

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Farmacocinética e eficácia endectocida de uma nova formulação
contendo doramectina 3,5% em bovinos.**

Thalita Silveira Righi
Médica Veterinária

Jaboticabal – São Paulo - Brasil

2013

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CAMPUS DE JABOTICABAL**

**Farmacocinética e eficácia endectocida de uma nova formulação
contendo doramectina 3,5% em bovinos.**

Mestranda: Thalita Silveira Righi

Orientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Veterinária).

Jaboticabal – São Paulo – Brasil

2013

O48f Righi, Thalita Silveira
Farmacocinética e eficácia endectocida de uma nova formulação
contendo doramectina 3,5% em bovino/ Thalita Silveira Righi. --
Jaboticabal, 2013
x, 78 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2013
Orientadora: Alvimar José da Costa
Banca examinadora: Gilson Pereira de Oliveira, Claudio Alexandro
Sakamoto
Bibliografia

1. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. 2. Helmintos. 3.
Doramectina 3,5%. 4. Bovinos. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de
Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 633.34:631.54

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.
e-mail: thalita_righi@hotmail.com

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Thalita Silveira Righi – nascida na cidade de Piracicaba-SP, filha de José Carlos Ismael Righi e Shirley Silveira Righi. Graduada em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Barão de Mauá – Ribeirão Preto-SP, em dezembro de 2009. Em Março de 2010, iniciou suas atividades como pesquisadora no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR), FCAVJ/UNESP, onde permanece ativamente. Em março de 2011 ingressou no Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Unesp, Campus de Jaboticabal, na área de Patologia Animal, sob a orientação do Prof. Dr. Alvimar José da Costa.

“A ciência Humana de maneira nenhuma nega a existência de Deus. Quando considero quantas e quão maravilhosas coisas o homem compreende, pesquisa e consegue realizar, então reconheço claramente que o espírito humano é obra de Deus, e a mais notável.”

Galileu Galilei

DEDICO ESSA DISSERTAÇÃO

COM MUITO CARINHO

À minha querida mãe...

"tudo o que sou e que sempre desejei ser, eu devo a meu anjo Mãe."

Abraham Lincoln

Ao meu querido pai!!!

Luz do meu caminho...

Aos meus queridos irmãos!!!

Minha fonte de coragem ...

AMO MUITO VOCÊS!!!

Agradecimentos

"A glória pertence ao Senhor que é digno de todo o louvor." (Nelson Bomilcar), por isso, em primeiro lugar, minha gratidão a Ele pela sabedoria e pelo sustento em todo o tempo...

Aos meus pais, por todo amor, apoio e incentivo a continuar meus estudos, na realização de mais este sonho, e com ele alcançar cada vez mais alto. Jamais os meus agradecimentos serão suficientes.

Aos meus irmãos, Thais e Filipe, por me suportarem a cada dia (ou quase todos os dias). Por cada palavra que me doaram.

À meu Orientador Prof. Dr. Alvimar,
Minha profunda gratidão pela confiança, amizade, atenção, compreensão e PACIÊNCIA em todas as horas, fatores necessários para o meu desenvolvimento pessoal e profissional. Tive a sorte de ter um professor como poucos, presente e participante, agraciando com pensamentos rápidos e soluções práticas.
Obrigada.

Ao Professor Gilson Pereira de Oliveira por nunca ter medido esforços em me ajudar e abrir caminhos para a minha formação profissional e acadêmica. Agradeço a orientação e amizade. Obrigada.

Ao meu querido Breno, que sempre esteve ao meu lado desde o início, obrigada por todo o companheirismo, carinho e amor, que nunca me faltaram.

Aos meus Tios Calil e Vania que muito contribuíram com sua hospitalidade tornando meus momentos de vida adoráveis.

Aos meus queridos amigos de mestrado, André, Breno, Carlos Augusto, Carol, Cláudio, Flávia, Gustavo, Hurzana, João Carlos, Julia, Lucas, Luis Fernando, Marquinho, Murilo, Weslen, Willian sem vocês a vida na pós-graduação seria menos colorida. Muito obrigada pelas dicas e orientações sempre fundamentais.

Às secretárias, Célia e Lilian por toda atenção e carinho.

Aos Técnicos, Ana Lucia, Danieli, Luis Henrinque (Luizinho) pelo apoio e torcida.

Aos Laboratórios Pfizer Ltda por conceder os produtos do ensaio experimental.

Ao CNPq pela bolsa concedida e incentivo ao projeto de pesquisa.

A todos que fizeram parte desta etapa da minha vida, trazendo-me alegrias,
obrigada!!!

SUMÁRIO

	Página
Resumo	
Abstract	
1. Introdução e Revisão Bibliográfica	01
2. Objetivos	10
3. Material e Métodos	11
3.1 Nova formulação medicamentosa.....	11
3.2 Experimento I: Farmacocinética de uma nova formulação de doramectina 3,5% em bovinos.....	11
3.2.1 Grupos experimentais.....	11
3.2.2 Colheita de amostras de plasma sanguíneo.....	12
3.2.3 Extração da doramectina a partir das amostras de plasma bovino...	12
3.2.4 Metodologia analítica.....	13
3.2.5 Validação do método analítico.....	13
3.2.6 Determinação dos parâmetros farmacocinéticos.....	14
3.2.7 Análise estatística.....	
3.3 Experimento II: Eficácia terapêutica e ação residual da nova formulação (doramectina 3,5%), comparativamente à ivermectina 3,15% e à moxidectina 10%, contra <i>Ripicephalus (Boophilus) microplus</i> , parasitando bovinos experimentalmente infestados (teste de estábulo).....	15
3.3.1 Análise estatística.....	
3.4 Experimento III: Ação anti-ixodídica da nova formulação (doramectina 3,5%) comparativamente à doramectina 1%, no tratamento de bovinos naturalmente infestados por <i>Ripicephalus (Boophilus) microplus</i>	18
3.4.1 Análise estatística.....	19
3.5 Experimento IV: Atividade anti-helmíntica da uma nova formulação (doramectina 3,5%) no tratamento de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais.....	20
3.5.1 Análise estatística.....	21

4. Resultados	21
4.1 Experimento I: Farmacocinética.....	21
4.2 Experimento II: Eficácia terapêutica e ação residual contra <i>Ripicephalus (Boophilus) microplus</i> , parasitando bovinos experimentalmente infestados (teste de estábulo).....	29
4.3 Experimento III: Ação anti-ixodídica em bovinos naturalmente infestados por <i>Ripicephalus (Boophilus) microplus</i>	34
4.4 Experimento IV: Atividade anti-helmíntica de uma nova formulação contendo doramectina 3,5% no tratamento de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais.....	38
5. Discussão	40
6. Conclusão	46
7. Referência Bibliográfica	47

LISTA DE TABELA

	Página
Tabela 1. Delineamento experimental.....	12
Tabela 2. Delineamento experimental.....	16
Tabela 3. Delineamento experimental.....	19
Tabela 4. Delineamento experimental.....	20
Tabela 5. Valores de concentração plasmática ($\mu\text{g/L}$) em bovinos tratados com Doramectina 3,5% administrada via subcutânea, na dose de 1mL/50Kg de peso corpóreo ($700\mu\text{g/Kg}$).	23
Tabela 6. Valores de concentração plasmática ($\mu\text{g/L}$) em bovinos tratados com doramectina 3,5%, administrada via intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corpóreo ($700\mu\text{g/kg}$).....	24
Tabela 7. Parâmetros farmacocinéticos obtidos a partir dos valores de concentração plasmática de doramectina 3,5%, em bovinos, de ambos os sexos, medicados vias subcutânea e intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corpóreo ($700\mu\text{g/kg}$).....	26
Tabela 8. Valores médios e desvio padrão dos resultados da análise estatística (ANOVA e Teste de Tukey) referentes aos parâmetros farmacocinéticos de doramectina 3,5%, administrada vias subcutânea e intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corpóreo ($700\mu\text{g/kg}$), em bovinos.....	27
Tabela 9. Número médio de fêmeas de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (Teleóginas) em bovinos experimentalmente infestados, pertencentes aos grupos controle e tratados; percentuais de eficácia. Médias geométricas. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.....	30

Tabela 10. Análise estatística das contagens de teleóginas desprendidas de bovinos, experimentalmente infestados por <i>R. (B) microplus</i> , pertencentes aos grupos controle e tratados. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.....	32
Tabela 11. Resultados das comparações múltiplas referentes aos parâmetros reprodutivos de fêmeas de <i>Rhipicephalus (boophilus) microplus</i> , desprendidas, durante 48 dias, dos grupos controle e tratados. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.....	33
Tabela 12. Médias das contagens de fêmeas de <i>Ripicephalus (Boophilus) microplus</i> (entre 4,5 e 8,0 mm) presentes em bovinos dos grupos controle e tratados; percentuais de eficácia. Médias geométricas. Águas da Prata - SP, Brasil.....	35
Tabela 13. Resultados da análise estatística referente às contagens de fêmeas de <i>Ripicephalus (Boophilus) microplus</i> dos grupos controle e tratados. Água da Prata-SP, Brasil.....	36
Tabela 14. Resultados da análise estatística referentes às contagens de espécies de helmintos recuperados de bovinos necropsiados pertencentes aos grupos controle e tratado com doramectina 3,5%; percentuais de eficácia. CPPAR/ FCAV/ UNESP, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil.....	41

LISTA DE FIGURA

	Página
<p>Figura 1. Valores médios das concentrações plasmáticas ($\mu\text{g/L}$) observadas em bovinos tratados com Doramectina 3,5% administrada por via subcutânea, na dose de 1mL/50Kg de peso corpóreo ($700\mu\text{ g/Kg}$). Local e data.....</p>	25
<p>Figura 2. Percentuais de eficácia de três formulações utilizadas no tratamento de bovinos experimentalmente infestados por <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>. Médias geométricas. CPPAR/FCAV/UNESP Jaboticabal - SP, Brasil.</p>	34
<p>Figura 3. Percentuais de eficácia de duas formulações contendo doramectina (1% e 3,5%) contra <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>, parasitando bovinos naturalmente infestados. Médias geométricas. Águas da Prata-SP, Brasil.....</p>	36
<p>Figura 4. Percentuais de eficácia da Doramectina 3,5% contra helmintos parasitos de bovinos, naturalmente infectados (Botucatu - SP). Médias Aritméticas. CPPAR/FCAV/UNESP, Botucatu - SP, Brasil.....</p>	39
<p>Figura 5. Percentuais de eficácia da Doramectina 3,5% contra helmintos parasitos de bovinos, naturalmente infectados (Botucatu- SP). Médias Geométricas. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal - SP, Brasil.....</p>	40

RESUMO

Uma nova formulação medicamentosa contendo doramectina 3,5%, administrada vias subcutânea e intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corporal (700 µg/kg), foi avaliada em quatro experimentos. No primeiro experimento foram determinados parâmetros farmacocinéticos em plasma de bovinos machos e fêmeas. Quanto à atividade carrapaticida, foram conduzidos dois ensaios, um utilizando bovinos com infestação experimental e outro com animais naturalmente parasitados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A eficácia anti-helmíntica da referida formulação foi avaliada em 12 bovinos necropsiados portadores de nematodioses gastrintestinais (infecção natural). Para a determinação dos parâmetros farmacocinéticos, as amostras de plasma foram examinadas por meio de cromatografia líquida de ultra eficiência. Os resultados obtidos mostraram que não houve interferência da via de administração nos parâmetros C_{max} , $AUC_{(0-t)}$, $AUC_{(t-\infty)}$, $AUC_{(0-\infty)}$ e MRT. Valor de $T_{1/2\ el}$ foi significativamente superior quando a nova formulação foi administrada via subcutânea. A concentração plasmática máxima, foi atingida mais rapidamente nos animais tratados via intramuscular. A eficácia anti-ixodídica da nova formulação doramectina 3,5% (stall test) alcançou índices superiores a 95% em 21 datas experimentais. A ivermectina 3,15% e a moxidectina 10% atingiram percentuais de eficácia acima de 90%, em 30 e 11 datas, respectivamente. O número de teleóginas desprendidas dos grupos tratados com doramectina 3,5% e moxidectina 10%, não diferiram estatisticamente ($P>0,05$) ao longo de todo o experimento. Estas duas formulações foram estatisticamente superiores ($P<0,05$) à ivermectina 3,15% em 27 e 16 datas pós-tratamento. Os efeitos deletérios da doramectina 3,5% sobre a performance reprodutiva de teleóginas, foram estatisticamente superiores ($P<0,05$) aos da ivermectina 3,15%. A nova formulação e a doramectina 1% reduziram significativamente ($P<0,05$), as contagens de fêmeas, em relação ao grupo controle, do 3° ao 63° DPT e do 3° ao 49° DPT respectivamente. Eficácia acaricida superior a 95% (infestação natural) foi alcançada pela nova formulação do 14° ao 28° DPT. Atividade anti-helmíntica máxima (100%) foi atingida contra *Cooperia punctata*, *Trichostrongylus axei*, *Haemonchus placei*, *Oesophagostomum radiatum*, *Bunostomum phlebotomum* e *H. similis*. Outras quatro espécies de helmintos foram diagnosticadas (*Trichuris discolor*, *C.mcmasteri*, *C.spatulata* e *T. colubriformis*), porém, o baixo parasitismo do grupo controle impossibilitou inferir sobre a eficácia do novo composto contra tais espécies. Em síntese, a nova formulação contendo doramectina 3,5% constitui uma promissora alternativa como endectocida para bovinos.

Palavras chave: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, helmintos, doramectina 3,5%, bovinos

ABSTRACT

A new drug formulation containing 3.5% doramectin, administered subcutaneous or intramuscular dose of 1mL/50kg body weight (700 mg / kg) was evaluated in four experiments. In the first experiment were determined in plasma pharmacokinetic parameters of male and female cattle. Regarding the activity ticks were conducted two experiments, one using experimental infestation with cattle and other animals with naturally parasitized by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. The anthelmintic efficacy of this formulation was evaluated in 12 cattles with necropsied nematodiosis gastrointestinal (natural infection). For the determination of pharmacokinetic parameters, plasma samples were analyzed by liquid chromatography ultra efficiency. The results showed that there was no interference route of administration of the parameters C_{max} , AUC (0-t), AUC (t- ∞) AUC (0 - ∞) and MRT. Value $T_{1/2_{el}}$ was significantly higher when the new formulation was administered subcutaneously. The maximum plasma concentration was reached earlier in the animals treated intramuscularly. The efficacy of anti-ixodílica new formulation doramectin 3.5% (stall test) levels reached greater than 95% in 21 experimental days. The moxidectin and ivermectin 3.15% percentage reached 10% efficiency above 90% in dates 30 and 11 respectively. The number of detached ticks groups treated with 3.5% doramectin and moxidectin 10%, not statistically different ($P > 0.05$) throughout the experiment. These two formulations were significantly higher ($P < 0.05$) at 3.15% ivermectin in dates 27 and 16 post-treatment. The deleterious effects of doramectin 3.5% on the reproductive performance of engorged females were statistically superior ($P < 0.05$) at the 3.15% ivermectin. A new formulation and doramectin 1% significantly reduced ($P < 0.05$), scores of females in the control group, the 3 ° to 63 ° DPT and 3 ° to 49 ° respectively DPT. Acaricidal efficacy greater than 95% (natural infestation) was achieved by the new formulation of 14 ° to 28 ° DPT. Anthelmintic activity maximum (100%) was achieved against *Cooperia punctata*, *Trichostrongylus axei*, *placei* *Haemonchus*, *Oesophagostomum radiatum*, and *H. Bunostomum phlebotomum similis*. Four other species of helminths were diagnosed (*Trichuris discolor*, *C.mcmasteri*, *C.spatulata* and *T. colubriformis*), however, the low parasitism in the control group precluded inferences about the effectiveness of the new compound against these species. In summary, the new formulation containing doramectin 3.5% constitutes a promising alternative as endectocide for cattle.

Keyword: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, helminthes, doramectin 3,5%, cattle

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Devido à ascensão e competitividade, o agronegócio brasileiro está sendo considerado uma atividade com perspectiva segura e rentável em todos os seus seguimentos. Com um clima diversificado, precipitações regulares, energia solar abundante e quase 13% de toda a água doce disponível no planeta, o Brasil tem 388 milhões de hectares de terras agricultáveis férteis e de alta produtividade, dos quais, 90 milhões ainda não explorados. Esses fatores fazem do país um lugar de vocação natural para a agropecuária e todos os negócios relacionados à suas cadeias produtivas (MAPA, 2004).

Ao considerar as últimas décadas passada e o início desta, os ganhos de produtividade da pecuária estão cada vez maiores, decorrentes, principalmente, da melhoria genética na implantação de rebanho comercial, novas culturas com linhagens de pastagens naturais e técnicas de manejo reprodutivo. Estes fatores, em conjunto, impulsionaram para o alcance de melhores índices de taxas de desfrute no rebanho.

