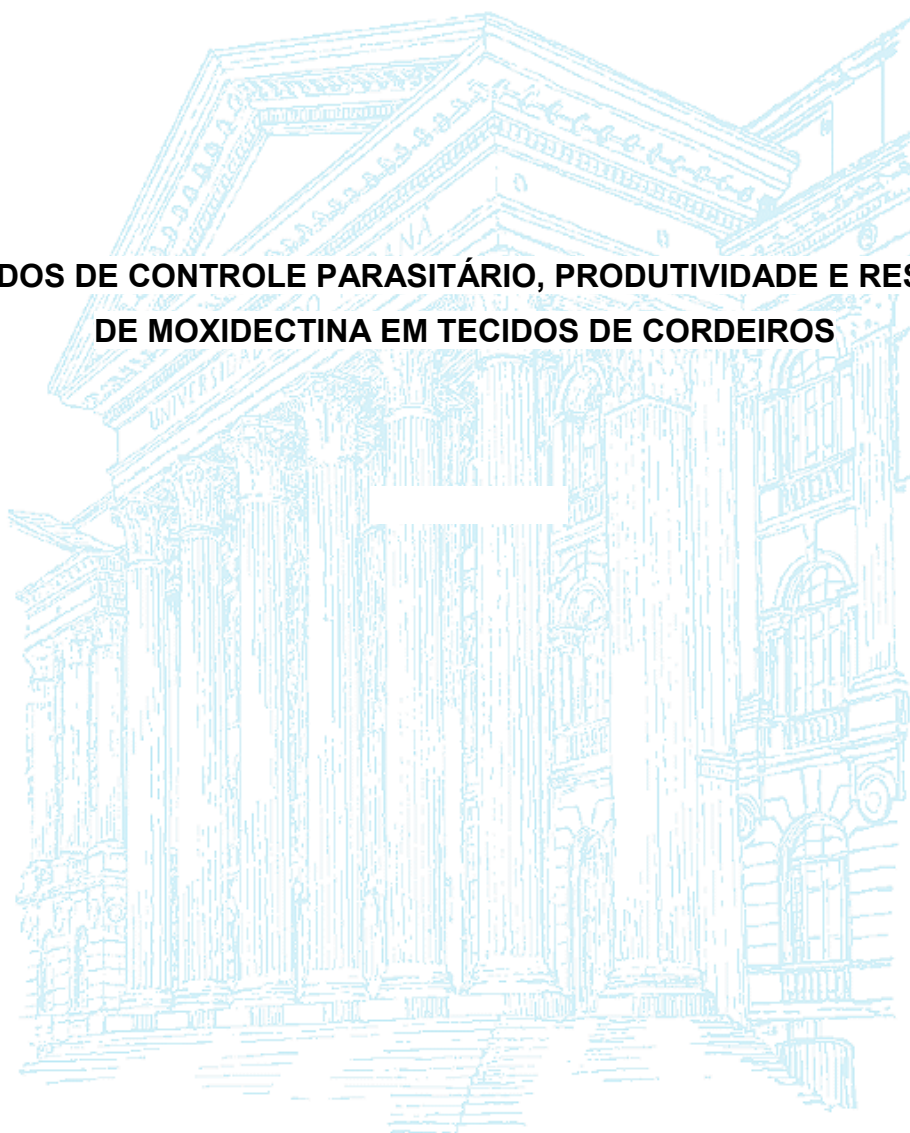


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARIA ANGELA MACHADO FERNANDES

**MÉTODOS DE CONTROLE PARASITÁRIO, PRODUTIVIDADE E RESÍDUOS
DE MOXIDECTINA EM TECIDOS DE CORDEIROS**



CURITIBA

2015

MARIA ANGELA MACHADO FERNANDES

**MÉTODOS DE CONTROLE PARASITÁRIO, PRODUTIVIDADE E RESÍDUOS
DE MOXIDECTINA EM TECIDOS DE CORDEIROS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Produção Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor.

Orientadora: Profa. Dra. Alda Lúcia Gomes Monteiro

Co-orientadores: Prof. Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes e Prof. Dr. Marcelo Beltrão Molento

CURITIBA

2015

F363 Fernandes, Maria Angela Machado.

Métodos de controle parasitário, produtividade e resíduos de moxidectina em tecidos de cordeiro. / Maria Angela Machado Fernandes. – Curitiba : 2015.

121 f. il.

Orientador: Alda Lúcia Gomes Monteiro.

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Paraná.

Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

1. Cordeiro – doenças. 2. Cordeiro - carcaça. 3. Parasitologia veterinária. I. Monteiro, Alda Lúcia Gomes. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU 619.6:636.32/.38

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Tese intitulada **“MÉTODOS DE CONTROLE PARASITÁRIO, PRODUTIVIDADE E RESÍDUOS DE MOXIDECTINA EM TECIDOS DE CORDEIROS”** apresentada pela Doutoranda **MARIA ANGELA MACHADO FERNANDES** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09-CEPE/UFPR, que considerou a candidata Aprovada para receber o Título de Doutor em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 31 de julho de 2015

Professora Doutora Alda Lucia Gomes Monteiro
Presidente

Professora Doutora Raquel Abdallah da Rocha Oliveira
Membro

Professor Doutor Felix Guillermo Reyes Reyes
Membro

Professor Doutor Marcelo Beltrão Molento
Membro

Professor Doutor Odilei Rogerio Prado
Membro

DEDICO

Aos meus pais, Alcione e Nelma, por todo amor, carinho,
incentivo e apoio em todos os momentos.
À minha filha, Maria Eduarda, por seu amor incondicional, mesmo
nos momentos de minha ausência.

OFEREÇO

À toda equipe do Laboratório de Produção e Pesquisa
em Ovinos e Caprinos.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por mais essa oportunidade e por ter me proporcionado momentos tão especiais ao longo dessa caminhada.

Aos meus pais, Alcione e Nelma, que sempre foram meu grande alicerce, por todo incentivo e apoio, principalmente pelo carinho e cuidados com minha filha... Os meus mais profundos agradecimentos por tornarem possível a realização desse sonho!

À minha maior companheira, fonte de minha inspiração para que nunca desistisse frente aos maiores obstáculos, minha amada filha Maria Eduarda. Sei o quanto doídos foram meus momentos de ausência durante essa caminhada... Assim como sei o quando intenso e verdadeiro é o nosso amor!

Às minhas irmãs, Maria Luiza e Maria Alice, meus amados sobrinhos, Vinícius e Vitor, e cunhados, Ricardo e Jacson, pelo incentivo e apoio! Muito obrigada!

Ao meu companheiro de todos os momentos, Emerson Luiz Ribeiro, por seu amor e carinho.

À minha orientadora, Profa. Dra. Alda Lúcia Gomes Monteiro, pela inestimável orientação desde a minha graduação. Seus ensinamentos foram fundamentais e imensuráveis ao longo dos anos de estudo e pesquisa. Meu eterno agradecimento!

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Felix G. R. Reyes pela oportunidade de realização do estudo de resíduo de MOX, por sempre ter me recebido com muito carinho em seu laboratório e suas inestimáveis orientações.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Marcelo Beltrão Molento, por ter me recebido com muito carinho no Laboratório de Doenças Parasitárias, por suas orientações, incentivo e amizade. Meu muito obrigada!!!

Aos queridos e inesquecíveis estagiários do Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC- UFPR): Mylena Peres, Viviane Villalba, Carlos Henrique Kulik, Thailine Scucatto, Lívia Cristina Vale Fidalgo Saraiva, Leonardo Stefano Fernandes Zamoner, Daiane Regonato, Carolina Dallagassa, Roger Barros e Guilherme Martins! Não há dinheiro que pague à amizade e carinho de cada um de vocês. Cada página desse trabalho é

resultado da dedicação e auxílio de cada um de vocês no manejo dos animais, incontáveis ajustes na cerca elétrica, avaliações dos animais e processamento de amostras até altas horas da noite... E o mais importante, apesar do cansaço, o sorriso no rosto sempre prevaleceu! Meus eternos agradecimentos!!!!

À minha querida amiga de doutorado, experimento e de anos de LAPOC, Susana Gilaverte, sua ajuda foi fundamental na execução desse trabalho. Obrigada pelos momentos de alegria e apoio nos momentos de cansaço... Aos colegas de Pós-graduação do LAPOC, Fernando Hentz, Odilei Prado, Claudio da Silva e Sergio Rodrigo Fernandes pela amizade, valiosos auxílios e contribuições durante o doutorado e momentos de descontração.

A toda equipe do Laboratório de Toxicologia de Alimentos da Unicamp, por tornarem viável a realização das análises de resíduos desse trabalho, pelos momentos de alegria e descontração diante de milhares de amostras e análises, pelo carinho e ombro amigo nos momentos em que eu estava longe da minha filha... Todo meu agradecimento! Em especial à Michelle Del Bianchi, Luciana C. C. Branco e Patrícia Braga.

As amizades construídas durante o doutorado, as quais levo para minha vida: Andréia Buzatti, Lew Kan, Amanda Moser, Helena Justus e Severino "Pinto". Vocês foram essenciais para que essa caminhada fosse muito mais alegre e "suave". Muito obrigada por esses anos de convivência, pela verdadeira amizade e companheirismo, pelas horas de descontração e alegria e correções de artigos. Amo vocês!

Aos queridos amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias da UFPR: Ursula Y. Yoshitani, Fernanda S. Fortes, Cristina Mayiumi, Juliana Bana Ishii, Fernando S. Kloster, Douglas Luis Vieira, Luciana L. Dias, Carolina Habrahao, Raphael de Oliveira Mendonça e Daisy Woellner Santos.

Aos queridos amigos gordinhos cubanos, Arnelis Díaz Fernández, Amilcar Arenal Cruz, Anay Delgado e Yanise Chicoy, pela convivência e ensinamentos durante meu doutorado. Amizades verdadeiras as quais levarei para minha vida!

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFPR, em especial ao Ivan Barros, Patrick Schmidt, João

Ricardo Dittrich, Carla Molento, Fabiano Montiani, Simone Gisele de Oliveira, Laila Talarico Dias, Paulo Rossi e Rodrigo de Almeida.

À secretária do PPGCV UFFPR, Maria José Botelho Maeda pela atenção, carinho e auxílio em todos os momentos que precisei.

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias pela oportunidade.

Ao Conselho Nacional de Ensino e Pesquisa (CNPq), pelo auxílio financeiro durante os dois anos de projetos e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Aos funcionários do LAPOC, em especial ao Sérgio e Seu Vítor, pela colaboração no desenvolvimento dos trabalhos de campo.

Às queridas ovelhas do LAPOC, por esses mais de 10 anos de amizade e “parceria”! Meu eterno agradecimento. Sentirei saudades...

A todos os amigos que passaram pelo LAPOC durante todos esses anos e àqueles que de alguma forma contribuíram para realização desse trabalho, meu eterno agradecimento.

*“Não há progresso sem esforço,
Vitória sem luta,
Aperfeiçoamento sem sacrifício,
Assim, como não existe tranquilidade sem paciência.”*
(Chico Xavier)

RESUMO

O uso indiscriminado dos anti-helmínticos, além de favorecer a seleção de populações de parasitas resistentes, está diretamente relacionado com a presença de resíduos dos fármacos na carne e subprodutos dos ruminantes. A tese está composta por quatro estudos. O primeiro estudo teve como objetivo determinar a sensibilidade e a especificidade do método FAMACHA (FMC), usado para detectar a anemia causada por *Haemonchus contortus*, a partir dos dados coletados da avaliação da conjuntiva ocular de 42 cordeiros lactentes e 35 ovelhas em lactação, em intervalos de 14 dias, durante 5 meses. Para tanto, o hematócrito (Ht) foi utilizado como padrão-ouro na avaliação clínica da anemia dos animais. Três valores de corte para Ht (≤ 22 , ≤ 19 ou $\leq 15\%$) foram utilizados para confirmar a anemia. Os resultados obtidos indicam que o FMC pode ser utilizado para identificar os cordeiros lactentes e ovelhas em fase de lactação com sinais clínicos de anemia decorrentes da infecção por *H. contortus*, sendo necessária a inclusão do FMC 3 como positivo para aumentar a sensibilidade do método, reduzindo o risco de morte de animais anêmicos não diagnosticados (falsos negativos). O segundo estudo teve como objetivo determinar o tempo mínimo para que as concentrações de moxidectina (MOX) atingissem níveis inferiores ao limite máximo de resíduo (LMR), no músculo próximo ao local de aplicação (50 $\mu\text{g/kg}$) e gordura (500 $\mu\text{g/kg}$). Foram utilizados 22 cordeiros, machos e fêmeas, abatidos 2; 4; 7; 14; 28 e 42 dias após o tratamento (DPT) com dose única de MOX (0,2 mg/kg de PC). A curva de depleção da MOX obtida para o músculo demonstrou alta concentração do fármaco 2 DPT (1854,2 $\mu\text{g/kg}$), seguida por rápida absorção no local de administração, atingindo concentração abaixo do LMR 5 DPT. A gordura apresentou longo período de persistência do resíduo de MOX em alta concentração, atingindo níveis inferiores ao LMR 17 DPT. No terceiro e quarto estudo avaliou-se a produtividade animal, o estado sanitário e a concentração de resíduos de MOX nos tecidos (músculo e gordura), órgãos (rim e fígado) e soro, no momento do abate, de cordeiros submetidos a três programas para controle de endoparasitas: (T1) tratamento preventivo a cada 28 dias; (T2) tratamento após contagem de ovos por grama de fezes (OPG) igual ou superior a 700 e (T3) tratamento seletivo pelo método FMC. Para ambos os estudos (terceiro e quarto), 42 cordeiros foram mantidos com suas mães em pastagem de verão (Tifton-85) até o abate e avaliados a cada 14 dias para as variáveis: ganho médio diário de peso (GMD), OPG e FMC. Ao final do período experimental obteve-se o número total de aplicações do anti-helmíntico por cordeiro. No momento do abate foram realizadas as avaliações das carcaças (peso e rendimento) e coleta das amostras para determinação de resíduos de MOX. A quantificação de MOX no soro, tecidos e órgãos dos cordeiros foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS). Entre os gêneros de nematódeos observados nas coproculturas, o *Haemonchus* spp. (61,5%) e *Ostertagia* spp. (21,3%) foram os mais prevalentes. A implantação de programas seletivos, OPG e FMC, no controle de endoparasitas para cordeiros terminados em pastagem permitiu a obtenção de desempenho individual e por área semelhantes ($P > 0,05$) aos dos animais submetidos ao tratamento preventivo a cada 28 dias. As características

de peso, rendimento e deposição de gordura também não diferiram ($P>0,05$) entre os animais submetidos aos três programas para controle de endoparasitas. Das 756 amostras analisadas a partir das coletas realizadas no momento do abate dos cordeiros terminados em pastagem, submetidos a três métodos para controle de endoparasitas, apenas uma amostra de gordura proveniente do tratamento seletivo apresentou concentração (586,3 $\mu\text{g/kg}$) acima do LMR. Em nenhuma das amostras de soro avaliadas foi detectado resíduo do fármaco. Houve correlação significativa da concentração de resíduo de MOX na gordura com o peso de gordura omental ($P<0,05$; $r=0,5310$), indicando que animais com maior deposição de gordura podem apresentar maior persistência de resíduo no organismo. Os resultados obtidos indicam que os métodos seletivos, OPG e FMC, podem ser indicados no controle de endoparasitas para cordeiros não desmamados e terminados em pastagem de verão, em substituição ao método preventivo de tratamento a cada 28 dias, sem prejuízos na produtividade animal e características da carcaça, com mínimo risco de ocorrência de violação do LMR quando o tempo de carência é respeitado.

