

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA**

Dayane Sarmiento Romão

Bióloga

**DINÂMICA SAZONAL DE HELMINTOS GASTRINTESTINAIS
EM EQUINOS NATURALMENTE INFECTADOS NO BRASIL**

Dracena

2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA (UNESP)
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E TECNOLÓGICAS
CAMPUS DE DRACENA

Dayane Sarmiento Romão

Bióloga

**DINÂMICA SAZONAL DE HELMINTOS GASTRINTESTINAIS
EM EQUINOS NATURALMENTE INFECTADOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas – Unesp, Campus de Dracena como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Velludo Gomes de Soutello

Dracena

2024

FICHA CATALOGRÁFICA
Desenvolvida pela Seção Técnica de Biblioteca e Documentação
Campus de Dracena

R766d

Romão, Dayane Sarmiento

Dinâmica sazonal de helmintos gastrintestinais em equinos naturalmente infectados no Brasil / Dayane Sarmiento Romão. -- Dracena: [s.n.], 2024.

47 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Dracena. Área do conhecimento: Produção Animal, 2024.

Orientador: Ricardo Velludo Gomes de Soutello

1. Anti-helmínticos. 2. Cavalos. 3. Clima. 4. Parasitos. I. Título.

Bibliotecário Fábio S. Rosas
CRB 8/6665

IMPACTO ESPERADO NA SOCIEDADE

Este trabalho pode auxiliar e servir de base para o desenvolvimento de pesquisas em outras regiões do mundo, para ampliar o conhecimento da biologia dos helmintos de acordo com determinadas condições climáticas, visando reduzir a infecção e contaminação ambiental, bem como a pressão seleção de parasitas resistentes, limitando a infecção por helmintos e a resistência aos medicamentos.

This work can assist and serve as a basis for the development of research in other regions of the world, to expand knowledge of the biology of helminths according to certain climatic conditions, reducing infection and environmental contamination, as well as the selective pressure of resistant parasites, limiting helminth infection and drug resistance.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Dinâmica sazonal de helmintos gastrintestinais em equinos naturalmente infectados no Brasil

AUTORA: DAYANE SARMENTO ROMÃO

ORIENTADOR: RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO


Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciências, pela Comissão Examinadora:



Prof. Assoc. RICARDO VELLUDO GOMES DE SOUTELLO (Participação Virtual)
Departamento de Produção Animal - DPA / Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas de Dracena - FCAT
- UNESP - Câmpus de Dracena

Documento assinado digitalmente
 **KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI**
Data: 03/10/2024 11:30:12-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI (Participação Virtual)
Departamento de Produção e Saúde Animal - DAPSA / Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba -
UNESP - Câmpus de Araçatuba

Documento assinado digitalmente
 **ALINE RAFAELA DA SILVA RODRIGUES MACHADO**
Data: 01/10/2024 14:19:23-0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Profa. Dra. ALINE RAFAELA DA SILVA RODRIGUES MACHADO (Participação Virtual)
Departamento de Ciências Biológicas / Universidade Federal do Mato Grosso do Sul / UFMS

Dracena, 01 de agosto de 2024

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Dayane Sarmiento Romão, nascida em 11 de agosto de 2000, na cidade de Andradina/SP. Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), no campus de Três Lagoas (2021). Desenvolveu projeto de pesquisa na área de Parasitologia, associados ao Laboratório de Microbiologia e Laboratório de Imunologia e Parasitologia Humana - UFMS/CPTL. Atuou como docente das disciplinas de Química e Biologia na Escola Estadual Professor Dário Giometti em Castilho/SP (2022). Pós-graduada em Ciência e Tecnologia Animal pela UNESP/FCAT, campus de Dracena (2024), com ênfase em Parasitismo em Ruminantes e Monogástricos e integrante do EEPPA - Estudo de Extensão e Pesquisa em Parasitologia Animal (grupo de pesquisa credenciado ao CNPq), sendo bolsista CAPES.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai Joel Romão e minha mãe Edinalva Fernandes Sarmiento Romão, que me educaram e me incentivaram a sempre estudar, essenciais para formar a pessoa que sou hoje, em minha vida pessoal e profissional.

RESUMO

A helmintose na equideocultura se destaca, devido aos prejuízos decorrentes desta infecção, que são controladas principalmente a partir de drogas antihelmínticas. Assim, ter conhecimento sobre a dinâmica populacional dos helmintos de uma determinada região é fundamental pois, as condições ambientais têm grande impacto no desenvolvimento destes parasitas presentes nas pastagens. Desta forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência da sazonalidade sobre os helmintos. Sendo realizado entre outubro e setembro dos anos de 2015/2016, 2018/2019 e 2021/2022. Foram utilizados 147 animais, sendo 64 fêmeas e 83 machos, todos do mesmo rebanho. Amostras fecais foram coletadas diretamente da ampola retal de cada animal, a cada 28 dias, durante um período de 12 meses de cada ciclo, para análise coproparasitológica. Foi realizada diariamente, a medição da temperatura média do ar, umidade relativa média do ar e precipitação pluviométrica. Os registros climáticos foram coletados pela Estação Agroclimatológica de Castilho, SP (21° 05' 12,4" S; 51° 35' 17,2" W), localizada a seis quilômetros do local do experimento. Nos três ciclos de estudos, as médias de OPG e de precipitação apresentaram diferenças significativas entre as épocas do ano. De forma geral, o mês em que foram observadas as maiores OPG, nos diferentes ciclos, foi o mês de fevereiro com 1626 em 2015/2016, 926,7 em 2018/2019 e 1885 em 2021/2022, e o mês que apresentou menores médias de OPG foi julho com 642 em 2015/2016, 610,5 em 2018/2019 e 804 em 2021/2022. Em relação às condições climáticas, a precipitação pluvial teve maior concentração em duas estações, sendo na primavera e no verão, ou seja, o verão foi a época de maiores índices de chuvas nos três ciclos avaliados. O outono seguido do inverno foram as estações com a menor pluviosidade durante os ciclos estudados. Conclui-se que as condições climáticas influenciaram diretamente na dinâmica populacional dos helmintos, sendo que nas épocas de clima mais seco e frias, os equinos foram menos acometidos, desta forma a sugestão para um possível programa estratégico seria concentrar a administração de anti-helmínticos na primavera e no verão.

Palavras-chaves: Anti-helmínticos. Cavalos. Clima. Parasitos.

ABSTRACT

Helminthiasis in horse breeding stands out due to the damage caused by this infection, which is mainly controlled by anthelmintic drugs. Knowing the population dynamics of helminths in a given region is therefore essential, as environmental conditions have a major impact on the development of these parasites in pastures. The aim of this study was to assess the influence of seasonality on helminths. It was carried out between October and September of the years 2015/2016, 2018/2019 and 2021/2022. A total of 147 animals were used, 64 females and 83 males, all from the same herd. Fecal samples were collected directly from the rectal ampulla of each animal every 28 days for 12 months of each cycle for coproparasitological analysis. Average air temperature, average relative humidity and rainfall were measured daily. The weather records were collected by the Agroclimatological Station in Castilho, SP (21° 05' 12.4" S; 51° 35' 17.2" W), located six kilometers from the experiment site. In the three study cycles, the EPG and rainfall averages showed significant differences between the times of year. In general, the month with the highest EPG in the different cycles was February, with 1626 in 2015/2016, 926.7 in 2018/2019 and 1885 in 2021/2022, and the month with the lowest average EPG was July, with 642 in 2015/2016, 610.5 in 2018/2019 and 804 in 2021/2022. Regarding climatic conditions, rainfall was more concentrated in two seasons, spring and summer, meaning that summer was the season with the highest rainfall in the three cycles evaluated. Autumn, followed by winter were the seasons with the lowest rainfall during the cycles studied. It can be concluded that climatic conditions have a direct influence on the population dynamics of helminths, and that during the drier and colder seasons, horses were less affected, so the suggestion for a possible strategic program would be to concentrate the administration of anthelmintics in spring and summer.

Keywords: Anthelmintic. Horses. Climate. Parasites.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - OPG (eggs per grams of feces); Monthly rainfall (mm), average temperature (°C) and relative humidity (%) at the experiment site in the different research periods -
-----41
- Figura 2** - Number of infective larvae per kilogram of dry matter (Kg.DM) recovered from paddock pasture in the third study cycle (2021/2022) -----42
- Figura 3** - Linear regression analysis showing the significant correlation between eggs per grams of feces (OPG) and monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative humidity (%), in different climatic periods using the SAS University Edition program (version 9.4) ----- 43
- Figura 4** - Linear regression analysis showing the significant correlation between larvae in pasture and eggs per grams of feces (OPG), monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative air humidity (%), in different climatic periods by SAS University Edition program (version 9.4)-----44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Arithmetic means of eggs per grams of feces (OPG), monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative air humidity (%) and infective larvae in pasture in different climatic periods with different letters on the same line if differ significantly by the Tukey test ($P < 0.05$) -----41

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OPG - Ovos por grama de fezes
KG - Quilograma

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais.....	13
1.1 Introdução.....	13
1.2 Objetivo Geral.....	14
1.2.1 Objetivos Específicos	14
1.3 Revisão de Literatura.....	14
1.3.1 Prejuízos causados por helmintos.....	14
1.3.2 Tratamento anti-helmíntico.....	15
1.3.3 Mecanismo de ação dos principais anti-helmínticos.....	17
1.3.4 Resistência parasitária	17
1.3.5 Sazonalidade e helmintíases.....	18
1.4 Referências.....	19
CAPÍTULO 2 - Seasonal dynamics of gastrointestinal nematodes in naturally infected horses in Brazil.....	23

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

1.1 Introdução

Os parasitas possuem diversas famílias e gêneros, em especial, os nematoides estrongilídeos são os que mais acometem os animais de produção (Lichtenfels *et al.*, 2008). Os mais comuns em equinos são os pequenos estrôngilos (ciatostomíneos): *Cyathostomum* spp., *Triodontophorus* spp., *Cylicostephanus* spp.; seguido dos grandes estrôngilos: *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus*, *Strongylus edentatus* e ainda, *Parascaris equorum*, *Oxyurisequi*, *Strongyloides westeri*, *Trichostrongylus axei* (Molento, 2005; Rehbein;Renate, 2013).