Se por um lado isso trouxe benefícios, por outro criou inúmeros problemas sanitários e um bom exemplo, são as parasitoses (CRUZ et al., 2009). De acordo com Vidotto (2002), torna-se inviável a criação econômica de bovinos sem um combate sistemático aos seus principais endo e ectoparasitas.

No entanto, alguns dos entraves de produção são os danos causados pelas parasitoses, principalmente quando se trata de animais jovens, com idade entre cinco e 18 meses que são os mais acometidos, sendo esta fase uma das grandes responsáveis pelos imensos prejuízos econômicos na bovinocultura (BIANCHIN et al., 1996) e que, quando associados à subnutrição, falhas de manejo e ineficácia dos antiparasitários, podem converter-se em fatores limitantes da pecuária.

É importante salientar que produção animal é sustentada por três pilares: genética, nutrição e sanidade. Em se tratando de sanidade, a preocupação com o elevado parasitismo provocado tanto por endo como ectoparasitos tem merecido intensos esforços para o seu combate efetivo. Os produtores rurais, ultimamente tem sido menos favorecidos pelos novos incrementos das indústrias farmacêuticas. Tal escassez de novas moléculas, restringe o controle eficiente das parasitoses que tem tido cada vez menos opções de produtos no mercado.

Isto favorece ao surgimento de resistência por parte dos parasitas frente aos mesmos princípios ativos em várias partes do mundo (FAO, 2004).

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é considerado o mais importante ectoparasito dos animais domésticos, em especial para a espécie bovina, pelo comprometimento direto à saúde, integridade física e limitações no desenvolvimento do animal, cujos prejuízos podem atingir a cifra de dois bilhões de dólares anuais (GRISI et al., 2002).

O ciclo biológico deste ixodídeo apresenta duas fases: uma parasitária e outra de vida livre (GONZALES et al., 1993). Exige apenas um único hospedeiro (monoxeno) para sua evolução, no qual realiza todas as ecdises. Normalmente, os machos são encontrados fixos sob as fêmeas. Estas, após serem fertilizadas ingurgitam completamente e ao alcançarem o estágio de teleóginas, desprendem-se do hospedeiro e caem ao solo. Após dois a seis dias, dependendo das condições naturais, inicia a postura de aproximadamente 2500 a 3000 ovos. O período de postura, incubação dos ovos e eclosão das larvas varia de acordo com a temperatura ambiente terminando com a morte da fêmea (quenógina) (OLIVEIRA et al., 1974). Ao nascimento as larvas são morosas, passando a ativas no decorrer do sétimo dia quando se tornam ávidas, ascendendo à vegetação para alcançar um hospedeiro, quando estes roçam à vegetação (hexápoda). Fixam-se nas regiões de pele mais tenra como períneo, inguinal, barbela, nutrindo-se, inicialmente de linfa para desenvolverem à metalarva (octópode). Em seguida sofrem outra ecdise originando, ninfas, metaninfas, em que os menores dão origem aos machos (neandros e gonandros), e as maiores às fêmeas (neóginas, partenóginas e teleóginas). A fêmea semi-ingurgitada é denominada partenógina e a completamente ingurgitada, teleógina, que se desprendem do hospedeiro. Essas fêmeas caem ao solo para oviposição, iniciando assim o ciclo não parasítico (OLIVEIRA et al., 1974; GONZALES et al., 1975).

O *R. (B.) microplus* pode veicular importantes hemoparasitos, como *Babesia* spp e *Anaplasma* spp (VERÍSSIMO, 1990; FRANCIS, 1966). Além disso, este ixodídeo está relacionado a elevados custos referentes à aquisição de produtos químicos instalações, equipamentos e pesquisas (SING et al., 1983).

Considera-se, também importante, os prejuízos relacionados à desvalorização do couro *in natura* e a indústria coureiro-calçadista (OLIVEIRA, 1983), sendo estimado em mais de 60% os defeitos provocados por ectoparasitos ao produto final de acabamento (MARQUES et al., 2000). O intenso parasitismo pode ainda, ser um atrativo à infestação de larvas de *Cochliomyia hominivorax* (miíase), pois iniciam soluções de continuidade onde a mosca faz sua oviposição e instala-se, secundariamente, as larvas do califorídeo (VERÍSSIMO & FRANCO, 1994).

Atualmente o método mais utilizado de controle deste ectoparasito é a aplicação de carrapaticidas químicos (OLIVEIRA et al., 2002). A aplicação pode ser feita por meio de pulverização, aspersão, imersão, pour-on, e/ou injetável, com vantagens e desvantagens, dependendo do tipo de criação e região geográfica (GONZALES, 1995). No entanto, a freqüente exposição desses ectoparasitos aos carrapaticidas, muitas vezes aplicados de forma incorreta, tem ocasionado o surgimento de populações resistentes contra a maioria dos fármacos disponíveis no mercado, o que resulta, conseqüentemente, na necessidade constante de pesquisas em busca de novas alternativas terapêuticas (FURLONG & MARTINS, 2007).

Destaca-se também o controle biológico com fitoterápicos e fungos, seleção de raças menos susceptíveis ao carrapato, cultivo de pastagens que dificultam a sobrevivência das fases de vida livre e ação de predadores naturais (FARIAS et al., 1986; SUTHERST et al., 1983).

As formulações sistêmicas injetáveis, tais como os derivados da lactonas macrocíclicas (ivermectina, abamectina, doramectina, eprinomectina, selamectina e moxidectina), constituem-se numa importante opção no controle dos carrapatos, sendo considerada uma alternativa disponível e economicamente viável aos produtores (MARTINEZ et al., 2004).

Em se tratando do endoparasitismo em bovinos, destacam-se os nematódeos gastrintestinais, responsáveis pela gastroenterite parasitária dos ruminantes, sendo um dos fatores que muito contribui para o baixo índice de produtividade da bovinocultura brasileira. Entre os efeitos relacionados, constam à diminuição do consumo voluntário de alimentos (apetite), da capacidade de digestão e absorção dos nutrientes para o crescimento (HOLMES, 1987). Estes

fatores tem sido apontados como um dos importantes pontos de estrangulamento dos Sistemas de Produção de Bovinos de Corte e de Leite.

Causam danos muitas vezes subestimados pelos criadores, principalmente nas verminoses sub-clínicas, pois diferentemente dos ectoparasitos, o endoparasitismo passa despercebido pelo produtor, causando grandes perdas no potencial de produção que são difíceis de serem estimadas (COOP & HOLMES, 1996).

Devido à elevada prolificidade e adaptação de resistência a diversas condições climáticas, os endoparasitos possuem ampla distribuição geográfica e alta prevalência estendendo-se às áreas de clima tropical e subtropical. Cada parasito possui um determinado número de combinações ecológicas as quais permitem seu desenvolvimento melhor em determinada região (MOLENTO, 2005).

Estima-se que a mortalidade de bezerros causada pela verminose, no estado do Rio Grande do Sul, atinja a uma amplitude de 10 a 30%, enquanto que a diferença entre ganho de peso dos bovinos tratados e não tratados média de 50Kg/bezerro (Pinheiro et al., 2000).

Em criações de bovinos leiteiros, devido ao seu manejo mais intensivo, a verminose ocasiona prejuízos bem mais evidentes, pois estes são forçados a se alimentar sem muita seletividade e próximos aos bolos fecais. Isto faz com que adquiram cargas maiores de vermes, o que, somado ao fator nutricional, leva a uma quebra de imunidade e maiores percentuais de mortalidade (BIANCHIN & HORNER, 1995).

Muito se relata na literatura sobre efeitos deletérios causados pelos nematódeos gastrintestinais, destacando-se a redução no ganho em peso, na conversão alimentar, na produção leiteira, no desempenho reprodutivo, na qualidade de carcaça, no sistema imune e, em alguns casos, podendo causar óbitos (HAWKINS, 1993).

Os gêneros de helmintos parasitos mais freqüentes que acometem ruminantes na região sudeste, são *Haemonchus* spp, *Cooperias* spp, *Oesophagostomum* spp e *Trichostrongylus* spp (ARANTES et al., 1995; SANTOS et al., 2010).

O controle de parasitos de bovinos representa um importante fator na produção, no entanto, as tentativas de combate empregadas na maioria das

fazendas de criações são feitas de maneira incorreta por meio do uso excessivo e desordenado das bases terapêuticas que por sua vez oneram o custo de produção e ainda não alcançam os objetivos de controle. Além disso, pode-se observar a presença de resíduos nos produtos de origem animal (SINDAN, 2008).

Segundo Prichard (1994), a detecção da resistência de helmintos em bovinos só é constatada, geralmente, se for especificamente investigada. Tal fato é reforçado por vários autores, de diversos países, que relataram a resistência principalmente de *Cooperia* e *Haemonchus* às lactonas macrocíclicas (ANZIANI et al., 2004; RANGEL et al., 2005; BORGES et al., 2008; SOUZA et al., 2008).

O parasitismo causado por nematódeos gastrintestinais em bovinos diferentemente do que ocorre em ovinos, muitas vezes apresenta evolução sub-clínica. Desta forma, fármacos que apresentem percentuais de eficácia entre 50% e 70% podem controlar os efeitos adversos causados por estes parasitos, mesmo com a presença da resistência. Isto faz com que a resistência a anti-helmínticos em bovinos seja visualizada menos facilmente do que em ovinos o que justifica a escassez de literatura mundial. Porém, isto não significa que estes parasitos tenham menor diversidade genética para expressão da resistência, mas sim, pelo fato das eficácias dos anti-helmínticos nos bovinos não serem clinicamente diagnosticadas pelos produtores e médicos veterinários.(FAO, 2004).

A resistência ocorre quando uma estirpe de parasito é capaz de tolerar doses de um princípio que é eficaz contra outras populações da mesma espécie, sendo essa característica herdável. Desta forma, considera-se propensa à resistência, quando a droga não consegue debelar 95% da espécie parasitária. Assim, por definição, resistência lateral é aquela em que uma espécie sobrevivente a uma droga não é afetada por outras de mesmo mecanismo de ação, podendo ou não ter sido exposta anteriormente a ela. Quando uma espécie é tolerante a drogas pertencentes a diferentes grupos químicos com modos de ação distintos, denomina-se resistência cruzada (PRICHARD, 1980).

Estes fatores têm levado ao desenvolvimento de pesquisas de controles complementares, tais como pastejo alternado (FERNANDES et al., 2004), seleção de animais geneticamente resistentes (AMARANTE & AMARANTE,

2003) e controle biológico utilizando fungos nematófagos (ARAÚJO et al., 2004), dentre outros. Uma nova alternativa que está sendo pesquisada é a utilização de drogas com atividade reversora da resistência anti-parasitária, a chamada "reversão química da resistência", que poderia prolongar o uso de importantes grupos químicos como os benzimidazóis e as lactonas macrocíclicas.

Os prejuízos econômicos e físicos, decorrentes das infestações e infecções por parasitos podem ser minimizados com o controle químico, representado por uma variedade de princípios ativos existentes no mercado. Além disso, o custo com o desenvolvimento de novos produtos é muito elevado e uma alternativa viável para minimizar estes problemas tem sido o aumento do espectro de ação dos compostos antiparasitários associando-os a diferentes princípios ativos já existentes, em uma única formulação química, aliando uma satisfatória eficácia terapêutica, à praticidade na administração (TAYLOR, 2001).

O grande avanço no controle de ecto e endoparasitos referem-se à descoberta das lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas) em 1979 (AYRES & ALMEIDA, 2002).

As lactonas macrocíclicas são fármacos antiparasitários de amplo-espectro largamente utilizados na medicina veterinária. Estes compostos são conhecidos como "endectocidas" em virtude de possuírem atividade tanto frente a endo quanto a ectoparasitos (SHOOP et al., 1995).

As lactonas macrocíclicas incluem duas classes de compostos químicos, as avermectinas (ivermectina, doramectina, selamectina, abamectina e eprinomectina) e as milbemicinas (nemadectina, moxidectina, D-milbemicina (MCKELLAR & BENCHAOUI, 1996).

Etimologicamente a avermectina designa (*a* sem + *verm* verme + *ect* ectoparasita + *in* produto farmacêutico) obtidas originalmente pela fermentação de amostras de solo do Japão, contendo o fungo *Streptomyces avermitilis* (LYNN, 1999). A fermentação do fungo *Streptomyces hygroscopicus* proporciona a obtenção de milbemicina e moxidectina. Uma das principais características das avermectinas refere-se ao amplo espectro de ação, com elevada tolerância pelo organismo do hospedeiro, mesmo não sendo isentas de efeitos adverso. (MIOLO, 1999).

Para SHOOP et al., (1995), a descoberta das avermectinas representa mais do que revolução, pois apresentam um amplo espectro de ação e uma alta

potência contra uma grande variedade de parasitos, mesmo aqueles mais resistentes às drogas existentes. Pois com uma única dose de 200 µg kg⁻¹ era capaz de atuar em nematódeos gastrintestinais, pulmonares, oculares e até mesmo os localizados na pele dos animais, ainda possuía atividade contra muitos artrópodes, dentre ele, carrapatos, sarnas, moscas e suas fases larvares.

As avermectinas são altamente lipofílicas, tendo assim pouca solubilidade em solução aquosa- 0,006 a 0,009 ppm (JACKSON, 1989). Essa peculiaridade faz com que após ser absorvida, independentemente da via de administração, a molécula seja distribuída por todo o corpo do animal e concentre-se, principalmente no tecido adiposo que possui uma vascularização limitada, fazendo com que a liberação da droga seja mais lenta, aumentando o tempo de permanência no organismo (CHIU et al., 1990). O uso de veículos que permitem a lenta absorção no local de aplicação da droga pode resultar em prolongado efeito residual (LO et al., 1985).

Embora as avermectinas não atravessem facilmente a barreira hematocefálica dos animais, qualquer espécie, porém, pode ser afetada se a dose for elevada, o suficiente para penetrar nesta barreira (ANDRADE & SANTAREM, 2002) e em caso de intoxicação, há histórico de exposição acidental ou contrária às recomendações (MOORE, 1999).

Bezerros com menos de quatro meses de idade, roedores e coelhas gestantes, assim como algumas raças de cães pastores, apresentam uma maior susceptibilidade aos fármacos deste grupo (TRACY & WEBSTER, 2001; ANDRADE & SANTAREM, 2002). Entretanto, Rodrigues et al., (2007), utilizando avermectinas associadas ou isoladamente, administradas subcutânea em bezerros com idade inferior a trinta dias, verificaram que, os mesmos não apresentavam nenhuma sintomatologia neurológica ou alterações laboratoriais no líquido cefalorraquidiano colhido da medula cisterna magna. As pesquisas vêm ampliando as diversificações nas vias de aplicação dos medicamentos, com isso tornando mais fácil o manejo do rebanho.

As propriedades físico-químicas das lactonas macrocíclicas, incluem um alto peso molecular e elevada lipofilicidade o que confere características farmacocinéticas de um grande volume de distribuição, com grande afinidade por gorduras corpóreas e prolongada persistência de concentração no organismo (McKELLER & BENCHAOUI, 1996). Devido as suas características

farmacocinéticas e o fato de que uma significativa fração destes princípios é excretada pelo leite (cerca de 5% da dose aplicada), seu uso é proibido em fêmeas em lactação, cujo produto seja destinado ao consumo humano. Para vacas gestantes, recomenda-se uma aplicação 28 dias antes do parto (ALVINERIE et al., 1994).

Palma et al., (2006) pesquisaram resíduos de abamectina em tecidos de bovinos tratados via oral, onde observaram as maiores concentrações no fígado, aos sete dias pós-tratamento, seguido da gordura, rins e, por último, nas amostras de musculatura esquelética.

O efeito de ação prolongada das lactonas macrocíclicas deve-se ao fato destas drogas ficarem armazenadas no tecido adiposo. Este compartimento do organismo possui vascularização limitada, fazendo com que a liberação da droga seja mais lenta, aumentando o tempo de sua permanência no plasma (JACKSON, 1989; CHIU et al., 1990).

Adicionalmente, demonstrou-se que diferenças nos componentes da formulação afetam significativamente o perfil farmacocinético das lactonas macrocíclicas no organismo de diversas espécies animais. Sendo assim, é possível utilizar recursos farmacotécnicos, tal como a utilização de veículos capazes de modular a liberação do fármaco e, conseqüentemente, sua absorção a partir do local da aplicação do medicamento, de modo a prolongar ainda mais seu período de permanência plasmática (WICKS et al., 1993).