Palavras-chave: Carcaça, contagem de ovos por grama de fezes (OPG), desempenho, FAMACHA, limite máximo de resíduo, resíduo de anti-helmíntico

ABSTRACT

The indiscriminate use of anthelmintics has been promoted the selection of resists parasites populations and is directly related to the presence of drugs residues in meat and ruminants products. This thesis is divided in four studies. The first study aimed to determine the sensitivity and specificity of the FAMACHA method (FMC) to detect clinical anemia caused by *Haemonchus spp.* in lambs and sheep. Ocular conjunctivae of 42 suckling lambs and 35 lactating ewes was evaluated in intervals of 14 days during five months. Hematocrit (Ht) served as the gold standard for anemia evaluation. Three standard values of Ht (≤ 22 , ≤ 19 or $\leq 15\%$) were used to confirm anemia. The results indicate that the FMC is a safe method to be used in lambs and lactating ewes with clinical anemia from *Haemonchus spp.* infection and need treatment. For both categories, it was necessary to include FMC 3 as a positive to increase the sensitivity of the method and to reduce the risk of death of undiagnosed anemic animals (false negatives). The second study aimed to determine the time it took for concentration of moxidectin (MOX) to reach levels below the maximum residue limit (MRL) in the muscle near the site of application (50 $\mu\text{g/kg}$) and fat (500 $\mu\text{g/kg}$). Twenty-two lambs, males and females, used in the study, were slaughtered 2; 4; 7; 14; 28 and 42 days after treatment (DAT) with a single dose of MOX (0.2 mg kg^{-1} /body weight). The depletion curve for MOX obtained for the muscle showed a high drug concentration at 2 DAT (1854.2 $\mu\text{g/kg}$) followed a rapid absorption of the drug at the site of administration, reaching a concentration below MRL of 5 DAT. The fat had a long persistence of MOX with high concentration, reaching levels below the MRL 17 DAT. The third and fourth studies evaluated the animal productivity, health status and the concentration of MOX residues in tissues (muscle and fat), organs (kidney and liver) and serum at slaughtered lambs submitted to three programs for control of nematode parasites: (T1) preventive treatment every 28 days; (T2) treatment after fecal egg count (EPG) equal or higher than 700; and (T3) selective treatment with FMC. For both studies, 42 lambs were kept with the ewes in summer pastures (Tifton-85) until slaughter (30 kg) and evaluated every 14 days for the values of: average daily gain (ADG), EPG and FMC. At the end of the experiment, the number of anthelmintic applications was calculated per lamb. Samples for determination of MOX residue were collected at slaughter, as well as the measurement of weight and carcass. MOX residue was determined using liquid chromatography ultra-high pressure with mass spectrometry (LC-MS/MS). Among the prevalent genera of helminths, *Haemonchus spp.* (61.5%) and *Ostertagia sp.* (21.3%) were the most predominant in the coproculture. The implementation of selective programs, EPG and FMC, to endoparasites control of lambs finished in pasture allowed to obtained similar productive ($P > 0.05$) individual and per area when compared to preventive treatment every 28 days. The carcass traits (weight, yield and fat deposition) also did not differ ($P > 0.05$) among the programs. Of the 756 samples analyzed for MOX residues of slaughtered lambs submitted to three methods of endoparasites control, just one sample of fat from the selective treatment group showed a concentration (586.3 ml kg^{-1}) above the MRL. No sample of serum showed MOX residue levels above the LOQ of the analytical method. A significant correlation was observed with MOX residue and omental fat ($P < 0.05$; $r = 0.5310$), suggesting

that animals with more fat deposition may have increased residue persistence in their body. The results indicate that selective methods, EPG and FMC, may be used to control endoparasites in suckling lambs in summer pastures, replacing the preventive method of treatment every 28 days without losses in animal productivity and carcass characteristics, with low risk of violation of the maximum residue limit when the lack of time is regarded.

Keywords: Carcass, FAMACHA, fecal egg count (EPG), maximum residue limit, performance

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1	BOX PLOT DEMONSTRANDO A RELAÇÃO ENTRE O HEMATÓCRITO E CADA CATEGORIA DO MÉTODO FAMACHA EM CORDEIROS LACTENTES (A) E OVELHAS EM LACTAÇÃO (B). BORDAS INFERIORES E SUPERIORES DA CAIXA REPRESENTAM 25 E 75 PERCENTIL, RESPECTIVAMENTE. AS CORRELAÇÕES DE PEARSON DE CADA CATEGORIA, CORDEIRO E OVELHA, SÃO EXIBIDAS EM SUA RESPECTIVA FIGURA (A) E (B)	53
FIGURA 4.1	PLUVIOSIDADE (mm) E TEMPERATURA MÉDIA (°C) DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL, COLOMBO, PR, BRASIL	63
FIGURA 4.2	ALTURA MÉDIA DA PASTAGEM DE TIFTON-85 (<i>Cynodon spp.</i>) DOS PIQUETES DE CORDEIROS TERMINADOS SEM DESMAME E SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS	68
FIGURA 4.3	CONTAGEM DE OVOS POR GRAMA DE FEZES (OPG) DE CORDEIROS TERMINADOS EM PASTAGEM DE VERÃO SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS	69

FIGURA 4.4	PERCENTUAL DE CORDEIROS QUE RECEBERAM DE ZERO A SEIS APLICAÇÕES DE ANTIHELMÍNTICO DE ACORDO COM O MÉTODO DE CONTROLE DE ENDOPARASITAS: TRATAMENTO PREVENTIVO A CADA 28 DIAS; OPG $\geq$ 700 E MÉTODO FAMACHA	73
FIGURA 5.1	FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NA PRIMEIRA FASE DO ESTUDO	93
FIGURA 5.2	FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES REALIZADAS NA SEGUNDA FASE DO ESTUDO	93
FIGURA 5.3	CONCENTRAÇÃO MÉDIA E DESVIO-PADRÃO DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO DE CORDEIROS, PRÓXIMO AO LOCAL DE APLICAÇÃO, APÓS ÚNICA ADMINISTRAÇÃO SUBCUTÂNEA (0,2 mg/kg de PC). NA INSERÇÃO É APRESENTADA A CONCENTRAÇÃO DA MOXIDECTINA NO INTREVALO ENTRE 7 E 42 DIAS APÓS O TRATAMENTO	103
FIGURA 5.4	CONCENTRAÇÃO DE MOX NA GORDURA DE CORDEIROS, APÓS ÚNICA ADMINISTRAÇÃO SUBCUTÂNEA (0,2 mg/ kg de PC)	104

LISTA DE TABELAS

TABELA 3.1	PERCENTUAL (%) DOS GÊNEROS DE NEMATÓDEOS OBSERVADOS NAS COPROCULTURAS DE CORDEIROS LACTANTES E OVELHAS DURANTE A FASE DE LACTAÇÃO, PINHAIS, PR, BRASIL	48
TABELA 3.2	NÚMERO E PERCENTUAL DE VERDADEIRO POSITIVO, VERDADEIRO NEGATIVO, FALSO POSITIVO, FALSO NEGATIVO E CORRETO TRATAMENTO UTILIZANDO O MÉTODO FAMACHA, DE ACORDO COM OS DIFERENTES CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO (GRAU DE FAMACHA E HEMATÓCRITO), PARA CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO	49
TABELA 3.3	VALOR PREDITIVO POSITIVO (VPP) E NEGATIVO (VPN), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO MÉTODO FAMACHA PARA CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO, DE ACORDO COM OS DIFERENTES CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO (GRAU DE FAMACHA E HEMATÓCRITO)	51
TABELA 3.4	MÉDIAS E DESVIOS-PADRÃO PARA HEMATÓCRITO (HT) DE CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO DE ACORDO COM O ESCORE E HEMATÓCRITO DE REFERÊNCIA DO MÉTODO FAMACHA	52

TABELA 4.1	TESTE DE REDUÇÃO DE OVOS POR GRAMA DE FEZES REALIZADO NO REBANHO OVINO DA UFPR PARA PRINCÍPIOS ATIVOS DISPONÍVEIS NO BRASIL EM OUTUBRO DE 2011	65
TABELA 4.2	PERCENTUAL (%) DOS GÊNEROS DE NEMATÓDEOS OBSERVADOS NAS COPROCULTURAS DE CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS DURANTE A FASE DE LACTAÇÃO, PINHAIS, PR, BRASIL	68
TABELA 4.3	MÉDIAS E ERRO-PADRÃO PARA ALTURA, MASSA DE FORRAGEM (MF), LÂMINAS FOLIARES (LF), COLMO E BAINHA (CB), MATERIAL MORTO (MM) E RELAÇÃO FOLHA:COLMO (F:C) DA PASTAGEM DE TIFTON-85 DE ACORDO COM O PROGRAMA PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS EM CORDEIROS	70
TABELA 4.4	LEVANTAMENTO DE CUSTOS COM APLICAÇÕES DE ANTI-HELMÍNTICAS POR PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS CONSIDERANDO UM MODELO DE PRODUÇÃO COM 600 CORDEIROS.	73
TABELA 4.5	MÉDIAS E ERRO PADRÃO ($M \pm EP$) PARA DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARCAÇA DE CORDEIROS TERMINADOS EM PASTAGEM DE TIFTON-85, SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS DE CONTROLE DE ENDOPARASITAS	76

TABELA 4.6	MÉDIAS E ERRO-PADRÃO PARA CARGA ANIMAL (CA), LOTAÇÃO, VARIAÇÃO DO PESO CORPORAL INDIVIDUAL (VPC) E VARIAÇÃO DO PESO POR ÁREA DE PASTAGEM (VPA) DE CORDEIROS E OVELHAS SUBMETIDOS TRÊS PROGRAMAS DE CONTROLE DE ENDOPARASITAS	79
TABELA 5.1	NÚMERO DE REPETIÇÕES POR TRATAMENTOS (TEMPO ENTRE O TRATAMENTO COM MOXIDECTINA E O ABATE PARA COLETA DAS MATRIZES)	95
TABELA 5.2	LIMITES MÁXIMOS DE RESÍDUOS (LMR) DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO, GORDURA, FÍGADO E RIM DE OVINOS	102
TABELA 5.3	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g/kg}$) DA MOXIDECTINA NO MÚSCULO (PRÓXIMO AO LOCAL DE APLICAÇÃO) E NA GORDURA DE CORDEIROS ABATIDOS COM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO APÓS ÚNICA APLICAÇÃO SUBCUTÂNEA (0,2 mg/ kg)	105
TABELA 5.4	ANÁLISE PARA DETECÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA, CLASSIFICADOS EM INTERVALOS DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES, NO MÚSCULO PRÓXIMO (PERNIL) E LONGE (LOMBO) AO LOCAL DE APLICAÇÃO DE CORDEIROS SUBMETIDOS À DOIS PROGRAMAS SELETIVOS (OPG E FAMACHA) E UM PREVENTIVO (TRATAMENTO A CADA 28 DIAS) PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS	107

TABELA 5.5	ANÁLISE PARA DETECÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA, CLASSIFICADOS EM INTERVALOS DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES, NO FÍGADO E RIM DE CORDEIROS SUBMETIDOS À DOIS PROGRAMAS SELETIVOS (OPG E FAMACHA) E UM PREVENTIVO (TRATAMENTO A CADA 28 DIAS) PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS ...	109
TABELA 5.6	ANÁLISE PARA DETECÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA, CLASSIFICADOS EM INTERVALOS DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES, NA GORDURA DE CORDEIROS SUBMETIDOS À DOIS PROGRAMAS SELETIVOS (OPG E FAMACHA) E UM PREVENTIVO (TRATAMENTO A CADA 28 DIAS) PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS ...	110
TABELA 5.7	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO SIMPLES DE PEARSON ENTRE NÚMERO DE DOSES, TEMPO DE CARÊNCIA, ESPESSURA DE GORDURA DE COBERTURA DO CORTE LOMBO, PESO DA GORDURA OMENTAL E AS CONCENTRAÇÕES DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO PRÓXIMO (PERNIL) E LONGE AO LOCAL DE APLICAÇÃO (LOMBO), RIM, FÍGADO E GORDURA DE CORDEIROS	111

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Cfb	- clima temperado úmido com verão temperado
DP	- desvio padrão
EC	- Comunidade Europeia
EMA	- Emamectina
EPM	- erro padrão da média
FDA	- Food and Drug Administration
FMC	- método FAMACHA
g	- grama
GABA	- ácido gama amino-butírico
h	- hora ou hour
Ha	- hectare
HDL	- lipoproteínas de alta densidade
HPLC	- High Performance Liquide Chromatography
IV	- ivermectina
kg	- quilograma
LAPOC	- Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos
LF	- lâmina foliar
LF:CB	- relação folha:colmo + bainha
LM	- lactonas macrocíclicas
LMR	- Limite Máximo de Resíduos
LOD	- Limite de detecção
LOQ	- Limite de quantificação
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MF	- massa de forragem
$\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	- micrograma por quilograma
$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	- miligrama por quilograma
mL	- mililitro
MLF	- massa de lâmina foliar
mm	- milímetro

MM	- material morto/senescente
MOX	- moxidectina
MXD	- Moxidectin
NRC	- <i>Nutrition Ruminant Council</i>
°C	- Grau Celsius
OPG	- ovos por grama de fezes
PB	- proteína bruta
PC	- peso corporal
PCF	- peso de carcaça fria
PCQ	- peso de carcaça quente
PNCRC	- Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal
PR	- Paraná
QuEChERS	- Rápido, Fácil, Econômico, Efetivo, Robusto e Seguro (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)
R	- correlação de Pearson
R ²	- coeficiente de determinação
RCF	- rendimento de carcaça fria
RCQ	- rendimento de carcaça quente
SIMEPAR	- Sistema Meteorológico do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 OBJETIVO GERAL	24
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
REFERÊNCIAS	26
2 REVISÃO DE LITERATURA	29
2.1 LACTONAS MACROCICLICAS	29
2.2 MOXIDECTINA	30
2.2.1 Mecanismo de ação da MOX	30
2.2.2 Farmacologia da MOX nos tecidos de ovinos	32
2.3. MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE MOX NOS TECIDOS DE OVINOS NO MOMENTO DO ABATE	35
REFERÊNCIAS	37
3 MÉTODO FAMACHA PARA DETECTAR ANEMIA CLÍNICA CAUSADA POR <i>Haemonchus spp.</i> EM CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44
3.1 INTRODUÇÃO	44
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	45
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.4 CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54

4	PRODUTIVIDADE ANIMAL E CONDIÇÃO SANITÁRIA DE CORDEIROS TERMINADOS EM PASTAGEM DE VERÃO SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS DE CONTROLE DE PARASITAS GASTRINTESTINAIS	59
	RESUMO	59
	ABSTRACT	60
	4.1 INTRODUÇÃO	61
	4.2 MATERIAL E MÉTODOS	62
	4.2.1 Manejo da Pastagem	64
	4.2.2 Programas para Controle de Endoparasitas	65
	4.2.3 Avaliações da Produtividade Animal	66
	4.2.4 Análise estatística	67
	4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
	4.3.1 Coprocultura	67
	4.3.2 Características da Pastagem	68
	4.3.3 Condição Sanitária dos Animais	70
	4.3.4 Produtividade Animal	75
	4.4 CONCLUSÃO	80
	REFERÊNCIAS	81
5	AVALIAÇÃO DE RESÍDUOS DE MOXIDECTINA NOS TECIDOS DE CORDEIROS SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS	89
	RESUMO	89
	ABSTRACT	90
	5.1 INTRODUÇÃO	91
	5.2 MATERIAL E MÉTODOS	92
	5.2.1 Primeira Fase: Taxa de depleção da MOX 1% injetável nos tecidos	

de cordeiros	94
5.2.2 Segunda Fase: Resíduos de MOX 1% Injetável nos Tecidos de Cordeiros Submetidos a Três Métodos de Controle de Parasitas Gastrintestinais	96
5.2.2.1 Manejo dos programas para controle de endoparasitas	97
5.2.2.2 Abates e coleta das amostras	98
5.2.3 Análise laboratorial: Quantificação de Resíduo de MOX na Primeira e Segunda Fase	99
5.2.4 Análise dos Resultados	101
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	102
5.3.1 Depleção da MOX no músculo e gordura de cordeiros após uma aplicação	102
5.3.2 Resíduos de MOX nos Tecidos de Cordeiros Submetidos à Três Programas Para Controle de Endoparasitas	106
5.4 CONCLUSÃO	112
REFERÊNCIAS	113
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	119
ANEXO.....	121

1 INTRODUÇÃO

As pastagens constituem a base natural da alimentação de herbívoros, sendo a forma mais barata de produção de forragem para animais mantidos a campo. O Brasil destaca-se mundialmente pela extensão territorial e vasta área de pastagens, apresentando grande potencial produtivo para a pecuária de corte. Os avanços na produção animal a pasto no país vêm sendo acompanhados pelos progressos nos estudos sobre crescimento e utilização de forragens (POLI *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2009; DA SILVA *et al.*, 2012; SILVA *et al.*, 2012).