Cerca de 83 espécies de helmintos podem parasitar equinos, sendo 64 deles pertencentes à família Strongylidaes: Strongylinae (grandes estrôngilos) e Cyathostominae (pequenos estrôngilos). Os ciatostomíneos estão em sua maioria, representando 50 das 64 espécies de estrôngilos que parasitam os equinos (Lichtenfels *et al.*, 2008).

Os ciatostomíneos aparecem de forma freqüente nos equinos devido aos casos de resistência a anti-helmínticos, pois suas larvas podem permanecer encistadas na parede do trato gastrointestinal por um longo período (anos), se protegendo da ação de diversos tipos de anti-helmínticos. Elas podem emergir da mucosa intestinal e causar a ciatostominose larval, o que pode resultar na morte do hospedeiro (Loon *et al.* 1995).

Essa grande variedade de parasitas entrôngilos são maiores nos equinos em comparação aos ruminantes e outros animais, até um cavalo saudável pode estar infectado por dezenas ou centenas de milhares de pequenos estrôngilos, que são considerados os de maior importância, devido a sua prevalência, potencial patogênico e capacidade de desenvolver resistência anti-helmíntica, parasitando equinos de todas as idades, porém, apresentam maior patogenicidade nos animais jovens (Bowman *et al.*, 2010; Lester *et al.*, 2014; Kaplan, 2010; Luksovsky *et al.*, 2013). E estão presentes em grande quantidade, sendo 95-100% da carga parasitária total dos equinos (Gasser *et al.*, 2005).

Em relação a Família Strongylidae, os grandes estrôngilos também estão presentes em equinos, com as espécies *Strongylus vulgaris*, *Strongylus equinus* e

Strongylus edentatus (Monteiro, 2007).

As infecções por estrôngilos em equinos podem estar associadas a várias alterações no hospedeiro, resultando em diversos problemas, em especial a arterite tromboembólica da artéria mesentérica cranial e o comprometimento da circulação intestinal local causada pela migração da fase larval (Reichmann *et al.*; 2001).

Os grandes estrôngilos (ex. *Strongylus vulgaris*), são considerados como uma grande ameaça aos equinos, sendo alvos de programas de controle parasitário. Alguns meios de controle conseguiram reduzir de forma satisfatória a população de *S. vulgaris* (Herd, 1990). Mas acabou resultando em um aumento da prevalência dos ciatostomíneos, já que são helmintos que conseguem se adaptar facilmente às novas moléculas e tipos de tratamentos (Kaplan; Nielsen, 2010).

Normalmente os diagnósticos das infecções por *Strongylus* e outras espécies de helmintos, são realizadas por exames de fezes dos equinos, a partir de técnicas de contagem de ovos por grama de fezes (OPG), juntamente com o cultivo de larvas, já que não é possível a diferenciação das espécies de estrôngilos pela análise morfométrica dos ovos. Esta é alcançada através da observação das larvas de terceiro estágio encontradas nas culturas de fezes de 7 a 14 dias após a coleta (Duarte *et al.*; 1997).

1.2 Objetivo Geral

O objetivo do estudo foi avaliar a influência e a dinâmica da sazonalidade em diferentes anos, de helmintos gastrintestinais em equinos naturalmente infectados.

1.2.1 Objetivos Específicos

- Identificar as estações com maior incidência de helmintos;
- Comparar as variações climáticas durante os diferentes anos sobre os helmintos.

1.3 Revisão de Literatura

1.3.1 Prejuízos causados por helmintos

O parasitismo se destaca devido aos prejuízos consequentes da infecção parasitária, problemas na produção como perda de desempenho dos animais, cólicas gástricas e intestinais além da diarreia em potros. Dependendo da carga parasitária, os helmintos podem causar desde um pequeno desconforto abdominal juntamente com fraqueza ou sem a mesma, pelagem áspera, retardode crescimento, hiporexia, anemia, diarreias ou constipações até episódios fulminantes de cólica e morte (Lagaggio *et al.*, 2007).

Além de lesões nos órgãos do sistema digestivo e até graves distúrbios nos processos enzimáticos e hormonais ou até ao óbito do animal (Assis; Araújo, 2003). Os ciatostomíneos ou pequenos estrôngilos podem causam anemia, perda de apetite, diminuição de resistência, distúrbios intestinais e, dependendo do grau da infecção, podem levar os animais à morte (Herd, 1990). Barbosa *etal.* (2001) relata que, os ciatostomíneos são os parasitas com maior prevalência em animais jovens (12 a 14 meses) e adultos (acima de 60 meses).

Os grandes estrôngilos são os helmintos considerados de maior poder patogênico para equídeos, principalmente na sua forma imatura em decorrência das lesões que determinam no seu processo de migrações pelo sistema arterial-mesentérico, responsáveis por severos casos de cólicas.

A patogenia da infecção por espécies adultas de estrôngilos está associada à lesão da mucosa do intestino grosso em virtude dos hábitos alimentares do verme, podendo causar ruptura da parede do intestino em animais jovens e adultos levando a emergências cirúrgicas (Urquhart *et al.*, 1998).

1.3.2 Tratamento anti-helmíntico

No início do século XX, os primeiros testes e uso de anti-helmínticos se iniciaram. Óleos de chenopodium era recomendado por Thum, em 1915, e Woolridge, em 1916, para o tratamento de verminoses em equinos (Hall; Foster, 1918).

A partir de 196, grande parte dos anti-helmínticos disponíveis no mercado foi desenvolvida. Após a descoberta do tiabendazole, primeiro anti-helmíntico benzimidazólico oral, surgiram várias outras drogas similares, pertencentes ao mesmo grupo e de excelente eficácia contra parasitos internos. A principal característica desse grupo de anti-helmínticos é a sua tríplice ação, considerando que age sobre vermes adultos, formas larvais e ovos de vermes (Kohex Junior, 1998).

No início da década de 80, com o lançamento das avermectinas, entre elas a ivermectina, permitiu uma revolução no mercado de produtos veterinários para o controle de parasitos (Geary, 2005).

Várias outras formulações, contendo avermectinas, foram liberadas também no mercado com preço reduzido, assim o uso indiscriminado e, conseqüentemente, na seleção de populações resistentes de ecto e endoparasitos começaram a aumentar (Rodrigues *et al.*, 2007).

Esse uso errôneo de anti-hélmínticos e o não conhecimento sobre os aspectos epidemiológicos dos parasitos, têm provocado a seleção dos parasitas resistentes à ação dos medicamentos utilizados, podendo se apresentar como um dos principais problemas sanitários da cadeia de produção animal (Paiva, 2001).

As mais tradicionais técnicas de controle são a partir de anti-hélmínticos, atualmente representado por três principais classes de medicamentos: as lactonas macrocíclicas (ex: ivermectina, abamectina e moxidectina), as pirimidinas e imidazotiazóis (ex: pamoato de pirantel e levamisol) e o grupo dos benzimidazóis (ex: albendazol, oxibendazol e fenbendazol) (Samson-Himmelstjerna, 2012).

As lactonas macrocíclicas fazem parte da classe de anti-helmínticos mais eficientes para o controle de parasitas gastrintestinais, pois sua atividade é de amplo espectro, com alta eficiência e elevada margem de segurança (Mulroy, 2001). Entretanto, as aplicações repetidas vêm favorecendo no desenvolvimento da resistência anti-helmíntica, principalmente dos ciatostomíneos (Kaplan, 2004). O principal agravante está sendo a utilização desses produtos de maneira indevida, indiscriminada e sem a associação de estratégias auxiliares de controle (Molento, 2005). Portanto, a situação mundial atual é de resistência à maior parte das classes de antiparasitários comerciais disponíveis no mercado (Nielsen *et al.*, 2014).

A eficácia das drogas reduz por consequência de seu caráter seletivo, colaborando com a permanência de organismos resistentes e a eliminação de indivíduos susceptíveis. Logo, a sustentabilidade dos programas de controle da verminose equina está comprometida pela seleção de populações de parasitos resistentes, cujo número de relatos é crescente mundialmente (Kaplan, 2004).

Outro fator preocupante, é a maneira em que as lactonas macrocíclicas eliminam seus metabólitos e substâncias através da urina e das fezes dos animais diretamente na pastagem, intensificando o volume de substâncias químicas compartilhadas no meio ambiente intervindo negativamente a biodiversidade e a

sustentabilidade dos ecossistemas (Sommer; Bibby., 2002; Kolar *et al.*, 2006).

1.3.3 Mecanismo de ação dos principais anti-helmínticos

Atualmente, as quatro principais classes de medicamentos são as lactonas macrocíclicas (ex: ivermectina e moxidectina), as pirimidinas e imidazotiazóis (ex: pamoato de pirantel e levamisol) e o grupo dos benzimidazóis (ex: albendazol, oxibendazol e fenbendazol).

A diferença entre as classes é no modo de ação que cada uma apresenta (Martin, 1997; Samson-Himmelstjerna, 2012).

Em relação aos benzimidazóis, eles se ligam à tubulina e impedem a polimerização em microtúbulos, o que permite uma ruptura de diversas funções na célula, já que essas organelas polimerizadas são fundamentais para que ocorra a divisão celular, o transporte de neurotransmissores nos neurônios, transporte de substrato e metabólito através da célula e membranas mitocondriais e outras atividades essenciais associadas à membrana.

O mecanismo de ação das lactonas macrocíclicas ainda está em processo de pesquisa e elucidação. Acredita-se que os princípios ativos das avermectinas e milbemicinas têm um modo de ação comum contra os parasitos (Shoop *et al.*, 1995). Onde há interações do medicamento com os canais receptores para a inibição da neurotransmissão nos invertebrados, relacionados ao ácido gama amino butírico (GABA) e o glutamato, que tem como função, ação no bloqueio da atividade elétrica das células musculares e nervosas, permitidas pelo aumento da condução dos íons de cloro. E esses receptores iônicos do glutamato se localizam em células musculares e somáticas, na faringe e no útero, afetando a motilidade, a capacidade de alimentação e reprodução do parasito (Mottier; Lanusse, 2001).

1.3.4 Resistência parasitária

A resistência parasitária vem sendo um assunto recorrente e de relevância, ela ocorre a partir de fatores que reduzem a eficácia de drogas contra os parasitos, após um determinado tempo de utilização. A seleção de helmintos resistentes é inevitável e já é uma realidade, além de ser uma característica transferida para as próximas gerações (Conder; Campbell, 1995; Molento, 2005).