O exato mecanismo de ação das LM ainda não está bem esclarecido, devido a algumas características da droga, tais como, apresentar vários locais de ação, várias espécies alvo com sensibilidades diferentes a seu efeito e pouca solubilidade em soluções aquosas (TURNER & SCHAEFFER, 1989).

A primeira hipótese formulada para explicar o modo de ação das LM constitui em sua atuação como agonistas do ácido gama amino butírico (GABA), aumentando a permeabilidade dos íons cloro (Cl^-), resultando em paralisia muscular flácida (MELLIN et al., 1983; ALBERT et al., 1986).

Esta hipótese poderia explicar porque as avermectinas não agem sobre cestódeos e trematódeos, uma vez que estes não possuem receptores GABA. Sua baixa toxicidade para os mamíferos é explicada pela impossibilidade de atravessar a barreira hematocefálica, não atingindo, assim, os receptores GABA restritos quase exclusivamente ao sistema nervoso central (MARTIN et al.,

2002). Recentemente, confirmou-se que os receptores GABA estão associados ao modo de ação das LM nos insetos (LUDMERER et al., 2002).

Observações de alguns autores desencadearam a hipótese de que poderia haver outro mecanismo de ação nos nematódeos. Scott & Duce (1987), demonstraram que feixes musculares específicos do gafanhoto (*Schistocerca gregaria*) que recebem apenas inervação excitatória, não sendo sensíveis ao GABA, exibiram resposta irreversível à ivermectina. Martin & Pennigton (1988), utilizando um modelo experimental com *Ascaris suum*, observaram que não houve ação da ivermectina nos canais GABA, mas sim em canais diferentes de cloro. Outro fato que suporta esta hipótese é a presença, em mamíferos, de receptores GABA periféricos, que não possuem barreira protetora como os do sistema nervoso central, estando vulneráveis a ação destas drogas.

Após o lançamento da ivermectina, centenas de compostos, do grupo das LM, foram testados em ensaios de curto espectro de ação. Alguns foram altamente eficazes contra determinadas espécies de parasito. Porém, o uso de um composto contra apenas uma espécie é desvantajoso em relação a um de amplo espectro. Desta forma, foram selecionados princípios ativos eficazes contra o maior número possível de espécies de parasitos (SHOOP et al., 1995).

Considerando a necessidade de novas formulações para o controle de endo e ectoparasitos em bovinos, a presente pesquisa avaliou uma nova formulação contendo doramectina 3,5%, até então, inédita na literatura compulsada.

2 OBJETIVOS

1. Estabelecer parâmetros farmacocinéticos de uma nova formulação contendo doramectina 3,5%, administradas, vias subcutânea e intramuscular, em bovinos de ambos os sexos.
2. Avaliar a eficácia anti-ixodídica da referida formulação contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos natural e experimentalmente infestados.
3. Utilizando bovinos naturalmente infectados, avaliar a atividade anti-helmíntica do novo endectocida.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Nova formulação medicamentosa

Nos quatros experimentos realizados em bovinos utilizou-se uma nova formulação medicamentosa contendo Doramectina 3,5%, na dose de 1mL/50kg de peso corporal (700 µg/kg) fornecida pela empresa fabricante Pfizer Saúde Animal.

3.2 Experimento I: Farmacocinética de uma nova formulação de doramectina 3,5% em bovinos

Foram utilizados 16 bovinos, sendo oito machos e oito fêmeas, mestiços (zebuíno x taurino), com idade entre 18 e 24 meses, em bom estado nutricional clinicamente saudáveis e que não haviam sido tratados com medicamentos à base de avermectinas e milbemicinas nos últimos 150 dias. Os animais foram mantidos em um mesmo piquete, formado com *Brachiaria decumbens*, pertencente à Fazenda Bela Vista, localizada no município de Formiga, Minas Gerais.

3.2.1 Grupos experimentais

Para a formação dos quatros grupos experimentais, os 16 bovinos (unidades experimentais), foram randomizados aleatoriamente por um modelo de estrutura unicaudal, sendo o sexo o fator de divisão e a via de administração, randomizada em bloco, o fator de subdivisão. A formação dos blocos foi baseada nos pesos iniciais no dia zero (0). Posteriormente, realizou o sorteio dos grupos para determinação dos tratamentos, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Delineamento experimental

Grupo	Nº de bovinos	Sexo	Tratamento	Via de aplicação	Posologia	
					mL/Kg p.v.	mcg/Kg
I	4	Macho	Doramectina 3,5%	Subcutânea	1/50	700
II	4	Fêmea	Doramectina 3,5%	Subcutânea	1/50	700
III	4	Macho	Doramectina 3,5%	Intramuscular	1/50	700
IV	4	Fêmea	Doramectina 3,5%	Intramuscular	1/50	700

3.2.2 Colheita de amostras de plasma sanguíneo

Amostras de sangue foram colhidas por venocentese, em tubos contendo solução de heparina sódica. Posteriormente, as mesmas foram centrifugadas por 10 minutos a 1000g, no máximo duas horas após a colheita. O plasma separado foi colocado em quatro tubos de polipropileno e armazenado à temperatura de -20°C até envio das amostras ao laboratório.. As colheitas foram realizadas imediatamente antes dos tratamentos e nos dias 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11, 14, 17, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70 pós-tratamento.

3.2.3 Extração da doramectina a partir das amostras de plasma bovino

Inicialmente, 2mL de plasma foram transferidos para um tubo de centrífuga de 50mL e adicionados de 100µL de uma solução de concentração de 1,0mg/L do padrão interno (2B-ciclohexil). Foram adicionados 15mL de acetonitrila, agitando-se manualmente por 30 segundos. Posteriormente, foram adicionados 15g de sulfato de sódio, agitando-se manualmente por mais 1 minuto. As amostras foram então centrifugadas a 1523,2g por 2 minutos. A fase orgânica (superior) foi colhida e transferida para um novo tubo de centrífuga de 50mL. A este novo tubo foram adicionados 5mL de hexano, agitando-se manualmente por 1 minuto. Procedeu-se uma nova centrifugação a 1523,2g por 1 minuto. A fase acetonitrílica (inferior) foi colhida e o solvente evaporado

completamente à temperatura de 50°C. Finalmente, a amostra foi ressuspensa em 0,5mL de acetonitrila : água (1:1).

3.2.4 Metodologia analítica

A análise da doramectina foi realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência, com detecção por espectrometria de massas (MS/MS – detector electro spray positivo), pelo método de padronização interna, utilizando como padrão interno 2B-ciclohexil. A amostra foi analisada de acordo com as seguintes condições: coluna cromatográfica Acquility UPLC BEH[®] C₁₈ (1,7µm, 100 x 2,1mm); vazão de 0,4mL/min; temperatura de 120°C e desolvatação a 500°C; volume de injeção de 10µL. A eluição foi realizada por gradiente, empregando-se as misturas de solventes (água + 0,1% ácido fórmico - A) e (acetonitrila + 0,1% ácido fórmico - B), conforme o Quadro 1.

Quadro 1

Tempo (min)	A (%)	B (%)
0	50	50
0,1	50	50
2,5	2	98
4,0	2	98
4,2	50	50
5,0	50	50

3.2.5 Validação do método analítico

O método analítico foi validado tendo por base a Resolução RE n° 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2003) e o guia IHC Topic Q-2b do EMEA – European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (London, 2006). Os parâmetros avaliados foram: especificidade, seletividade, linearidade, repetibilidade, porcentagem de recuperação, limite de detecção e limite de quantificação. Para a confecção da curva de calibração, uma solução de doramectina em metanol foi adicionada ao

plasma bovino, livre da presença de avermectinas e milbemicinas, obtendo-se soluções de concentração final de: 0,5; 1,0; 1,67; 2,0; 3,0; 5,0 e 6,67 μ g/L de plasma.

3.2.6 Determinação dos parâmetros farmacocinéticos

A partir das concentrações plasmáticas de doramectina obtidas, foram calculados os seguintes parâmetros farmacocinéticos da formulação, nas duas vias de administração avaliadas: meia-vida de eliminação ($T_{1/2\text{ el}}$), calculada por meio da análise do gráfico semi-logarítmico de concentração vs tempo; concentração plasmática máxima (C_{max}), obtida diretamente a partir dos valores de concentração plasmática; tempo de concentração plasmática máxima (T_{max}), obtido a partir da interpolação do valor de C_{max} no eixo X (tempo em dias); área sob a curva (AUC), obtida pelo método dos trapézios, subdividida nas porções de zero a t (AUC_{0-t} - compreendendo o intervalo de tempo zero até a última concentração detectável de fármaco - C), de t ao infinito ($AUC_{t-\infty}$ - o qual compreende uma extrapolação do tempo t até o infinito, utilizando-se a razão de C_e de K_{el} - constante de eliminação) e de zero ao infinito ($AUC_{0-\infty}$ - correspondente à soma das duas áreas anteriormente citadas); tempo médio de residência (MRT), calculado por meio do método dos trapézios, a partir da obtenção da AUC do tempo zero até o tempo extrapolado para o infinito (GIBALDI & PERRIER, 1982).

3.2.7 Análise estatística

A análise estatística foi realizada por modelo pareado misto linear (teste de Tukey e ANOVA), utilizando-se as concentrações plasmáticas transformadas em logaritmo neperiano [$\ln(\text{concentração plasmática} + 1)$]. Foram analisados os seguintes cruzamentos dos dados: bloco subcutâneo vs bloco intramuscular; machos (bloco subcutâneo) vs machos (bloco intramuscular); fêmeas (bloco subcutâneo) vs fêmeas (bloco intramuscular); machos (bloco subcutâneo) vs fêmeas (bloco subcutâneo); machos (bloco intramuscular) vs fêmeas (bloco intramuscular).

3.3 Experimento II: Eficácia terapêutica e ação residual da nova formulação (doramectina 3,5%), comparativamente à ivermectina 3,15% e à moxidectina 10%, contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos experimentalmente infestados (teste de estábulo)

O experimento foi conduzido no CPPAR pertencente à FCAV/UNESP/Jaboticabal, SP. O CPPAR possui infra-estrutura completa de padrão internacional, com 48 baias individuais apropriada, para realização de testes de estábulo (“stall test”).

De um rebanho de 80 animais, da raça Simental, com idade média de 15 meses, que não haviam recebido medicação parasiticida nos últimos 120 dias, foram selecionados 24 bovinos. Os animais foram mantidos em baias individuais durante quatro semanas antes do início do experimento para adaptação. Na primeira semana, receberam tratamento anti-helmíntico com Cloridrato de Levamisole 7,5%, via subcutânea, na dose de 1mL/40kg de peso vivo e foram lavados com sabão neutro e água. Decorrido o período de adaptação, os bovinos foram infestados com 5000 larvas (0,25g de ovos) de *R. (B). microplus*, com idade entre 14 e 28 dias, nos dias: -24, -21, -19, -17, -14, -12, -10, -7, -5, -3, -1, considerando-se o dia zero como o dia do tratamento. Após o tratamento, as infestações continuaram três vezes por semana, até o término do estudo, com o objetivo de avaliar o efeito residual das formulações. Colheitas das teleóginas desprendidas dos bovinos foram efetuadas a partir do dia -3 até 48 dias pós-tratamento.

Os animais foram aleatoriamente alocados para os grupos experimentais (Tabela 2), usando-se um modelo de randomização completa em bloco, com base nas médias das contagens de teleóginas desprendidas nos três dias que antecederam o tratamento.

Tabela 2. Delineamento experimental

Grupo	Nº de bovinos	Tratamento	Via de aplicação	Posologia	
				mL/kg p.v.	µg/kg
I	6	Controle (solução salina)	Subcutânea	1/50	-
II	6	Doramectina 3,5%	Subcutânea	1/50	700
III	6	Ivermectina 3,15	Subcutânea	1/50	630
IV	6	Moxidectina 10%	Subcutânea	1/100	1.000

Das teleóginas desprendidas, durante todo período pós-tratamento, foram selecionadas aleatoriamente 10 de cada grupo/data. Essas, foram colocadas em incubadora do tipo BOD mantida a 27°C e umidade relativa superior a 80%, para estudo da performance reprodutiva (GONZÁLES et al., 1993; DRUMOND et al., 1973).

Os percentuais de eficácia anti-ixodídica, dos três endectocidas, foram obtidos de acordo com a fórmula preconizada por Roulston et al. (1968) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Portaria n.º 48 (Brasil, 1997).

$$\text{Percentual de eficácia} = \left[1 - \frac{Ta \times Cb}{Tb \times Ca} \right] \times 100$$

Em que:

Ta = número médio de teleóginas colhidas dos animais tratados após a medicação;

Tb = número médio de teleóginas colhidas dos animais tratados nos três dias anteriores ao tratamento;

Ca = número médio de teleóginas colhidas dos animais controle no período pós-tratamento;

Cb = número médio de teleóginas colhidas dos animais controle nos três dias anteriores ao tratamento.

Os seguintes parâmetros referentes à performance reprodutiva de fêmeas de *R. (B.) microplus*, desprendidas dos bovinos experimentais, foram avaliados (Gonzales et al., 1993).

% redução de oviposição:

$$\frac{\text{Peso médio da massa de ovos do grupo controle} - \text{Peso médio da massa de ovos do grupo}}{\text{Peso médio da massa de ovos do grupo controle}} \times 100$$

% redução de eclosão:

$$\frac{\text{Média da eclodibilidade do grupo controle} - \text{Média da eclodibilidade do grupo tratado}}{\text{Média da eclodibilidade do grupo controle}} \times 100$$

Os percentuais de eclosão foram calculados, para cada dia, por meio de contagens de cascas e ovos, oriundos de teleóginas desprendidas dos quatro grupos experimentais.

A estimativa de reprodução (eficiência reprodutiva) e os percentuais de eficácia foram calculados segundo a metodologia preconizada por Drummond et al. (1973):

Estimativa de Reprodução (ER):

$$\frac{\text{Peso dos ovos (g)}}{\text{Peso das fêmeas (g)}} \times \% \text{ Eclosão} \times 20000$$

% de Controle ou de Eficácia:

$$\frac{\text{ER do grupo controle} - \text{ER do grupo tratado}}{\text{ER do grupo controle}} \times 100$$

3.3.1 Análise estatística

Para a análise estatística, as contagens de teleóginas desprendidas foram transformadas em dados logarítmicos [$\ln(\text{contagem de carrapatos} + 1)$]. Utilizou-se o modelo misto linear generalizado de amostragem repetitiva do SAS (SAS/STAT User's Version 9.13 or higher, Sas Institute, Cary, NC, 1996), contendo os efeitos fixados do tratamento, as contagens de carrapatos, a interação entre tratamento e contagens, além dos efeitos aleatórios do bloco e residual.

Os dados referentes à performance reprodutiva das teleóginas, desprendidas dos grupos experimentais, foram analisados utilizando-se um delineamento inteiramente casualizado. As diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 95% de confiabilidade.

3.4 Experimento III: Ação anti-ixodídica da nova formulação (doramectina 3,5%) comparativamente à doramectina 1%, no tratamento de bovinos com infestação natural por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Foram selecionados 30 bovinos machos da raça Simental, pertencentes à fazenda São Roque, Águas da Prata-SP, naturalmente infestados por *R. (B.) microplus*. A randomização, em três grupos experimentais, foi realizada com base na média de três contagens consecutivas (dias -3, -2 e -1) de fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus*, presentes no lado esquerdo de cada animal. Após sorteio, os grupos foram distribuídos conforme Tabela 3.

Tabela 3. Delineamento experimental

Grupo	Nº de bovinos	Tratamento	Via de aplicação	Posologia	
				mL/kg p.v.	µg/kg
I	10	Controle (solução salina)	Subcutânea	1/50	-
II	10	Doramectina 3,5%	Subcutânea	1/50	700
III	10	Doramectina 1%	Subcutânea	1/50	200

Os três grupos permaneceram durante todo o experimento em um mesmo piquete (*Brachiaria decumbens*), recebendo água e suplementação mineral *ad libitum*.

Para avaliação das eficácias terapêutica e residual das duas formulações utilizadas, contra *R. (B.) microplus*, foram realizadas contagens de todas as fêmeas, entre 4,5 e 8,0 mm de comprimento, presentes no lado esquerdo de cada bovino, nos dias 3, 7 e a cada sete dias até o 70º pós-tratamento (WHARTON & UTECH, 1970).

Os percentuais de eficácia contra *R. (B.) microplus*, foram calculados de acordo com a fórmula preconizada por Roulston et al., (1968) e pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), Portaria n.º 48 (Brasil, 1997).

3.4.1 Análise estatística

As contagens de carrapatos foram transformadas em logaritmo neperiano [$\ln(\text{contagem de carrapato} + 1)$] para análise estatística. Utilizou-se um modelo misto linear generalizado de amostragem repetida (SAS, 1996), contendo os efeitos fixados de tratamento, dia de contagem de carrapatos e a interação entre o dia de contagem e tratamento, além dos efeitos aleatórios de bloco e residual.