A produtividade animal e as características da carcaça de cordeiros terminados em sistemas à pasto estão diretamente relacionados com a ingestão de matéria seca, a qualidade da forragem, o potencial genético e a condição sanitária do animal. Em geral, os sistemas de produção de ovinos em pastagens têm apresentado valores muito heterogênicos, desde variações de peso corporal negativas (CARNEVALLI *et al.*, 2001) até ganhos individuais superiores a 200 g/dia (POLI *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2009).

As endoparasitoses gastrintestinais têm sido relatadas como o principal problema sanitário atual na produção de pequenos ruminantes, sendo diretamente relacionadas à redução do desempenho dos animais e da rentabilidade do sistema produtivo (BARROS, *et al.*, 2009; STIVARI, *et al.*, 2013). A redução no desempenho está relacionada com a ação espoliativa dos parasitas, com destaque para o *Haemonchus contortus*, que apresenta alta prevalência e alta patogenicidade devido ao seu comportamento hematófago. O impacto na rentabilidade do sistema está relacionado com os gastos constantes com anti-helmínticos e vitaminas; exames para diagnóstico; redução na qualidade e produção de carne, leite e lã; morte de animais suscetíveis, entre outros.

As últimas décadas foram marcadas pelo uso intensivo dos anti-helmínticos, com alta frequência, em curtos intervalos entre as administrações, em todos os animais do rebanho. Esses esquemas de tratamento supressivos, a cada 15 ou 30 dias, dão aos produtores a falsa impressão dos efeitos benéficos a curto prazo (MOLENTO *et al.*, 2004). No entanto, quanto maior a

frequência e menor o período de intervalo entre os tratamentos, maior será a exposição e pressão de seleção de parasitas resistentes e consequentemente, redução da população refugia. A seleção de parasitas resistentes à maioria dos princípios ativos existentes é resultado direto desse método de controle de endoparasitas (PAPADOPOULOS, 2008; TORRES-ACOSTA *et al.*, 2012).

Considerando que apenas 5% da população dos endoparasitos localizam-se dentro de seus hospedeiros e que mais de 95% encontram-se no meio ambiente sob a forma de ovos e/ou estágios larvais (BOWMAN *et al.*, 2003), o controle das parasitoses gastrintestinais pode apresentar-se como um grande desafio na produção de ovinos a pasto quando o anti-helmíntico é considerado a única forma de controle.

Existem três principais classes de anti-helmínticos, com amplo espectro de ação, utilizados no controle de parasitas de ruminantes: os benzimidazois, os imidazotiazóis e as lactonas macrocíclicas (LM). A moxidectina (MOX) é uma LM da classe das milbemicinas, produzida a partir da modificação química da nemadectina, substância isolada do fungo *Streptomyces cyaneogriseus noncyanogenus* (REINEMEYER e COURTNEY, 2001). A primeira formulação farmacêutica da MOX foi lançada no mercado em 1990 (McKELLAR *et al.*, 1996), sendo sua utilização amplamente difundida para o controle tanto de endo quanto de ectoparasitas, devido à sua ação endectocida. Entre as vantagens do uso da MOX destaca-se sua alta persistência no organismo a partir da administração de baixa dose (BAPTISTA, 2013) e ampla distribuição pelo organismo, o que teoricamente prolonga o tempo de proteção contra novas infecções. No entanto, a administração de fármacos como as LM com longa persistência apresenta, após o pico de absorção, uma longa “cauda” com concentração residual mínima, que não permite o estabelecimento e a reprodução de indivíduos susceptíveis, mas favorece a seleção parasitária e prejudica a população refugia (MOLENTO *et al.*, 2004).

Em adição ao processo de seleção de parasitas resistentes, a presença de resíduos de fármacos nos tecidos e vísceras dos animais, no momento do abate, é motivo de preocupação em relação à saúde do consumidor. Incidentes recentes envolvendo níveis inaceitáveis, acima do limite máximo de resíduo (LMR), de LM na carne bovina, apresentaram grande repercussão sobre a saúde animal e humana, além de impacto negativo na

atividade econômica devido às barreiras impostas nas exportações. Em 2010, foram 23 registrados 23 de produtos cárneos exportados pelo Brasil para Estados Unidos com níveis não conformes (acima do LMR de 10µg/kg), que colocaram as exportações brasileiras sob atenção negativa da mídia internacional. Devido à novos casos de resíduo acima do LMR para ivermectina em produtos cárneos, em 30/05/2014, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou no Diário Oficial da União, por meio da Instrução Normativa nº 13, a proibição da produção, manipulação, fracionamento, comercialização e utilização dos anti-helmínticos com o princípio ativo à base de avermectinas com longa ação (LA), que apresentam atividade parasitária superior a 42 dias. Em 27 de março de 2015, o MAPA publicou a Instrução Normativa 06, que refogou a Instrução Normativa 13, liberando a produção, comercialização e uso das avermectinas LA.

Assim, é evidente a necessidade de pesquisas que produzam informações sobre o controle dos helmintos gastrintestinais em pequenos ruminantes com base no uso racional dos antiparasitários e o impacto da adoção desses métodos sobre a produtividade animal, características da carcaça e inocuidade dos produtos cárneos. Estes são pontos fundamentais para expansão desse segmento do agronegócio e conquista de novos mercados internos e internacionais. Dentro deste contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o desempenho produtivo, a condição sanitária e a presença de resíduos de anti-helmíntico (MOX) nos tecidos e órgãos de cordeiros terminados em pastagem de verão sem desmame e submetidos a dois programas seletivos, FAMACHA e OPG, e um método preventivo com tratamento a cada 28 dias, para controle de parasitas gastrintestinais.

A tese foi dividida em seis capítulos:

O capítulo 2 inclui uma **Revisão da Literatura** sobre a moxidectina.

O capítulo 3, intitulado **Método FAMACHA Para Detectar Anemia Clínica Causada por *Haemonchus contortus* em Cordeiros Lactentes e Ovelhas em Lactação**, aceito para publicação na revista Pesquisa Veterinária Brasileira em maio de 2015, teve como objetivo avaliar a sensibilidade e a especificidade do método FAMACHA (FMC) para detectar anemia decorrente da infecção por *H. contortus* em ovinos em duas fases do ciclo produtivo, em

que são altamente suscetíveis às endoparasitoses, cordeiros lactentes e ovelhas em fase de lactação.

O capítulo 4, intitulado **Produtividade Animal e Condição Sanitária de Cordeiros Terminados em Pastagem de Verão Submetidos a Três Programas de Controle de Parasitas Gastrintestinais**, teve como objetivo avaliar a produtividade animal e a condição sanitária em sistema de terminação de cordeiros não desmamados e produzidos em pastagem de verão, submetidos a dois programas seletivos (OPG e FAMACHA) e um preventivo (tratamento a cada 28 dias).

O capítulo 5, intitulado **Avaliação da Presença de Resíduos de Moxidectina nos Tecidos de Cordeiros Submetidos à Três Programas para Controle de Parasitas Gastrintestinais**, teve como objetivos determinar o tempo mínimo para que a concentração de MOX no músculo e gordura de cordeiros alcance níveis abaixo do limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela legislação; e avaliar a presença de resíduos de MOX no momento do abate de cordeiros terminados em pastagem submetidos a três programas para controle de nematódeos gastrintestinais.

Finalizando o trabalho, no Capítulo 6 são apresentadas as **Considerações Finais** pertinentes ao conjunto de resultados do presente estudo.

1.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o desempenho animal e quantificar os resíduos de MOX nos tecidos de cordeiros terminados em pastagem de verão sem desmame e submetidos a três programas para controle de endoparasitas.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a sensibilidade e especificidade do método FAMACHA no tratamento seletivo de *Haemonchus* spp. de cordeiros lactentes e ovelhas durante a lactação;

- Avaliar a implantação de programas seletivos, FMC e OPG, em substituição ao tratamento tradicional preventivo a cada 28 dias, no controle dos parasitas gastrintestinais e seu impacto na produtividade e condição sanitária de cordeiros;
- Avaliar o número de tratamentos durante a terminação de cordeiros em pastagem de verão submetidos a métodos seletivos com anti-helmíntico, OPG e FMC, ou preventivo a cada 28 dias;
- Comparar os resíduos de MOX quantificados nos tecidos e vísceras dos cordeiros submetidos à três programas para controle de nematódeos gastrintestinais, com o LMR estabelecido segundo a legislação vigente.

REFERÊNCIAS

BAPTISTA, R. C. Moxidectina no Soro de Cordeiros: Perfil Farmacocinético e Avaliação de seus Resíduos em Diferentes Métodos de Controle Parasitário. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2013.

BARROS, C.S.; MONTEIROS, A.L.G.; POLI, C.E.C.; DITTRICH, J.R.; CANZIANI, J.R.F.; FERNANDES, M.A.M. Rentabilidade da produção de ovinos de corte em pastagem e em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2270-2279, 2009.

BOWMAN, D. D.; GEORGI, J. R.; LYNN, R. C. Georgi's Parasitology for Veterinarians. 8 ed. **Saunders Publishing Company**, St. Louis, Missouri, 2003. 422p.

CARNEVALLI, R.A.; SILVA, S.C.; FAGUNDES, J.L.; SBRISSIA, A.F.; CARVALHO, C.A.B.; PINTO, L.F.M.; PEDREIRA, C.G.S. Desempenho de ovinos e respostas de pastagens de Tifton 85 (*Cynodon spp.*) sob lotação contínua. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.58, n.1, p.7-15, 2001.

CHAGAS, A.C. de S. Resíduos de anti-helmínticos no leite de caprinos. In: CAVALCANTE, A.C.R.; VIEIRA, L. da S. Doenças parasitárias de caprinos e ovinos: epidemiologia e controle. Brasília, DF: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2009, 603p.

DA SILVA, C. J. A., MONTEIRO, A. L. G., FERNANDES, S. R., POLI, C. H. E., PRADO, O. R., & DE SOUZA, D. F. Efeito do *creep feeding* e *creep grazing* nas características da pastagem de Tifton e Azevém e no desempenho de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v.13, n.2, 165-174, 2012.

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

MCKELLAR, Q. A.; BENCHAOUI, H.A. Avermectins and Milbemycins. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 19, p. 331-351, 1996.

MOLENTO, M.B; VAN WYK, J.A.; COLES, G.C. Sustainable worm management. **Veterinary Record**, v.171, p.95-96, 2004.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S.; FTHENAKIS, C.G. Evaluation of the FAMACHA© system for targeted selective anthelmintic treatments for potential use in small ruminants in Greece. **Small Ruminant Research**, v. 110, n. 2-3, p. 124-127, 2013.

POLI, C.H.E.C.; MONTEIRO, A.L.G.; BARROS, C.S.; MORAES, A.; FERNANDES, M.A.M.; PIAZZETTA, H.V.L. Produção de ovinos de corte em quarto sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 666-673, 2008.

REINEMEYER, C.; COURTNEY, C.H. **Antinematodal drugs**. In: H. R. Adams (Ed.). *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. Iowa State University Press. Iowa, USA, p. 947-979, 2001.

RIBEIRO, T.M.D.; MONTEIRO, A.L.G.; POLI, C.H.E.C.; MORAES, A.; SILVA, A.L.P.; BARROS, C.S. Características da pastagem de azevém e a produtividade de cordeiros em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 580-587, 2009.

SILVA, M. G.; MONTEIRO, A. L.; FERNANDES, S. R.; SILVA, C. J.; CRUZ, T. A.; SALGADO, J. A.; COSTA, C. Desmame precoce e a suplementação com alimentos concentrados de cordeiros e seu efeito sobre as características morfológicas da pastagem e o consumo de forragem. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 111, p. 57-62, 2012.

STIVARI, T.S.S.; MONTEIRO, A.L.G.; GAMEIRO, A.H.; CHEN, R.F.F.; SILVA, C.J.A.; PAULA, E.F.E.; PRADO, O. R. Financial-economic feasibility of not-

weaned grazing lambs supplemented in privative trough or with pasture. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 14, p. 396-405, 2013.

TORRES-ACOSTA, J.F.J.; MENDOZA-DEGIVES, P.; AGUILLAR-CABALLERO, A.J.; CUELLAR-ORDAZ, J.A. Anthelmintic resistance in sheep farms: Update of the situation in the American continent. **Veterinary Parasitology**, v. 189, n. 1, p. 89-96, 2012.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LACTONAS MACROCICLICAS

O controle dos endoparasitas tem sido realizado com base no uso de quimioterápicos. Existem três principais classes de anti-helmínticos utilizados no tratamento para controle e prevenção dos endoparasitas em ovinos: os benzimidazóis, os imidazotiazóis e as lactonas macrocíclicas (LM).

As LM correspondem às drogas mais ampla e rotineiramente utilizadas no mundo para a prevenção e controle de um amplo espectro de doenças parasitárias, tais como nematódeos gastrintestinais, artrópodes, ácaros, piolhos, carrapatos, entre outros. A razão de sua preferência é decorrente de serem endectocidas (ação contra endo e ectoparasitas) extremamente eficazes em baixas concentrações (DURDEN, 2006).

As LMs são compostos orgânicos derivados da fermentação de fungos actinomicetos do gênero *Streptomyces*, presentes no solo (SPINOSA, 1995). Apresentam uma estrutura molecular comum de 16 elementos, incluindo o grupamento éster, conferindo a classificação de LM. Também possuem um anel espiroacetal (C17 a C25) e, principalmente, um anel benzofurânico (C2 a C8) como subestruturas, da qual derivam seu mecanismo de ação e propriedades farmacológicas similares entre os componentes do grupo (LIFSCHITZ *et al.*, 2002).

As LM estão estruturalmente divididas em dois subgrupos: as avermectinas e as milbemicinas. Ao subgrupo das avermectinas pertencem a ivermectina (IV), a abamectina, a doramectina, a eprinomectina, a emamectina e a selamectina. Já o subgrupo das milbemicinas (também chamadas de nemodectinas) incluem a milbemicina oxima, milbemicina B41 D, a moxidectina (MOX) e a nemadectina (DURDEN, 2006; SUMANO E OCAMPO, 2006).

As avermectinas são isoladas a partir de culturas de *S. avermitilis*, enquanto as milbemicinas são isoladas a partir de *S. cyanogrise* ou *S. hygroscopicus*. Os subgrupos diferem entre si quanto à presença de um dissacarídeo na posição C13, existente somente no grupo das avermectinas,

permitindo diferenciá-las e determinar variações no comportamento farmacocinético, na potência e persistência dos efeitos antiparasitários. As LMs são moléculas de tamanho grande, com massa molecular de 600 kDa para as milbemicinas e 800 kDa para as avermectinas (SHOOP *et al.*, 1996).

2.2 MOXIDECTINA

A MOX, também conhecida como milbemicina B ou O-(metoximino), teve sua primeira forma farmacêutica lançada no mercado no início dos anos 90, no Japão, como um potente agente antiparasitário para o controle e tratamento de parasitas internos e externos em animais, com indicação para animais cuja carne seja destinada para o consumo humano.

A MOX é um composto obtido a partir da modificação química da nemadectina, uma milbemicina obtida pela fermentação em cultura do fungo *Streptomyces cyaneogriseus noncyanogenus* (SUMANO E OCAMPO, 2006). Esse composto apresenta alta massa molecular e elevado coeficiente de partição ($K_{o/w}$), caracterizando-a como uma substância altamente lipofílica e hidrofóbica. O composto é praticamente insolúvel em água e solúvel em compostos orgânicos (FDA, 1997; FDA, 1998).

2.2.1 Mecanismo de ação da MOX

Entre as principais características que favoreceram a ampla utilização da MOX destaca-se por sua atividade endectocida. Essa característica é atribuída a esse fármaco e as demais LM devido à afinidade pelos canais de cloro mediados pelos neurotransmissores: o ácido gama amino-butírico (GABA) presente no sistema nervoso central de invertebrados e vertebrados, e o glutamato, presente nas membranas neurais e musculares de muitos invertebrados (MADDISON *et al.*, 2010).