Ou seja, a administração repetida selecionará uma proporção cada vez maior

de indivíduos resistentes, permitindo que o parasito adquira a capacidade de mudar a metabolização do fármaco e/ou mudar o local de ligação do fármaco (Taylor *et al.*, 2010).

A frequência na utilização de uma determinada droga e de forma repetida é uma das causas que favorecem o surgimento da resistência parasitária, assim como a subdosagem, a alta densidade de animais em um local e a falta de critérios para utilização dos produtos. (Fritzen *et al.*, 2010; Kaplan, 2002; Molento *et al.*, 2005). Tornando assim uma séria ameaça para a saúde e produção animal em vários países (Hodgkinson, 2008).

Como a resistência é um resultado do uso indiscriminado de medicações anti-helmínticas, um melhor meio seria o de vermifugar somente os equinos com contagens fecais de ovos significante (p. Ex., 100 ovos por grama) (Bowman *et al.*, 2010). Trabalhos como Hamlen-gomez e Georgi (1991), mostram que certos cavalos suscetíveis à infecção e vermifugações estratégicas desses animais resultam em economia significativa em comparação com a vermifugação rotineira e sem conhecimento prévio.

Coles *et al.*, (1999) relatou a descoberta de grandes estrôngilos resistentes ao pirantel. Ovos de estrôngilos foram coletados das fezes de cavalos onde se obteve altas contagens de ovos após o tratamento com o anti-helmíntico. Culturas de larvas até o estágio infectante determinaram que os animais estavam liberando ovos de *S. edentatus*.

Percebe-se que a resistência em equinos vem ocorrendo desde décadas atrás, não é algo recente, mas também se sabe que conforme o tempo passa mais drogas apontam resistência, como por exemplo a ivermectina, estudo realizado por De Favare *et al.*, 2023, aponta a presença de resistência dos Ciatostomíneos à ivermectina, com relação estreita à frequência de utilização dos anti-helmínticos, independentemente do sistema de criação, mas ainda assim, a ivermectina se mostra eficaz em grandes estrôngilos.

1.3.5 Sazonalidade e helmintíases

Tratamentos estratégicos envolvem a vermifugação dos animais baseada na previsão das épocas de maior eliminação de ovos e maior contaminação da pastagem, de acordo com as curvas sazonais para a região ou tipo de clima (Proudman &

Matthews, 2000; Madeira de Carvalho, 2001).

Podendo ser aplicadas três administrações anuais, dependendo da sazonalidade dos helmintos dos equinos da região estudada. A utilização de anti-helmínticos com esta finalidade é limitada, na medida em que caso haja resistência é impossível incluir o fármaco com baixa eficácia na rotação. Assim, atualmente, apenas as lactonas macrocíclicas são seguras para utilizar na maioria dos casos, permitindo também reduzir a pressão seletiva nas lactonas (Reis, 2011).

Quando se pesquisa sobre como a sazonalidade está relacionada as helmintíases em equinos, percebe-se uma falta de pesquisas, tanto relacionadas aos equinos quanto relacionadas a tipos de climas específicos.

E as condições ambientais de uma determinada região podem ter grande impacto nas fases de vida dos parasitas presentes nas pastagens, dependendo da temperatura, chuva, umidade e insolação (Nielsen *et al.*, 2007; Nielsen, 2012).

Os helmintos apresentam características sazonais, com diferenças periódicas em diversas regiões do mundo. As condições mais favoráveis para o desenvolvimento de helmintos em países temperados ocorrem na primavera e no outono, enquanto em países subtropicais ocorrem no inverno (Lyons *et al.*, 2000).

1.4 Referências

ASSIS, R. C. L.; ARAÚJO, J. V. Avaliação da viabilidade de fungos predadores do gênero *Monacrosporium* em predação de ciatostomíneos após a passagem pelo trato gastrointestinal de equinos em formulação de alginato de sódio. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, [s.l.], v.12, n.3, p.109-113, 2003.

BARBOSA, O. F. ROCHA, F. U.; SILVA, S. G.; SOARES, E.V. A survey on Cyathostominae nematodes (Strongylidae, Strongylidae) in pasture bred horses from São Paulo State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, [s.l.], v. 22, p. 21-26, 2001.

BOWMAN, D.D. **Georgis parasitology for veterinarians**. 8. ed. St Louis: Elsevier, 2003.

COLES, G. C.; BAUER, C.; BORGSTEEDE, F. H.; GEERTS, S.; KLEI, T. R. M. A.; WALLER, P. J. 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**, [s.l.], v. 44, n. 1–2, p. 35– 44, set. 1995.

CONDER, G. A.; CAMPBELL, W. C. Chemotherapy of nematode infections of veterinary importance, with special reference to drug resistance. **Advances in Parasitology**, [s.l.], v. 35, p.1-83, 1995.

DUARTE, A. N.; RODRIGUES, M. I. A.; BELLO, A. R.; MOURA, H.; FERREIRA, L. F. Diagnóstico molecular de *Strongylus* spp. Pela reação em cadeia da polimerase. Revista. Brasileira. **Parasitologia Veterinária**, [s.l.], v. 6, n. 1, 39-43, 1997.

FRITZEN, B. ROHN, K.; SCHNEIDER, T. Endoparasite control management on horse farms-lessons from worm prevalence and questionnaire data. **Equine Veterinary Journal**, London, v. 42, n. 1, p. 79-83, jan. 2010

GASSER, R. B.; WILLIAMSON, R. M. C.; BEVERIDGE, I. Anoplocephala perfoliata of horses — significant scope for further research, improved diagnosis and control. **Parasitology**, [s.l.], v. 131, n. 1, p. 1–13, jul. 2005.

GEARY, T. G. Ivermectin 20 years on: maturation of a wonder drug. **Trends Parasitol.**, Oxford, v. 21, n. 11, p. 530-532, 2005.

HALL, M. C.; FOSTER, W. D. Efficacy of some anthelmintics. **Journal of Agricultural Research**, [s. l.], v. 12, n. 7, p. 397-447, 1918.

HERD, R. P. Equine parasite control — Additions to anthelmintic associated problems. *Equine Veterinary Education*, v.2, n.1, p.86-91, 1990.

HODGKINSON J. E.; CLARK H. J.; KAPLAN R. M.; LAKE S. L.; MATTHEWS J. B. The role of polymorphisms at beta tubulin isotype 1 codons 167 and 200 in benzimidazole resistance in cyathostomins. **International Journal for Parasitology**, [s.l.], v. 38, p. 1149-1160, 2008.

KAPLAN, R. M. Anthelmintic resistance in nematodes of horses. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 33, n. 5, p. 491-507, Sept./Oct. 2002.

KAPLAN, R. M.; NIELSEN, M. K. An evidence-based approach to equine parasite control: it ain't the 60s anymore. **Equine Veterinary Education**, Newmarket, v. 22, n. 6, p. 306-316, June 2010.

KOHEX JUNIOR, I. **Guia de controle de parasitos internos em animais domésticos**. São Paulo: Nobel, 1998.

KOLAR, L.; FLAJS, V. C.; KUZNER, J.; MARC, I.; POGACNIK, M.; BIDOVEC, A.; VANGESTEL, C. A. M.; ERZEN, N. K. Time profile of abamectin and doramectin excretion and degradation in sheep faeces. **Environmental Pollution**, [s.l.], v.144, p.197-202, 2006.

LAGAGGIO, V.; JORGE, L.; OLIVEIRA, V.; FLORES, M.; SILVA, J. **Achados de formas parasitárias em camas de equinos**. Santa Maria: [s.n.], 2007.

LESTER, H. E.; SPANTON, J.; STRATFORD, C. H.; BARTLEY, D. J.; MORGAN, E. R.; HODGKINSON, J. E.; COUMBE, K.; MAIR, T.; SWAN, B.; LEMON, G.; COOKSON, R.; MATTHEWS, J. B. Anthelmintic efficacy against cyathostomins in horses in Southern England. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v. 197, n. 1–2, p. 189-196, 2014.

LICHTENFELS, J. R.; KHARCHENKO, V. A.; DVOJNOS, G. M. Illustrated

identification keys to strongylid parasites (strongylidae: Nematoda) of horses, zebras and asses (Equidae). **Vet. Parasitol.**, [s.l.], v. 156, p. 4–161, 2008.

LOON, G. V.; DEPREZ, P.; MUYLLE, E.; SUSTRONCK, B. Larval cyathostomiasis as a cause of death in two regularly dewormed horses. **J. Vet. Med.**, [s.l.], Serie A 42, p. 301–306, 1995.

LUKSOVSKY, J.; CRAIG, T. M.; BINGAM, G. M.; CIR, T.; FORRETS, D. Determining treatment to control two multidrug-resistant parasites on a Texas horse farm. **Journal of Equine Veterinary Science**, Wildomar, v. 33, n. 2, p. 115-119, 2013.

LYONS, E. T.; DRUDGE, J. H.; TOLLIVER, S. C. Larval Cyathostomiasis. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, [s.l.], v. 16, p. 501-513, 2000.

MADEIRA DE CARVALHO, L. M. **Epidemiologia e controlo da estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em Portugal**. 2001. 128-373 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2001

MARTIN, R. J. Modes of action of anthelmintic drugs. **Veterinary Journal**, [s.l.], v. 154, p. 11- 34, 1997.

MOLENTO, M. B. Resistência parasitária em helmintos de eqüídeos e propostas de manejo. **Ciência Rural**, [s.l.], v. 35, n. 6, p. 1469-1477, 2005.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia veterinária UFSM**. 2 ed. Santa Maria da Serra: [s.n.], 2007. p. 184- 87.

MOTTIER, L.; LANUSSE, C. Bases moleculares de la resistencia a fármacos. **Revista de Medicina Veterinaria**, [s.l.], v. 82, n. 2, p. 74-85, 2001.

NIELSEN, M. K.; KAPLAN, R. M.; THAMSBORG, S. M.; MONRAD, J.; OLSEN, S. N. Climatic influences on development and survival of freeliving room stages of equine strongyles: Implications for worm control strategies and managing anthelmintic resistance. **Veterinary Journal**, [s.l.], v. 174, n. 1, p. 23-32, 2007.

NIELSEN, M. K.; PFISTER, K.; VON SAMSON-HIMMELSTJERNA, G. Selective therapy in equine parasite control—Application and limitations. **Vet. Parasitol.**, [s.l.], v. 202, n. 3, p. 95-103, 2014.

