para cada 50kg) e levamisole (1ml para cada 40kg), aplicados por via subcutânea na tábua do pescoço.

No DO, os animais foram submetidos a exame coproparasitológico quantitativo para identificação da carga parasitária e assim, randomizados e separados em quatro grupos, sendo alocados nove em cada. Os grupos foram divididos, respeitando-se a similaridade entre as médias dos OPG em cada, em grupo controle (CL), ou seja, que não receberam nenhum antiparasitário, aqueles que receberam, por via subcutânea na tábua do pescoço, ivermectina a 1% (IV), os que receberam doramectina a 1% (DR) e os que receberam levamisol 18,8% (LV). As contagens de OPG foram feitas nos períodos pré-tratamento (Do) e pós-tratamento, sendo este analisado em três intervalos de 30 dias (D30, D60 e D90).

Após a análise dos resultados encontrados, com o intuito de verificar se houve ou não uma eficácia no tratamento desses animais, ou seja, se houve ou não uma redução da carga parasitária, serão comparados os resultados de cada grupo, para avaliar ação de cada medicamento utilizado.

Segundo o programa RESO, o diagnóstico de resistência foi alcançado quando: a porcentagem de redução na contagem de ovos de *estrongilídeos* foi menor do que 95% e quando o intervalo de confiança de 95% (menor e maior) foi menor do que 90%. Se pelo menos um desses critérios foi encontrado, suspeita-se da resistência, de acordo com (Coles *et al.*, 1992; Coles *et al.*, 2006).

3.6 Análise dos dados

As informações observadas nas fichas dos bovinos, assim como os resultados encontrados dos parasitos foram tabulados em bancos de dados do Excel Microsoft Office Excel 2007, sendo posteriormente submetidos para análise estatística para avaliar a significância parasitária em comparação com a variável analisada.

Os resultados deste estudo seguem apresentados em tabelas e gráficos. A concordância entre as técnicas de Mini-FLOTAC e McMaster em relação a frequência do diagnóstico para os ovos de *strongilídeos* foi determinada pelo coeficiente Kappa de Cohen com intervalo de confiança de 95%. O coeficiente Kappa foi interpretado seguindo a classificação de Landis e Koch (1977). Kappa <0: não houve concordância, 0 a 0,20 concordância fraca, 0,21 a 0,40 concordância mediana, 0,41 a 0,60: concordância moderada, 0,61 a 0,80: concordância substancial, 0,81 a 1,0: quase perfeita.

Ao se analisar os resultados quantitativos evidenciados nos OPGs entre as técnicas verificou-se pelo teste de normalidade que se tratava de dados não paramétricos, e desta forma foi realizado o teste de Spearman com nível de significância de 5% para se analisar a correspondência dos resultados quantitativos. Todas as análises foram realizadas com SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 25.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidas amostras fecais de 36 bovinos de corte alojados numa propriedade no município de Sumidouro/RJ, as quais foram submetidas às técnicas coproparasitológicas quantitativas de McMaster e de Mini – FLOTAC, para contagem de ovos por grama de fezes. Foram detectados apenas ovos de *strongilídeos* nos animais parasitados.

Pode-se verificar uma superioridade na frequência de amostras com diagnóstico para os *strongilídeos* detectados pelo Mini-FLOTAC (100%; 77,7%; 80,5%; 86,1%) em comparação ao McMaster (86,1%; 61,1%; 69,4%; 63,8%) nas quatro coletas realizadas. O índice Kappa apresentou valores que variaram entre 0,000 e 0,709, ou seja, as concordâncias no diagnóstico entre as técnicas variaram entre as categorias consideradas de fraca a substancial. Elevados valores do coeficiente de correlação de Spearman foram observados entre as técnicas em relação ao OPG de *strongilídeos* na segunda, terceira e quarta coletas de amostras fecais ($r = 0,9102; 0,9166; 0,9125$).