Na presença das LMs, ocorre a ativação direta dos canais de cloro, acarretando um aumento da permeabilidade de íons cloreto. Mesmo em baixas concentrações, as LM potenciam os efeitos dos neurotransmissores glutamato e GABA, aumentando o fluxo dos íons de cloro. Em altas concentrações, as LM abrem os canais de cloro ligados aos receptores do GABA e do glutamato (KÖHLER, 2001). Devido à concentração de cloro ser maior fora da célula e consequente abertura de regiões da membrana que permitem a passagem dos íons de cloro, o fluxo de íons cloreto negativamente carregados para o lado intramembranoso tenderá a hiperpolarizar a membrana. Esta hiperpolarização resulta na diminuição do potencial de repouso normal das células pós-sinápticas, tornando mais difícil a neurotransmissão dos estímulos e assim, as células não se contraem. O bloqueio do GABA repercute na sinapse entre os nervos ventral e motores, produzindo incoordenação e expulsão dos parasitas do hospedeiro (PÉREZ, 2004). Outra ação da MOX é ativar os canais de cloro ativados pelo glutamato, induzindo a paralisia da musculatura faringiana, provocando a morte do parasita por inanição (ARDELLI et al., 2009).

Ressalta-se que a ausência de sítios ativos em cestódeos e trematódeos tornam esses parasitas insensíveis à ação das LM (MADDISON *et al.*, 2010). A baixa toxicidade para o hospedeiro após a administração da MOX se deve ao fato de que nos mamíferos, embora o GABA seja utilizado como neurotransmissor encontram-se exclusivamente no sistema nervoso central (SNC) e, devido a sua alta massa molecular, o fármaco não consegue atravessar a barreira hematoencefálica e, portanto, não atua no sistema nervoso central dos mamíferos (BENNETT, 1986; MADDISON *et al.*, 2010). Devido a essas características das LMs, há segurança na sua administração nos mamíferos para controle de endo e ectoparasitas.

O mecanismo pelo qual as LMs são absorvidas pelos nematódeos parasitas não está totalmente esclarecido (CARRASCO *et al.*, 2000). A lipofilicidade favorece a absorção transcuticular. Entretanto, a alta massa molecular pode estar relacionada a absorção mais lenta. Em parasitas hematófagos, como o *H. contortus*, e ectoparasitas artrópodes, provavelmente, a via oral contribui substancialmente para a absorção destes fármacos (McKELLAR e BENCHAOUI, 1996).

2.2.2 Farmacologia da Moxidectina nos tecidos de ovinos

A persistência de resíduos das LMs em tecidos animais depende do fármaco, da via de administração e da espécie animal. A MOX está disponível em formulações para administração oral e subcutânea em ovinos. Após a administração da MOX, o fármaco é absorvido do local de aplicação e distribuído por todo o organismo por meio da circulação sanguínea e se propaga para o tecido alvo para exercer sistematicamente o efeito farmacológico. A concentração que atinge o tecido alvo depende da capacidade para penetração no endotélio capilar e de se difundir através das membranas celulares. Devido à alta lipofilicidade, as LMs são extensamente distribuídas através do corpo por difusão passiva e, conseqüentemente, são absorvidas por todas as vias corporais, o que lhes confere perfil farmacocinético de alto volume de distribuição tissular (ALVINERIE *et al.*, 1998; SUMANO E OCAMPO 2006).

A MOX armazena-se principalmente no tecido adiposo, sendo o principal reservatório a gordura abdominal e subcutânea, mas também está presente na luz intestinal e na pele do animal. O depósito da MOX no tecido adiposo atua como um reservatório do fármaco, liberando-o para a corrente sanguínea gradualmente. Este fato contribui para a persistência da atividade da molécula nos tecidos alvos e para a meia vida longa (ENTROCASSO *et al.*, 1996). Inversamente, uma baixa concentração do fármaco é encontrada no tecidos magros, como o músculo, apresentando um baixo tempo de persistência. Por muitos anos, o longo tempo de persistência da MOX foi relacionado à impactos positivos em sua eficácia, com relatos de maior intervalo para o reaparecimento de parasitas após o tratamento (LIFSCHITZ *et al.*, 1999). Atualmente sabe-se que o longo período com concentração residual mínima, não permite o estabelecimento e a reprodução de indivíduos susceptíveis, mas favorece a seleção parasitária e prejudica sobremaneira a população em refugia (MOLENTO *et al.*, 2004).

De forma geral, todas as LMs possuem massas moleculares elevadas (639,4 g/mol) e altos coeficientes de partição (6,0 Log Ko/w), caracterizando-se como substâncias lipofílicas (MUSHTAQ *et al.*, 1996). Segundo ONG *et al.* (1996), a velocidade de absorção de substâncias lipofílicas por um organismo é diretamente proporcional ao coeficiente de partição. As variações, por vezes pequenas, no entanto, podem desencadear importantes e significativas alterações na eficácia e atuação das LMs, proporcionando maior ou menor disponibilidade no organismo animal (ONG *et al.*, 1996). Estudos têm demonstrado que a MOX é a molécula mais lipofílica dentre as LMs. Esta diferença permite seu armazenamento no tecido adiposo, proporcionando efeito acumulativo e uma prolongada permanência deste fármaco no corpo do animal (PRICHARD *et al.*, 2012).

As diferenças no tempo de persistência da MOX em relação à ivermectina foram demonstradas no estudo de Hayes (1994). Segundo o autor, o valor inferior de concentração máxima e o longo tempo máximo para a MOX está correlacionado com o fato dessa ser 100 vezes mais lipofílica do que a ivermectina. Isto resulta num menor particionamento entre a gordura e o plasma e, conseqüentemente, na eliminação mais lenta dos resíduos de MOX do organismo.

A alta lipofilicidade da MOX está diretamente relacionada à farmacocinética e taxa de depleção no organismo. Essa relação é responsável por diferenças observadas entre animais com diferentes condições corporais (HENNESSY e ALVINERIE, 2002; CRAVEN *et al.*, 2001). Como os cordeiros geralmente apresentam menor teor de gordura no corpo quando comparados com o animal adulto, que tendem a armazenar menor quantidade do composto. Tal diferença também pode ser observada quando compara-se a distribuição do fármaco em fêmeas e machos; as fêmeas tendem a armazenar maior teor de gordura corporal, influenciando no armazenamento e metabolização do fármaco (ALVINERIE *et al.*, 1998).

A biotransformação da MOX em tecidos de animais está bem descrito. O fármaco é absorvido do local de administração para a corrente sanguínea, onde ocorre a formação de complexos com as lipoproteínas de alta densidade (HDL) ou com os demais solutos lipofílicos como o colesterol, sendo amplamente distribuído pelos tecidos. Grande parte desses complexos

formados com as HDL é transportada para o fígado, via transporte reverso do colesterol (BASSINI et al., 2004).

No fígado, a MOX é metabolizada em baixa proporção em C29 e C14, metabólitos mono-hidroxi, com o envolvimento da via 3A do citocromo P450, sendo secretada pela bile, reabsorvida parcialmente pelo intestino e eliminada na sua forma ativa através das fezes (KROGH et al., 2008). A eliminação da MOX nas fezes é prolongada e apresenta um aporte contínuo do fármaco ativo, tendo como consequência a maior permanência no ambiente (PÉREZ et al., 2001; GILAVERTÉ, 2014). A formulação, a dosagem e a via de administração podem ser os fatores mais importantes para a persistência e ecotoxicidade dos fármacos (HERD, 1995), proporcionando diferenças em relação ao tempo e ao nível de excreção via fezes (SUÁREZ et al., 2009).

A principal via de excreção da MOX ocorre através das fezes, mas uma pequena fração é pela urina (FDA, 1997; LIFSCHITZ *et al.*, 1999). Zulalian *et al.* (1994) observaram que apenas 3% da dose administrada em bovinos é excretada por via renal, juntamente com a urina. Já Afzal *et al.* (1994) observaram que apenas 0,5-0,6% da dose administrada de MOX foi excretada juntamente com a urina em ovelhas após sua aplicação oral na dose recomendada pelo fabricante (0,2 mg/kg de peso vivo).

Devido à sua alta lipossolubilidade da MOX, a excreção via leite é uma via importante de eliminação do fármaco. Imperiale *et al.* (2004) avaliaram a taxa de excreção da MOX no leite de ovelhas e observaram que 8,2% da dose administrada é excretada por essa via. Carceles *et al.* (2001) observaram excreção da MOX no leite de cabras por 40 dias, sendo que 22,53% da dose recebida foi eliminada por esta via após a sua aplicação subcutânea (0,2 mg/kg PC).

Segundo a recomendação do fabricante da moxidectina 1% injetável (Cydectin®, Fort Dodge Saúde Animal), o tempo de carência após a administração do produto é de 28 dias para carne. Devido as suas características farmacocinéticas (alta lipossolubilidade) e ao fato de que uma significativa fração do fármaco ser excretada pelo leite, a MOX não deve ser utilizada em animais cujo leite “*in natura*” ou processado se destine ao consumo humano.

2.3. MONITORAMENTO DE RESÍDUOS DE MOXIDECTINA NOS TECIDOS DE OVINOS NO MOMENTO DO ABATE

O monitoramento dos resíduos de medicamentos veterinários presentes nos alimentos de origem animal consumidos nos diferentes países, é realizado pelas agências reguladoras oficiais, sendo a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e o MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), FDA (*Food and Drug Administration*) e a EC (*European Commission*), as respectivas agências reguladoras do Brasil, Estados Unidos e Comunidade Européia.

O MAPA, por meio do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes em Produtos de Origem Animal – PNCRC/Animal, é responsável, no ambiente nacional, pela garantia de qualidade do sistema de produção de alimentos de origem animal ao longo da cadeia produtiva (BRASIL, 2013).

Os quatro pilares da avaliação de risco microbiológico, ou pela presença de substâncias químicas nos alimentos, são: a identificação do perigo, a caracterização do perigo, a avaliação da exposição e a caracterização do risco. Esses passos representam um processo sistemático para identificar consequências adversas e suas probabilidades decorrentes do consumo de alimentos que possam estar contaminados com patógenos microbiológicos, suas toxinas ou resíduos de fármacos após o uso de medicamentos veterinários (LAMMERDING E FAZIL, 2000).

Os procedimentos executados no âmbito do PNCRC/Animal são compostos pela amostragem homogênea e aleatória das diversas matrizes e espécies animais monitoradas, bem como de análises realizadas na Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários. Atualmente, participam da coleta de amostras do PNCRC/Animal aproximadamente 3.500 estabelecimentos sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), distribuídos no território nacional (BRASIL, 2013).

A espécie ovina passou a fazer parte do PNCRC/ Animal do MAPA a partir de 2014, por meio do Programa de Controle de Resíduos e

Contaminantes na Carne de Ovinos e Caprinos, estabelecido por meio da Instrução Normativa SDA N° 11, de 07 de maio de 2014. A inclusão da carne ovina no PNCRC representa um importante passo no estabelecimento de medidas mitigatórias que visam direcionar a produção e garantir a inocuidade dos produtos (leite e carne). Entretanto, a atual legislação não estabelece limites máximos de resíduos (LMR) de MOX específicos para essa espécie, o que dificulta o seu controle. Considerando que os parâmetros estabelecidos pelo PNCRC/Animal devem atender as exigências de qualidade e inocuidade praticados pelos mercados importadores, os parâmetros do *Codex Alimentarius* podem ser utilizados como referência de LMR para os ovinos.

Entre os tecidos utilizados para detecção e quantificação de resíduos de fármacos veterinários, no momento de abate pelo PNCRC, o fígado e gordura são normalmente escolhidos como os tecidos alvo para a monitorização, já que os resíduos são mais persistentes nestes tecidos e são os únicos que têm LMR definidos para todas as espécies animais (EC, 1990). Segundo Danaher *et al.*, (2006), os LMR definidos para LMs em gordura e fígado são maiores do que em tecidos renais e musculares, indicando que a gordura e o fígado são os tecidos mais adequados para a análise de resíduos.

REFERÊNCIA

AFZAL, J.; STOUT, S.J.; DA CUNHA, A.R.; MILLER, P. Moxidectin: absorption, tissue distribution, excretion, and biotransformation of ¹⁴C-labeled moxidectin in sheep. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p.1767–1773, 1994.

ALVINERIE, M.; ESCUDERO, E.; SUTRA, J.F.; EECKHOUTTE, C.; GALTIER, P. The pharmacokinetics of moxidectin after oral and subcutaneous administration to sheep. **Veterinary Research**. v. 29, p.113-118, 1998.

ARDELLI, B.F.; STITT, L.E.; TOMPKINS, J.B.; PRICHARD, R.K. A comparison of the effects of ivermectin and moxidectin on the nematode *Caenorhabditis elegans*, **Veterinary Parasitology**, v. 165, p. 96-108, 2009.

BASSINI, M. F., ALVINERIE, M., LESPINE, A. Macrocyclic lactones: distribution in plasma lipoproteins of several animal species including humans. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 138, p. 437-444, 2004.

BENNETT, D.G. Clinical pharmacology of ivermectin. *Javma*, v.189, p. 100-104, 1986.

BRASIL (País). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Plano nacional de controle de resíduos e contaminantes em produtos de origem animal** **PNCRC/Animal**. 2013 Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dosalimentos/residuos-e-Contaminantes>

CARCELES, C.; DIAZ, M.; VICENTE, M.; SUTRA J.; ALVINERIE, M.; ESCUDERO, E. Milk kinetics of moxidectin and doramectin in goats. **Research in Veterinary Science**. v.68, p.1-5, 2001.

CARRASCO, M. S. D.; MIRO, A. E.; PASTOR, E. E.; RODRÍGUEZ, C. M. C. Farmacología de los endectocidas: aplicaciones terapéuticas (II). In *Anales de veterinaria de Murcia*, n. 16, pp. 15-40. 2000.

CRAVEN, J.; BJORN, H.; HENNESSY, D.; FRIIS, C.; NANSEN, P. Pharmacokinetics of moxidectin and ivermectin following intravenous injection in pigs with different body compositions. **Journal of veterinary pharmacology and therapeutics**, v.24, n.2, p. 99-104.

DANAHER, M.; HOWELLS, L. C.; CROOKS, S. R. H.; CERKVENIK-FLAJS, V.; DURDEN, D. A. Positive and negative electrospray LC–MS–MS methods for quantitation of the antiparasitic endectocide drugs, abamectin, doramectin, emamectin, eprinomectin, ivermectin, moxidectin and selamectin in milk. **Journal of Chromatography**, v.1, n.2, p. 134–146, 2006.

DURDEN, D. A. Positive and negative electrospray LC–MS–MS methods for quantitation of the antiparasitic endectocide drugs, abamectin, doramectin, emamectin, eprinomectin, ivermectin, moxidectin and selamectin in milk. **Journal of Chromatography B**, v. 850, n.1-2, p. 134–146, 2006

EC. European Comission 2377/90 Council Regulation of 26 June 1990 laying down a Community procedure for the establishment of maximum residue limits of veterinary medicinal products in foodstuffs of animal origin, Off. **Official Journal of the European Communities**. Brussels L224, 1990.

EC. European Comission. **The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report 2010**. Disponível em: http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/docs/rasff_annual_report_2010_en.pdf.

ENTROCASSO D, D PARRA, D VOTTERO, M FARÍAS, LF URIBE, WG RYAN. Comparison of the persistent activity of ivermectin, abamectin, doramectin and moxidectin in cattle. **Veterinary Record**, v.138, n.4, p.91-92, 1996.

FDA. 1997. Food and Drug Administration. Environmental Assessment: Cydectin moxidectin 0.5% Pour-On for Cattle. Published by the **Center for Veterinary Medicine**. Disponível em: <http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-av-gen/documents/document/ucm072383>.

FDA. 1998. Food and Drug Administration. Freedom of information summary. NADA nº 141-099. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/AnimalVeterinary/products/ApprovedAnimalDrugProducts/FOIADrugSummaries/ucm117588.pdf>.

GILAVORTE, S. TAXA DE EXCREÇÃO, IMPACTO E PERSISTÊNCIA DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA NAS FEZES DE OVINOS NO AMBIENTE. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós Graduação em Agronomia, 2014.