PAIVA, F. Resistência a ivermectina constatada em *Haemonchus placei* e *Cooperia punctata* em bovinos. **A Hora Veterinária**, [s. l.], v. 20, n. 120, p. 29-32, 2001.

PROUDMAN, C.; MATTHEWS, J. Control of intestinal parasites in horses. **In Practice**, London, v. 22, n. 2, p. 90-97, 2000.

REICHMANN, P.; LISBOA, J. A. N.; BALARIN, M. R. S.; PEREIRA, A. B. L. Valores hematológicos em eqüinos naturalmente infectados por estrogilídeos. **Semana de Ciência Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 179-181, jul./dez. 2001.

REIS, P. M. C. **Epidemiologia e controlo do parasitismo gastrintestinal em éguas**

e seus poldros numa exploração do Ribatejo. 2011. 117 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária.

REHBEIN, S.; MARTIN, V.; RENATE, W. Prevalence, intensity and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses in Germany. **Parasitology Research**, Berlin, v. 112, n. 1, p. 407-413, 2013.

RODRIGUES, A. B.; ATHAYDE, A. C. R.; RODRIGUES, O. G.; SILVA, W. W.; FARIA, E. B. Sensibilidade dos nematóides gastrintestinais de caprinos a anti-helmínticos na mesorregião do Sertão Paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 27, n. 4, p. 162-166, 2007.

SAMSON-HIMMELSTJERN, G. V. Anthelmintic resistance in equine parasites detection, potential clinical relevance and implications for control. **Veterinary Parasitology**, [s.l.], v.185, n. 1, p. 2-8, 2012.

SOMMER, C.; BIBBY, B. M. The influence of veterinary medicines on the decomposition of dung organic matter in soil. **European Journal of Soil Biology**, [s.l.], v. 38, p. 155–159, 2002.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia veterinária**. Rio de Janeiro: [s.n.], 2010. 742 p.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.

CAPÍTULO 2 - Seasonal dynamics of gastrointestinal nematodes in naturally infected horses in Brazil

ARTIGO NAS NORMAS DA REVISTA: VETERINARY PARASITOLOGY (ORIGINAL ARTICLE)**ARTIGO ENVIADO A REVISTA – PROTOCOLO: Vetpar-D-24-383R1****Seasonal dynamics of gastrointestinal nematodes in naturally infected horses in Brazil****Abstract**

Helminth population dynamics have a major impact on the development of parasites in pastures. The objective of this study was to evaluate the influence of seasonality on helminths. It was carried out between October and September of the years 2015/2016, 2018/2019 and 2021/2022. A total of 147 animals were used, 64 females and 83 males. Fecal samples were collected during 12 months of each cycle for coproparasitological analysis. The climatic factors were collected by the meteorological records found by the Agroclimatological Station of Castilho, state of São Paulo. In all cycles, the highest numbers of EPG and larvae recovered in the pastures were observed in the spring and summer seasons, and the lowest numbers were observed in the autumn and winter seasons. The results of the stool cultures showed that 90 to 100% of the gastrointestinal larvae found were from the small strongyles family (Cyathostomines) in different years, and that only 2 to 10% were from the large strongyles family. Regarding the climatic conditions, spring and summer were the seasons with the highest occurrence in the three cycles evaluated. Autumn, followed by winter, were the seasons with the least advance during the trained cycles. That is, they are delimited by the dry season from April to September (autumn and winter), and the frequent rainy season (rainy season) from October to March (spring and summer). It can be concluded that climate conditions have a direct influence on the population dynamics of helminths, and that during the drier and colder seasons, horses were less affected.

Keywords: anthelmintic, horses, climate, helminthosis.

1 1 INTRODUCTION

2 The equine herd in Brazil is approximately 6 million animals,
3 placing the country in 3rd place in the ranking of countries with
4 the largest equine herds in the world, only behind the United
5 States and Mexico (IBEGE, 2023). Equine farming represents a
6 wide range of economic and social opportunities for Brazilian
7 agribusiness. The sector generates more than 3 million jobs and
8 brings in around R\$16 billion a year (IBEQUI, 2021).

9 In recognition of equine breeding and its contribution to the
10 world economy, attention to the health of these animals is
11 essential (Rehbein et al., 2013). Animal parasitism stands out
12 due to the damage caused by parasitic infection, ranging from
13 poor performance in racing animals to gastric and intestinal colic
14 and diarrhea in foals (Saes et al., 2022). Depending on the
15 degree of parasite load, helminths can cause weakness, rough
16 coat, growth retardation, hyporexia, anemia and even fulminant
17 episodes of colic which can lead to the animal's death (Lagaggio
18 et al., 2007).

19 The helminthosis are often controlled with anthelmintics to
20 prevent massive infections. Anthelmintic compounds are
21 generally practical, effective and safe (Spinosa et al., 2014). The
22 problem is that the incorrect use of these anthelmintic drugs has
23 led to the emergence of helminth strains that are resistant to the
24 main active anthelmintics available commercially (De Favare et
25 al., 2023; Vera et al., 2020; Nielsen et al., 2014; Hodgkinson et
26 al., 2008; Kaplan, 2004; Molento et al., 2004).

27

28 In Brazil, a large part of equine breeding is carried out under an
29 extensive regime, in which the animals are kept on pastures

30 contaminated with infective nematode larvae, which regularly
31 leads to helminthosis (Braga et al., 2009).

32 Horses are one of the most susceptible animal species to a wide
33 variety of gastrointestinal parasites and can harbor several
34 species simultaneously (Rehbein et al., 2013). The nematodes
35 that most affect horses in tropical climates are the small
36 strongyles (Cyathostomins) (Saes et al., 2022).

37 The environmental conditions of a given region have a major
38 impact on the life stages of the parasites present in pastures,
39 including temperature, rainfall, humidity and sunshine (Saes et
40 al., 2022; Nielsen, 2012; Nielsen et al., 2007). Helminths have
41 seasonal characteristics, with periodic differences in different
42 regions of the world. The most favorable conditions for the
43 development of helminths in temperate countries occur in spring
44 and autumn, while in subtropical countries they occur in winter
45 (Lyons et al., 2000). However, in regions with a tropical climate,
46 there are few studies on gastrointestinal helminths in horses.
47 Information on the biology and epidemiology of nematode can
48 contribute to the control of these helminths (Saes et al., 2022;
49 Baudena et al., 2000; Rodrigues et al., 1991).

50 The objective of this study was to evaluate the influence of
51 seasonality in three alternate years on helminth infection in
52 naturally infected horses kept on pasture, evaluating the climatic
53 characteristics of the different seasons in relation and influence
54 to the level of helminthosis.

55

56

57 2 MATERIALS AND METHODS

58 2.1 Experimental design, studied area and animals:

59 This study was carried out in three stages, from October to
60 September in the years 2015/2016, 2018/2019 and 2021/2022
61 (so that the animals are not exposed to a long period without
62 necessary helminth treatment) on a farm convened with the
63 Paulista State University (UNESP), located in the west of the
64 state of São Paulo (Brazil), in the municipality of Castilho
65 (latitude 20° 52' 09.0" south; longitude 51° 29' 22.9" west).
66 Region of tropical climate, with a dry period winter, Koppen AW
67 (with dry winter) classification, under the predominant influence
68 of the polar systems and a rainy period (summer), influenced by
69 the tropical systems, with fine sandstone type soil of reddish
70 brown and purplish color, with stratification, sediments
71 composed mainly of silicate minerals, such as quartz or clay
72 minerals (Sallun et al., 2007; Monteiro, 1973; Boin, 2000). The
73 work followed a longitudinal design in the three study cycles,
74 with the collection of qualitative and quantitative data,
75 responsible for the analysis of the horses over a prolonged
76 period of time, to determine the influence of the climate on the
77 development of helminths.

78 A total of 147 animals were used, 64 females and 83 males (all
79 adults from 4 to 12 years old and quarter horse breeds), all from
80 the same herd, being a closed herd, without the entry of external
81 animals and marketing of the same ones that were used in the
82 study. Ninety (90) days before the start of each stage of the
83 experiment, an anthelmintic based on moxidectin 1.15 (Equest)
84 was administered, 0.4 mg moxidectin/kg body weight, orally, in

85 order to zero the parasite load of all the animals at the start of
86 the study cycle.

87 The property has 1,210 hectares of land, formed by *Brachiaria*
88 *decumbens*, *Brachiaria brizanta*, *Brachiaria humidicula*,
89 *Panicum maximum* and *Coast-cross*, intended for raising cattle
90 and horses. Where the horses are kept in pastures formed by
91 *Brachiaria humidicula* and *Coast-cross*.

92 All animals used in the experiment were kept exclusively on
93 pasture with mineral supplementation without providing any
94 other supplement. Prior to the study, anthelmintic based on
95 Moxidectin and Abamectin was administered alternately, every
96 6 months.

97 2.2 Coproparasitological analysis:

98 Individual fecal samples were collected directly from the rectum
99 of each animal studied every 28 days, for a period of 12 months
100 each year, for coproparasitological analysis. The collected feces
101 were sent on the same day to the Parasitology Laboratory of the
102 School of Animal Science at Paulista State University, in
103 Dracena, State of São Paulo. Individual egg counts per gram of
104 feces (EPG) were carried out in a McMaster chamber, according
105 to the technique recommended by Gordon and Whitlock (1939).
106 This technique involves diluting 4 grams of feces and
107 homogenizing them in 56 ml of hypersaturated saline solution
108 (NaCl) so that the eggs remain suspended. The suspension is
109 then filtered and placed in the McMaster chamber. The eggs are
110 then counted and the result multiplied by 50, expressing the final
111 number in eggs per gram of feces.

112 Coproculture analysis to identify infective larvae was carried out
113 on all the feces collected, according to the technique proposed

114 by Madeira de Carvalho (2001), in order to identify the
115 helminths, present in the horses. The differentiation and
116 counting of intestinal cells of strongylid species was used as a
117 basis for identification, complete larvae, presence or absence of
118 sheath, perilarval layer and appearance of the tail of the sheath
119 (Madeira de Carvalho, 2001). Where 50-60 grams of feces are
120 placed in disposable plastic cups, moistened and covered with
121 perforated aluminum foil and then placed in the incubator (BOD)
122 for 14 days at a temperature of 26-28°C and relative humidity of
123 70-80%. After 14 days, the cup with the feces should be filled
124 with water and inverted on a Petri dish, filled with warm water.
125 Subsequently, they are placed in a test tube and after 24 hours
126 they will be covered and stored in the refrigerator at 4-5°C until
127 larvae are counted and identified.