3.5 Experimento IV: Atividade anti-helmíntica da uma nova formulação (doramectina 3,5%) no tratamento de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais

Foram selecionados 12 bezerros mestiços (zebuíno x tauríno), de oito a 12 meses de idade, naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais e que não haviam recebido tratamento anti-helmíntico nos últimos 120 dias. Utilizou-se como critério de seleção contagens de ovos de nematódeos por grama de fezes (Método McMaster – OPG; Gordon & Whitlock, 1939), sendo selecionados somente animais que apresentavam contagens de OPG superiores a 500. Os 12 bovinos selecionados foram transferidos para o “CPPAR/FCAV/UNESP”, Jaboticabal, SP, onde permaneceram em baias suspensas individuais, que impossibilitavam reinfecções helmínticas.

Os animais foram aleatoriamente alocados, para os grupos de tratamento (Tabela 4), utilizando-se um modelo de randomização completa em bloco, com base nas médias das contagens de OPG de três dias consecutivos (dias -3, -2 e -1) que antecederam o tratamento (dia zero). No dia zero os animais foram pesados e tratados, via subcutânea com a nova formulação contendo doramectina 3,5% (700 µg/kg) ou com solução salina.

Tabela 4. Delineamento experimental

Grupo	Nº de bovinos	Tratamento	Via de aplicação	Dose
I	6	Controle (solução salina)	Subcutânea	1mL/50kg
II	6	Doramectina 3,5%	Subcutânea	1mL/50kg (700 µg/kg)

Decorridos 14 dias após o tratamento, os 12 bezerros foram eutanasiados e necropsiados. O sistema digestório foi separado, por meio de ligaduras duplas, em diferentes segmentos anatômicos (abomaso, duodeno, jejuno, íleo, ceco, cólon e reto). Todo o conteúdo e raspado de cada segmento foi tamisado e a parte sólida fixada em formol a 10%, aquecido a 80°C. O abomaso foi individualmente, submetido à digestão com solução de pepsina clorídrica. Os

demais órgãos foram examinados, recolhendo-se “*in totum*” os helmintos eventualmente presentes (WOOD et al., 1995; VERCRUYSSSE et al., 2001).

A colheita, contagem e identificação genérica dos helmintos foram efetuadas em microscópio estereoscópico (lupa). O diagnóstico específico foi efetuado segundo critérios taxonômicos descritos por Costa (1982) e Ueno & Gonçalves (1998).

3.5.1 Análise estatística

Para a análise estatística, as contagens de helmintos foram transformadas em logaritmo neperiano [$\ln(\text{contagem de helmintos} + 1)$]. Os dados foram analisados utilizando-se um modelo misto linear generalizado, com efeitos fixados de tratamento e efeitos aleatórios de bloco e da interação bloco-tratamento (SAS, 1996).

4 RESULTADOS

4.1 Experimento I: Farmacocinética

A metodologia analítica desenvolvida foi validada com êxito, tendo sido considerada aprovada frente a todos os parâmetros avaliados. O método mostrou-se linear no intervalo de 1,0 a 6,67 $\mu\text{g/L}$, apresentando coeficiente de correlação (R^2) superior a 0,99. O limite de detecção obtido foi de 0,3ng/mL e o limite de quantificação de 1,0 $\mu\text{g/L}$. As médias das porcentagens de recuperação apresentaram valores superiores a 84,0%. O método mostrou-se específico e seletivo para analisar o princípio ativo em questão. Os valores de coeficiente de variação exibiram valores de até 7,5%, estando em concordância com o preconizado no quesito repetibilidade para análise de amostras biológicas - inferior a 15,0%(CAUSON, 1997).

Os valores de concentração plasmática de doramectina 3,5%, obtidos após os tratamentos pelas vias subcutânea e intramuscular, estão inseridos nas Tabelas 5 e 6, respectivamente, e ilustrados na Figura 1.

Tabela 5. Valores de concentração plasmática ($\mu\text{g/L}$) em bovinos tratados com Doramectina 3,5% administrada via subcutânea, na dose de 1mL/50Kg de peso corpóreo ($700\mu\text{g/Kg}$).

Nº do Bovino	Dias pós-tratamento /Concentração plasmática ($\mu\text{g/L}$)																	
	0	1	2	3	5	7	9	11	14	17	21	28	35	42	49	56	63	70
740	0	1,6	<LQ	11,3	5,6	11,4	32,7	77,5	210,7	27,0	18,7	8,9	4,8	3,2	1,7	2,3	1,5	<LQ
657	0	1,6	1,7	5,5	6,2	51,3	38,6	51,7	58,0	24,1	13,4	5,5	5,9	4,7	3,3	2,5	1,6	<LQ
649	0	<LQ ₂	<LQ	4,9	16,6	28,5	19,4	45,9	23,3	23,1	7,9	7,3	7,7	11,6	3,6	1,9	1,6	<LQ
634	0	<LQ	<LQ	12,5	41,1	30,5	40,5	57,6	244,7	142,0	38,0	18,4	18,5	11,7	1,5	1,6	1,5	<LQ
627	0	1,1	<LQ	7,5	17,5	22,3	62,6	69,9	108,2	36,2	26,2	11,9	11,5	3,5	1,6	1,6	1,4	<LQ
389	0	1,8	<LQ	3,6	15,5	15,1	26,9	43,6	48,9	30,4	13,2	11,0	6,3	5,2	3,5	2,0	<LQ	<LQ
388	0	2,8	<LQ	7,0	15,7	39,8	61,6	26,5	33,1	28,5	13,0	6,7	6,3	6,0	1,6	1,6	<LQ	<LQ
B180	0	<LQ	<LQ	2,8	8,8	6,2	28,5	21,3	8,1	10,0	6,6	6,4	13,9	5,4	1,6	1,5	<LQ	<LQ
Média	0	1,8	1,7	6,9	15,9	25,6	38,9	49,3	91,9	40,2	17,1	9,5	9,4	6,4	2,3	1,9	1,5	--
Desvio Padrão	--	0,6	--	3,5	11,3	15,1	15,8	19,4	89,4	41,8	10,4	4,2	4,8	3,4	1,0	0,4	0,1	--
CV (%)	--	35,2	--	50,5	71,0	58,9	40,7	39,4	97,3	104,2	61,0	44,6	51,5	52,5	42,2	19,7	5,5	--

²Limite de quantificação.

Tabela 6. Valores de concentração plasmática ($\mu\text{g/L}$) em bovinos tratados com doramectina 3,5%, administrada via intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corpóreo (700 $\mu\text{g/kg}$)

Nº do Bovino	Dias pós-tratamento/Concentração plasmática ($\mu\text{g/L}$)																	
	0	1	2	3	5	7	9	11	14	17	21	28	35	42	49	56	63	70
728	0	18,2	4,4	20,8	18,3	57	58	47,8	24,8	19,8	6,7	4,6	1,9	1,0	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
660	0	7,5	2,4	14,5	18,2	26,1	73,9	141	66,3	16,1	9,6	4,9	<LQ ²	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
618	0	4,8	1,4	2,2	20,9	23,4	57,8	91,9	14,1	15,8	25,7	9,0	2,7	1,2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
616	0	3,1	1,3	10,6	16,6	41,1	97,3	138	21,4	15	8,2	8,7	5,4	2,7	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
605	0	3,5	3,9	9,4	14	23,9	83,8	53	34,9	23,6	12,2	15,5	11,8	6,0	1,5	1,3	<LQ	<LQ
320	0	2,8	3,4	9,9	15,9	23,9	52,4	136	35,7	18,5	14,5	5,5	2,9	4,6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
13	0	5,0	2,7	8,7	39,9	40,3	35,2	61,6	41,9	20,2	12,8	2,9	2,3	2,5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
E27/078	0	1,8	2	7,2	15,7	43,7	92,1	104	55,3	27,8	16,2	15,9	11,8	6,4	1,3	1,0	<LQ	<LQ
Média	0	5,8	2,7	10,4	19,9	34,9	68,8	96,7	36,8	19,6	13,2	8,4	5,5	3,5	1,4	1,2	--	--
Desvio Padrão	--	5,3	1,1	5,4	8,3	12,5	21,5	39,3	17,5	4,4	6,0	5,0	4,4	2,2	0,1	0,2	--	--
CV (%)	--	90,6	42,3	52,2	41,8	35,6	31,3	40,6	47,5	22,2	45,0	59,3	79,7	63,1	10,1	18,4	--	--

²Limite de quantificação.

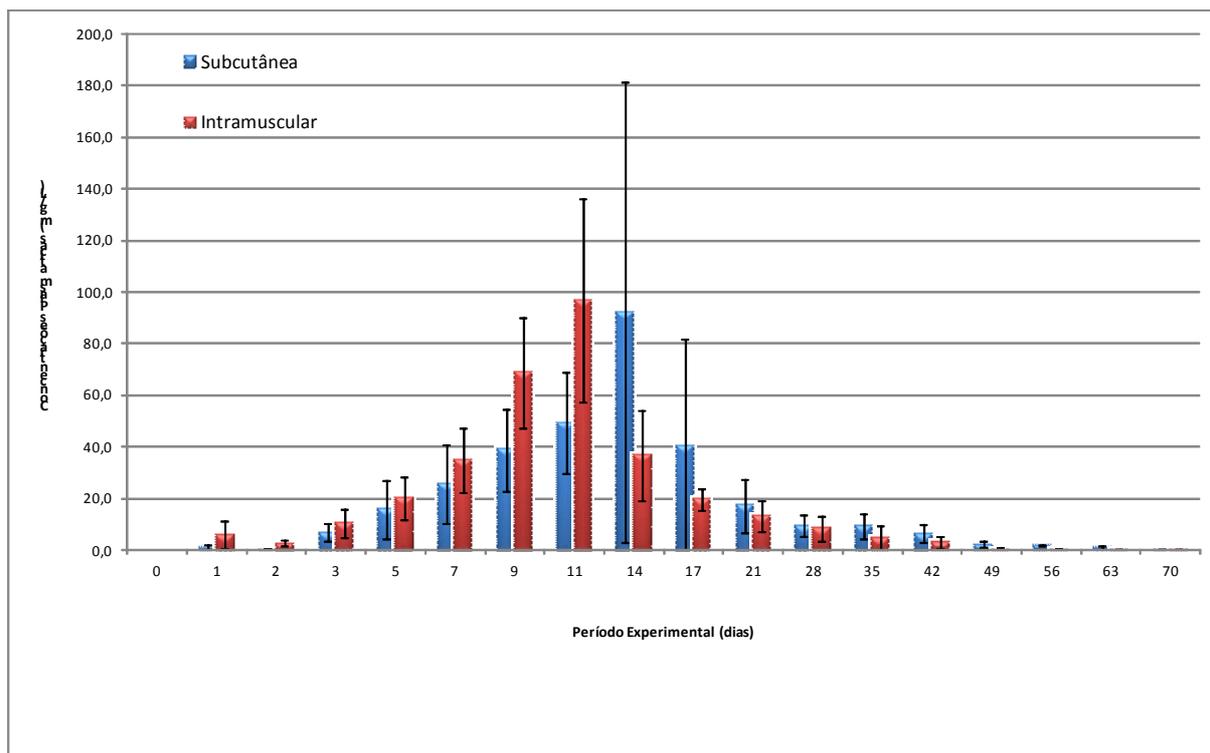


Figura 1. Valores médios das concentrações plasmáticas ($\mu\text{g/L}$) observadas em bovinos tratados com Doramectina 3,5% administradas vias subcutânea e intramuscular, na dose de 1mL/50Kg de peso corpóreo ($700\mu\text{g/Kg}$).

Os valores dos parâmetros farmacocinéticos da nova formulação, obtidos por meio dos dados de concentração plasmática após tratamento pelas vias subcutânea e intramuscular, bem como a análise estatística (ANOVA e teste de Tukey) estão registrados nas Tabelas 7 e 8.

Tabela 7. Parâmetros farmacocinéticos obtidos a partir dos valores de concentração plasmática de doramectina 3,5%, em bovinos, de ambos os sexos, medicados vias subcutânea e intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corpóreo (700µg/kg)

Parâmetros farmacocinéticos								
Via	Sexo	C _{máx} (µg/)	T _{máx} (dias)	AUC _(0-t) (µg.dias/L)	AUC _(t-∞) (µg.dias/L)	AUC _(0-∞) (µg.dias/L)	T _{1/2 el} (dias)	MRT (dias)
Subcutânea	Macho	87,4	11,5	802,3	21,4*	823,7	9,1**	7,9
		(± 83,3)	(± 2,9)	(± 356,9)	(± 1,3)	(±356,7)	(± 1,4)	(± 1,0)
	Fêmea	114,2	13,3	1227,3	15,0	1242,2	6,8	8,7
		(± 91,1)	(± 1,5)	(± 683,5)	(± 5,2)	(± 678,5)	(± 2,1)	(± 0,3)
Intramuscular	Macho	84,9	11,3	900,3	13,0*	913,3	4,9**	8,0
		(± 42,8)	(± 2,1)	(± 197,4)	(± 5,2)	(± 195,4)	(± 1,8)	(± 0,4)
	Fêmea	113,7	10,5	897,7	14,4	912,1	4,8***	7,8
		(± 30,1)	(± 1,0)	(± 87,9)	(± 4,7)	(± 92,5)	(± 2,3)	(± 1,0)

Os valores assinalados com * ou ** diferiram estatisticamente entre si (P<0,05).

Tabela 8. Valores médios e desvio padrão dos resultados da análise estatística (ANOVA e Teste de Tukey) referentes aos parâmetros farmacocinéticos de doramectina 3,5%, administrada vias subcutânea e intramuscular, na dose de 1mL/50kg de peso corpóreo (700µg/kg), em bovinos.

Via de administração	Parâmetros farmacocinéticos						
	C _{máx} (µg/L)	T _{max} (dias)	AUC _(0-t) (µg.dias/L)	AUC _(t-∞) (µg.dias/L)	AUC _(0-∞) (µg.dias/L)	T _{1/2 el} (dias)	MRT (dias)
Subcutânea	100,8	12,4	1014,8	18,2	1033,0	7,9*	8,3
	(± 82,1)	(± 2,3)	(± 553,6)	(± 4,9)	(± 549,5)	(± 2,1)	(± 0,8)
Intramuscular	99,3	10,9	899,0	13,7	912,7	4,8*	7,9
	(± 37,6)	(± 1,6)	(± 141,5)	(± 4,7)	(± 141,5)	(± 1,9)	(± 0,7)

Os valores assinalados com * diferiram estatisticamente entre si (P<0,05).

Conforme exposto na Tabela 8, os valores de C_{máx} foram de 100,8µg/L e 99,3µg/L para os animais tratados vias subcutânea e intramuscular, respectivamente. Não foi verificada diferença estatística (P>0,05) entre as duas vias de administração, assim como entre os sexos. Em relação a T_{max}, os valores obtidos foram de 12,4 dias para o grupo tratado via subcutânea e de 10,5 dias para o grupo que recebeu a nova formulação pela via intramuscular.

A análise estatística possibilita afirmar que a via de administração e o sexo dos animais não interferiram significativamente (P>0,05) nos valores de T_{max}. Entretanto, mesmo não havendo diferença estatisticamente significativa (P>0,05), verifica-se que este parâmetro foi atingido mais rapidamente pela via intramuscular. Esta pequena diferença pode desencadear variações na eficácia do produto em função da via de administração.

A análise dos dados de AUC_(0-t) resultou nos seguintes valores: 1014,8µg.dias/L para o grupo tratado via subcutânea e 899,0µg.dias/L para o grupo medicado via intramuscular. Não foi observada diferença estatística (P>0,05) entre os dois grupos, nem tampouco entre os sexos dos bovinos.

Os resultados de AUC_(t-∞) foram de 18,2µg.dias/L e de 13,7µg.dias/L para os grupos tratados via subcutânea e intramuscular, respectivamente. Os dois tratamentos não diferiram estatisticamente (P>0,05). Entretanto, verificou-se que

a média dos machos medicados por via subcutânea foi estatisticamente superior ($P < 0,05$) à daqueles tratados por intramuscular. Não foi observada diferença estatística ($P > 0,05$) entre as fêmeas pertencentes aos dois grupos de tratamento. O valor de $AUC_{(0-\infty)}$ define a quantidade total de uma substância disponível no plasma. Em relação aos dados referentes a este parâmetro, os grupos tratados pelas vias subcutânea e intramuscular alcançaram os valores de 1033,0 $\mu\text{g.dias/L}$ e 912,7 $\mu\text{g.dias/L}$, respectivamente. A via de aplicação e o sexo não influenciaram significativamente ($P > 0,05$) nos valores deste parâmetro farmacocinético. Pode-se inferir, portanto, que a quantidade total de doramectina absorvida foi semelhante pelas duas vias utilizadas. Entretanto, os bovinos machos tratados com doramectina 3,5% via subcutânea apresentaram valores de $AUC_{(t-\infty)}$ estatisticamente superiores ($P < 0,05$) àqueles que receberam a mesma formulação via intramuscular. Vale acrescentar que estes resultados não necessariamente podem resultar em diferenças significativas do ponto de vista de eficácia clínica.