Desta forma, foi possível verificar que o Mini-FLOTAC mostrou-se uma técnica mais satisfatória e confiável para o diagnóstico de *strongilídeos*, no entanto, na contagem de ovos dos parasitos (OPG) houve uma correspondência nos valores evidenciados entre as técnicas laboratoriais empregadas, sendo o resultado estatisticamente significativo (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação dos resultados obtidos entre as técnicas parasitológicas quantitativas de Mini-Flotac e McMaster para detectar ovos de estrongilídeos nas amostras fecais de bovinos de corte criados em fazenda na região serrana do estado do Rio de Janeiro, Brasil:

Períodos de coletas	Mini-FLOTAC				Kappa (IC95%)	Teste de Spearman (valor de p)
	McMaster	Positivo	Negativo	Total		
Primeira	Positivo	31 (86,1%)	0	31 (86,1%)	0,000 (0,000 – 0,000)	0,8108 (< 0.0001)
	Negativo	5 (13,8%)	0	5 (13,8%)		
	Total	36 (100%)	0	36 (100%)		
Segunda	Positivo	22 (61,1%)	0	22 (61,1%)	0,620 (0,363 – 0,877)	0,9102 (< 0.0001)
	Negativo	6 (16,6%)	8 (22,2%)	14 (38,8%)		
	Total	28 (77,7%)	8 (22,2%)	36 (100%)		
Terceira	Positivo	25 (69,4%)	0	25 (69,4%)	0,709 (0,451 – 0,966)	0,9166 (< 0.0001)
	Negativo	4 (11,1%)	7 (19,4%)	11 (30,5%)		
	Total	29 (80,5%)	7 (19,45)	36 (100%)		
Quarta	Positivo	22 (61,1%)	1 (2,7%)	23 (63,8%)	0,305 (0,012 – 0,598)	0,9125 (< 0.0001)
	Negativo	9 (25%)	4 (11,1%)	13 (36,1%)		
	Total	31 (86,1%)	5 (13,8%)	36 (100%)		

valor de $p \leq 0,05$: estatisticamente significativo.

A avaliação do teste de eficácia dos fármacos foi realizada apenas pela técnica quantitativa de Mini-FLOTAC. As médias dos OPGs de estrongilídeos e dos pesos dos animais dos grupos no pré-tratamento variaram entre 142,2 e 154 no OPG e 281,2 e 365,2 kg, respectivamente. Todos os fármacos testados apresentaram uma redução nos valores médios de OPG no D30 em comparação com o Do. A partir do D30 todos os grupos CL, IV, DR e LV apresentaram uma tendência de aumento nos valores médios do OPG. No entanto, apenas o grupo que recebeu levamisol apresentou valores médios de OPG em todos os períodos analisados D30 (48,3), D60 (66,6) e D90 (87,7) menores do que o Do, sendo o fármaco que apresentou a melhor eficácia no controle dos parasitos, chegando a atingir 77% no D60. O fármaco que apresentou o pior desempenho no teste de eficácia foi a doramectina, seguida da ivermectina. De acordo com o resultado obtido seguindo os critérios adotados pelo programa RESO, os grupos analisados com os diferentes fármacos apresentaram suspeita de resistência (Tabela 2).

Tabela 2. Eficácia, peso médio do lote de bovinos e valores médios, mínimos e máximos do OPG pré e pós tratamentos com diferentes fármacos anti-helmínticos fornecidos aos bovinos de corte criados em fazenda na região serrana do estado do Rio de Janeiro, Brasil.

T	Ivermectina							Doramectina							Levamisol							Controle			
	OPG			Eficácia				OPG			Eficácia				OPG			Eficácia				OPG			
	M	Min	Max	%	IC	S	Peso	M	Min	Max	%	IC	S	Peso	M	Min	Max	%	IC	S	Peso	M	Min	Max	Peso
Do	154	15	1070	NA	NA	NA	313,4	142,2	10	810	NA	NA	NA	365,2	146,7	15	825	NA	NA	NA	294,7	145	35	330	281,2
D30	76,1	0	320	37	(-90 - 79)	R	359,4	130,6	0	665	0	(-297 - 70)	R	411,1	48,3	0	290	60	(-87 - 91)	R	333,2	120	5	350	315
D60	170,5	0	1075	40	(-246 - 90)	R	361,8	180,6	0	730	36	(-176 - 85)	R	426,8	66,7	0	240	77	(5 - 94)	R	344,3	283,9	0	1280	322,3
D90	90	0	480	25	(-297 - 86)	R	369,6	157,2	5	740	0	(-567 - 74)	R	426,8	87,8	0	425	27	(-258 - 85)	R	354,8	119,4	0	630	332,8