128 2.3 Recovery and identification of infective larvae in the 129 pasture:

130 Only in the last cycle studied, the larvae in the pastures were
131 recovered, as it was a long study, it was noticed the need to
132 check these larvae in the pastures at least in one year (cycle)
133 and the recovery of the larvae can only be carried out in
134 2021/2022. For recovery, grass samples were collected from
135 the pasture, from 5 alternating points, according to Taylor (1939)
136 and Raynaud and Gruner (1982). The samples were weighed
137 and 200g of pasture was set aside, which was then placed in an
138 oven at 65°C for 72 hours to obtain the dry matter previously
139 used to recover the infective larvae (L3). The sediment was
140 examined under an optical microscope and the larvae were
141 counted and identified the L3, according to the criteria

142 established by Madeira de Carvalho (2001).

143 2.4 Climate data:

144 Daily weather records were collected by the Castilho
145 Agroclimatological Station in Castilho, SP (21° 05' 12.4" S; 51°
146 35' 17.2" W), located six kilometers from the experiment site. It
147 is a reference station, being a partnership between Embrapa
148 (Brazilian Agricultural Research Corporation), Solos and the
149 Virálcool plant – Unidade II (sugar and ethanol company) and
150 UDOP (Union of Bioenergy Producers) (Embrapa, 2024). The
151 average air temperature, average relative humidity and rainfall
152 were measured at each sampling time, as these are considered
153 to be the main factors influencing the development of helminth
154 larvae (Lima, 1998). Subsequently, the effects of seasonality on
155 helminth development were interpreted.

156 2.5 Statistical analysis:

157 The results of the egg counts per gram of feces (EPG) and the
158 data of the sequential variations in time were analyzed in order
159 to evaluate the population dynamics of helminths in horses, with
160 descriptive statistics of variables identified during the three
161 study cycles by ANOVA and compared by Tukey's test ($P < 0.05$), the normal distribution of the data was verified, as well as a
162 linear effect regression model, to more accurately verify the
163 veracity and influence of climatic variables on helminthosis.
164 First, the normality analyses of the residues were performed
165 using the Shapiro-Wilk test (PROC UNIVARIATE).
166 Subsequently, following the aforementioned premises, the data
167 were submitted to analysis of variance (ANOVA) using PROC

169 GLM and when there was a significant effect, the means were
170 compared using the Tukey test with 5% significance, extracting
171 the residues from the analysis and verifying the residue variable
172 and subsequently the regression analysis using the SAS
173 University Edition program (version 9.4).

174

175 **3 RESULTS**

176 3.1 EPG:

177 In the three cycles studied, strongyle infection was found in the
178 animals throughout the year, with EPG ranging from 550
179 (minimum) to 1639 (maximum), and no clinical signs were
180 observed in any of the animals used.

181 In all the cycles, the highest EPG numbers were observed in the
182 spring and summer seasons, while the lowest EPG numbers
183 were observed in the fall and winter seasons. With an increase
184 in EPG numbers starting in spring, the maximum peak was
185 observed in summer (Table.1).

186 The month in which the animals had the highest EPG averages
187 in the three cycles was February (Summer), with 1626, 926.7
188 and 1885 respectively, in chronological order. Subsequently,
189 there was a decrease (lower averages) in the fall and winter
190 periods (Table. 1). The lowest average EPG was in July
191 (Winter), with 642, 610.5 and 804 respectively in the three
192 cycles (Figure. 1).

193 The averages between the seasons of spring and summer, and
194 spring and fall, were not significantly different ($p < 0.05$) from
195 each other in any of the cycles studied, but summer differed
196 significantly from the fall and winter seasons, with the exception

197 of the 2021/2022 cycle, where summer did not differ
198 significantly from fall (Table. 1).

199 3.2 Fecal cultures:

200 The results of the fecal cultures showed that 90 to 100% of the
201 gastrointestinal larvae found were from the small strongyle
202 family (Cyathostomins) in the different years, and that only 2 to
203 10% were from the large strongyle family. The presence of
204 larvae (%) of cyathostomins was 98% (2015/2016), 95%
205 (2018/2019) and 90% (2021/2022), and for large strongyles,
206 only 2% (2015/2016), 5% (2018/2019) and 10% (2021/2022).
207 The identification of large strongyles also occurred from the
208 eighth month onwards in the three cycles of the experiment.

209 3.3 Infective larvae recovered in the pastures:

210 Regarding the infective larvae recovered in the pastures, the
211 overall averages by season indicated significant differences
212 ($p < 0.05$) between the quantities of infective larvae, with spring,
213 summer and fall not differing from each other, but summer
214 differing significantly from winter (Table. 1). Thus, the months
215 with the highest numbers of larvae were January and February,
216 6505 and 5878 L3/kg.DM, respectively. The months with the
217 lowest numbers were July and September, with 339 and 310
218 L3/kg.DM, respectively (Figure. 2).

219 3.4 Climatic data:

220 As observed in the climatic data, rainfall delineated two
221 significantly distinct periods: a dry period from April to
222 September (fall and winter), and another period of frequent
223 rainfall (rainy season) from October to March (spring and
224 summer) in the study cycles. Precipitation between summer and

225 spring and fall and winter did not differ significantly from each
226 other in any of the cycles studied, but spring and summer
227 differed significantly from the fall and winter seasons, except for
228 the 2021/2022 cycle where spring did not differ from fall and
229 winter (Table 1).

230 About the average temperatures observed during the three
231 cycles, summer had the highest temperature and winter had the
232 lowest, but they were even and did not differ significantly from
233 each other. These remained proportional throughout the three
234 study cycles, with no significant difference between the
235 seasons, apart from the 2018/2019 cycle, where the summer
236 season differed significantly from the winter season (Table. 1).

237 The highest relative humidity averages were found in the
238 summer and spring seasons, while the lowest humidity
239 averages were found in the fall and winter. The seasons with the
240 highest averages (spring and summer) and the fall did not differ
241 significantly from each other, nor did the fall and winter, although
242 the spring and summer differed from the winter (Table. 1).

243 3.5 Linear effect regression model:

244 It should be noted that there was a correlation between EPG
245 and all climatic factors (rainfall, temperature and humidity).
246 When analyzing the relationship between rainfall and EPG, a
247 significant correlation of 5% was observed (0.2236; 0.0791;
248 0.0177), for the 2015/2016, 2018/2019 and 2021/2022 periods
249 respectively, as well as between EPG and temperature (0.0195;
250 0.0007; 0.1232) and EPG and humidity (0.0473; 0.0993;
251 0.1954), for the cycles respectively studied (Figure. 3).

252 When analyzing the infective larvae in the pastures (L3), it was

253 also possible to observe a significant correlation (0.0098)
254 between larvae and EPG, where, for every 4.4 infective larvae
255 present in the pasture, there was an equivalent increase of 1 in
256 EPG. There was also a significant correlation between larvae
257 (L3) and rainfall (0.0126), larvae (L3) and temperature (0.4528)
258 and larvae (L3) and humidity (0.0231) (Figure. 4).

259

260 **4 DISCUSSIONS**

261 It can be seen that the animals used in this study had high levels
262 of parasitic infection throughout the experimental periods, above
263 500 EPG. According to the classification of Saes et al. (2022),
264 and Reinemeyer (2009) egg counts of 200 to 500 are
265 considered moderate and above 500 can be considered high
266 and massive infections. In another study with horses, evaluated
267 over a period of one year, infected with cyathostomins and *S.*
268 *vulgaris* in the same way as in the present study, there were also
269 no clinical problems in animals kept without anthelmintic
270 treatment, which had average EPG counts of between 840 and
271 2230 throughout the experiment (Sartori et al. 1993).

272 The fact that the animals' helminth load begins to increase in the
273 spring season and peaks in the summer can be explained by
274 the increase in temperature, humidity and rainfall that
275 characterize these seasons, favoring the conditions for the
276 development of these parasites (Lyons et al., 2000). According
277 to Couto et al. (2009), in the rainy season, in tropical climates
278 with high temperatures, horses have higher EPG counts, which
279 may be related to the greater elimination of eggs by females
280 when the weather is more favorable, allowing the development

281 and appearance of infective larvae in pastures in seasons with
282 higher climatic index.

283 Some studies show that temperatures between 25 and 33°C are
284 ideal for the evolution of egg and larval stages (Mfitlodze and
285 Gutchinson 1987; Ogbourne, 1972), with complete development
286 of the infective form in a period of 3-4 days. This explains the
287 lower EPG numbers found in winter, since the average
288 temperature in this season remained below the ideal
289 temperature in this study.

290 In general, the climatic variables observed during the periods
291 studied had a significant influence on the population dynamics
292 of helminths in these horses. In tropical countries, rainfall,
293 temperature and humidity are the most important factors
294 responsible for the development of eggs and larvae in the
295 environment (Varcasel and Romero, 1999).

296 The data related to the average humidity and temperature
297 remained more balanced during the study cycles, not showing
298 as much variation as the rainfall, therefore it can be said that
299 among the data that had the greatest variation and
300 consequently the greatest influence on the degree of
301 helminthiasis was the rainfall. This great variation in rainfall
302 during the different climatic periods means that this climatic
303 factor can be characterized as the one that most influences the
304 development of Strongylidae eggs, up to the point where the
305 larvae hatch, since it is during this period that there is a greater
306 supply of pasture and consequently a greater ingestion of L3,
307 allowing greater degrees of parasitic infection and the presence
308 of larvae in the pastures (Salih, 1981).