Analisando-se os dados de $T_{1/2\text{el}}$, nota-se que houve diferença estatística ($P < 0,05$) entre os dois grupos de tratamento. O valor de $T_{1/2\text{el}}$ obtido para o grupo tratado, via subcutânea, foi de 7,9 dias, enquanto no grupo tratado via intramuscular registrou-se 4,8 dias. Verificou-se, ainda, diferença estatística ($P < 0,05$) entre os machos que receberam doramectina 3,5% vias, subcutâneas e intramusculares. Os machos tratados via subcutânea apresentaram um valor de $T_{1/2\text{el}}$ igual a 9,1 dias, enquanto aqueles tratados via intramuscular apresentaram um valor igual a 4,9 dias. Esta diferença no valor de $T_{1/2\text{el}}$ observada em função da via de administração era esperada, uma vez que o tecido subcutâneo apresenta baixa vascularização, levando a uma absorção mais lenta do fármaco (CHIU, 1990) e, conseqüentemente, um período de eliminação também mais lento.

Os resultados de MRT não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$) entre as vias subcutânea e intramuscular, nem tampouco entre os sexos dos bovinos. O valor de MRT do grupo medicado via subcutânea (8,3 dias) foi semelhante ao obtido no grupo tratado via intramuscular (7,9 dias).

4.2 Experimento II: Eficácia terapêutica e ação residual contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos experimentalmente infestados (teste de estábulo)

Os bovinos experimentais foram desafiados com infestações artificiais de larvas de *R.(B.) microplus*, durante 48 dias, após os tratamentos com doramectina 3,5%, ivermectina 3,15% e moxidectina 10% (dia zero). Da mesma forma, servindo como parâmetro foram mantidas as infestações no grupo controle. Nota-se pela Tabela 9, uma acentuada redução do número médio de teleóginas desprendidas dos três grupos medicados, a partir do 6º dia pós-tratamento (DPT), quando foi observado valores de eficácia superiores a 90% (médias geométricas). Nesta condição, ou seja, índices superiores a 90% de eficácia foram alcançados pela doramectina 3,5%, moxidectina 10% e ivermectina 3,15% em 37, 30 e 11 datas observacionais, respectivamente (Tabela 9) e ilustrado na Figura 2. Considerando índices de eficácia superiores a 95%, verifica-se (Tabela 9), que a doramectina 3,5% e a moxidectina 10%, ultrapassaram este percentual em 21 datas experimentais. A ivermectina 3,15% atingiu este percentual apenas em uma data experimental (13º DPT).

Tabela 9. Número médio de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Teleóginas) em bovinos experimentalmente infestados, pertencentes aos grupos controle e tratados; percentuais de eficácia. Médias geométricas. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.

Dias pós- tratamento	Grupos experimentais/Média de teleóginas desprendidas				EFICÁCIA (%)		
	GI:	GII:	GIII:	GIV:	GII	GIII	GIV
	Controle	Doramectina	Ivermectina	Moxidectina 10%**			
Zero	168,39	183,08	171,39	175,15	-	-	-
1	46,33	38,76	50,90	31,88	23,0	0,00	33,85
2	129,04	64,66	63,98	71,60	53,9	51,29	46,65
3	145,87	55,46	40,39	48,36	65,0	72,79	68,13
4	96,75	26,70	20,74	14,49	74,6	78,94	85,60
5	76,72	9,46	10,73	10,72	88,6	86,26	86,57
6	83,34	5,21	6,36	5,43	94,2	92,50	93,74
7	98,15	6,25	10,58	4,90	94,1	89,41	95,20
8	166,99	5,32	10,32	5,95	97,0	93,93	96,58
9	118,70	5,90	8,24	5,27	95,4	93,18	95,74
10	95,92	2,49	6,29	3,34	97,6	93,55	96,65
11	94,00	2,19	6,99	3,61	97,8	92,69	96,31
12	103,05	3,85	13,40	3,00	96,5	87,22	97,20
13	118,44	2,56	4,57	2,20	98,0	96,21	98,21
14	115,73	2,04	8,44	5,90	98,3	92,83	95,10
15	123,50	2,55	18,73	6,46	98,1	85,10	94,97
16	75,75	4,26	14,51	3,65	94,8	81,18	95,37
17	103,45	4,24	19,95	7,57	96,2	81,05	92,96
18	99,85	2,32	10,14	4,06	97,8	90,02	96,09
19	41,88	1,89	7,93	2,80	95,8	81,39	93,57
20	38,82	2,89	8,96	5,60	93,1	77,32	86,14
21	38,39	2,07	9,13	5,39	95,0	76,64	86,51
22	53,00	2,39	4,44	6,06	95,8	91,77	89,01
23	63,84	1,71	6,07	3,22	97,5	90,66	95,15
24	57,14	3,43	11,13	4,69	94,4	80,86	92,11
25	31,16	2,06	4,04	1,37	93,9	87,27	95,78
26	29,20	1,92	3,09	0,98	93,9	89,59	96,78
27	25,71	1,08	6,06	2,65	96,1	76,82	90,10
28	23,92	1,45	5,64	2,20	94,4	76,85	91,15
29	28,85	2,05	6,04	0,74	93,4	79,43	97,53
30	28,30	0,65	7,23	0,96	97,9	74,89	96,75
31	29,13	2,60	7,40	1,12	91,8	75,05	96,31
32	20,92	1,22	6,20	1,22	94,6	70,88	94,39
33	36,11	2,02	3,96	1,09	94,8	89,23	97,10
34	46,73	1,04	4,64	1,69	97,9	90,24	96,52
35	33,42	0,91	4,59	0,47	97,5	86,50	98,65
36	68,41	2,34	10,79	3,08	96,8	84,50	95,67
37	61,50	1,30	13,97	3,90	98,0	77,68	93,91
38	51,46	2,03	9,81	2,26	96,3	81,27	95,78
39	34,15	2,73	13,70	3,86	92,6	60,58	89,13
40	19,55	1,08	10,26	3,19	94,9	48,43	84,31
41	37,68	2,26	13,51	5,97	94,4	64,77	84,77
42	41,43	4,06	12,65	5,57	90,9	70,00	87,07
43	34,84	6,84	28,59	7,64	81,9	19,38	78,92
44	36,06	7,69	19,94	9,99	80,3	45,68	73,38
45	37,69	13,01	32,12	18,65	68,2	16,28	52,42
46	53,04	13,88	29,59	14,60	75,9	45,18	73,53
47	47,88	14,35	43,99	11,40	72,4	9,72	77,11
48	51,25	12,57	44,81	17,53	77,4	14,10	67,12

MÉDIA GEOMÉTRICA=antilog[1/n à log(x+1)]-1

Estatisticamente, as quantificações de teleóginas desprendidas dos grupos tratados com doramectina 3,5% e moxidectina 10% não diferiram entre si ($P>0,05$), ao longo de todo o experimento. Estas duas formulações e a ivermectina 3,15% diferiram do grupo controle ($P<0,05$) em 44, 45 e 34 datas, respectivamente. As contagens de fêmeas de carrapatos desprendidas do grupo medicado com ivermectina 3,15% (Tabela 10) foram estatisticamente superiores às mensuradas nos grupos que receberam doramectina 3,5% (27 datas) e moxidectina 10% (16 datas experimentais).

Tabela 10. Análise estatística das contagens de teleóginas desprendidas de bovinos, experimentalmente infestados por *R. (B) microplus*, pertencentes aos grupos controle e tratados. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.

Dias pós- tratamen to	Tratamentos / Médias ¹ de teleóginas desprendidas							
	GI:		GII:		GIII:		GIV:	
	Controle		Doramectina 3,5%*		Ivermectina		Moxidectina 10%**	
0	2,2289	A	2,2650	A	2,2365	A	2,2459	A
1	1,6751	A	1,5994	A	1,7152	A	1,5169	A
2	2,1141	A	1,8173	A	1,8128	A	1,8609	A
3	2,1669	A	1,7517	AB	1,6169	B	1,6934	B
4	1,9901	A	1,4425	B	1,3373	B	1,1900	B
5	1,8905	A	1,0194	B	1,0691	B	1,0688	B
6	1,9260	A	0,7934	B	0,8668	B	0,8081	B
7	1,9963	A	0,8603	B	1,0637	B	0,7710	B
8	2,2253	A	0,8008	B	1,0537	B	0,8417	B
9	2,0781	A	0,8387	B	0,9658	B	0,7969	B
10	1,9864	A	0,5422	B	0,8629	B	0,6379	B
11	1,9777	A	0,5039	B	0,9028	B	0,6637	B
12	2,0172	A	0,6854	C	1,1585	B	0,6018	C
13	2,0772	A	0,5512	B	0,7461	B	0,5056	B
14	2,0672	A	0,4831	C	0,9752	B	0,8389	BC
15	2,0952	A	0,5507	C	1,2952	B	0,8729	BC
16	1,8851	A	0,7208	C	1,1905	B	0,6672	C
17	2,0189	A	0,7195	C	1,3212	B	0,9332	BC
18	2,0037	A	0,5217	C	1,0469	B	0,7042	BC
19	1,6323	A	0,4612	C	0,9510	B	0,5801	BC
20	1,6001	A	0,5898	C	0,9982	B	0,8193	BC
21	1,5954	A	0,4874	C	1,0056	B	0,8052	BC
22	1,7324	A	0,5303	B	0,7354	B	0,8486	B
23	1,8118	A	0,4337	C	0,8493	B	0,6256	BC
24	1,7645	A	0,6464	C	1,0839	B	0,7551	BC
25	1,5073	A	0,4853	B	0,7021	B	0,3743	B
26	1,4800	A	0,4659	B	0,6121	B	0,2964	B
27	1,4266	A	0,3172	C	0,8491	B	0,5619	BC
28	1,3966	A	0,3891	C	0,8220	B	0,5056	BC
29	1,4749	A	0,4838	BC	0,8475	B	0,2412	C
30	1,4668	A	0,2168	C	0,9155	B	0,2914	C
31	1,4791	A	0,5557	BC	0,9242	B	0,3257	C
32	1,3408	A	0,3464	B	0,8573	A	0,3464	B
33	1,5695	A	0,4800	BC	0,6955	B	0,3201	C
34	1,6788	A	0,3096	C	0,7513	B	0,4298	BC
35	1,5369	A	0,2802	C	0,7476	B	0,1667	C
36	1,8414	A	0,5244	C	1,0716	B	0,6106	C
37	1,7959	A	0,3626	C	1,1753	B	0,6901	C
38	1,7198	A	0,4820	B	1,0338	A	0,5132	B
39	1,5459	A	0,5716	B	1,1673	A	0,6868	B
40	1,3127	A	0,3172	B	1,0515	A	0,6222	B
41	1,5875	A	0,5132	C	1,1617	AB	0,8432	BC
42	1,6277	A	0,7042	C	1,1351	AB	0,8176	BC
43	1,5544	A	0,8945	B	1,4712	A	0,9365	B
44	1,5689	A	0,9391	B	1,3209	AB	1,0408	B
45	1,5876	A	1,1464	A	1,5201	A	1,2934	A
46	1,7327	A	1,1726	B	1,4856	AB	1,1932	B
47	1,6891	A	1,1862	B	1,6532	A	1,0934	B
48	1,7181	A	1,1325	B	1,6610	A	1,2678	B

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

Os efeitos deletérios da doramectina 3,5% sobre os parâmetros reprodutivos de fêmeas de *R. (B.) microplus* desprendidas (peso das fêmeas e da massa de ovos, % de redução de ovipostura, % de eclodibilidade e % de redução de eclodibilidade) foram significativamente ($P < 0,05$) superiores aos da ivermectina 3,15%. A doramectina 3,5% e a moxidectina 10%, não diferiram estatisticamente ($P > 0,05$), quanto aos efeitos ocasionados na performance reprodutiva de *R. (B.) microplus* (Tabela 11).

Tabela 11. Resultados das comparações múltiplas referentes aos parâmetros reprodutivos de fêmeas de *Rhipicephalus (boophilus) microplus*, desprendidas, durante 48 dias, dos grupos controle e tratados. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, Brasil.

Parâmetro (Reprodutivo)	Grupos Experimentais ¹				Teste F	
	GI: Controle	GII: Doramectina 3,5%*	GIII: Ivermectina 3,15%**	GIV: Moxidectina 10%**	Valor	Probabilidade de significância
Nº. Teleóginas	9,87 ^A	9,63 ^A	9,94 ^A	9,79 ^A	0,61	0,6067
Peso das fêmeas (g)	3,41 ^A	1,61 ^C	2,13 ^B	1,79 ^{B^C}	65,73	<0,0001
Peso da massa de ovos (g)	1,46 ^A	0,51 ^C	0,76 ^B	0,59 ^{B^C}	52,16	<0,0001
% eclodibilidade	94,48 ^A	78,15 ^C	87,21 ^{A^B}	78,60 ^{B^C}	10,43	<0,0001
% Redução Oviposição	-	61,77 ^A	47,24 ^B	60,54 ^A	5,32	0,0059
% Redução Eclodibilidade	-	18 ^A	46 ^B	17 ^{AB}	3,78	0,0253
Eficiência reprodutiva	799651, 45 ^A	516491,55 ^B	630510,85 ^B	517784,42 ^B	11,25	<0,0001

¹Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo Teste Tukey ($P \geq 0,05$).

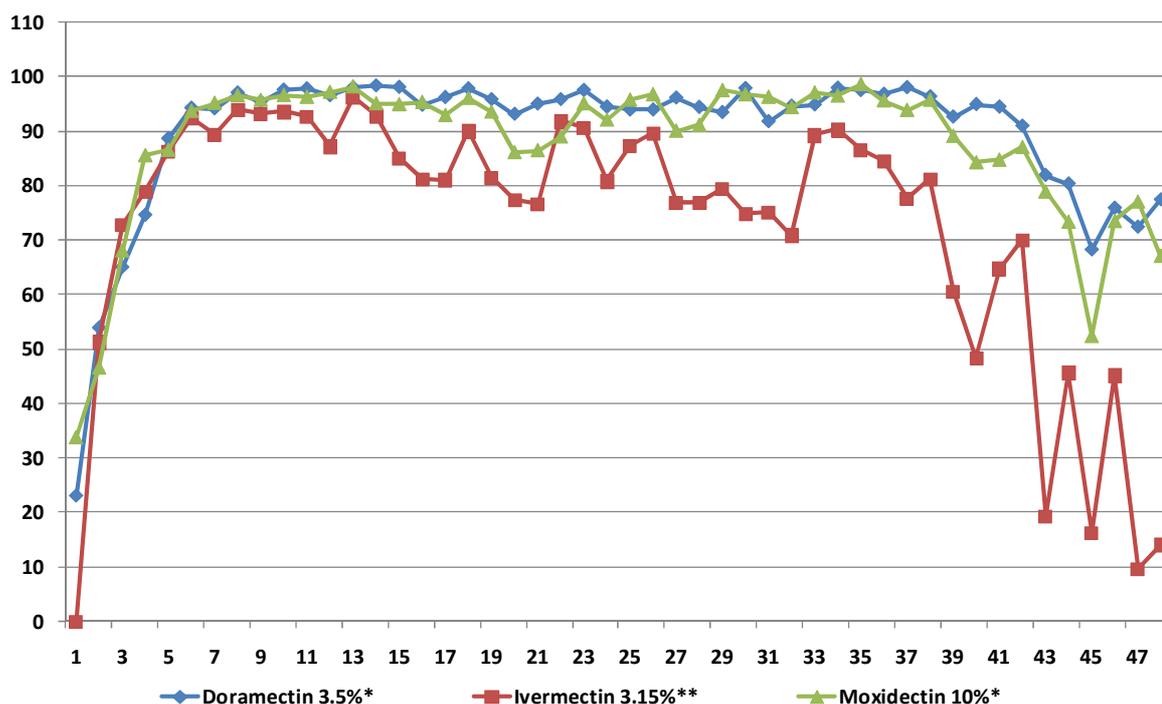


Figura 2 Percentuais de eficácia de três formulações utilizadas no tratamento de bovinos experimentalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Médias geométricas. CPPAR/FCAV/UNESP.