T: Tempo de tratamento; M: Valor médio do OPG; Mín: Valor mínimo do OPG; Max: Valor máximo do OPG; %: Teste de eficácia; IC: Intervalo de confiança; S: Status

De forma geral, a técnica de Mini-FLOTAC apresentou o melhor resultado em relação ao diagnóstico para ovos de *estrangilídeos* em comparação com o McMaster, pois com a primeira foi possível identificar o maior número de animais parasitados em todos os períodos de coleta realizados (Do, D30, D60, D90). Embora a estatística Kappa tenha apresentado valor elevado de concordância no diagnóstico entre as técnicas no período de coleta e análise D60, sendo considerada uma concordância substancial, a mesma ainda não foi perfeita, ressaltando a supremacia no diagnóstico pelo Mini-FLOTAC em comparação com McMaster. O Mini-FLOTAC também se mostrou superior ao McMaster no diagnóstico de *estrangilídeos* em bovinos e equinos de Curitiba, bem como em fezes de suínos domésticos e silvestres do Rio de Janeiro (Dias de Castro *et al.*, 2017; Class *et al.*, 2023; Pinheiro *et al.*, 2023). Sabe-se que o dispositivo do Mini-FLOTAC comporta um maior volume fecal do que a câmara de McMaster (Cringoli *et al.*, 2017). Este fato pode ter contribuído para o diagnóstico dos bovinos parasitados pela técnica de Mini-FLOTAC, visto que estes animais apresentavam valores de OPG médio abaixo de 200 que podem corresponder a cargas parasitárias baixas ou medianas.

Apesar das técnicas não terem concordado amplamente no diagnóstico dos parasitos, em relação ao OPG médio, o Mini-FLOTAC e McMaster apresentaram proximidade na contabilização dos ovos. Tal fato segue corroborado pelo elevado valor do teste de Sperman. Esta correlação entre as técnicas no que tange a contabilização dos ovos se justifica pelo elevado valor do fator de correção que é aplicado no resultado extraído com a técnica de McMaster, resultando em uma menor precisão (Alowanou *et al.*, 2021). Desta forma, o Mini-FLOTAC demonstrou-se com uma técnica quantitativa mais confiável e adequada para se avaliar a carga parasitária dos animais e principalmente para verificar a sensibilidade dos fármacos antiparasitários em bovinos de corte em recria, ou seja, uma faixa etária mais resiliente as infecções parasitárias quando comparado a fase de cria, ou seja, bezerro. Desta forma, os resultados oriundos do Mini-FLOTAC foram utilizados no presente estudo para análise dos fármacos antiparasitários.

Todos os fármacos incluídos no estudo apresentaram no primeiro tempo de análise da eficácia (D30) redução na contagem do OPG. Estes resultados seguem em linha com o evidenciado em bezerros a pasto no México nos quais foram observados redução do OPG 15 dias após o tratamento dos animais tanto com levamisol, quanto com ivermectina, bem como em bovinos de corte na Irlanda após o sétimo dia de tratamento com ivermectina, levamisol e fembendazol (Shaughnessy *et al.*, 2014; Libreros – Osorio *et al.* 2023). Ademais, a redução evidenciada nesta primeira análise, também concorda com o resultados observados em bezerros criados em sistema extensivo no Rio Grande

do Sul após 14 dias de tratamento com diferentes fármacos incluindo avermectinas com exceção de doramectina a 1%, benzimidazoles, imidazoles e salicilanilides, bem como com bovinos de diferentes idades criados no semiárido da Paraíba tratados com avermectinas, benzimidazoles, imidazoles, salicilanilides e tetrahidropirimidinas 10 dias após os tratamentos (Ramos *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2017).