309 The appearance of large strongyles at the end of the three
310 cycles studied may be directly linked to the long period without
311 anthelmintic treatment that the animals were subjected to during
312 the studies. According to researches, longer intervals in the use
313 of anthelmintic treatments can favor the reappearance of large
314 strongyles, considered a highly pathogenic parasite (Andersen
315 et al., 2013; Austin, 1994). Thus, the identification of these
316 helminths is related to the relatively long pre-patent period of 6
317 to 11 months, thus reducing the speed of re-infection (Bowman
318 et al., 2010; Larsen et al. 1996). In a study carried out by Vera
319 et al. (2020), helminths of the species *S. vulgaris*, considered to
320 be sensitive to macrocyclic lactones, were found in one of the
321 properties studied by the author, which coincides with the site
322 where the present study was carried out. We know that the
323 migration of the L3 larval stage from the fecal mass to the
324 pasture occurs more intensely during the rainy season (English,
325 1979). Also during this period, the grass becomes more
326 palatable to the horses and therefore increases their food
327 intake and, consequently, the ingestion of L3 (Couto et al.,
328 2009), thus explaining why during rainier periods, there is a
329 greater parasite load present in the pasture and consequently in
330 the animal, allowing the EPG and larvae in the pasture, for
331 example, to result in the same statistical difference, since they
332 shared the same climate in different seasons.

333 It was therefore possible to observe that both the EPG and
334 larvae in the pasture and the climate data (rainfall, humidity and
335 temperature) coincide in time. In other words, they are delimited
336 by the dry season from April to September (fall and winter), and

337 the frequent rainy season (rainy season) from October to March
338 (spring and summer). According to the results observed, there
339 is an increase in all the factors in the rainy season, so higher
340 rainfall, humidity and temperature led to a greater presence of
341 parasitic infection and larvae in the pasture, unlike the dry
342 season when all the environmental factors were lower. Thus,
343 based on the statistical analysis of linear regression, with each
344 increase in rainfall, temperature and humidity, there is a
345 significant increase in EPG and larvae in the pastures, the
346 climate has a direct influence on the presence of helminthosis
347 in horses, with EPG and larvae increasing equally with the
348 increase in climatic factors.

349 Therefore, according to the data observed in this study, it is
350 possible to come up with a strategic control suggestion, with a
351 treatment aimed at reducing infection, considering that in the dry
352 season there is less survival of the larvae in the pasture,
353 consecutively reducing environmental contamination and that in
354 the rainy season there is a greater presence of helminthic
355 infection. As reports of multiple resistance are also becoming
356 frequent in horses (Favare et al., 2023; Flores et al., 2020; Vera
357 et al., 2020; Molento et al., 2004), it is necessary to look for
358 forms of control that reduce the selection pressure of resistant
359 parasites, such as the use of strategic control.

360

361

362

363

364

365 5 CONCLUSION

366 It can be concluded that the population dynamics of helminths
 367 in these horses was directly influenced by the climatic
 368 characteristics, mainly favored by rainfall. Being the time of
 369 greatest parasitic challenge to animals in the stations of spring
 370 and summer, as these are the periods when the horses showed
 371 the highest levels of helminth infection and contamination in the
 372 pasture, warning of greater attention to anti-helminthic control at
 373 this time.

374

375 6 REFERENCES

- 376 Andersen, U.V., Howe, D.K., Dangoudoubiyam, S., Toft, N.,
 377 Reinemeyer, C.R., Lyons, E.T., Olsen, S.N., Monrad, J.,
 378 Nejsum, P., Nielsen, M.K., 2013. SvSXP: a *Strongylus vulgaris*
 379 antigen with potential for prepatent diagnosis. *Parasites*
 380 *Vectors* 6, 1-13.
- 381
 382 Austin, S.M., 1994. Large strongyles in horses. *Compendium*
 383 *on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 16,
 384 650-657.
- 385
 386 Baudena, M., Chapman, M., French, D., Klei, T., 2000.
 387 Seasonal development and survival of equine hostome larvae
 388 on pasture in south Louisiana. *Vet. Parasitol.* 88, 51-60.
- 389 Boin, M.N., 2000. Chuvas e erosões no Oeste Paulista: uma
 390 análise climatológica aplicada.
- 391
 392 Bowman DD. (9), 2010. *Georgis' Parasitology for*
 393 *Veterinarians*. Saunders-Elsevier, Philadelphia.
- 394
 395 Braga, F.R., Araujo, J.V., Silva, A.R., Araujo, J.M., Carvalho,
 396 R.O., Tavela, A.O., Campos, A.K., Carvalho, G.R., 2009.
 397 Biological control of horse cyathostomin (Nematoda:
 398 *Cyathostominae*) using the nematophagous fungus
 399 *Duddingtonia flagrans* in tropical southeastern Brazil. *Vet.*
 400 *Parasitol.* 163, 335-340.
- 401
 402 Carter, G.R., Payne, P.A., Davis, E., 2007. *Concise Guide to*
 403 *the Microbial and Parasitic Diseases of Horses*. Inter. Vet.
 404 *Infor. Service*.
- 405
 406 Couto, M., Quinelato, S., Souza, T.M.d., Santos, C.N.d.,

- 407 Bevilaqua, C.M.L., Anjos, D.H.d.S., Sampaio, I., Rodrigues,
408 M.d.L.d.A., 2009. Desenvolvimento e migração de larvas
409 infectantes de ciatostomíneos (Nematoda: Cyathostominae)
410 em gramínea coast cross (*Cynodon dactylon*) em clima
411 tropical, na Baixada Fluminense, RJ, Brasil. Ver. Bras.
412 Parasitol. Vet. 18, 31-7.
413
- 414 de Favare, G.M., de Almeida Cipriano, I., do Carmo, T.A.,
415 Mena, M.O., Guelpa, G.J., do Amarante, A.F.T., de Soutello,
416 R.V.G., 2023. Anthelmintic resistance of horse strongyle
417 nematodes to ivermectin in São Paulo state, Brazil. Vet.
418 Parasitol. Reg. Stud. Rep. 41, 100864.
419
- 420 English, A., 1979. The epidemiology of equine strongylosis in
421 southern Queensland 1. The bionomics of the free-living
422 stages in faeces and on pasture. Aust. Vet. J. 55, 299-305.
423
- 424 Flores, A.G., Osmari, V., Ramos, F., Marques, C.B., Ramos,
425 D.J., Botton, S.d.A., Vogel, F.S.F., Sangioni, L.A., 2020.
426 Multiple resistance in equine cyathostomins: a case study from
427 military establishments in Rio Grande do Sul, Brazil. Rev.
428 Bras. Parasitol. Vet. 29, e003820.
429
- 430 Gordon, H.M., Whitlock, H., 1939. A new technique for
431 counting nematode eggs in sheep faeces. J. Coun. Sci. Ind.
432 Res. 12, 50-52.
433
- 434 Hodgkinson, J.E., Clark, H., Kaplan, R., Lake, S., Matthews, J.,
435 2008. The role of polymorphisms at β tubulin isotype 1 codons
436 167 and 200 in benzimidazole resistance in cyathostomins. Int.
437 J. Parasitol. 38, 1149-1160.
438
- 439 IBEQUI. 2023. Instituto Brasileiro de Equideocultura (IBEqui).
440 Apresentação Institucional. Disponível: [<https://ibequi.com/>].
441 IBGE. 2022. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
442 Rebanho de equinos (Cavalos). Disponível:
443 [<https://www.ibge.gov.br/explica/produçãogropecuaria/equinos/br>].445
444
- 446 Kaplan, R.M., 2002. Anthelmintic resistance in nematodes of
447 horses. Vet. Res. 33, 491-507.
448
- 449 Lagaggio, V., Jorge, L., Oliveira, V., Flores, M., Silva, J., 2007.
450 Achados de formas parasitárias em camas de equinos. Santa
451 Maria.
452
- 453 Larsen, M., Nansen, P., Grøndahl, C., Thamsborg, S.,
454 Grønvold, J., Wolstrup, J., Henriksen, S.A., Monrad, J., 1996.
455 The capacity of the fungus *Duddingtonia flagrans* to prevent
456 strongyle infections in foals on pasture. Parasitol. 113, 1-6.
457
- 458 Lima, W.S., 1998. Seasonal infection pattern of gastrointestinal
459 nematodes of beef cattle in Minas Gerais State—Brazil. Vet.
460 Parasitol. 74, 203-214.
461
- 461 Lyons, E., Drudge, J., Tolliver, S.C., 2000. Larval
462 cyathostomiasis. Vet. Clin. North Am. Equine Pract. 16, 501-
463 513.

- 464 Madeira de Carvalho, L.M., 2001. Epidemiologia e controlo da
465 estrogilidose em diferentes sistemas de produção equina em
466 Portugal. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade
467 Técnica de Lisboa, Lisboa.
468
- 469 McCraw, B., Slocombe, J., 1978. *Strongylus edentatus*:
470 development and lesions from ten weeks postinfection to
471 patency. *Can. J. Comp. Med.* 42, 340.
472
- 473 Mfitalodze, M., Hutchinson, G., 1987. Development and survival
474 of free-living stages of equine strongyles under laboratory
475 conditions. *Vet. Parasitol.* 23, 121-133.
476
- 477 Molento, M.B., Tasca, C., Gallo, A., Ferreira, M., Bononi, R.,
478 Stecca, E., 2004. Método Famacha como parâmetro clínico
479 individual de infecção por *Haemonchus contortus* em
480 pequenos ruminantes. *Ciência Rural* 34, 1139-1145.
481
- 482 Monteiro, C.A.F., 1973. Dinâmica climática e as chuvas no
483 estado de São Paulo.
484
- 485 Nielsen, M.K., Kaplan, R.M., Thamsborg, S.M., Monrad, J.,
486 Olsen, S.N., 2007. Climatic influences on development and
487 survival of free-living stages of equine strongyles: implications
488 for worm control strategies and managing anthelmintic
489 resistance. *Vet. J.* 174, 23-32.
490
- 491 Nielsen, M., 2012. Sustainable equine parasite control:
492 perspectives and research needs. *Vet. Parasitol.* 185, 32-44.
493
- 494 Nielsen, M., Reinemeyer, C., Donecker, J., Leathwick, D.,
495 Marchiondo, A., Kaplan, R., 2014. Anthelmintic resistance in
496 equine parasites—Current evidence and knowledge gaps. *Vet.*
497 *Parasitol.* 204, 55-63.
498
- 499 Ogbourne, C., 1972. Observations on the free-living stages of
500 strongylid nematodes of the horse. *Parasitol.* 64, 461-477.
501
- 502 Raynaud, J., Gruner, L., 1982. Feasibility of herbage sampling
503 in large extensive pastures and availability of cattle nematode
504 infective larvae in mountain pastures. *Vet. Parasitol.* 10, 57-64.
505
- 506 Rehbein, S., Visser, M., Winter, R., 2013. Prevalence, intensity
507 and seasonality of gastrointestinal parasites in abattoir horses
508 in Germany. *Parasitol. Res.* 112, 407-413.
509
- 510 Reinemeyer, C.R., 1999. Current concerns about control
511 programs in temperate climates. *Vet. Parasitol.* 85, 163-172.
512
- 513 Saes, I.L., Gonçalves, J.A., Do Carmo, T.A., Mena, M.O.,
514 Cipriano, I.A., Favare, G.M., Bello, H.J.S., Guelpa, G.J.,
515 Soutello, R.V.G., 2022. Seasonality and Dynamics of
516 Gastrointestinal Helminths in Grazing Horses. *Acta Vet*
517 *Beogr.* 72, 131-144.
518