4.3 Experimento III: Ação anti-ixodídica em bovinos naturalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Analisando-se a Tabela 12 pode-se afirmar que os bovinos do grupo não tratado (controle) apresentaram, durante todo o período experimental, elevada infestação por *R. (B.) microplus*. Tal fato demonstra que ambas as formulações de doramectina (1% e 3,5%) estavam sendo permanentemente desafiadas, quanto à infestação pelo carrapato.

Ainda pela Tabela 12, verifica-se que já no 3º dia pós-tratamento (DPT) houve uma redução acentuada do número de fêmeas de *R. (B.) microplus* nos grupos tratados com doramectina 1% e 3,5%, em relação ao grupo controle. A nova formulação contendo doramectina 3,5% atingiu um percentual de eficácia de 96,35% no 7º DPT, alcançando 100% do 28º ao 42º DPT (médias geométricas). No 49º DPT o índice de eficácia foi de 94,17%. A partir desta data, os percentuais decresceram para 88,03%, 62,69% e 36,21% nos dias 56, 63 e

70 pós-tratamento (última data experimental), respectivamente. A doramectina 1% atingiu índices de eficácia superiores a 95% do 14° ao 28° DPT. No 35°, 42° e 49° DPT (última data de observação), estes valores foram de 86,07%, 74,84% e 60,62%, respectivamente (Tabela 12 e Figura 3).

Tabela 12. Médias das contagens de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (entre 4,5 e 8,0 mm) presentes em bovinos dos grupos controle e tratados; percentuais de eficácia. Médias geométricas. Águas da Prata - SP, Brasil.

Dias pós-tratamento	Grupos experimentais/Médias de partenóginas			Percentuais de eficácia	
	GI: Controle	GII: Doramectina 1%	GIII: Doramectina 3,5%		
0	31,96	32,21	32,85		
3	38,06	9,25	8,17	75,88	79,12
7	52,01	6,42	1,95	87,75	96,35
14	53,85	1,12	0,64	97,94	98,84
21	54,61	1,19	0,41	97,84	99,27
28	50,55	0,87	0,00	98,29	100,00
35	33,04	4,64	0,00	86,07	100,00
42	33,01	8,37	0,00	74,84	100,00
49	32,55	12,92	1,95	60,62	94,17
56	33,73	-	4,15	-	88,03
63	40,73	-	15,62	-	62,69
70	42,20	-	27,67	-	36,21

zero = média das contagens dos dias -3, -2 e -1.

Os grupos controle e tratado com doramectina 3,5% diferiram estatisticamente ($P < 0,05$), quanto ao número de partenóginas de *R. (B.) microplus*, do 3° ao 63° DPT. Fato semelhante ocorreu com os animais do grupo tratado com doramectina 1%, que apresentaram números de partenóginas estatisticamente inferiores ($P < 0,05$) do 3° ao 49° DPT, comparativamente aos bovinos do grupo controle (Tabela 13). Do 28° até o 49° DPT, os números de

partenóginas presentes no grupo tratado com doramectina 3,5% foram significativamente inferiores ($P < 0,05$), aos registrados no grupo medicado com doramectina 1% (Tabela 13).

Tabela 13. Resultados da análise estatística referente às contagens de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* dos grupos controle e tratados. Água da Prata-SP, Brasil.

Dias pós-tratamento	Grupos experimentais/Médias de partenóginas					
	GI: Controle		GII: Doramectina 1% ^{**}		GIII: Doramectina 3,5% [*]	
0	1,520	A	1,521	A	1,530	A
3	1,590	A	1,011	B	0,962	B
7	1,720	A	0,870	B	0,470	C
14	1,740	A	0,326	B	0,215	B
21	1,750	A	0,340	B	0,149	B
28	1,710	A	0,272	B	0,000	C
35	1,530	A	0,751	B	0,000	C
42	1,530	A	0,972	B	0,000	C
49	1,530	A	1,144	B	0,470	C
56	1,540	A	-		0,712	B
63	1,620	A	-		1,221	B
70	1,640	A	-		1,457	A

Médias¹ $[1/n \times \log(x+1)] - 1$: seguidas pela mesma letra maiúscula na linha não diferem entre si ($P \geq 0,05$).

Mediante os resultados obtidos neste ensaio, pode-se inferir que as duas formulações de doramectina (1% e 3,5%) utilizadas foram altamente eficazes contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos naturalmente infestados. Vale frisar, entretanto, que a nova formulação contendo doramectina 3,5%, pelo modelo experimental utilizado, apresentou eficácia residual superior à doramectina 1% (Figura 3).

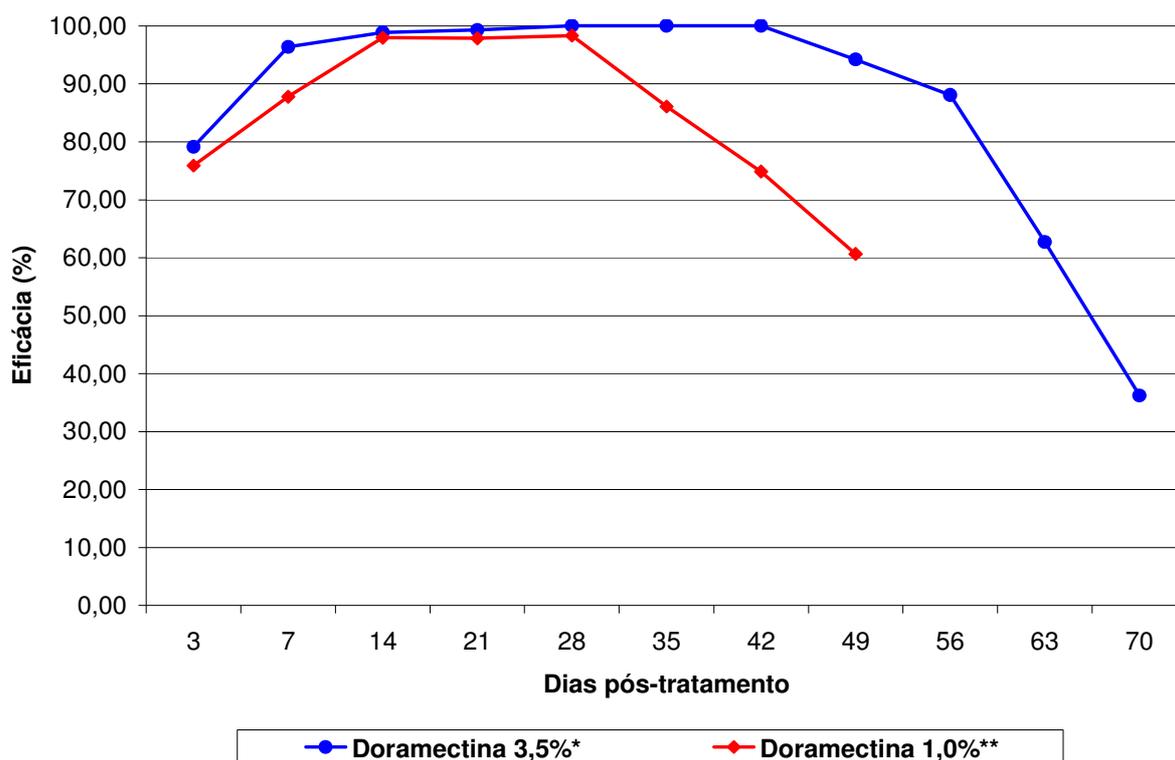


Figura 3. Percentuais de eficácia de duas formulações contendo doramectina (1% e 3,5%) contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos naturalmente infestados. Médias geométricas. Águas da Prata-SP, Brasil.

4.4 Experimento IV: Atividade anti-helmíntica de uma nova formulação contendo doramectina 3,5% no tratamento de bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais

Os resultados necroscópicos revelaram a presença de seis gêneros e 10 espécies de helmintos, com as seguintes médias aritméticas, referentes à intensidade de infecção (ordem decrescente): *Cooperia punctata* (3467,50); *Trichostrongylus axei* (1654,83); *Haemonchus placei* (287,50); *Oesophagostomum radiatum* (170,50); *Trichuris discolor* (116,67), *C. mcmasteri* (108,17), *Bunostomum phlebotomum* (46,50); *C. spatulata* (41,00), *T. colubriformis* (16,83) e *H. similis* (16,67).

Aplicando-se a fórmula recomendada pela Portaria 48 (Brasil, 1997), a nova formulação contendo doramectina 3,5% alcançou valores máximos de

eficácia (100,0%) contra nove espécies das 10 diagnosticadas. Entretanto, em relação a *T. colubriformis*, *C. spatulata*, *C. mcmasterie* e *Trichuris discolor*, o baixo parasitismo por estas espécies no grupo controle (Tabela 14) interferiu na análise estatística e conseqüentemente, impossibilitou inferir sobre a eficácia do novo composto avaliado contra as referidas espécies.

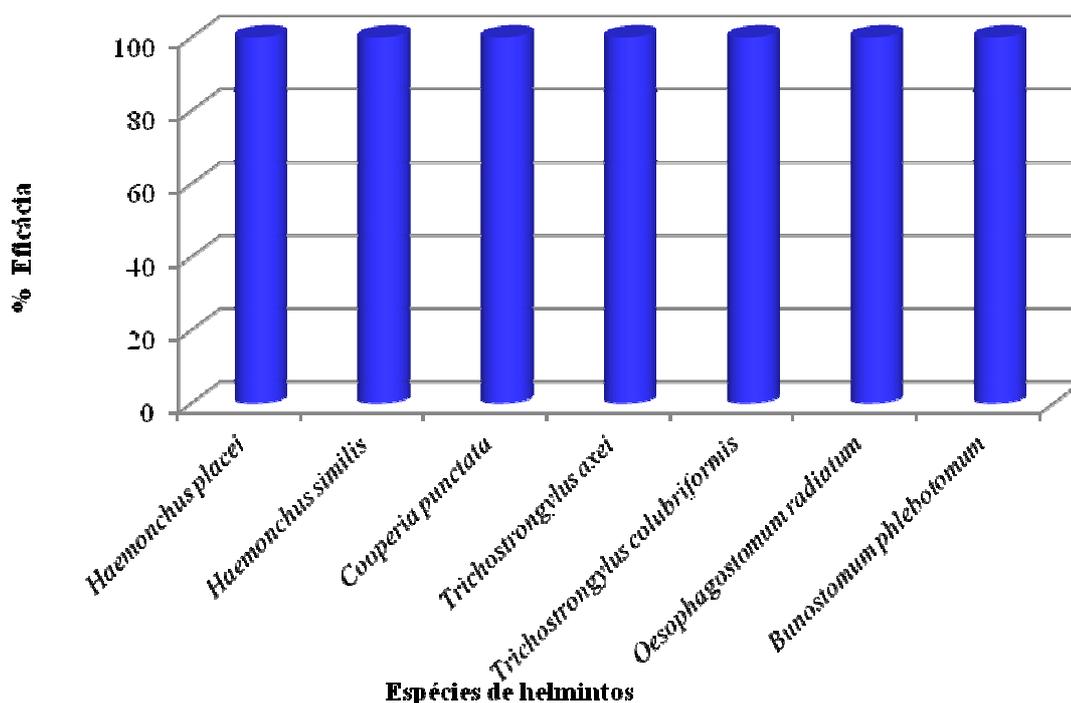


Figura 4. Percentuais de eficácia da doramectina 3,5% contra helmintos parasitos de bovinos, naturalmente infectados. Médias Aritméticas. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal - SP, Brasil.

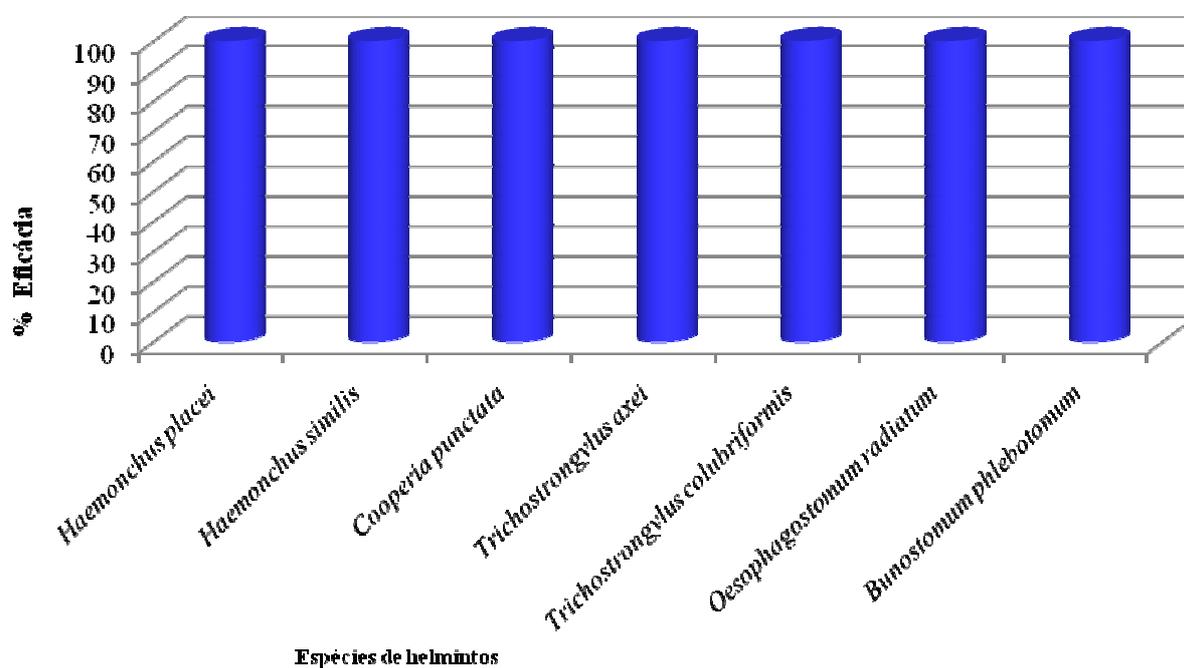


Figura 5. Percentuais de eficácia da doramectina 3,5% contra helmintos parasitos de bovinos, naturalmente infectados. Médias Geométricas. CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal - SP, Brasil.

Tabela 14. Resultados da análise estatística referentes às contagens de espécies de helmintos recuperados de bovinos necropsiados pertencentes aos grupos controle e tratado com doramectina 3,5%; percentuais de eficácia. CPPAR/ FCAV/ UNESP, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil.

Espécies de helmintos	Tratamentos/Médias ¹ =[$\sum \log(x+1)$]/		Percentuais de eficácia (%)
	GI: Controle	GII: Doramectina 3,5%*	GIII: Doramectina 3,5%*
<i>Haemonchu splacei</i>	4,6791 ^A	0,000 ^B	100,00
<i>Haemonchus similis</i>	2,3977 ^A	0,000 ^B	100,00
<i>Cooperia punctata</i>	6,7726 ^A	0,000 ^B	100,00
<i>Cooperia spatulata</i>	0,9182 ^A	0,000 ^A	100,00
<i>Cooperia mcmasteri</i>	1,9247 ^A	0,000 ^A	100,00
<i>Trichostrongylu saxei</i>	5,8093 ^A	0,000 ^B	100,00
<i>Trichostrongylu scolubriformis</i>	1,8897 ^A	0,000 ^A	100,00
<i>Oesophagostomum radiatum</i>	3,9033 ^A	0,000 ^B	100,00
<i>Trichuri sdicolor</i>	1,9148 ^A	1,1989 ^A	95,71
<i>Bunostomum phebotomum</i>	3,6108 ^A	0,000 ^B	100,00

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

O número de helmintos presentes nos bovinos tratados diferiu estatisticamente (P<0,05), daquele observado no grupo controle, no que concerne às seguintes espécies: *Haemonchus placei*, *H. similis*, *Cooperia punctata*, *Trichostrongylus axei*, *Oesophagostomum radiatum* e *Bunostomum phlebotomum* (Tabela 14).

5 DISCUSSÃO

Experimento I: Farmacocinética

Compostos altamente lipofílicos, como as avermectinas, possuem não somente uma tendência a apresentar propriedades farmacocinéticas adequadas para a eliminação dos parasitos nos tecidos onde estes se encontram, como também são capazes de penetrar na cutícula dos mesmos em maior quantidade em comparação a fármacos menos lipofílicos. Esta característica favorece a sua permanência em níveis plasmáticos terapêuticos superiores à concentração inibitória mínima (CIM) por longo período, além de promover uma eliminação lenta, levando a um aumento no tempo de contato com parasito. Estes fatores são fundamentais para a obtenção de uma boa eficácia terapêutica endectocida (LANUSSE & PRICHARD, 1993). A nova formulação avaliada preenche estes requisitos. A doramectina é um composto altamente lipofílico, com tendência a apresentar um perfil de eliminação lento (Zulalianet al., 1994). Somando-se às suas características físico-químicas, a composição oleosa da formulação em estudo contribui para prolongar o tempo de eliminação do fármaco. Lifschitz et al., (2000) demonstraram que a quantidade de doramectina acumulada nos tecidos alvo (mucosa gastrintestinal, pulmões e pele) foi superior àquela detectada no plasma, variando a razão $AUC_{\text{tecido alvo}} / AUC_{\text{plasma}}$ entre 1,2 e 2,47. Estes dados permitem inferir que a doramectina acumula-se preferencialmente nos tecidos alvo, de modo a permitir uma ação deste fármaco por um período superior àquele em que torna-se detectado na corrente circulatória.