Após a primeira análise do teste de eficácia, que ocorreu no 30º dia após tratamento com os fármacos ivermectina a 1%, doramectina a 1% e levamisol foi verificado que a redução na contagem de ovos nos dias 60 e 90 após o tratamento ocorreu apenas no grupo de bovinos que recebeu o levamisol. Estes resultados seguem em linha com o observado em bovinos em outros locais do Brasil como Paraíba, bem como em outros países como Irlanda, Austrália, Argentina e México, visto que o levamisol apresentou a maior taxa na redução de contagem dos ovos dos helmintos por grama de fezes em comparação com os demais antiparasitários avaliados (Shaughnessy *et al.*, 2014; Bullen *et al.*, 2016; Cristel *et al.*, 2017; Melo *et al.*, 2021; Libreros-Orsorio *et al.*, 2023).

A melhor performance do levamisol evidenciada neste estudo em relação a redução da contagem de ovos por grama de fezes nos diferentes períodos analisados frente as avermectinas parece estar associado a menor frequência de administração desse fármaco nos bovinos de corte mantidos na cidade de Sumidouro no Rio de Janeiro. Essa menor frequência de uso acabou gerando uma menor pressão seletiva pelos nematoides mais resistentes a esse produto. Sabe-se que a resistência anti-helmíntica dos parasitos gastrointestinais pode surgir devido a fatores de risco associados ao uso desses fármacos incluindo a subdosagem, uso excessivo e uso do mesmo composto químico sem rotação (Maciel *et al.*, 1996). As avermectinas como a ivermectina a 1% e a doramectina a 1% têm sido a base do tratamento anti-helmíntico nos animais de produção no Brasil nas últimas duas décadas (Borges *et al.*, 2015). Esses fármacos são frequentemente usados em rebanhos, já tendo sido relatada resistência a essas duas avermectinas, em diferentes populações de bovinos no Brasil (Soutello *et al.*, 2007; Borges *et al.*, 2015; Melo *et al.*, 2021).

Apesar do levamisol ter apresentado melhores resultados em relação a redução na contagem de ovos, nenhum fármaco avaliado atingiu índices igual ou superior a 95% no teste de eficácia. De forma geral, os procedimentos de amostragem para contagem de ovos por grama de fezes (OPG) antes e depois da aplicação de um antiparasitário permite observar se a resistência está presente no rebanho. Se qualquer redução percentual no OPG for inferior a 95% ou o nível de confiança de 95% do OPG for inferior a 90%, há suspeita de resistência (Coles *et al.*, 1992). Dessa forma o fenômeno de resistência dos estrôngilos aos antiparasitários presumivelmente pode estar ocorrendo nos rebanhos bovinos mantidos na cidade de Sumidouro, principalmente as avermectinas, visto que estes animais e as demais gerações anteriores já utilizavam esses princípios ativos por muitos anos sem o sistema de rodízio de fármacos. Cabe ressaltar que os bovinos experimentais do presente estudo apesar de estarem há oito meses sem receberem antiparasitários, apresentavam valores de OPG abaixo de 200 no Do. Esses valores médios de OPG geralmente são esperados em animais nas fases de recria e engorda, ou seja, em animais que são naturalmente mais resilientes as infecções parasitárias. Dessa forma mais estudos são necessários com animais que apresentem valores de OPG mais elevados para confirmar de forma expressiva se esta problemática está realmente ocorrendo nos animais da região.

Mediante o exposto, o presente estudo demonstrou de forma pioneira a superioridade da técnica de Mini-FLOTAC quando comparada ao McMaster principalmente no diagnóstico de estrongilídeos e a melhor eficácia do levamisol no controle desses parasitos quando comparado com as avermectinas aplicadas em bovinos de corte em fase de recria criados em sistema extensivo no município de Sumidouro, Rio de Janeiro.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O levamisol apresentou a maior redução na contagem de ovos de estrongilídeos por grama de fezes nos diferentes períodos de tempos analisados em comparação com a ivermectina e doramectina nos bovinos de corte em período de recria criados a pasto. Entretanto, nenhum fármaco avaliado atingiu índices elevados no teste de eficácia para controle de estrongilídeos nos bovinos estudados;

Por meio da técnica quantitativa de Mini-FLOTAC foi possível identificar maior número de bovinos parasitados para estrongilídeos em comparação com a técnica de McMaster, no entanto, devido ao elevado fator de correção desta última, as mesmas acabaram apresentando valores de OPG correspondentes.