- 519 Salih, N.E., 1981. A brief review on the development of
520 stronglid nematode eggs and larvae under constant and
521 changing temperature conditions-I. Egg development. J.
522 Thermal Biol. 6, 287-295.
523
- 524 Sallun, A.E.M., Suguio, K., Stevaux, J.C., 2007. Proposição
525 formal do alogrupo alto Rio Paraná (SP, PR e MS). Geologia
526 USP. Série Científica 7, 49-70.
527
- 528 Sartori Filho, R., Amarante, A., Oliveira, M., 1993. Efeito de
529 medicações anti-helmínticas com ivermectin e fenbendazole
530 em equinos: exames coprológicos e hematológicos. Rev. Bras.
531 Parasitol. Vet. 2, 61-64.
532
- 533 Spinosa, H., Górnaiak, S., Bernardi, M., 2014. Farmacologia
534 aplicada à medicina Veterinária. (Reimpr). Rio de Janeiro, RJ:
535 Guanabara Koogan, 501-530.
536
- 537 Taylor, E., 1939. Technique for the estimation of pasture
538 infestation by strongyloid larvae. Parasitol. 31, 473-478.
539
- 540 Valcarcel, F., Romero, C.G., 1999. Prevalence and seasonal
541 pattern of caprine trichostrongyles in a dry area of central
542 Spain. J. Vet. Med. 46, 673-681.
543
- 544 Vera, J.H.S., Fachioli, D.F., Ramires, L.M., Saes, I.L.,
545 Yamada, P.H., Gonçalves, J.A., de Oliveira, K., do Amarante,
546 A.F.T., de Soutello, R.V.G. 2020. Efficacy of ivermectin,
547 moxidectin and febendazole in equine in Brazil. Vet. Parasitol.
548 Reg. Stud. Rep. 20, 100374.
549
550
551
552
553
554
555
556
557
558
559
560
561
562
563
564
565
566
567
568
569
570
571
572
573

574 7 FIGURE CAPTIONS

575 **Table 1.** Arithmetic means of eggs per grams of feces (EPG),
576 monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative air
577 humidity (%) and infective larvae in pasture in different climatic
578 periods with different letters on the same line if differ
579 significantly by the Tukey test ($P<0.05$).

580 **Fig 1.** EPG (eggs per grams of feces); Monthly rainfall (mm),
581 average temperature (°C) and relative humidity (%) at the
582 experiment site in the different research periods.

583 **Fig 2.** Number of infective larvae per kilogram of dry matter
584 (Kg.DM) recovered from paddock pasture in the third study
585 cycle (2021/2022).

586 **Fig 3.** Linear regression analysis showing the significant
586 correlation between eggs per grams of feces (EPG) and
587 monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative humidity
588 (%), in different climatic periods using the SAS University
589 Edition program (version 9.4).

590 **Fig 4.** Linear regression analysis showing the significant
591 correlation between larvae in pasture and eggs per grams of
592 feces (EPG), monthly rainfall (mm), temperature (°C) and
593 relative air humidity (%), in different climatic periods by SAS
594 University Edition program (version 9.4).

595

596

597

598

599

600

601

602

603

604

605

606

607

608

609

Table 1. Arithmetic means of eggs per grams of feces (EPG), monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative air humidity (%) and infective larvae in pasture in different climatic periods with different letters on the same line if differ significantly by the Tukey test ($P < 0.05$).

	CYCLES	Seasons				Average	CV	ERR P.
		Spring	Summer	Fall	Winter			
EPG	2015/2016	1018 ab	1526 a	963 b	616 b	1031	20.2	120.3
	2018/2019	720 ab	953 a	585 b	550 b	702	20	81.2
	2021/2022	1057 ab	1639 a	1081 ab	972 b	1187	18.9	130.1
PRECIPITATION (mm)	2015/2016	155.0 a	143.3 a	27.3 b	56.6 b	103.9	86.6	51.9
	2018/2019	142.7 a	121.7 a	26.0 b	4.2 b	56.6	78.3	25.6
	2021/2022	82.6 ab	152.4 a	5.6 b	8.8 b	60.4	79.0	28.4
TEMPERATURE (C°)	2015/2016	26.5	26.8	22.1	21.9	24.3	9.5	1.3
	2018/2019	26.6 ab	31.1 a	27.2 ab	24.0 b	27.2	8.1	1.2
	2021/2022	26.9	26.3	23.2	24.7	25.3	11.8	1.7
MOISTURE (%)	2015/2016	73.9 a	74.7 a	64.3 ab	52.4 b	66.3	10.6	4.0
	2018/2019	68.9 a	71.9 a	65.4 ab	51.7 b	64.5	9.3	3.4
	2021/2022	65.7 a	73.9 a	56.9 ab	41.0 b	59.4	13.9	4.7

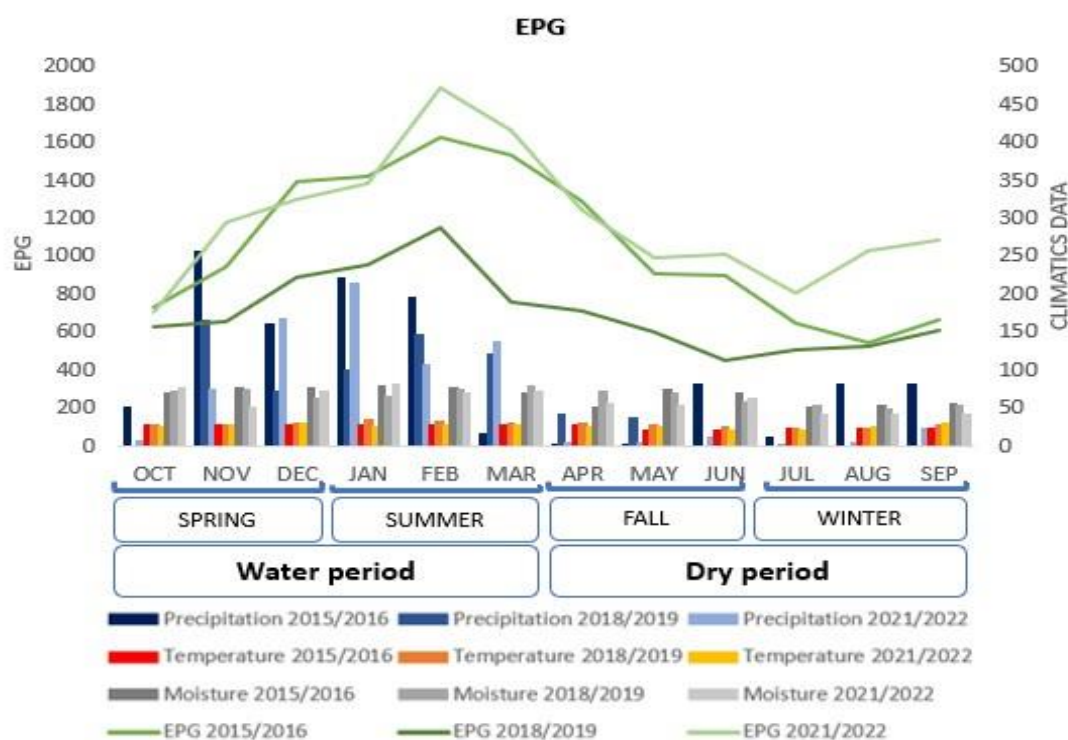


Fig 1. EPG (eggs per grams of feces); Monthly rainfall (mm), average temperature (°C) and relative humidity (%) at the experiment site in the different research periods.

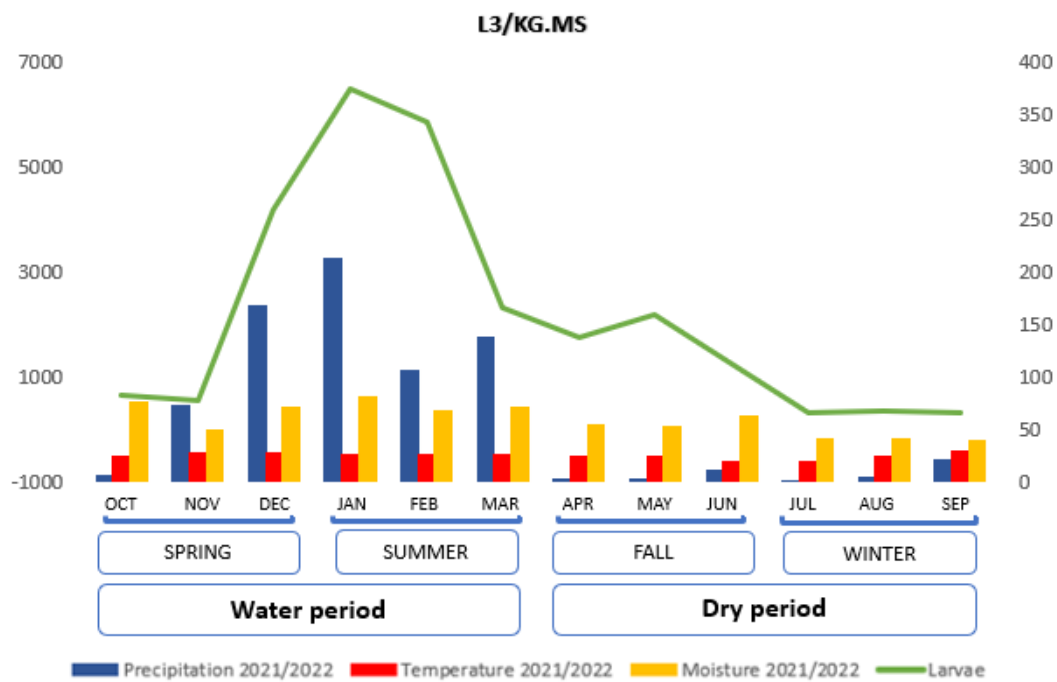


Fig 2. Number of infective larvae per kilogram of dry matter (Kg.DM) recovered from paddock pasture in the third study cycle (2021/2022).