HENNESSY, D. R., & ALVINERIE, M. R. Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. *Macrocyclic Lactones in Antiparasitic Therapy*, p. 97-124, 2002.

HERD, R. Endectocidal drugs: Ecological risks and counter-measures. *International Journal for Parasitology*, v. 25, p. 875-885, 1995.

IMPERIALE, F.A.; BUSETTI, M.R.; SUAREZ, V.H.; LANUSSE, C.E.. Milk excretion of ivermectin and moxidectin in dairy sheep: assessment of drug residues during cheese elaboration and ripening period. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. v. 52, p. 6205–6211, 2004.

KÖHLER, P. The biochemical basis of anthelmintic action and resistance. *International Journal for Parasitology*, v.31. p.336-345, 2001.

KROGH, K. A.; BJORKLUND, E.; LOEFFLERN, D.; FINK, G.; HALLING-SORENSEN, G.; TERNES, T.A. Development of an analytical method to determine avermectins in water, sediments and soils using liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*,

v.1, n.2, p.60–69, 2008.

LAMMERDINGA, A. M.; FAZILB, A. Hazard identification and exposure assessment for microbial food safety risk assessment, **International Journal of Food Microbiology**, Ontario, v. 58, p. 147–157, 2000.

LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; IMPERIALE, F.; PIS, A.; LANUSSE, C. Fármacos endectocidas: avermectinas y milbemicinas. En: Botana LM, Landoni F, Matín-Jiménez T (eds). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. McGraw-Hill-Interamericana, Madrid, Espanha, p.545-558, 2002.

LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; PIS, A.; IMPERIALE, F.; SÁNCHEZ, S.; ALVAREZ, L.; KUYANEK R.; LANUSSE, C. Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n.3, p. 203-215, 1999.

MADDISON, J.E.; PAGE, S.W.; CHURCH, D.B. 2010. *Farmacologia clínica de pequenos animais*. 2 ed. Rio de Janeiro. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=JXg-c8CHboC&printsec=frontcover&hl=pt-BR#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 10/01/2015.

McKELLAR, Q.A. y BENCHAOUI, H.A. Avermectins and milbemycins. **J.Vet. Pharmacol. Ther.**, v. 19, p.331-351, 1996.

MOLENTO, M.B; VAN WYK, J.A.; COLES, G.C. Sustainable worm management. **Veterinary Record**, v.171, p.95-96, 2004.

ONG, S.; LUI, H.; PIDGEON, C. Immobilized-artificial-membrane chromatography measurements of membrane partition coefficient and predicting drug membrane permeability. **Journal of Chromatography A**, v. 728, p.113-128, 1996.

PÉREZ, R.; CABEZAS, I. SUTRA, J.F., GALTIER, P.; ALVINERIE, M. Fecal excretion profile of moxidectin and ivermectin after oral administration in horses. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 85-92, 2001.

PÉREZ, R.; CABEZAS, I.; GODOY, C.; RUBILAR, L.; DÍAZ, L.; MUÑOZ, L.; ARBOIX, M.; ALVINERIE, M. Disposición plasmática y fecal de moxidectina administrada por vía oral en caballos. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 33, n. 1, p. 77-88, 2004.

PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 134-153, 2012.

SHOOP, W. L.; MROZIK, H.; FISHER, M. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. **Veterinary Parasitology**, v.59, n.2, p. 139-156, 1996.

SPINOSA, H.S. Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária. p. 460. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

SUÁREZ, V.H.; LIFSCHITZ, A.L.; SALLOVITZ, J.M.; LANUSSE, C.E. Effects of faecal residues of moxidectin and doramectin on the activity of arthropods in cattle dung, **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n.5, p. 1551-1558, 2009.

SUMANO L.H.; OCAMPO, C.L. **Farmacología Veterinaria**. 3ra ed. MacGraw-Hill Interamericana, México D.F., México, p. 481-482, 2006.

ZULALIAN, J., S. J. STOUT, A. R. DA CUNHA, T. GARCÉS, P. MILLER. Absorption, tissue distribution, metabolism and excretion of moxidectin in cattle. **Journal of Agricultural Food Chemistry**. v. 42, p. 381-387, 1994.

3 MÉTODO FAMACHA PARA DETECTAR ANEMIA CLÍNICA CAUSADA POR *Haemonchus contortus* EM CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO

RESUMO

O controle das endoparasitoses gastrintestinais em pequenos ruminantes tem sido tradicionalmente realizado por meio do uso indiscriminado dos anti-helmínticos, porém essa prática tem resultado em grande pressão de seleção de parasitas resistentes. Métodos seletivos (ex: FAMACHA/FMC e contagem de ovos nas fezes/OPG) e que apresentem boa sensibilidade para identificar os animais que necessitam receber o tratamento químico são importantes alternativas aos métodos tradicionais. O objetivo desse trabalho foi determinar a sensibilidade e a especificidade do método FMC, usado para detectar anemia causada por *Haemonchus contortus* em ovinos da raça Suffolk, em duas categorias de alta suscetibilidade; cordeiros lactentes e ovelhas durante a fase de lactação. A conjuntiva ocular de 42 cordeiros lactentes e 35 ovelhas em lactação foi avaliada usando o método FMC, em intervalos de 14 dias, durante cinco meses. O hematócrito (Ht) foi utilizado como padrão-ouro para avaliação clínica de anemia dos animais. Para o cálculo de sensibilidade e especificidade, diferentes critérios foram utilizados: animais classificados como 4 e 5 ou 3, 4 e 5 e anêmicos pelo Ht (teste positivo); animais classificados como 1, 2 e 3 ou 1 e 2 e não anêmicos pelo Ht (teste negativo). Três valores de corte para Ht ($\leq 22\%$, $\leq 19\%$ ou $\leq 15\%$) foram utilizados para confirmar a anemia. Entre os gêneros observados nas coproculturas, *H. contortus* (61,5%) e *Ostertagia* sp. (21,3%) foram os mais prevalentes. Em ambas as categorias, a inclusão do FMC 3 como teste positivo, elevou a sensibilidade mas reduziu a especificidade do método. Quando o FMC 3 foi considerado anêmico, o percentual de falsos negativos foi próximo a zero, no entanto, houve aumento no número de tratamentos aplicados em animais não anêmicos (falso positivo). Durante as avaliações, a maior parte dos cordeiros (73%) e das ovelhas (53%) permaneceu nas categorias de FMC 1 e 2. Apenas 5% dos cordeiros e 8% das ovelhas foram classificados com os dois maiores graus de anemia (FMC 4 e 5). Os resultados indicam que o FMC pode ser utilizado para identificar os cordeiros lactentes e ovelhas em fase de lactação com sinais clínicos de anemia decorrentes da infecção por *H. contortus*. Para ambas as categorias, foi necessário incluir o FMC 3 como positivo para aumentar a sensibilidade do método; reduzindo o risco de morte de animais anêmicos não diagnosticados (falsos negativos).

Palavras-chave: FAMACHA, anemia, *Haemonchus contortus*, cordeiros, ovelhas, especificidade, hematócrito, ovinos, sensibilidade, tratamento seletivo.

FAMACHA METHOD FOR DETECTING CLINICAL ANEMIA CAUSED BY *Haemonchus contortus* IN SUCKLING LAMBS AND LACTATING EWES

ABSTRACT

The control of gastrointestinal parasites in small ruminants has traditionally involved the indiscriminate use of anthelmintic drugs that resulted in a high parasite selection pressure for anthelmintic resistance. Selective methods (ex.: FAMACHA (FMC) and faecal egg count (EPG), which have good sensitivity to identify animals that need drug treatment, are important alternative methods for parasite control. The objective of this study was to determine the sensitivity and specificity of the FMC method to detect clinical anemia caused by *Haemonchus contortus* in two highly susceptible categories of Suffolk sheep; suckling lambs and lactating ewes. The ocular conjunctivae of 42 suckling lambs and 35 lactating ewes was evaluated using the FMC method at 14 days interval for five months. Hematocrit (Ht) served as the gold standard for anemia evaluation. To calculate the sensitivity and specificity of the FMC method, different criteria were adopted: animals classified as 4 and 5, or 3, 4 and 5, were considered to be anemic (positive test), and animals classified as 1, 2 and 3, or 1 and 2 were considered to be non-anemic (negative test). Three standard values of Ht ($\leq 22\%$, $\leq 19\%$ or $\leq 15\%$) were used to confirm anemia. Among the prevalent genera of helminths *H. contortus* (61.5%) and *Ostertagia* sp. (21.3%) were the most predominant species in the coproculture. For both categories, the inclusion of FMC 3 as a positive test increased the sensitivity but decreased the specificity of the method. When FMC3 was included as anemic, the percentage of false negative was close to zero, but a greater number of treatments was applied to non-anemic animals (false positive). Most of the lambs (73%) and ewes (57%) remained in categories 1 or 2 throughout the trial. Only 5% of the lambs and 8% of the ewes were classified as the two major stages of anemia (4 and 5). The results indicate that the FMC is a safe method to be used in lambs and lactating ewes with clinical anemia from *H. contortus* infection. For both categories, it was necessary to include FMC 3 as a positive condition in order to increase the sensitivity of the method and to reduce the risk of death of undiagnosed anemic animals (false negatives).

Keywords: FAMACHA method, anemia, *Haemonchus contortus*, lambs, ewes, hematocrit, selective treatment, sensitivity, sheep, specificity.

3.1 INTRODUÇÃO

A produção e pesquisas com ovinos e caprinos tem crescido consideravelmente em todo o mundo. Os reduzidos índices de produtividade nos rebanhos ovinos são frequentemente associados às infecções por endoparasitas no Brasil, principalmente por *Haemonchus contortus*. Este parasita apresenta alta patogenicidade e elevada prevalência (MOLENTO *et al.*, 2004; BURKE *et al.*, 2007) sendo que as infecções agudas podem causar anemia severa, hipoproteinemia e morte em casos severos (KAPLAN *et al.*, 2004; COSTA *et al.*, 2007).

As estratégias para controlar os nematoides gastrintestinais têm, tradicionalmente, envolvido o uso de anti-helmínticos em intervalos fixos e curtos (a cada 30 ou 45 dias) ou durante o pico de transmissão das larvas, o verão (GONZÁLEZ-GARDUÑO *et al.*, 2014). Muitas vezes, esse esquema de tratamento preventivo é feito com pouco conhecimento epidemiológico dos parasitas. Como consequência, tem sido observada alta pressão de seleção para populações de parasitas resistentes com alto índice de homozigose (RR) e perda total de heterogenia em indivíduos suscetíveis (SS) (FORTES e MOLENTO, 2013). Em algumas propriedades brasileiras, a resistência atingiu níveis insustentáveis e conforme relatado por Veríssimo *et al.* (2012) poucos princípios ativos foram capazes de controlar os endoparasitas no estado de São Paulo.

A resistência anti-helmíntica múltipla em *H. contortus* foi destacada como problema na exploração de pequenos ruminantes, em diferentes regiões do mundo (BARTLEY *et al.*, 2004; WAGHORN *et al.*, 2006; MCKENNA 2010; VERÍSSIMO *et al.*, 2012). Essas observações têm estimulado pesquisadores a buscar alternativas de controle parasitário com o objetivo de reduzir o uso de produtos químicos e a concentração das drogas no meio ambiente, no leite e na carne (MOLENTO *et al.*, 2004; DOBSON *et al.*, 2011).

Desde que o método FAMACHA (FMC) foi desenvolvido para o controle seletivo de *H. contortus* em ovinos, sua eficácia foi testada e validada por vários pesquisadores em diferentes países (VAN WYK e BATH 2002; KAPLAN *et al.*, 2004; MOLENTO *et al.*, 2004; DEPNER *et al.*, 2007; CRINGOLI

et al., 2009; DI LORIA *et al.*, 2009; SOTOMAIOR *et al.*, 2012). A adoção do método na seleção de animais que necessitam receber tratamento tem demonstrado redução no número de doses e no custo com medicação antiparasitária (BATH e VAN WYK, 2001; MOLENTO *et al.* 2004). No entanto, Kaplan *et al.* (2004) destacam que esse método deve ser usado com precaução em cordeiros, pois os animais jovens possuem pequeno volume de sangue, em comparação aos ovinos adultos e podem, em um curto período de tempo, progredir de anemia moderada à grave. Essa precaução também deve ser estendida para as ovelhas em lactação devido à redução temporária na imunidade contra os nematoides gastrintestinais (RAHMAN e COLLINS 1992; KAPLAN *et al.*, 2004; MILLER e HOROHOV, 2006; MOLENTO, 2009).

Dentro desse contexto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a sensibilidade e a especificidade do método FMC para detectar anemia decorrente da infecção por *H. contortus* em ovinos em duas fases do ciclo produtivo, cordeiros lactentes e ovelhas em fase de lactação.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos, LAPOC, da Fazenda da Universidade Federal do Paraná, UFPR, localizado em Pinhais, região metropolitana de Curitiba, Paraná, Brasil, entre Janeiro a Maio de 2012. O clima é do tipo Cfb, classificação de Köppen, que corresponde ao clima subtropical úmido (mesotérmico).

Todas as avaliações e manejos envolvendo os animais foram realizados de acordo com as normas aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Protocolo no. 055/2011).

Durante o período experimental, os cordeiros foram mantidos com suas mães em pastagem de Tifton 85 (*Cynodon* spp.). Para avaliação do método FMC foram utilizados ovinos em duas fases do ciclo produtivo: 42 cordeiros lactentes e 35 ovelhas na fase de lactação. O primeiro grupo foi composto por

20 machos não castrados e 22 fêmeas, provenientes de partos simples ou duplo da raça Suffolk. As avaliações iniciaram quando os cordeiros apresentavam média de 19,7 kg e 42 dias de idade e suas mães 59,6 kg e 3,5 anos.

A partir do início do experimento (dia zero) e em intervalos de 14 dias, foi realizada a coleta de fezes diretamente da ampola retal de todos os animais. Em cada avaliação, as fezes de todos os animais constituíram um *pool* para realização da coprocultura de larvas (ROBERTS & O'SULLIVAN, 1950). A identificação das larvas infectantes (L3) foi realizada de acordo com Van Wyk & Mayhew (2013).

Para ambas as categorias, a avaliação do método FMC foi realizada sempre pelos mesmos três avaliadores que foram treinados de acordo com Van Wyk & Bath (2002) para comparar a coloração da conjuntiva com o cartão (BATH *et al.*, 2001).

O hematócrito (Ht) foi considerado o padrão-ouro para a avaliação clínica no FMC. Em cada avaliação, o sangue foi coletado por venopunção jugular de todos os animais em tubos com anticoagulante (10% de EDTA). Os valores de Ht foram determinados pela técnica do micro-hematócrito, utilizando tubos capilares e centrifugação a 3920 força G por 5 minutos. Os graus de FMC segundo os valores de Ht são: (1) 28% e valores acima; (2) 23 a 27%; (3) 18 a 22%; (4) 13 a 17% e (5) 12% e abaixo (BATH *et al.*, 2001).

Para o cálculo da sensibilidade e especificidade do FMC foram adotados dois critérios: (I) animais com FMC 4 e 5, classificados como anêmicos (teste positivo) e com FMC 1, 2 e 3, não classificados como anêmicos (teste negativo); (II) animais como FMC 3, 4 e 5, classificados como anêmicos (teste positivo) e FMC 1 e 2, classificados como não anêmicos (teste negativo). Na avaliação da habilidade do método FMC em identificar corretamente os animais que realmente necessitam de tratamento, o valor de corte do hematócrito utilizado para determinar a anemia pode ter grande impacto nos resultados. Devido à falta de valores de referência de Ht para ovinos que sejam diretamente associados com sinais clínicos de anemia (KAPLAN *et al.*, 2004; BURKE *et al.*, 2007), alguns autores recomendam utilizar mais de um valor de corte para avaliar a sensibilidade do método (KAPLAN *et al.*, 2004, VATTA *et al.*, 2001.). No presente estudo, foram utilizados três

valores de corte: $Ht \leq 22$; $Ht \leq 18$ e $Ht \leq 15\%$, de acordo com Reyneck *et al.*, (2011).