Além disso, ao se avaliar a eficiência de uma determinada técnica coproparasitológica quantitativa frente a outra utilizada no experimento, permitiu obter-se uma melhor indicação do protocolo para estimativa da carga parasitária pelo OPG, que melhor se adequa a realidade da região, permitindo subsidiar os técnicos que atuam na área para escolha da técnica a ser usada em atividades de campo, de forma mais eficiente.

Ainda, verificando-se a eficácia dos anti-helmínticos mais utilizados de forma geral em bovinos, foi possível apresentar uma resposta ao questionamento frequente de grande parte dos médicos veterinários que atuam no atendimento a estes animais, no que se refere ao fármaco com melhor resultado para o controle de helmintíases em bovinos de corte na região.

6. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. A. O.; AYRES, M. C. C.; SANTARÉM, V. A.; BOTURA, M. B.; LAMBERT, S. M. Considerações Gerais sobre os Anti-Helmínticos. In: SPINOSA, H. S.; GÖRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 6ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

ALOWANOU, G. G.; ADENILÉ, A. D.; AKOUÈDEGNI, G. C.; BOSSOU, A. C.; ZINSOU, F. T.; AKAKPO, G. A.; *et al.* A comparison of Mini-FLOTAC and McMaster techniques in detecting gastrointestinal parasites in West Africa Dwarf sheep and goats and crossbreed rabbits. **J Appl Anim Res** 2021; v. 49, n. 1, p. 30-38.

BASTIANETTO, E.; LEITE, R. C. Controle do piolho (*Haematopinus tuberculatus*) em rebanhos de búfalos (*Bubalus bubalis*) para produção de leite e carne. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 29, n. 2, p. 118-121, abril/junho, 2005.

BIANCHIN, I.; CATTO, J. B. Epidemiologia e Alternativas de Controle de Helminthos em Bovinos de Corte na Região Central do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15, 2008. Curitiba, PR. **Anais [...]** Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, p.1-24, 2008.

BIANCHIN I.; MELLO, H. J. H. **Epidemiologia e controle de helmintos gastrointestinais em bovinos de corte nos cerrados**. 2. ed. Campo Grande, EMBRAPA/CNPq, p. 7, 1985.

BORGES, F. A.; BORGES, D. G. L.; HECKLER, R. P.; NEVES, J. P. L.; LOPES, F. G.; ONIZUKA, M. K. V. Multispecies resistance of cattle gastrointestinal nematodes to long-acting avermectin formulations in Mato Grosso do Sul. **Vet Parasitol**, 2015; v. 212, n. 3-4, p. 299-302.

BULLEN, S. L.; BEGGS, D. S.; MANSELL, P. D.; RUNCIMAN, D. J.; MALMO, J.; PLAYFORD, M. C.; PYMAN, M. F. Anthelmintic resistance in gastrointestinal nematodes of dairy cattle in the Macalister Irrigation District of Victoria. **Australian Veterinary Journal**. v. 94, n. 1-2, p. 35-41, jan. fev. 2016.

CATTO, J. B.; BIANCHIN, I.; SANTURIO, J. M.; FEIJÓ, G. L. D.; KICHEL, A. N.; DA SILVA, J. M. Sistema de pastejo, rotenona e controle de parasitas em bovinos cruzados: efeito no ganho de peso e no parasitismo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.4, p.37-43, out.-dez. 2009.

CAZELLA, L. N. **Influência do levamisol na resposta imune humoral antirrábica em bovinos**. 2009. 39f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, 2009.

CLASS, C. S. C.; FIALHO, P. A.; ALVES, L. C.; SILVEIRA, R. L.; AMENDOEIRA, M. R. R.; KNACKFUSS, F. B.; BARBOSA, A. S., Comparison of McMaster and Mini-FLOTAC techniques for the diagnosis of internal parasites in pigs. **Braz. J. Vet. Parasitol.** 2023; v. 32, n.2, p. 1-6: e013322

COLES, G. C. Cattle nematodes resistant to anthelmintics: why so few cases? **Veterinary Research**, v. 33, n. 5, p. 481-489, 2002.