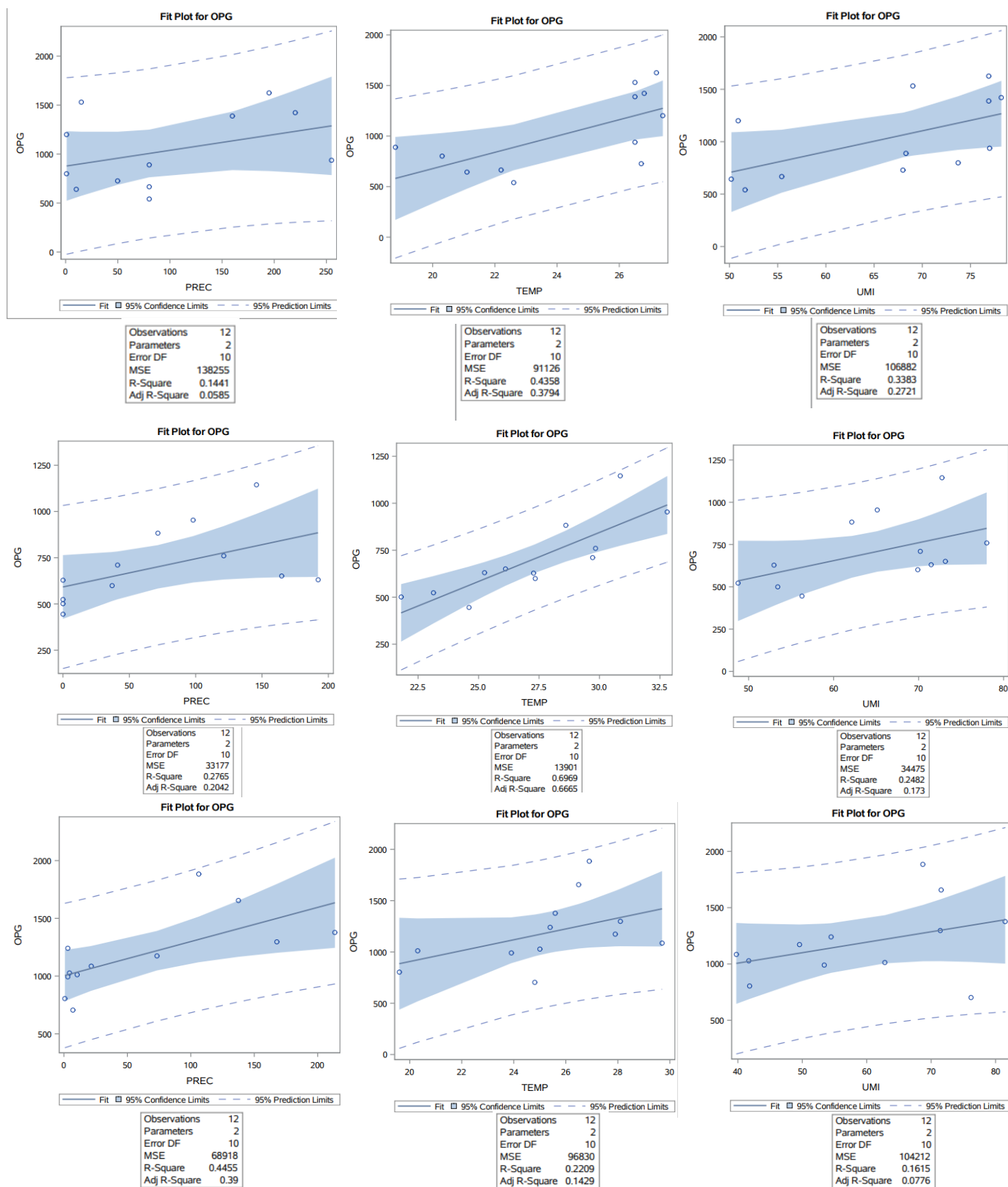


Fig 3. Linear regression analysis showing the significant correlation between eggs per grams of feces (EPG) and monthly rainfall (mm), temperature (°C) and relative humidity (%), in different climatic periods using the SAS University Edition program (version 9.4).

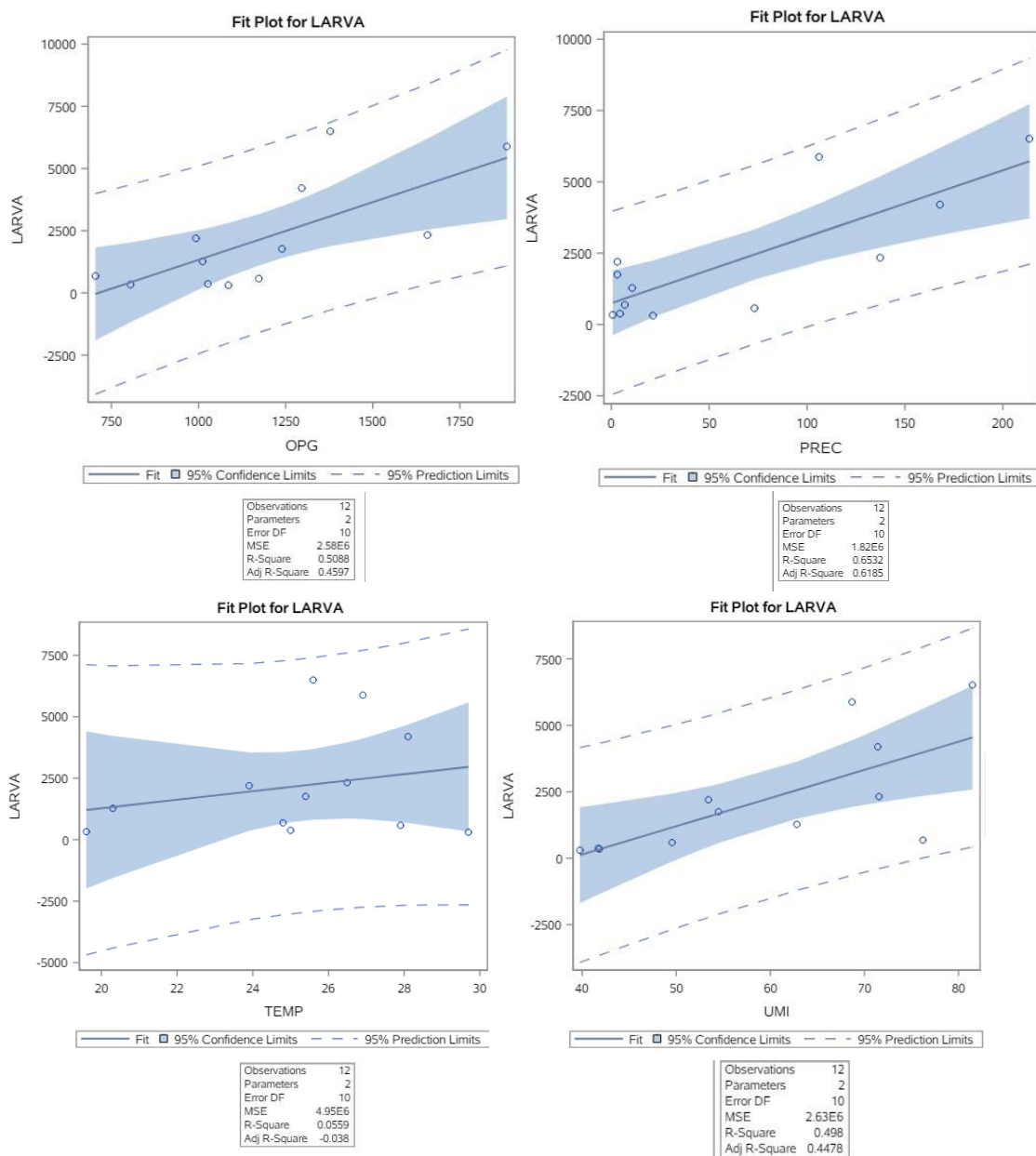


Fig 4. Linear regression analysis showing the significant correlation between larvae in pasture and eggs per grams of feces (EPG), monthly rainfall (mm), temperature ($^{\circ}$ C) and relative air humidity (%), in different climatic periods by SAS University Edition program (version 9.4).

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os resultados deste estudo evidenciaram que o desenvolvimento e a presença quantitativa e qualitativa de helmintos foram influenciados pelo clima, bem como a temperatura, umidade e especialmente a precipitação;
- As estações da primavera e verão são as que apresentam os maiores números de OPG e conseqüentemente larvas nas pastagens, já que também apresentam um aumento de temperatura, umidade e precipitação, permitindo um ambiente favorável para o desenvolvimento de helmintos.
- Estações como Outono e Inverno obtiveram os menores resultados de helmintos gastrintestinais, tanto nos animais quanto no ambiente, pois apresentam os menores valores de fatores climáticos, se não há ambiente favorável, não a desenvolvimento helmíntico.
- Os resultados de OPG e larvas nas pastagens nos três ciclos de estudos, demonstraram que primavera e verão não diferem entre si, mas verão sempre difere significativamente do inverno, assim como também as médias dos fatores climáticos (temperatura, umidade e precipitação);
- Observa-se que deve ser levado em consideração os períodos com maiores infecções parasitárias, para evitar aplicações desnecessárias de anti-helmínticos, que se forem administrados em períodos corretos, em que há o aumento da presença de helmintos permite o controle e previne o aparecimento de resistência decorrente a fármacos;
- Tem sido observado prejuízos notórios que foram resultados de tratamentos desnecessários que podem gerar custos adicionais e favorecer a resistência de nematódeos gastrintestinais, sendo assim interessante a utilização de um controle estratégico de anti-helmínticos, concentrando a administração na primavera e verão;
- Estudos avaliando a dinâmica sazonal sobre o desenvolvimento de nematódeos gastrintestinais são importantes para compreender melhor os possíveis impactos na saúde e bem-estar dos animais parasitados, bem como influenciar as aplicações de anti-helmínticos em períodos corretos, evitando prejuízos financeiros e parasitários.