Um resultado verdadeiro positivo foi definido como um animal anêmico ($Ht \leq 22$, ≤ 18 ou $\leq 15\%$) com pontuação de mucosa ocular pálida (3, 4 e 5 ou 4 e 5). Um resultado falso positivo foi definido como animal que não estava anêmico ($Ht > 22$, > 18 ou $> 15\%$) com pontuação de mucosa ocular clara (3, 4 e 5 ou 4 e 5). Um resultado falso negativo foi definido como um animal que estava anêmico ($Ht \leq 22$, ≤ 18 ou $\leq 15\%$) com pontuação de mucosa ocular vermelha ou rosa (1 e 2 ou 1, 2 e 3). O resultado verdadeiro negativo foi considerado como um animal que não estava anêmico ($Ht > 22$, > 18 ou $> 15\%$) apresentando a conjuntiva vermelha ou rosa (1 e 2 ou 1, 2 e 3). A sensibilidade, especificidade, o valor preditivo do resultado negativo e o valor preditivo do resultado positivo foram calculados de acordo com Vatta *et al.* (2001), Thrusfield (2005) e Sotomaior *et al.* (2012).

A análise dos dados obtidos incluiu estatística descritiva (média e frequências) e análise de correlação (coeficiente de Pearson). Para avaliar a relação entre os escores de FMC e os valores de Ht, os dados foram distribuídos em gráficos do tipo Box Plot, associados ao coeficiente de Pearson, para cada categoria estudada. As correlações foram calculadas com auxílio do programa estatístico SAS (2002). Os gráficos foram construídos com auxílio do pacote estatístico ACTION versão 2.5 (ESTATCAMP, 2013).

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de avaliação, os gêneros de helmintos identificados nas coproculturas dos cordeiros e ovelhas foram: *Haemonchus* spp., *Ostertagia* sp., *Cooperia* spp. e *Trichostrongylus* spp. (TABELA 3.1). Entre os gêneros observados, *Haemonchus* spp. (61,5%) e *Ostertagia* spp. (21,3%) foram os mais prevalentes durante todo o período. Estes resultados estão de acordo com estudos realizados no Brasil na última década (MOLENTO *et al.*, 2004; ROSALINSKI-MORAES *et al.*, 2012, VERÍSSIMO *et al.*, 2012). O

monitoramento por coproculturas a cada 6-8 semanas, a fim de verificar se *H. contortus* é o principal parasita (BATH *et al.*, 2001) é fundamental para aplicação do método FMC. A eficácia do método é maior quando a prevalência de *H. contortus* representar pelo menos 60% das espécies de helmintos pois esse é o principal parasita que causa anemia nos pequenos ruminantes (BATH & VAN WYK, 2009; KAPLAN, 2004).

TABELA 3.1 - PERCENTUAL (%) DOS GÊNEROS DE NEMATÓDEOS GASTRINTESTINAIS OBSERVADOS NAS COPROCULTURAS DE CORDEIROS LACTANTES E OVELHAS DURANTE A FASE DE LACTAÇÃO, PINHAIS, PR, BRASIL.

Gênero	Mês de Avaliação (2012)					Média
	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	
<i>Haemonchus</i> spp.	74,6%	66,0%	59,6%	35,0%	72,2%	61,5%
<i>Ostertagia</i> spp.	13,0%	19,3%	27,0%	33,0%	15,5%	21,5%
<i>Cooperia</i> spp.	8,7%	6,6%	5,1%	8,0%	2,3%	6,1%
<i>Trichostrongylus</i> spp.	3,7%	8,1%	8,3%	24,0%	10,0%	10,9%

FONTE: O autor (2015)

De acordo com a Tabela 3.2, o percentual de animais com Ht baixo e com FMC 4 ou 5 (verdadeiro negativo) foi baixo, tanto para os animais jovens (2,4 a 4,3%) quanto para os animais adultos (2,5 a 5,5%). Quando o FMC 3 foi incluído como positivo, houve aumento do percentual de cordeiros e ovelhas corretamente diagnosticados como positivos. No entanto, esse percentual de animais verdadeiros positivos, com ou sem a inclusão do FMC 3, é relativamente pequeno quando comparado com o de verdadeiro negativo. O percentual de animais verdadeiro negativo apresentou média acima de 90% quando o escore 3 não foi incluído como anêmico, considerando ambas as categorias estudadas. Esse percentual de animais não tratados com produtos químicos pode ser fundamental para manter a eficácia do anti-helmíntico por períodos mais longos, pois permite que haja a sobrevivência da população de parasitas sensíveis no meio ambiente (refugia) e com isso, permitiria diminuir a pressão de seleção (KAPLAN *et al.*, 2004; MOLENTO, 2009).

O percentual de animais anêmicos não identificados pelo método FMC (falso negativo) variou entre 0 a 7,6%, sendo os percentuais mais elevados observados no Ht mais alto. Ocorre que, quanto menor o hematócrito, menor a

concentração de hemácias e consequentemente mais pálida será a mucosa do animal, portanto, maior será a facilidade do observador em diagnosticar o animal anêmico como positivo. Quando o grau 3 foi incluído na categoria como anêmico, o número de cordeiros e ovelhas anêmicas diagnosticados como saudável pelo método (falso negativo) foi próximo a zero, como também observado por Burke et al. (2007). Ressalta-se que o método FMC é uma avaliação subjetiva, o que permite a classificação equivocada de animais (ROSALINSKI-MORAES *et al.*, 2012). Van Wyk & Bath (2002) enfatizaram a importância do treinamento prático de avaliadores para diminuir a subjetividade e garantir o sucesso do método FMC, como verificado em treinamentos no Estado do Paraná (MAIA *et al.*, 2014).

TABELA 3.2 - NÚMERO E PERCENTUAL DE VERDADEIRO POSITIVO, VERDADEIRO NEGATIVO, FALSO POSITIVO, FALSO NEGATIVO E CORRETO TRATAMENTO UTILIZANDO O MÉTODO FAMACHA, DE ACORDO COM OS DIFERENTES CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO (GRAU DE FAMACHA E HEMATÓCRITO), PARA CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO.

	VERDADEIRO POSITIVO	VERDADEIRO NEGATIVO	FALSO POSITIVO	FALSO NEGATIVO	CORRETO TRATAMENTO ^a
Cordeiros lactentes					
FAMACHA 4 e 5*					
Ht* ≤ 22	11 (4,3%)	233 (91,7%)	2 (0,8%)	8 (3,2%)	244 (96,1%)
Ht ≤ 18	10 (3,9%)	237 (93,3%)	3 (1,2%)	4 (1,6%)	247 (97,2%)
Ht ≤ 15	6 (2,4%)	241 (94,9%)	7 (2,7%)	0 (0%)	247 (97,2%)
FAMACHA 3, 4 e 5					
Ht* ≤ 22	17 (6,7%)	183 (72,0%)	52 (20,5%)	2 (0,8%)	200 (78,7%)
Ht ≤ 18	14 (5,5%)	185 (72,8%)	55 (21,7%)	0 (0%)	199 (78,3%)
Ht ≤ 15	6 (2,4%)	185 (72,8%)	63 (24,8%)	0 (0%)	191 (75,2%)
Ovelhas em Lactação					
FAMACHA 4 e 5					
Ht ≤ 22	13 (5,5%)	197 (83,1%)	9 (3,8%)	18 (7,6%)	210 (92,0%)
Ht ≤ 18	11 (4,6%)	207 (87,3%)	11 (4,6%)	8 (3,4%)	218 (94,9%)
Ht ≤ 15	6 (2,5%)	212 (89,4%)	16 (6,7%)	3 (1,3%)	218 (92,0%)
FAMACHA 3, 4 e 5					
Ht ≤ 22	25 (10,8%)	128 (55,4%)	75 (32,5%)	3 (1,3%)	153 (66,2%)
Ht ≤ 18	18 (7,6%)	131 (55,3%)	88 (37,1%)	0 (0%)	149 (62,9%)
Ht ≤ 15	9 (3,8%)	131 (55,3%)	97 (40,9%)	0 (0%)	140 (59,1%)

NOTA: ^a Correto tratamento = verdadeiro positivo e verdadeiro negativo. * Graus de FAMACHA considerados como teste positivo

FONTE: O autor (2015)

Na avaliação da habilidade do método FMC para identificar corretamente os animais que necessitam de tratamento, estabelecer o limite inferior do Ht é de fundamental importância, pois é o ponto que diferencia os animais anêmicos dos saudáveis. No presente experimento, ficou claro que quanto menor o Ht estabelecido como limite para determinar se um animal estava ou não anêmico, maior foi o risco de erro para um falso negativo. Em geral, há falta de valores de referência para parâmetros hematológicos para ovinos, sobretudo quando se referem aos animais mais jovens. Por isso, em muitos outros estudos, e mesmo na rotina de atendimento clínico, persiste o uso de valores de referência relatados para ovinos adultos (Ht = 27-45; JAIN, 1993) para a avaliação de cordeiros. No entanto, vários fatores de variabilidade, tais como: condições climáticas e ambientais, estado nutricional e estado fisiológico, forma de exploração pecuária, raça, sexo e idade, devem ser considerados para uma adequada avaliação dos parâmetros sanguíneos (MADUREIRA *et al.* 2013, DE SOUZA *et al.* 2014).

Apesar do baixo percentual de animais anêmicos não diagnosticados pelo método (falsos negativos), esse poderá se tornar impactante na produção quando consideradas as duas categorias no rebanho (cordeiros e ovelhas), as quais estariam em risco de morte devido à não indicação de tratamento. Além disso, quando o percentual de falso negativo é muito elevado, o teste pode ser questionado quanto à sua precisão na seleção dos animais que necessitam de tratamento. A inclusão do grau 3 como diagnóstico positivo resultou em maior número de tratamentos aplicados em animais não anêmicos (falsos positivos). Resultados semelhantes foram obtidos por Scheuerle *et al.* (2010) e Sotomaior *et al.* (2012). No entanto, ao considerar que, no método preventivo todos os animais recebem o anti-helmíntico em intervalos regulares independente de necessitar ou não do tratamento, haveria uma redução considerável no número de tratamentos, apesar do percentual de falsos positivos no método FMC. O percentual de cordeiros tratados corretamente pelo método FMC (resultados verdadeiros negativos + verdadeiros positivos) foi de: 96-97% (FMC 4 e 5 positivos) e 75-78% (FMC 3, 4 e 5 positivo). Para as ovelhas em lactação, o percentual foi de 92-94% quando os FMC 4 e 5 foram considerados positivos e 59-66% quando o escore 3 foi incluso como positivo. Essa redução no

percentual correto de tratamento está relacionada com a redução do percentual de diagnósticos verdadeiro negativo, também observada por Kaplan *et al.* (2004) e Di Loria *et al.* (2009).

Na Tabela 3.3 observa-se que com a inclusão do grau 3 houve aumento da sensibilidade, porém também houve redução na especificidade do método, para ambas as categorias (cordeiros e ovelhas). Valores de sensibilidade mais elevados do que o de especificidade são mais importantes para o método FMC (VATTA *et al.*, 2001). Dessa forma, as consequências em não tratar um animal anêmico (com risco de morte) são mais graves do que tratar um animal que não necessita (não anêmico) de tratamento (VATTA *et al.*, 2001). Portanto, tratar cordeiros com grau 3, 4 e 5 resultará em um maior número de tratamentos sendo aplicados aos animais considerados falsos positivos, mas eleva a sensibilidade do método e reduz a chance de mortalidade em animais anêmicos não diagnosticados. Estes resultados estão de acordo com Vatta *et al.* (2001) e Van Wyk & Bath (2002) na África do Sul, Burke *et al.* (2007) nos Estados Unidos e Sotomaior *et al.* (2012) no Brasil.

TABELA 3.3 - VALOR PREDITIVO POSITIVO (VPP) E NEGATIVO (VPN), SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DO MÉTODO FAMACHA PARA CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO, DE ACORDO COM OS DIFERENTES CRITÉRIOS DE AVALIAÇÃO (GRAU DE FAMACHA E HEMATÓCRITO).

	VPP	VPN	Sensibilidade	Especificidade
Cordeiros lactentes				
<i>FAMACHA 4 e 5 considerados como teste positivo</i>				
Ht ≤ 22	84,6	96,7	57,9	99,1
Ht ≤ 18	76,9	98,3	71,4	98,7
Ht ≤ 15]p~zxc	46,2	100	100	97,2
<i>FAMACHA 3, 4 e 5 considerados como teste positivo</i>				
Ht ≤ 22	24,6	98,9	88,89	77,9
Ht ≤ 18	20,3	100	100	77,1
Ht ≤ 15	8,7	100	100	74,6
Ovelhas em lactação				
<i>FAMACHA 4 e 5 considerados como teste positivo</i>				
Ht ≤ 22	59,1	91,6	41,9	95,6
Ht ≤ 18	50,0	96,3	57,9	94,9
Ht ≤ 15	27,3	98,6	66,7	93,0
<i>FAMACHA 3, 4 e 5 considerados como teste positivo</i>				
Ht ≤ 22	25,0	100	100	89,3
Ht ≤ 18	17,0	100	100	59,8
Ht ≤ 15	8,5	100	100	57,4

FONTE: O autor (2015)

O valor preditivo positivo é a probabilidade de um animal ser anêmico quando o teste é positivo e o contrário para o valor preditivo negativo (VATTA *et al.*, 2001). Os valores preditivo positivo foram menores com a inclusão do escore 3, tanto para os cordeiros quanto para as ovelhas, devido ao maior percentual de animais falsos positivos. O valor preditivo negativo foi alto, acima de 90%, em ambas as categorias, com ou sem a inclusão do FMC 3 como positivo, devido ao elevado percentual de verdadeiro negativo. Kaplan *et al.* (2004) relataram dados semelhantes após avaliar 847 ovelhas de diferentes idades e raças com o método FMC, provenientes de 39 fazendas nos EUA.

No presente estudo, o Ht e o FMC apresentaram correlação significativa ($P < 0,001$) e negativa, tanto para os cordeiros ($r = -0,64$) quanto para as ovelhas ($r = -0,59$) (FIGURA 1). Estes resultados permitem concluir que o método foi adequadamente utilizado para ambas as categorias. Os valores de Ht dos cordeiros foram mais altos para os FMC 1 e 2 (FIGURA 1A) do que os de Ht das ovelhas (FIGURA 1B). Nos cordeiros, o valor de Ht mais baixo detectado foi de 11% e o mais alto de 41% (TABELA 3.4). Na categoria ovelhas em lactação, o menor valor de Ht detectado foi de 9% e o mais alto de 39%. O percentual de animais classificados com FMC 1 e 2, durante todo o período experimental, foi de 73% para os cordeiros e de 57% para as ovelhas. Apenas 5% dos cordeiros e 8% das ovelhas foram classificados com os dois maiores graus de anemia (4 e 5). Esta situação sugere que grande parte dos animais estariam infectados, no entanto, apenas um menor percentual estava contaminado com a maior parte dos parasitas e provavelmente poderão necessitar de tratamento (HERBERT & ISHAM, 2000).

TABELA 3.4 - MÉDIAS E DESVIOS-PADRÃO PARA HEMATÓCRITO (HT) DE CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS EM LACTAÇÃO DE ACORDO COM O ESCORE E HEMATÓCRITO DE REFERÊNCIA DO MÉTODO FAMACHA.

Escore do FAMACHA		Cordeiros Lactentes		Ovelhas em Lactação	
	Ht do FMC*	Ht%	N= 254	Ht%	N = 237
1	≥28	34,5 ± 3,6	63 (24,8%)	30,2 ± 3,2	35 (14,8%)
2	23-27	32,5 ± 4,4	122 (48,0%)	27,2 ± 2,9	99 (41,8%)
3	18-22	27,9 ± 6,0	56 (22,1%)	25,7 ± 3,8	83 (35,0%)
4	13-17	16,5 ± 7,9	11 (4,3%)	19,6 ± 4,2	18 (7,6%)
5	≤12	13,0 ± 1,4	2 (0,8%)	12 ± 0,0	2 (0,8%)

FONTE: O autor (2015).