COLES, G. C.; JACKSON, F.; POMROY, W. E.; PRICHARD, R. K.; SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. V.; SILVESTRE, A.; TAYLOR, M. A.; VERCROYSSSE, J. The detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Vet. Parasitol.** 2006; v. 136, p.167-185.

CRINGOLI, G.; MAURELLI, M. P.; LEVECKE, B.; BOSCO, A.; VERCROYSSSE, J.; UTZINGER, J.; RINALDI, L. The Mini – Flotac technique for the diagnosis of helminth and protozoan infections in humans and animals. **Nature Protocols**, v.12, n.9, p.1723-1732, 2017.

CRISTEL, S.; FIEL, C.; ANZIANI, O.; DESCARGA, C.; CETRÁ, B.; ROMERO, J.; FERNÁNDEZ, S.; ENTROCASSO, C.; LLOBERAS, M.; MEDUS, D.; STEFFAN, P. 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.

DA CRUZ, D. G.; DA ROCHA, L. O.; ARRUDA, S. S.; PALIERAQUI, J. G. B.; CORDEIRO, R. C.; SANTOS JUNIOR, E.; MOLENTO, M. B.; SANTOS, C. P. Anthelmintic efficacy and management practices in sheep farms from the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.70, p.340-343, 2010.

DIAS DE CASTRO, L. L.; ABRAHÃO, C. L. H.; BUZATTI, A.; MOLENTO, M. B.; BASTIANETTO, E.; RODRIGUES, D. S., *et al.* Comparison of McMaster and Mini-FLOTAC fecal egg counting techniques in cattle and horses. **Vet Parasitol Reg Stud Reports** 2017; v. 10, p.132-135.

DOMINGUES, P. F.; LANGONI, H. **Endo e Ectoparasitas: Manejo Sanitário Animal**. Rio de Janeiro, RJ: EPUB, 2001. p.71-75.

FERNANDES, R. M.; FARIAS, E. H. S.; BATISTA, K. M.; FERNANDES, M. Z. L. C. M.; RODRIGUES, M. L. A. Comparação entre as Técnicas McMaster e Centrífugo-Flutuação para Contagem de Ovos de Nematóides Gastrointestinais de Ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.2, p.105-109, abr.-jun., 2005.

FERRAZ DA COSTA, M. S. V. L. **Dinâmica da infecção natural de nematoides gastrointestinais de bovinos na região do Vale do Mucuri, Teófilo Otoni, MG, Brasil**. 2007. 128 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2007.

FIEL, C.; ANZIANI, O.; SUÁREZ, V.; VÁZQUEZ, R.; EDDI, C.; ROMERO, J.; *et al.* Resistencia antihelmíntica en bovinos: causas, diagnóstico y profilaxis. **Veterinaria Argentina**, v. 18, n. 171, p. 21-33, 2001.

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

HONER, M. R.; BIANCHIN, I. **Considerações básicas para um programa estratégico da verminose bovina em gado de corte no Brasil**. Campo Grande: Embrapa CNPGC, 1987.

KAPLAN, R. M. Drug resistance in nematodes of veterinary importance: A status report. **Trends Parasitology**, v. 20, n. 10, p. 477-481, 2004.

LEITE, A. C. R.; GUIMARÃES, M. P.; COSTA, J. O.; COSTA, H. M. A.; LIMA, W. S. Curso natural das infecções helmínticas gastrintestinais em bezerros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 16, n. 6, p. 891-894, 1981.

LIBREROS-OSORIO, U.; VÁZQUEZ-ARRIETA, D. D.; LIMÓN, I. D.; PATRICIO-MARTÍNEZ, A.; PATRICO, F.; VILLA-MANCERA, A. Anthelmintic resistance against gastrointestinal nematodes in beef cattle: effect on liveweight gain of grazing livestock in Mexico. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.75, n.3, p.376-380, 2023

LIMA, W. S. Seasonal infection pattern of gastrointestinal nematodes of beef cattle in Minas Gerais State – Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 74, n. 2-4, p. 203-214, 1998.