De acordo com LANUSSE & PRICHARD (1993), o veículo no qual se encontram as avermectinas exerce uma elevada influência nas suas propriedades farmacocinéticas. Pequenas alterações na formulação e, conseqüentemente, nos parâmetros farmacocinéticos, podem atuar significativamente na eficácia do medicamento frente a endo e ectoparasitos. Sendo assim, é de fundamental importância conhecer as propriedades farmacocinéticas de uma formulação endectocida para que se possa maximizar sua eficácia.

Com base nos resultados obtidos, foi possível concluir que as vias de administração avaliadas (subcutânea e intramuscular) para a nova formulação (doramectina 3,5%) não interferiram significativamente ($P>0,05$) nos valores de C_{max} , T_{max} , $AUC(0-t)$, $AUC(t-\infty)$, $AUC(0-\infty)$ e MRT. Embora não tenha sido detectada diferença significativa ($P>0,05$) em T_{max} , relacionado às duas vias, o valor foi atingido mais rapidamente via intramuscular, o que pode notabilizar a diferenças na eficácia do fármaco em função desta via.

Considerando os valores de médias de $T_{1/2}$ obtidos para machos e fêmeas, verificou-se um aumento significativo ($P<0,05$) destes valores nos animais tratados via subcutânea. Entretanto, quando observado o sexo dos bovinos, a superioridade por esta via foi observada apenas nos machos. Considerando que $AUC(0-\infty)$ mede a quantidade total de fármaco absorvida, foi possível inferir que a via de administração não interferiu significativamente ($P>0,05$) no período de absorção de doramectina.

Entretanto, quando avaliado isoladamente, cada indivíduo, dentro dos sexos, foi possível observar que nos machos tratados via subcutânea, a quantidade de doramectina absorvida foi estatisticamente superior ($P<0,05$), quando comparados com os medicados via intramuscular.

Experimento II: Eficácia terapêutica e ação residual contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos experimentalmente infestados (teste de estábulo)

As lactonas macrocíclicas constituem um grupo de moléculas importantes para o controle de parasitos internos e externos dos animais domésticos e tiveram seu uso estendido para o controle de carrapatos nos últimos anos devido ao desenvolvimento de resistência às outras classes acaricidas disponíveis. (MARTINS & FURLONG, 2001)

Resultados diferenciados foram observados por vários autores em estudos com lactonas macrocíclicas em concentrações diversas. Gonzales et al., (1993) observaram satisfatória efetividade da doramectina a partir do 3º DPT, inclusive com redução da oviposição. Percentuais de eficácia superiores a 90% (médias geométricas) foram registrados no presente estudo com a doramectina 3,5%, a partir do 6º DPT, assemelhando-se ao observado por Muniz et al.,

(1995) que detectaram 91,1% de eficácia, a partir do 8º DPT, utilizando a doramectina 1%. Importante levar em consideração a cronologia dos resultados obtidos pelos autores supracitados, comparativamente aos diagnosticados na presente pesquisa.

Efeitos residuais da doramectina 1% (Leite et al., 1995) e da moxidectina 1%, (Aguilar-Tipacamu & Vivas-Rodriguez, 2003), contra *R. (B.) microplus* foram observados até o 28º DPT, ocasião em que estas formulações apresentaram percentuais de eficácia de 99,8% e 95,1%, respectivamente. Utilizando 56 propriedades, de vários municípios, Caproni et al., (1998) compararam a ivermectina 1% à doramectina 1%, injetáveis. Pelas contagens de fêmeas ingurgitadas, mensuradas nos dias zero, 12º e 28º DPT, verificaram que a eficácia da doramectina 1% foi superior em 54, das 56 propriedades estudadas, alcançando eficácia média mais elevada no 12º DPT (94%). Comparando quatro endotecidas no controle do carrapato, Alves-Branco et al., (1999) observaram que a doramectina 1% atingiu eficácia máxima (99,9%) no 28º DPT, apresentando ação acaricida superior às demais avermectinas avaliadas. Nas investigações de Pereira (2009) foi constatada uma maior eficácia da doramectina 1% (>90%) no 7º e 28º DPT, em bovinos artificialmente infestados com 4000 larvas semanais (-21 a + 14). Relatou, ainda, que a doramectina 1% reduziu a ovipostura em 83,51%, índice superior aos da ivermectina 1% e da abamectina 1%.

Conduzindo dois estudos na região sul do Brasil, Gonzales & Muniz (1993) analisaram a eficácia terapêutica e a persistência da doramectina 1% contra infestações artificiais, em bovinos, com 2.500 larvas de *R. (B.) microplus*. A eficácia terapêutica foi de 51% no primeiro dia pós-tratamento, 96% no 3º DPT e 99% no 4º e 7º DPT.

Os resultados ixodológicos obtidos com a realização deste teste de estábulo, possibilitam afirmar que a nova formulação (doramectina 3,5%) não diferiu estatisticamente ($P > 0,05$) da moxidectina 10%, porém, foi significativamente ($P < 0,05$) superior à ivermectina 3,15%, no controle de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, parasitando bovinos experimentalmente infestados.

Experimento III: Ação anti-ixodídica em bovinos naturalmente infestados por *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Os resultados obtidos neste estudo assemelham-se aos encontrados por Gonzales et al., (1993) e Leite et al., (1995) que comprovaram uma elevada eficácia da doramectina 1% contra *R. (B.) microplus* parasitando bovinos naturalmente infestados.

Comparando três avermectinas (abamectina, doramectina e ivermectina) no controle do carrapato (infestação natural), PEREIRA (2009) observou que os melhores resultados foram observados no grupo tratado com doramectina 1%, tanto em relação à redução das contagens de fêmeas (média de 85,92% entre o 3º e 28º DPT) como também na redução da oviposição em laboratório (média de 83,51%). Resultados semelhantes foram diagnosticados no presente estudo, em que as duas formulações utilizadas de doramectina (1% e 3,5%) foram eficazes no tratamento de bovinos naturalmente infestados com *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Os resultados encontrados neste trabalho com doramectina 3,5% corroboram com os encontrados por Oliveira, et al., (2006) em que os derivados da lactonas macrocíclicas tiveram atuação em partenóginas, a partir do terceiro dia pós tratamento, mantendo infestações de estádios inferiores durante todo período experimental.

Vários autores estudaram a eficiência das lactonas macrocíclicas contra *R. (B.) microplus*. MARQUES et al. (1995) utilizando ivermectina 1%, solução injetável, em bovinos naturalmente infestados, registraram eficácia ao redor de 99% até o 28º DPT. Decorridos aproximadamente 15 anos e considerando os resultados deste trabalho envolvendo nova formulação contendo doramectina 3,5% verifica-se um percentual de eficácia de 96,35% no 7º DPT, alcançando 100% do 28º ao 42º DPT (médias geométricas), o que comprova a superioridade terapêutica da nova concentração.

Os grupos controle e tratado como novo fármaco diferiram estatisticamente ($P < 0,05$), quanto ao número de partenóginas do 3º ao 63º DPT. As quantificações de partenóginas no grupo tratado foi significativamente inferior às do grupo controle, praticamente ao longo de todo período pós-tratamento. Fato semelhante ocorreu com os animais do grupo tratado com doramectina 1%

que apresentaram números de partenóginas estatisticamente inferiores ($P < 0,05$), aos do controle, até o 49ºDPT. Portanto, a atividade anti-ixodídica da doramectina utilizada (3,5%) persistiu pelo menos por mais de duas semanas, quando comparada a doramectina 1%.

Experimento IV: Atividade anti-helmíntica em bovinos naturalmente infectados por nematódeos gastrintestinais

Os gêneros *Haemonchus*, *Cooperia*, *Trichostrongylus*, *Oesophagostomum* e *Bunostomum* encontrados nos bovinos deste estudo foram os mesmos identificados por Conder et al., (1998) e Molento et al., (1999), que avaliaram a doramectina 1%, em bovinos natural e experimentalmente infectados. Em relação a *T. colubriformis*, *C. spatulata*, *C. mcmasterie* *Trichuris discolor*, o baixo parasitismo diagnosticado no grupo controle interferiu na análise estatística, impossibilitando, assim, inferir sobre a eficácia do composto avaliado contra estas quatro espécies de helmintos.

O percentual de cada espécie de nematódeos gastrintestinais na carga parasitária total de bovinos pode variar conforme a região climática, mas, de maneira geral, os seguintes dados são observados para a região Sudeste: *Cooperia* spp = 77,91%, *Haemonchus* spp = 18,50%, *Oesophagostomum radiatum* = 2,01% e *Trichostrongylus* spp = 1,13%. Tais resultados podem ser extrapolados para quase todo o território brasileiro, exceto a Região Sul, onde há importante presença de *Ostertagia* spp. Os parasitos dos gêneros *Cooperia* e *Haemonchus* representam mais de 95% da carga parasitária total em bovinos e o surgimento de populações destes parasitos resistentes aos anti-helmínticos podem se tornar um grave problema sanitário na pecuária bovina (COSTA & BORGES, 2010)

A nova formulação (doramectina 3,5%) alcançou eficácia elevada contra as duas espécies de helmintos (*C. punctata* e *H. placei*) mais importantes no Brasil. Willians et al., (1997) já haviam relatado superioridade da doramectina 1%, em relação à ivermectina 1%, contra *Cooperia* spp e *Haemonchus placei*.

A eficácia de doramectina 1%, administrada na dose de 200 mg/kg peso vivo, em bezerras da raça Nelore, foi de 100% contra adultos de *Cooperia* (*C. pectinata*, *C. punctata*, *C. spatulata*), *Dictyocaulus viviparus*, *Haemonchus* (*H.*

contortus, *H. similis*) e *Oesophagostomum radiatum*. Contra *Trichostrongylus axei* e *Trichuris discolor* os percentuais de eficácia foram de 99,9% e de 92,3%, respectivamente (BIANCHIN et al., 1993). Tais resultados corroboram com os obtidos no presente estudo conduzido com doramectina de alta concentração (3,5%).

Lopes et al., 2012 realizaram um estudo em que foram avaliadas as formulações contendo doramectina 3,5% e ivermectina 3,15% em bovinos experimentalmente infectados por nematódeos. A formulação contendo doramectina 3,5% alcançou eficácia persistente contra *H. placei* e *C. punctata* por 49 e 35 dias, respectivamente. A eficácia residual da ivermectina 3,15% contra o *H. placei* foi de 49 dias. Este tratamento, entretanto, foi ineficaz contra *C. punctata*. Ambas as formulações protegeram os bovinos contra *T. axei* por 49 dias. Os efeitos residuais da doramectina e da ivermectina persistiram por 49 e 42 dias contra *O. radiatum*, respectivamente.

Os guias internacionais existentes para avaliação de anti-helmínticos em ruminantes, WAAVP (WOOD et al., 1995) e VICH (VERCRUYSSSE et al., 2001), exigem que haja não apenas eficácia acima de 90% contra determinada espécie de nematódeo, mas, também, diferença estatística ($P < 0,05$) entre os grupos tratado e controle. Em concordância com estes conceitos, a nova formulação contendo doramectina 3,5% reduziu ($P < 0,05$) a intensidade parasitária da maioria das espécies de nematódeos identificados neste experimento.

Exceto o estudo de Lopes et al., 2012, nenhum outro foi encontrado, na literatura consultada, sobre a eficácia endectocida das formulações contendo doramectina (1% e 3,5%) nos últimos anos. Tal fato impossibilitou uma discussão mais profunda dos resultados obtidos nos quatro experimentos conduzidos.

6 CONCLUSÃO

A nova formulação avaliada contendo doramectina 3,5%, na dose de 700mg/kg, foi eficaz contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e contra nematódeos gastrintestinais. Os resultados de todos os quatro experimentos,

incluindo os parâmetros farmacocinéticos obtidos, possibilitam recomendar a nova formulação como endectocida para bovinos.

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

Aguilar-Tipacamu, G. & Rodriguez-Vivas, R.I. Effect of moxidectin against natural infestation of cattle *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae) in the Mexican tropics. **Veterinary Parasitology**. 11: 211-216, 2003.

Alves-Branco, F.P.S.; Pinheiro, A.C.; Sapper, M.F.M.; Mercier, P.; White, C.R. Eficácia comparativa de quatro endectocidas sobre infestações naturais por *Boophilus microplus* em bovinos. **A Hora Veterinária**, ano 19, nº 111, p.41-44, 1999.

ALBERT, J. et al. A GABA-activated chloride conductance not blocked by picrotoxin on spiny lobster neuromuscular preparations. **British Journal of Pharmacology**, v. 87, p. 771-779, 1986.

ALVA, R.; CRAMER, L.G.; CARVALHO, L.A.; BRIDI, A.A.; COX, J.L.; SOLL, M.D. The efficacy of ivermectin long-acting injection (LAI) against ectoparasites of cattle. In: **IV Seminario Internacional de Parasitologia Animal**, Puerto Vallarta, 4. 1999 México, p. 171-177.

ALVINERIE, M.; SUTRA, J.F.; GALTIER, P.; TOUTAIN, P. L. Microdosed ivermectine chez la vachelaitiere: concentrations plasmatiques et residus dans le lait. **Revue Medicin Veterinaire**, v.169, p. 259-261, 1994.

AMARANTE, A. F. T. ; AMARANTE, M. R. V. . Breeding sheep for resistance to nematode infections. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, Faisalabad, v. 2, n. 3, p. 147-161, 2003.

ANDRADE, S.F.; SANTARÉM, V.A. Endoparasiticida e ectoparasiticida . In: ANDRADE, S.F. **Manual terapêutica Veterinária**, 2ª ed. Roca, SP, p. 469- 470, 2002.

ANZIANI, O.S., SUAREZ, V., GUGLIELMONE, A.A., WARNKE, O., GRANDE, H., COLES, G.C. Resistance to benzidazole and macrocyclic lactone

anthelmintics in cattle nematodes in Argentina. **Veterinary Parasitology**. 122, 303–306, 2004.

ARANTES, G.J.; SILVA, C.R.; COSTA, J.O.; MARRA, D.B. Atividade antihelmíntica da ivermectina a 1% (solução injetável), no tratamento de bezerros naturalmente infectados com nematódeos gastrintestinais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 4, n. 2, p. 113-116, 1995.

ARAÚJO, J.V. et al. Controle biológico de tricostrongilídeos (Nematoda: Trichostrongyloidea) gastrintestinais de bovinos pelo fungo *Monacrosporium sinense* **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.4, p.467-471, 2004.

AYRES, M. C. C.; ALMEIDA, M. A. O. Agentes anti nematódeos. In: SPINOSA, H. S., GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 475 – 489.

BIANCHIN, I. et al. Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil.: **EMBRAPA-CNPGC**, 120p. Circular Técnica, 1996.

BIANCHIN, I.; HONER, M.R. ; NUNEZ, S.G.; NASCIMENTO, Y. A.; CURVO, J.B.E.; COSTA, F.P.. Epidemiologia dos nematódeos gastrintestinais em bovinos de corte nos cerrados e o controle estratégico no Brasil.: EMBRAPA CNPGC, 120p. **Circular Técnica**, 1996.

BORGES, F.A., SILVA, H.C., BUZZULINI, C., SOARES, V.E., SANTOS, E., OLIVEIRA, G.P., COSTA, A.J. Endectocide activity of a new long-action formulation containing 2.25% ivermectin + 1.25% abamectin in cattle. **Veterinary Parasitology**. v. 155, 299 307, 2008.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária**, Portaria n.º 48, 12/05/1997.

BRASIL. Resolução RE n° 899, de 23 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 29 de maio de 2003.

CARVALHO, O. S.; ROCHA, R.S.; MASSARA, C.L.; KATZ, N. Primeiros Casos Autoctones de Esquistossomose Mansonii Na Cidade de Paracatu, Noroeste do Estado de Minas Gerais (Brasil). **Revista de Saúde Pública de São Paulo**, v. 22, p. 237 - 239, 1988.

Caproni.L; Umehara, O.; Moro, E.; Gonçalves, L.C.B. Field efficacy of doramectin and ivermectin against natural infestation of the cattle tick *Boophilus microplus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** n.7, v. 2, p. 151-155, 1998.