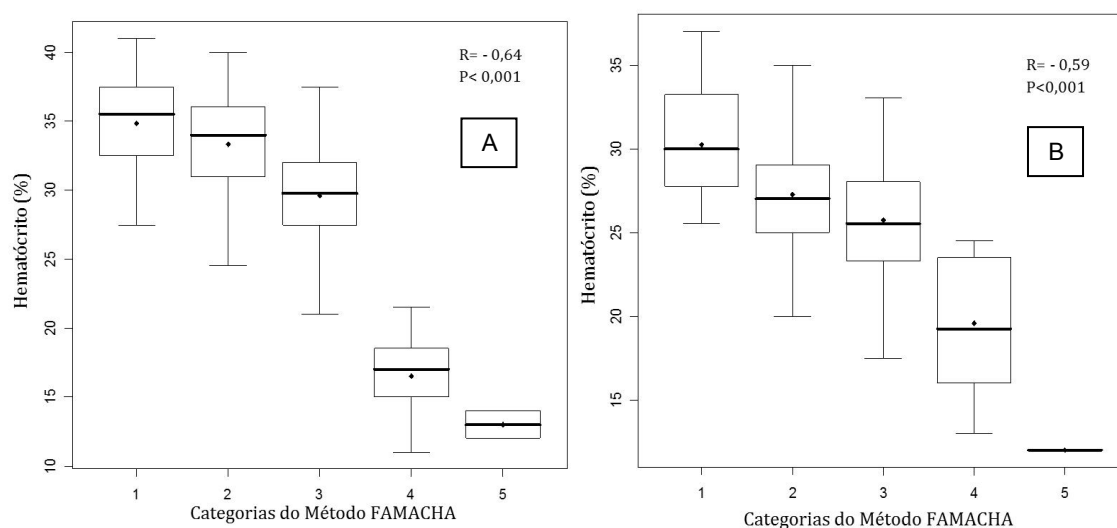


FIGURA 3.1 - BOX PLOT DEMONSTRANDO A RELAÇÃO ENTRE O HEMATÓCRITO E CADA CATEGORIA DO MÉTODO FAMACHA EM CORDEIROS LACTENTES (A) E OVELHAS EM LACTAÇÃO (B). BORDAS INFERIORES E SUPERIORES DA CAIXA REPRESENTAM 25 E 75 PERCENTIL, RESPECTIVAMENTE. AS CORRELAÇÕES DE PEARSON DE CADA CATEGORIA, CORDEIRO E OVELHA, SÃO EXIBIDAS EM SUA RESPECTIVA FIGURA (A) E (B). FONTE: O autor (2015).

Como ambas as categorias são bastante sensíveis às parasitoses gastrintestinais, ressalta-se que no presente trabalho os animais foram examinados com grande frequência, o que se considera essencial para o sucesso do método FMC quando utilizado nas categorias mais sensíveis.

3.4 CONCLUSÕES

Foi possível identificar os cordeiros lactentes e ovelhas em fase de lactação com sinais clínicos de anemia com a utilização do método FMC, decorrentes da infecção por *H. contortus* que necessitariam receber tratamento. Assim, se sugere a inclusão dos animais com grau 3 para receber tratamento, elevando a sensibilidade do método e reduzindo o percentual de animais falso negativos com risco de morte.

REFERÊNCIAS

BARTLEY D.J., JACKSON F., JACKSON E. & SARGISON N. 2004. Characterization of two triple resistant field isolates of *Teladorsagia* from Scottish lowland sheep farms. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p.189-199, 2004.

BATH G.F. & VAN WYK J.A. 2001. Using the Famacha system on commercial sheep farms in South Africa. **International Sheep Veterinary Congress**, Cape Town, South Africa, v.1, p.3, 2001.

BATH G.F. & VAN WYK, J.A. The Five Point Check for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. **Small Ruminant Research**. v. 86, p. 6-13, 2009.

BURKE J.M., KAPLAN R.M., MILLER J. E., TERRIL T. H., GETZ W. R., MOBINI S., VALENCIA E., WILLIAMS M.J., WILLIAMSON L. H. & VATTA, A.F. Accuracy of the FAMACHA system for on-farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States. **Veterinary Parasitology**. v.147, p. 89-95, 2007.

COSTA R.L.D., BUENO M.S., VERISSIMO C.J., CUNHA E.A., SANTOS L.E., OLIVEIRA S.M., SPOSITO FILHA E. & OTSUK I.P. 2007. Performance and nematode infection of ewe lambs on intensive rotational grazing with two different cultivars of *Panicum maximum*. **Tropical Animal Health Production**, v. 39, p. 255-263, 2007.

CRINGOLI G., RINALDI L., VENEZIANO V., MEZZINO L., VERCROYSSSE J. & JACKSON F. Evaluation of targeted selective treatments in sheep in Italy: Effects on faecal worm egg count and milk production in four case studies. **Veterinary Parasitology**. v.164, p.36-43, 2009.

DEPNER R.A. GAVIÃO A.A., CECIM M., ROCHA R., MOLENTO M.B. Growth performance in naturally infected lambs with gastrointestinal nematodes under selective treatment with Famacha method and preventive treatment. **Archives of Veterinary Science**. v. 12, p. 32-37, 2007.

DE SOUZA D.F., MONTEIRO A.L.G., DITTRICH, R.L., SCHMIDT E.M.S., FERNANDES S.R. & BELTRAME O.C. Dinâmica pré e pós-colostral de parâmetros bioquímicos em cordeiros. **Ciência Animal Brasileira**. v. 15, p. 313-321, 2014.

DI LORIA A., VENEZIANO V., PIANTEDOSI D., RINALDI L., CORTESE L., MEZZINO L., CRINGOLI G. & CIARAMELLA P. Evaluation of the FAMACHA system for detecting the severity of anaemia in sheep from southern Italy. **Veterinary Parasitology**. V. 161, p.53-59, 2009.

DOBSON R.J., HOSKING B.C., BESIER R.B., LOVE S., LARSEN J.W.A., ROLFE P.F. & BAILEY J.N. Minimizing the development of anthelmintic resistance, and optimizing the use of the novel anthelmintic monepantel, for the sustainable control of nematode parasites in Australian sheep grazing systems. **Australian Veterinary Journal**. v. 89, p.160-166, 2011.

ESTATCAMP 2013. **Software Action**. Disponível em <www.portalaction.com.br> Acesso 5 abr. 2014.

GONZÁLEZ-GARDUÑO R., TORRES-ACOSTA J.F.J. & CHAY-CANUL A.J. Susceptibility of hair sheep ewes to nematode parasitism during pregnancy and lactation in a selective anthelmintic treatment scheme under tropical conditions. **Research Veterinary Science**. v. 96, p.487-492, 2014.

HERBERT J. & ISHAM V. Stochastic host-parasite interaction models. **Journal Mathematical Biology**. v. 40, p. 343-371, 2000.

JAIN N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1993.

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

KAPLAN R.M., BURKE J.M., TERRILL T.H., MILLER J.E., GETZ W.R., MOBINI S., VALENCIA E., WILLIAMS M., WILLIAMSON L.H., LARSEN M. & VATTA A.F. Validation of the FAMACHA eye color chart for detecting clinical anemia on sheep and goat farms in the southern United States. **Veterinary Parasitology** 123:105-120, 2004.

LOVE S.J.C. & COLES G.C. Anthelmintic resistance in sheep worms in New South Wales. **Veterinary Research**. v. 150, p.87, 2002.

MADUREIRA K.M., GOMES V., BARCELOS B., ZANI B.H., SHECAIRA C.L., COSTA C.R. & BENESI F.J. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de ovinos da raça Dorper. **Semina, Ciências Agrárias**. v. 34, p. 811-816, 2013.

MAIA D, ROSALINSKI-MORAES F., VAN WYK J.A., WEBER S., SOTOMAIOR C.S. Assessment of a hands-on method for FAMACHA system training. **Veterinary Parasitology** v. 200, p.165–171, 2014.

MILLER J.E. & HOROHOV D.W. Immunological aspects of nematode parasite control in sheep. **Journal of Animal Science**. v. 84, p.124-132, 2006.

MOLENTO M.B., TASCA C., GALLO A., FERREIRA M., BONONI R. & STECCA E. Método FAMACHA como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**. v. 34, p.1139-1145, 2004.

MOLENTO M.B. Parasite control in the age of drug resistance and changing agricultural practices. **Veterinary Parasitology**. v. 3, p.188-196, 2009.

MOLENTO M.B., GAVIAO A.A., DEPNER R.A., PIRES C.C. 2009. Frequency of treatment and production performance using the FAMACHA method

compared with preventive control in ewes. **Veterinary Parasitology**. v. 162, p. 314-319, 2009.

RAHMAN W.A. & COLLINS G.H. An association of faecal egg counts and prolactin concentrations in sera of periparturient Angora goats. **Veterinary Parasitology**. v. 43, p. 85-89, 1992.

REYNECKE, D.P., VAN WYK, J.A., GUMMOW, B., DORNY, P., BOOMKER, J. A stochastic model accommodating the FAMACHA® system for estimating worm burdens and associated risk factors in sheep naturally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**. v. 177:, p. 231–241, 2011.

ROBERTS F.H.S. & O' SULLIVAN J.P. Methods of egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Agriculture Research**. v. 1, p. 99-102, 1950.

ROSALINSKI-MORAES F., FERNANDES F.G., MUNARETTO A., DE OLIVEIRA S., WILMSEN M.O., PEREIRA M.W. & MEIRELLES A.C.F. Método FAMACHA, escore corporal e de diarreia como indicadores de tratamento anti-helmíntico seletivo de ovelhas em reprodução. **Bioscience Journal**. v. 6, p.1015-1023, 2012.

SAS Institute **SAS** Systems for Windows. Version 9th ed. SAS Institute, Inc., Cary, NC, 2002.

SCHEUERLE M., MAHLING M., MUNTWYLER J. & PFISTER K. The accuracy of the FAMACHA method in detecting anaemia and haemonchosis in goat flocks in Switzerland under field conditions. **Veterinary Parasitology**. v. 170, p.71-77, 2010.

SOTOMAIOR C.S., ROSALINSKI-MORAES F., DA COSTA A.R.B., MAIA D., MONTEIRO A.L.G. & VAN WYK J.A. Sensitivity and specificity of the FAMACHA in Suffolk sheep and crossbred Boer goats. **Veterinary Parasitology**. v. 190, p.114-119, 2012.

THRUSFIELD M.V. **Veterinary Epidemiology**. 3rd ed. Blackwell, Cambridge, UK. 610p.

VAN WYK J.A. & BATH G.F. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research**. v. 33, p. 509-529, 2002.

VAN WYK, J.A. & MAYHEW E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide, Onderstepoort. **Journal of Veterinary Research**. v. 80, p.14, 2013.

VATTA A.F., LETTY B.A., VAN DER LINDE M., VAN WIJK E.F., HANSEN, J.W. & KRECEK R.C. Testing for clinical anaemia caused by *Haemonchus* spp. in goats farmed under resource-poor conditions in South Africa using an eye colour chart developed for sheep. **Veterinary Parasitology**. v. 99, p.1-14, 2001.

VERÍSSIMO C.J., NICIURA S.C.M., ALBERTI A.L.L., RODRIGUES C.F.C., BARBOSA C.F.C., CHIEBAO D.P., CARDOSO D., SILVA G.S., PEREIRA J.R., MARGATHO L.F.F., COSTA R.L.D., NARDON R.F., UENO T.E.H., CURCI V.C.L.M. & MOLENTO M.B. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 187, p. 209-216, 2012.

WAGHORN T.S., LEATHWICK D.M., RHODES A.P., LAWRENCE K.E., JACKSON R., POMROY W.E., WEST D.M. & MOFFAT J.R. Prevalence of anthelmintic resistance on sheep farms in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**. v. 54, p. 271-277, 2006.

4 PRODUTIVIDADE ANIMAL E CONDIÇÃO SANITÁRIA DE CORDEIROS TERMINADOS EM PASTAGEM DE VERÃO SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS DE CONTROLE DE PARASITAS GASTRINTESTINAIS

RESUMO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a produtividade animal e a condição sanitária de cordeiros submetidos a três programas para controle de endoparasitas: (T1) tratamento preventivo a cada 28 dias; (T2) tratamento após contagem de ovos por grama de fezes (OPG) igual ou superior a 700 e (T3) tratamento seletivo pelo método FAMACHA (FMC). Os cordeiros foram mantidos com suas mães em pastagem de verão (Tifton-85) até o abate e avaliados a cada 14 dias para as variáveis: ganho médio diário (GMD), OPG e FMC. Os cordeiros foram avaliados até atingirem, em média, 30 kg de peso vivo. Antes do abate, procedeu-se a avaliação da condição corporal dos cordeiros e após o abate, a avaliação das características de carcaça. A pastagem foi caracterizada pela altura, massa de forragem e componentes morfológicos. Foi realizada a coprocultura para determinação dos principais parasitas. Ao final do período experimental obteve-se o número total de aplicações de anti-helmíntico por cordeiro. As características da pastagem não diferiram ($P>0,05$) entre os programas de controle de endoparasitas. Entre os gêneros observados nas coproculturas, *Haemonchus contortus* (61,5%) e *Ostertagia* sp. (21,3%) foram os mais prevalentes. Os programas seletivos, OPG e FMC, permitiram a obtenção de desempenho individual e por área semelhante ($P>0,05$) ao dos animais submetidos ao tratamento preventivo a cada 28 dias. As características das carcaças (peso, rendimento e deposição de gordura) também não diferiram ($P>0,05$) entre os animais submetidos aos três programas para controle de endoparasitas. Portanto, os métodos seletivos, OPG e FMC, podem ser indicados para o controle de endoparasitas para cordeiros não desmamados terminados em pastagem de verão, em substituição ao método preventivo de tratamento a cada 28 dias, sem prejuízos na produtividade animal e características da carcaça.

Palavras-chave: FAMACHA, produtividade por área, *Haemonchus contortus*, OPG, tratamento preventivo, ovinos.

ANIMAL PRODUCTIVITY AND HEALTH STATUS OF LAMBS FINISHED IN SUMMER PASTURES SUBMITTED TO THREE CONTROL PROGRAMS OF GASTROINTESTINAL ENDOPARASITES

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the animal productivity and health status of lambs submitted to three programs of endoparasites control: (T1) preventive treatment every 28 days; (T2) treatment after eggs count per gram feces (EPG) equal to or higher than 700; (T3) selective treatment FAMACHA method (FMC). The lambs (n=42) were kept with the ewes in summer pastures (Tifton-85) until slaughter (30 kg) and evaluated every 14 days for the values of: average daily gain (ADG), EPG and FMC. Before slaughter, the body condition of the lambs was evaluated and after slaughter the carcass characteristics were assessed. The pasture was characterized by height, herbage mass and morphological components. The stool culture was performed to determine the main parasites presents. At the end of the experiment, the number of anthelmintic applications was calculated per lamb. Grazing characteristics did not differ ($P>0.05$) among endoparasites control programs. Between genders observed in stool cultures, *Haemonchus contortus* (61.5%) and *Ostertagia* sp. (21.3%) were the most prevalent. The implementation of selective programs, EPG and FMC, to control of endoparasites for lambs finished in pasture allowed to obtained similar productive ($P>0.05$) individual and per area when compared to preventive treatment every 28 days. The carcass traits (weight, yield and fat deposition) also did not differ ($P>0.05$) among the programs. Therefore, selective methods, EPG and FMC, may be applied to endoparasites control in suckling lambs finished in summer pasture, replacing the preventive method of treatment every 28 days without losses in animal productivity and carcass characteristics.

Keywords: FAMACHA, productivity per area, *Haemonchus contortus*, EPG, preventive treatment, sheep.

4.1 INTRODUÇÃO

Os avanços na produção animal a pasto no Brasil vêm sendo acompanhados pelos progressos nos estudos sobre crescimento e utilização de forragens (POLI, *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2009; DA SILVA, *et al.*, 2012). O desempenho animal está diretamente relacionado com a ingestão de matéria seca, qualidade da forragem, do potencial genético e a condição sanitária do animal. Em geral, os sistemas de produção de ovinos em pastagens têm apresentado valores muito heterogênicos, desde variações de peso corporal negativas (CARNEVALLI *et al.*, 2001) até ganhos superiores a 200 g/ animal/ dia (RIBEIRO *et al.*, 2009; POLI *et al.*, 2008).