MACIEL, S.; GIMÉNEZ, A. M.; GAONA, C.; WALLER, P. J.; HANSEN, J. W. Prevalência de resistência anti-helmíntica em parasitas nematódeos de ovinos no sul da América Latina: Paraguai. **Parasitologia Veterinária**, v. 62, n. 3-4, p. 207-212, abr. 1996.

MARTINS, A. V. **Pesquisa de helmintos gastrintestinais em equinos das raças Puro Sangue Inglês e Pônei Brasileiro mantidos em propriedades de Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.** Niterói, 2023, n.140. Tese – Universidade Federal Fluminense.

MELLO, M. H. A.; DEPNER, R.; MOLENTO, M. B.; FERREIRA, J. J. Resistência lateral às macrolactonas em nematodas de bovino. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 8-12, 2006.

MELO, L. R. B.; SOUSA, L. C.; OLIVEIRA, C. S. M.; ALVARES, F. B. V.; FERREIRA, L. C.; BEZERRA, R. A.; ATHAYDE, A. C. R.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R. Resistance of bovine gastrointestinal nematodes to four classes of anthelmintics in the semiarid region of Paraíba state, Brazil. **Braz J Vet Parasitol.** v. 30, n. 3, p. 1-12, e010921, 2021.

MINHO, A. P.; GASPAR, E. B.; YOSHIHARA, E. **Manual de Técnicas Laboratoriais e de Campo para a Realização de Ensaio em Parasitologia Veterinária: Foco em Helmintos Gastrintestinais de Ruminantes.** 1.ed. Bagé, Rio Grande do Sul: Embrapa Pecuária Sul, 2015, 31 p.

NEVES, J. H. **Diagnóstico de resistência anti-helmíntica em bovinos.** 2014. 72f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2014.

pinheiro, j. l.; sávio, b. f.; dib, l. v.; santos, c. r.; class, c. s. c.; lima, m. s.; motoyama, p. r. a.; BARBOSA, A. S., Evaluation of five parasitological techniques for diagnosing phylum Ciliophora cysts in fecal samples from free-living wild artiodactyls. **Pesq. Vet. Bras.** 2023; v. 43: e07192.

ROSSANIGO, C. E.; GRUNER, L. Accuracy of two methods for counting eggs of sheep nematode parasites. **Veterinary Parasitology**, v. 39, p.115-121, 1991.

SANTARÉM, V. A.; ANDRADE, S. F.; ALBERTI, H. Endo e Ectoparasitocidas. In: ANDRADE, S. F. **Manual de Terapêutica Veterinária.** 3.ed. São Paulo, SP: Roca, 2016, p.519-560.

SHAUGHNESSY, B.; EARLEY, J. F.; MEE, M. L.; DOHERTY, P.; CROSSON, D.; BARRETT, R.; PRENDIVILLE, M.; MACRELLI, T. DE WAAL. Detection of anthelmintic resistance on two Irish beef research farms. **Veterinary Record.** August 2, p. 3, 2014

SOUTELLO, R. G. V.; SENO, M. C. Z.; AMARANTE, A. F. T. Anthelmintic resistance in cattle nematodes in northwestern São Paulo State, Brazil. **Vet Parasitol.** 2007; v. 148, n. 3-4, p. 360-364.

TAYLOR, M. A. Antiparasitários. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. **Medicina Bovina: Doenças e Criação de Bovinos.** 2.ed. São Paulo, SP: Roca, 2008, p.903-916.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para Diagnóstico das Helmintoses de Ruminantes**. 4.ed., Tóquio, Japão: Japan International Cooperation Agency, 1998, 143 p.

VENTURINI, T.; MENEZES, L. F. G. Parasitismo na Bovinocultura de corte. In: PAULUS, D. PARIS, W. **Técnicas de Manejo Agropecuário Sustentável**. Curitiba: Editora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2016. p. 115-138.

VIDOTTO, O. Estratégias de Combate aos Principais Parasitas que Afetam os Bovinos. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL. 2002. Maringá: UEM/CCA/DZO - NUPEL. **Anais** [...], 2002, p. 192-212.