CAUSON, R. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis – viewpoint and discussion. **Journal of chromatography B**, v. 689, p. 175 -181, 1997.

CHABALA, J.C.; MROZIK, H.; TOLMAN, R.L.; ESKOLA, P; LUSI, A.; PETERSON, L.H.; WOODS, M.F.; FISHER, M.H. Ivermectin, a new broad-spectrum antiparasitic agent. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 23, p.1134-1136, 1980.

CHIU, S.H.L. Absorption, tissue distribution and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep and rat. **Journal of agriculture food and chemistry**, v. 38, p. 20272 – 2078, 1990.

CHIU, S.H.L.; GREEN M.J.; BAYLIS.F.P.; ELINE.D.; ROSEGAY.A.; MERIWETHER.H.; JACOB.T.A .Absorption, tissue distribution and excretion of tritium-labeled ivermectin in cattle, sheep and rat. **Journal of Agriculture Food and Chemistry**, v. 38, p. 2072-2078, 1990.

COOP, R.L.; HOLMES, P.H. Nutrition and parasite interaction. **International Journal of Parasitology**, v. 26, p. 951-962, 1996.

COSTA, A. J. **Diagnóstico laboratorial em Parasitologia. I. Helmintologia.** FCAV UNESP, Jaboticabal-SP, 89p, 1982.

COSTA, A. J. et al. Avaliação comparativa da ação anti-helmíntica e do efeito no desenvolvimento ponderal de bezerros tratados com diferentes avermectinas de longa ação. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, a. 24, n. 139, p. 31-34, 2004.

Conder, G. A.; Rooney, K. A.; Illyes, D. S.; Keller, Meinert, T. R.; Logan, N. B. Field efficacy of doramectin pour-on against naturally-acquired, gastrointestinal nematodes of cattle in North America. **Veterinary Parasitology**, v. 77, p. 259-265, 1998.

CRUZ, G.M. et al. Desempenho de bezerros da raça Nelore e cruzados desmamados recebendo concentrado em pastagem adubada de *Cynodondactylon* cv. Coastcross. **Revista Brasileira Zootecnia.**, Brasília, v.38, n.1, p.139-148, 2009.

DRUMMOND, R.O.; ERNST, S.E.; TREVINO, J.L.; GLADNEY, W.J.; GRSHAM, O.H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests of insecticides. **J. Econ. Entomol.**, v. 66, p. 130-133, 1973.

EGERTON, J.R. et al. 22,23-Dihydroavermectin B1, a new broad-spectrum antiparasitic agent. **British Veterinary Journal**, v.136, p. 88-97, 1980.

FAO. Module 2. helminths: anthelmintic resistance: diagnosis, management and prevention. **Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants.** FAO:Roma, p. 78-118, 2004.

FAO. **Resistencia a los antiparasitarios: estado actual América Latina.** Roma:FAO, Salud Animal, p. 1-52, 2003.

FARIAS, N. A. R.; GONZALES, J. C.; SAIBRO, J. C. Antibiose e antixenose entre forrageiras em larvas de carrapatos do boi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 21: p. 1313-1320, 1986.

FERNANDES, L.H. et al. Efeito do pastejo rotacionado e alternado com bovinos adultos no controle da verminose em ovelhas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.733-740, 2004.

FRANCIS, S.J. Resistance of zebu and other cattle tick infection and babesiosis with special reference in Australia: An historical review. **British Veterinary Journal**, v. 122, p. 301-307, 1966.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R. O carrapato dos bovinos e a resistência: Temos que comemorar. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, a.27, n. 159, 2007.

GONZALES, J. C. et al. **A vida livre do *Boophilus microplus*** (CAN. 1887). Arq. Faculdade de Veterinária. UFRGS, Porto Alegre, v.3, n.1, p.21-28, 1975.

GONZALES, J. C. et al. Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. **Veterinary Parasitology**. Amsterdã, v.49 p. 107-119, 1993.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. Porto Alegre: edição do autor, 1995. 79p

GONZALES, J. C.; OLIVEIRA, C. B. M.; FRITSCH, R. J. Parasitoses gastrintestinais e pulmonares de suínos no município de Guaíba, RS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS**, Porto Alegre, v.3, n.1, p.13-19, dez.1975.

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

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G.E., PEREIRA, J.B. **Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil.** A HoraVeterinária, ano 21, n.125, p. 8-10. 2002.

HAWKINS, J.A Economic benefits of parasite control in cattle, **Veterinary Parasitology**, v. 46, n. , p. 159-173, 1993.

HOLMES, P.H. Pathophysiology of parasitic infections. **Parasitology**, Cambridge, v. 94, p. 29-51, 1987.

JACKSON, H. Ivermectin as a systemic insecticide. **Parasitology Today**, v. 5, p. 146-155, 1989.

Lanusse, C.; Prichard, R. Relationship between pharmacological properties and clinical efficacy of ruminant anthelmintics. **Veterinary parasitology**, v. 49, p. 123 – 158, 1993.

Leite, R.C.; Muniz, R.A.; Oliveira, P.R. Eficácia da doramectina contra infestações naturais de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) (Acarina:Ixodidae) em bovinos.**Revista Brasileira de Parasitologia. Vet.**, v.4, n. 1, p. 53-56, 1995.

LO, P., FINK, D.; WILLIAMS, J.; BLODINGER, J.P. Pharmacokinetics studies of ivermectin: effect of formulation. **Veterinary Research Communications**, v.9, p.251 268, 1985.

LOGAN, N. B.; WEATHERLEY, A. J.; PHILLIPS, F. E.; WILKINS, C. P.; SHANKS, D. J. Spectrum of activity of doramectin against cattle mites and lice. **Veterinary Parasitology**, v. 49, p. 67-73, 1993.

LONDON. ICH Topic Q-2b – **Validation of analytical procedures: methodology.** European Agency for the Evaluation of Medicinal Products.London, 2006.

LUDMERER, S.W. et al. Ivermectin and nodulisporic acid receptors in *Drosophila melanogaster* contain both γ -amino butyric acid-gated Rdl and glutamate-gated CluCl α chloride channel subunits. **Biochemistry**, v.41, p. 6548-6560, 2002

LYNN, R. C.; **Antiparasitic drugs**. In BOWMAN, D.D. Parasitology for veterinarians, 7.ed, W. B. Saunders, 1999. P.235-274.

MARQUES, F.A.C; YAMAMURA, M.H.; VIDOTTO, O. Lesões no couro bovino causadas pelos principais ectoparasitas nas regiões noroeste do Estado do Paraná e sudoeste do Estado do Mato grosso. **Semina: Ci. Agrárias**, v. 21, n.1, p. 33-39, 2000.

MARTIN, J.R. et al. **Mode of action of the macrocyclic lactones**. In: VERCRUYSSÉ-J; REW-RS (ed.), **Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy**. CAB International, Wallingford, UK, p. 125-140, 2002.

MARTIN, R.; PENNINGTON, A.J. Effect of dihydroavermectin B1a on Cl single channel currents in Ascaris muscle. **Pesticide Science**, v.24, p. 90-91, 1988.

MARTINEZ, M. L. et al. A biologia molecular como aliada no combate aos carrapatos. In: **Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal**, 5., 2004, Pirassununga: Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 2004.

McKELLAR, Q.A.; BENCHAOUI, H. Avermectins and milbemicyns. **Journal Veterinary Pharmacology Therapy**, v.19, p. 331-351, 1996.

MELLIN, T.N. et al. Postsynaptic inhibition of invertebrate neuromuscular transmission by avermectin B1a. **Neuropharmacology**, v. 22, p.89-96, 1983.

MIOLO, J. R.; Endectocidas na clinica veterinária. In: MAGALHÃES, H. M. **Farmacologia veterinária: temas escolhidos II**. Guaíba: Agropecuária, 1999. p. 55 81.

MOLENTO, M. B. Avanços no diagnóstico e controle das helmintoses em caprinos. I **Simpósio Paulista de Caprinocultura (SIMPAC)**. Multipress, Jaboticabal, p.101-110, 2005.

Molento, M. B.; Trudeau, C.; Prichard, R. K.; Zimmerman, G. L.; Johnson, E. G.; Marley, S.; Conder, G. A Persistent efficacy of doramectin pour-on against artificially induced infections of nematodes in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 297–303, 1999.

MOORE, L.F. Dermatologicdisease.Extenal parasites. In: CORVIEW, R.M. **CurrentVeterinaryTherapy ,Food Animal Praticce**, ed. W. B. Saunders, Philadelphia, 4aedição, p. 731, 1999.

Muniz, L.A.; Hernandez, F.; Lombardero, O.; Leite, R.C.; Moreno, J.; Errecalde, J.; Goncalves, L.C. Efficacy of injectable doramectin against natural *Boophilus microplus* infestations in cattle.**American J. Vet. Research**. 4: 460-463, 1995.

Oliveira, G.P.; Mapeli, E.B.; Freitas, A.R.; Cassol, D.M.; Gomes, R. Atividade dos endectocidas abamectina, doramectina, moxidectina e ivermectina no controle do *Boophilus microplus* e *Haematobia irritans* em bovinos, em São Carlos, SP. **Revista de Ciências Agrárias**,n. 46, p. 41-52, 2006

OLIVEIRA, G. P. et al. Diagnóstico da resistência do *Boophilusmicroplus*, (Canestrini, 1888) (Acarina: Ixodidae) em bovinos leiteiros na região de São Carlos, São Paulo. **Revista de Ciências. Agrárias.**, Belém, n. 38, p. 57-56, 2002.

OLIVEIRA, G. P. et al. **Estudo ecológico da fase não parasítica do *Boophilusmicroplus*** (Canestrini, 1987) (Acarina, Ixodidae) no estado do Rio de Janeiro. Arq. Univ. Fed. Rur., Rio de Janeiro, v. 4, n. 1, p.1-10, 1974.

OLIVEIRA, G. P. **Fatores que afetam economicamente a produção de couro de bovinos.**Arq. Biol. Technol., v. 26, n. 3, 1983.

PALMA, C.; GODOY, C.; ARBOIX, M.; PEREZ, R. Determinación de residuos de abamectina bovinos. **Arquivos de Medicina Veterinaria**, v.38, n.3, p.265-271, 2006.

Pereira, J.R. The efficacy of avermectins (abamectin, doramectin and ivermectin) in the control of *Boophilus microplus*, in artificially infested bovine kept in field conditions. **Veterinary Parasitology**, 2009

PINHEIRO, A. C.; ALVES-BRANCO, F.P.J.; SAPPER, M.F.M. Programa básico de orientação para o controle da verminose dos bovinos de corte no Rio Grande do Sul. In: Controle dos principais ectoparasitos e endoparasitos em bovinos de corte no Rio Grande do Sul. Bagé, **Embrapa Pecuária Sul, Documentos**, 18, p. 39, 2000.

PRICHARD, R.K. Anthelmintic resistance. **Veterinary Parasitology**.54, 259-268, 1994.

PRICHARD, R.K.; HALL, C.A.; KELLY, J.D.; MARTIN, I.C.A.; DONALD, A.D. The problem of anthelmintic resistance in nematodes. **Australia Veterinary Journal**, v. 56, p.239-231, 1980.

RANGEL, V.B.; LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R.; SANTOS-Jr, E.J. Resistência de *Cooperia* spp e *Haemonchus* spp às avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.5, n.2, p. 186-190, 2005.

RODRIGUES, C.D. **Avaliação da toxicidade de avermectinas em bovinos com idade inferior a 30 dias**. Dissertação de mestrado – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – SP, 88p., 2007.

ROULSTON, W. J.; WHARTON, R. H.; NOLAN, J.; KEV, J.D.; WILSON, J.T.; THOMPSON, W.J.; SCHOTZ, M. Acaricide tests on the strain of

organophosphorus resistant cattle ticks *Boophilus microplus* from southern Queensland. **Aust. Vet. J.** n° 43, p. 129-134, 1968.

SANTOS, T. R.; LOPES, W. D. Z.; BUZZULINI, C; BERGE. F.; SAKAMOTO.C. A. M.; LIMA. R.C A. PEREIRA. G. P. COSTA. A. J. Helminth fauna of bovines from the Central-Western region, Minas Gerais State, Brazil. **Ciência Rural (online)**. Santa Maria, v.40, n.4, p.934 - 938, 2010.

SAS Institute, 1989-1996. SAS® User's Guide: **Estatistics. SAS.Institute, Inc. Cary.NC, USA.**

SCOTT, R.H.; DUCE, I.J. Pharmacology of GABA receptors on skeletal muscle fibres of the locust (*Schistocerca gregaria*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 86, p.305-311, 1987.

SHOOP, W.L., MROZIK, H., FISHER, M.H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**. 59, 139–156, 1995.

SHOOP, W.L.; MROZIK, H.; FISHER, M.H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**, v. 59, n.2, p. 139-156, 1995.

Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal - SINDAN. **Mercado Veterinário**. São Paulo, 2008.

SING, N.C.; JOHNSTON, L.AY.; LEATCH, G. The economic of cattle tick control in

SOUZA, A. P.; RAMOS, C. I.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; SCHELBAUER C. A. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p. 1363-1367, 2008.

SOUZA, A.P., RAMOS, C.I., BELLATO, V., SARTOR, A.A., SCHELBAUER, C.A. Resistência de helmintos gastrintestinais de bovinos a anti-helmínticos no Planalto Catarinense. **Ciência Rural**.v.38, 1363-1367, 2008

SUTHERST, R. W. et al. The effect of the cattle tick (*Boophilusmicroplus*) on the growth of *Bosindicus* x *Bos Taurus* steers. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 34, p. 317-327, 1983.

TAYLOR.M.A. Recent developments in ectoparasiticides.**The Veterinary Journal**, v.161, p. 253-268, 2001.

TRACY, J.M.; WEBSTER, L.T.Jr. Drugs used in the chemotherapy of helminthiasis.

TRACY, J.M.; WEBSTER, L.T.Jr. **Drugs used in the chemotherapy of helminthiasis**. In: HARMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; GILMAN, G.A.; GOODMAN. The pharmacological basis of therapeutics, ed. International Edition, New York, 10a edição, p. 1131-1133, 2001.

TURNER, M.J.; SCHAEFFER, J.M. Mode of action of ivermectin. In: CAMPBELL, W.C. (ed.) **Ivermectin and abamectin**,SpringerVerlag, New York, p. 73-88, 1989.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual paradiagnóstico das helmintoses de ruminantes**.Japan International Cooperation Agency, 4ed. 143p., 1998.

VERCRUYSSSE, J.; HOLDSWORTH, P.; LETONJA, T.; BARTH, D.; CONDER, G.; HAMAMOTO, K.; OKANO, K. International Harmonisation of Anthelmintic Efficacy Guidelines. **VeterinaryParasitology**, v. 96, p. 171-193, 2001.

VERÍSSIMO, C.J. **Estudo da resistência e susceptibilidade do carrapato bovino (*Boophilusmicroplus*) em rebanho mestiço**. Dissertação (Mestrado

em Zootecnia, Área de Concentração em Produção Animal). Jaboticabal, 163p., 1990

VERÍSSIMO, C.J.; FRANCO, A.V.M. Relação entre infestação pelo carrapato *Boophilus microplus* ocorrência de miíase em bovinos mestiços. **Boletim da Indústria Animal**, v. 51, n.1, p. 3-5, 1994

VIDOTTO, O. Estratégias de combate aos principais parasitas que afetam bovinos. In. **Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil**, 2002, Maringá. UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002. P. 192-212.

Zulalian, J.; Stour, S.J.; Cunha, A.R.; Garces, T.; Miller, P. **Absorption, tissue distribution, metabolism, and excretion of moxidectin in cattle**. Journal of agricultural and food chemistry, v. 42, p. 381 - 387, 1994

WHARTON, R.H. & UTECH, K.B.W. Relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* assessment of tick number in cattle. **Aust. Entomol. Soc.** V.9, p. 171-182, 1970.

WICKS, D.A., G.J. BARKER AND P.S. Tofts, 1993. Correction of intensity nonuniformity in MR images of any orientation. **Magn. Reson. Imaging**, 11: 183-196.

WICKS, S.; KAYE, B.; WEATHERLEY, A.J.; LEWIS, D.; DAVISON, E.; GIBSON, S.P.; SMITH, D.G. Effect of formulation on the pharmacokinetics and efficacy of doramectin. **Veterinary parasitology**, v. 49, p. 17 -26, 1993.

WOOD, I. B.; AMARAL, N. K.; BAIRDEN, K., DUNCAN, J. L.; KASSAI, T.; MALONE JR., J. B.; PANKAVICH, R. K.; REINECKE, R. K.; SLOCOMBE, O.; TAYLOR, S. M.; VERCRUYSSSE, J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.), second edition of guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine, ovine, caprine). **Veterinary Parasitology**, v.58, p181-213, 1995.