Essa amplitude na variação do desempenho animal, além da influência da qualidade e disponibilidade de alimento, pode estar relacionada com as altas infecções de helmintos nos animais e altas taxas de larvas nas pastagens, acarretando grande desafio aos animais jovens. Isso porque as pastagens proporcionam condições favoráveis de temperatura, umidade e proteção contra radiação intensa, fatores estes essenciais para desenvolvimento do parasita até sua forma infectante, contribuindo assim para a infestação da pastagem e, conseqüentemente, aumento das infecções nos animais (AMARANTE e BARBOSA, 1995; VIEIRA e CAVALCANTE, 1999). O microambiente da pastagem tem papel fundamental na incidência de endoparasitas nos animais de produção, pois 95% ou mais da população parasitária encontra-se no ambiente e apenas 5% ou menos, nos animais (BOWMAN *et al.*, 2003).

Com o objetivo de reduzir as infecções parasitárias em animais produzidos a pasto, algumas práticas de manejo podem ser adotadas com objetivo de monitorar e controlar as infecções de nematódeos nos ovinos. Tradicionalmente, as estratégias para controle dos nematoides gastrintestinais têm envolvido o uso de anti-helmínticos em intervalos fixos e curtos (a cada 15, 30 ou 45 dias) e com alta taxa de substituição ou durante o pico de transmissão das larvas, o verão (GONZÁLEZ-GARDUÑO *et al.*, 2014). Muitas vezes, esse esquema de tratamento preventivo é feito com pouco conhecimento epidemiológico do parasita. Como consequência, tem sido observada alta

pressão de seleção de populações de parasitas resistentes com alto índice de homozigose (RR) e perda total de heterogenia para indivíduos suscetíveis (SS) (FORTES e MOLENTO, 2013). Em algumas propriedades brasileiras, a resistência atingiu níveis insustentáveis, nas quais nenhum princípio ativo é capaz de controlar os endoparasitas (VERÍSSIMO *et al.*, 2012).

Essa situação pode apresentar reflexos negativos na produção de cordeiros em pastagem, por ser a categoria mais susceptível aos parasitas gastrintestinais. Poucos são os artigos que avaliaram diferentes condições sanitárias em cordeiros, com a contagem de ovos por grama de fezes (OPG) e o método FAMACHA. Dentro desse contexto, objetivou-se avaliar a produtividade animal e a condição sanitária em sistema de terminação de cordeiros não desmamados e produzidos em pastagem de verão, submetidos à dois programas seletivos (OPG e FAMACHA) e um preventivo (tratamento a cada 28 dias).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC), da Fazenda Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizada na região metropolitana de Curitiba (Pinhais), Paraná, Brasil, entre janeiro a maio de 2012. O clima é do tipo Cfb, classificação de Köppen, que corresponde ao clima subtropical úmido (mesotérmico). As condições meteorológicas durante o período experimental são apresentadas na Figura 4.1.

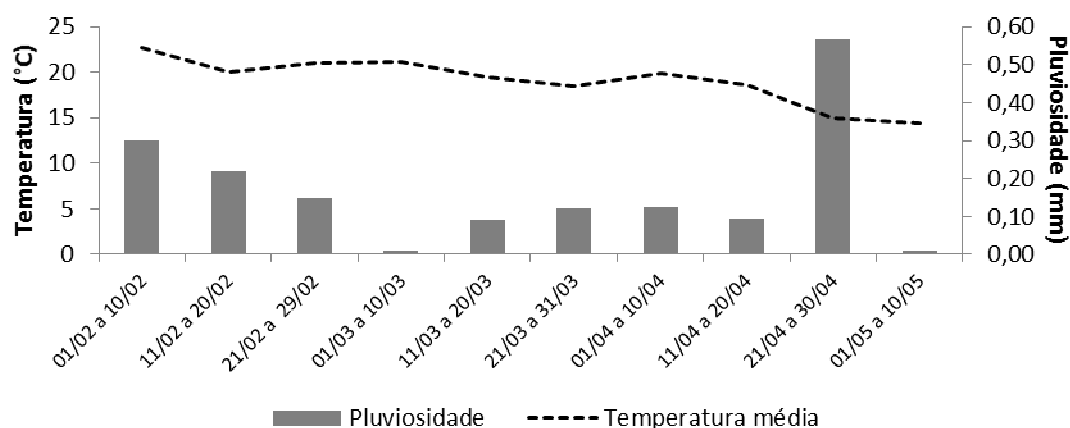


FIGURA 4.1 – PLUVIOSIDADE (mm) E TEMPERATURA MÉDIA (°C) DURANTE O PERÍODO EXPERIMENTAL, COLOMBO, PR, BRASIL.
 FONTE: SIMEPAR (2012)

Todas as avaliações e manejos envolvendo os animais foram realizados de acordo com as normas éticas e aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Protocolo No. 055/2011; ANEXO 1).

O experimento foi estabelecido em área de 1,8 ha, dividida em 9 piquetes de 0,2 ha de pastagem de Tifton-85 (*Cynodon* sp.). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com três tratamentos (métodos de controle de endoparasitas) e três repetições (piquetes por tratamento), sendo avaliados 14 cordeiros da raça Suffolk, por método de controle. Os animais foram distribuídos nos blocos no início do experimento, de acordo com o sexo (macho não castrado e fêmea) e o tipo de parto (simples ou duplo) e de forma homogênea, de acordo com o peso e idade. Foram avaliados 42 cordeiros lactentes e 35 ovelhas na fase de lactação. O grupo dos cordeiros foi composto por 20 machos não castrados e 22 fêmeas, provenientes de partos simples ou duplo, distribuídos nos blocos da seguinte forma: bloco um, fêmeas de parto simples; bloco dois, machos de parto simples e bloco três, animais provenientes de parto duplo (machos e fêmeas). Os cordeiros foram distribuídos em três programas para controle de endoparasitas para pequenos ruminantes: tratamento preventivo a cada 28 dias (TrP); tratamento após contagem de ovos por grama de fezes (OPG) igual ou superior a 700 e tratamento seletivo pelo método FAMACHA (BATH *et al.*, 1996). O OPG

estabelecido como limite nesse estudo (≥ 700) é classificado, segundo Ueno e Gonçalves (1998), como sendo uma infecção leve (de 500 a 800 OPG).

O período experimental teve início quando os cordeiros apresentaram em média 18,9 kg de peso corporal e 42 dias de idade e suas mães 59,6 kg e 3,5 anos.

Após o nascimento, os cordeiros foram pesados, identificados e mantidos com suas mães em aprisco suspenso. A partir de três semanas de idade até o início do período experimental, os animais tiveram acesso a pastagem de Tifton-85. Uma semana antes do início das avaliações, os animais foram adaptados à cerca elétrica e ao ambiente da pastagem.

4.2.1 Manejo da Pastagem

O método de utilização da pastagem foi o sistema de pastejo contínuo, com taxa de lotação variável, mantendo-se os animais testes nos piquetes e utilizando-se animais reguladores para ajustar a lotação, de acordo com a técnica *put and take*. Os ajustes foram realizados a cada 14 dias com base na altura média da pastagem, mantendo-se a mesma aproximadamente em 15 cm, conforme descrito por Carvalho (2004). A altura foi medida com o *sward-stick*, conforme Barthram (1986), sendo amostrados 60 pontos por piquete.

Para determinação da massa de forragem e composição morfológica da pastagem, foram colhidas três amostras de forragem por piquete, com auxílio de um círculo de ferro de 0,1 m². De cada amostra foram retiradas sub-amostras de, aproximadamente, 50 g para fracionamento em lâmina foliar, colmo + bainha e material morto. Todas as frações foram submetidas à secagem em estufa por 48 h a 65 °C até peso constante e, posteriormente, pesadas em balança com precisão de 0,01 g. A massa seca dessas frações foi utilizada para cálculo da massa de forragem (MF), da massa de lâminas foliares (LF), da massa de colmos + bainhas (CB) e da massa de material morto (MM) e outras espécies (OE), que foram expressas em kg (MS/ha).

A taxa de acúmulo de MS, de 96 kg de MS/ha/dia, foi estimada a partir de experimentos realizados em anos anteriores, na mesma área e com a

mesma pastagem. A produção de forragem de cada período foi obtida pela multiplicação da taxa de acúmulo estimada pelo número de dias do período, de acordo com Campbell (1966).

4.2.2 Programas para Controle de Endoparasitas

A partir do início do experimento (dia zero) e em intervalos de 28 dias, todos os animais submetidos ao tratamento preventivo (T1) foram tratados com associação anti-helmíntica de moxidectin (Cydectin® - 1 mL/ 50kg de PV) e nitroxinil (Dovenix® - 1,5 mL/ 50kg de PV). A escolha da associação foi realizada com base no teste de redução na contagem de ovos por grama de fezes realizado no rebanho em outubro de 2011 (TABELA 4.1).

TABELA 4.1 - RESULTADO DO TESTE DE REDUÇÃO DE OVOS POR GRAMA DE FEZES REALIZADO NO REBANHO OVINO DA UFPR PARA PRINCÍPIOS ATIVOS DISPONÍVEIS NO BRASIL EM OUTUBRO DE 2011.

PRINCÍPIO ATIVO	TESTE DE REDUÇÃO DE OPG
Abamectina 1% (0,2 mg/ kg)	24%
Albendazol (3,8 mg/kg)	53%
Closantel (10 mg/kg)	81%
Ivermectina (0,2 mg/ kg)	21%
Levamisol (5 mg/kg)	80%
Moxidectina 1% (0,2 mg/ kg)	65%
Nitroxinil (13 mg/ kg)	83%
Moxidectina + Nitroxinil	89%

FONTE: o autor, dados não publicados

No grupo controlado por OPG, as coletas de fezes, feitas diretamente da ampola retal, foram realizadas em intervalos de 14 dias. A contagem de OPG de estrongilídeos foi realizada pela técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939). Os animais que apresentaram OPG igual ou superior a 700 foram tratados com a mesma associação de anti-helmínticos descrita acima.

As avaliações pelo método FMC também foram realizadas em intervalos de 14 dias, sempre pelos mesmos três avaliadores, treinados de

acordo com Van Wyk e Bath (2002) para comparar a coloração da conjuntiva (BATH *et al.*, 2001). Os cordeiros submetidos ao programa de controle de endoparasitas por esse método e que apresentavam média dos três avaliadores maior ou igual a 3, foram tratados com a mesma associação de anti-helmínticos.

A aplicação dos anti-helmínticos foi realizada no mesmo dia da pesagem dos animais e a dose calculada com base no peso individual. Em cada avaliação, as fezes de todos os animais constituíram um pool de fezes para realização da coprocultura para obtenção de larvas (ROBERTS e O'SULLIVAN, 1950). A identificação das larvas infectantes (L3) foi realizada de acordo com Van Wyck e Mayhew (2013).

4.2.3 Avaliações da Produtividade Animal

Os cordeiros foram pesados a cada 14 dias, após jejum sólido de 16 horas, para determinação do ganho médio diário (GMD). Os animais foram avaliados até atingirem o peso de abate de 32-34 kg após jejum de 16 h, respeitando o tempo mínimo de 28 dias de carência do anti-helmíntico, período este desde a última aplicação do anti-helmíntico até o abate. Os animais que não atingiram o peso de abate foram avaliados até 05/04/2012 (última data de aplicação dos anti-helmínticos). Os abates desses animais foram realizados entre o dia 03 e 05/05/12, com 28 a 30 dias de carência.

Antes do abate, os cordeiros foram pesados (PA) e avaliados subjetivamente quanto à condição corporal, com utilização de uma escala de cinco pontos, fracionada em 0,5, sendo um para o animal excessivamente magro e cinco para o excessivamente gordo (RUSSEL *et al.*, 1969).

O procedimento para o abate consistiu na insensibilização dos animais por eletronarcolese, com descarga elétrica de 220 V por oito segundos, seguida pela sangria, realizada pela secção das veias jugulares e artérias carótidas. Posteriormente, procedeu-se a esfolagem e a evisceração dos cordeiros. Após a toaleta, as carcaças foram pesadas para registrar o peso da carcaça quente (PCQ), penduradas pelas articulações tarso-metatarsianas em ganchos com

abertura de 17 cm, resfriadas em câmara fria a 5 °C por 24 h, e novamente pesadas para obtenção do peso da carcaça fria (PCF). Por meio de cálculos, foram determinados os rendimentos de carcaça quente ($RCQ = (PCQ/PA) \times 100$) e fria ou comercial ($RCF = (PCF/PA) \times 100$), e as perdas por resfriamento ($PR = [(PCQ-PCF)/ PCQ] \times 100$). Após o resfriamento, as carcaças foram seccionadas (cerca de 3 cm) entre a última vértebra torácica e a primeira lombar, e a espessura da gordura subcutânea (EG) foi mensurada com auxílio de um paquímetro digital.

O ganho de PV por área foi calculado multiplicando-se o ganho médio diário individual dos animais testes pela lotação média de animais por unidade de área (número de animais/ha), durante o período experimental. O número de animais por hectare foi calculado considerando-se cordeiros com 25 kg de PV e ovelhas com 65 kg de PV, determinados com base nos pesos médios dos animais.

4.2.4 Análise estatística

As variáveis foram submetidas à análise de variância pelo modelo linear geral (GLM) para experimentos em blocos ao acaso e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o programa SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM, 2001).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Coprocultura

Durante o período de avaliação, os gêneros de helmintos identificados nas coproculturas dos cordeiros e ovelhas foram o *Haemonchus* sp., a *Ostertagia* sp., a *Cooperia* sp. e o *Trichostrongylus* sp. (TABELA 4.2). Entre os

gêneros observados, o *Haemonchus* sp. (61,5%) e a *Ostertagia* sp. (21,3%) foram os mais prevalentes durante todo o período. Estes resultados estão de acordo com estudos realizados no Brasil na última década (MOLENTO *et al.*, 2004; ROSALINSKI-MORAES *et al.*, 2012; VERÍSSIMO *et al.*, 2012). O monitoramento por coproculturas a cada 6-8 semanas, a fim de verificar se o *H. contortus* é o principal parasita é fundamental para aplicação do método seletivo FMC (BATH *et al.*, 2001). A eficácia do método é maior quando a prevalência de *H. contortus* representar pelo menos 60% das espécies de helmintos, pois esse é o principal parasita que causa anemia nos pequenos ruminantes (BATH e VAN WYK, 2009).

TABELA 4.2 - PERCENTUAL (%) DOS GÊNEROS DE NEMATÓDEOS OBSERVADOS NAS COPROCULTURAS DE CORDEIROS LACTENTES E OVELHAS DURANTE A FASE DE LACTAÇÃO, PINHAIS, PR, BRASIL

Gênero	Mês de Avaliação (2012)					Média
	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maio	
<i>Haemonchus</i> spp.	74,6%	66,0%	59,6%	35,0%	72,2%	61,5%
<i>Ostertagia</i> spp.	13,0%	19,3%	27,0%	33,0%	15,5%	21,5%
<i>Cooperia</i> spp.	8,7%	6,6%	5,1%	8,0%	2,3%	6,1%
<i>Trichostrongylus</i> sp.	3,7%	8,1%	8,3%	24,0%	10,0%	10,9%

FONTE: O autor (2015)

4.3.2 Características da Pastagem

Durante o período experimental, atingiu-se o objetivo de não permitir diferenças quanto à pastagem entre os sistemas (TABELA 4.3). Carvalho (2004) recomenda que, nas condições do Sul do Brasil, seja mantida massa de forragem de 2.500 a 3.000 kg MS/ha para animais em crescimento em pastagens prostadas de verão. Na Tabela 4.3, observa-se que a pastagem apresentou-se homogênea entre os três tratamentos, com massa de forragem dentro dos padrões pretendidos para as categorias animais utilizadas no experimento. A massa de forragem média nos piquetes, para os três programas de controle de endoparasitas, foi de 3.857 kg de MS/ ha.

Contudo, devido à baixa pluviosidade (SIMEPAR, 2012 – FIGURA 4.1) associada à redução na produtividade da pastagem de Tifton-85 na época do outono, a partir da metade do mês de março houve acentuada redução na altura da pastagem (FIGURA 4.2), redução na quantidade de folhas (410 kg de MS/ ha; 11% da massa de forragem) e da relação folha: colmo (0,3) e aumento do percentual de material morto (2020 kg de MS/ha; 46% da massa de forragem).

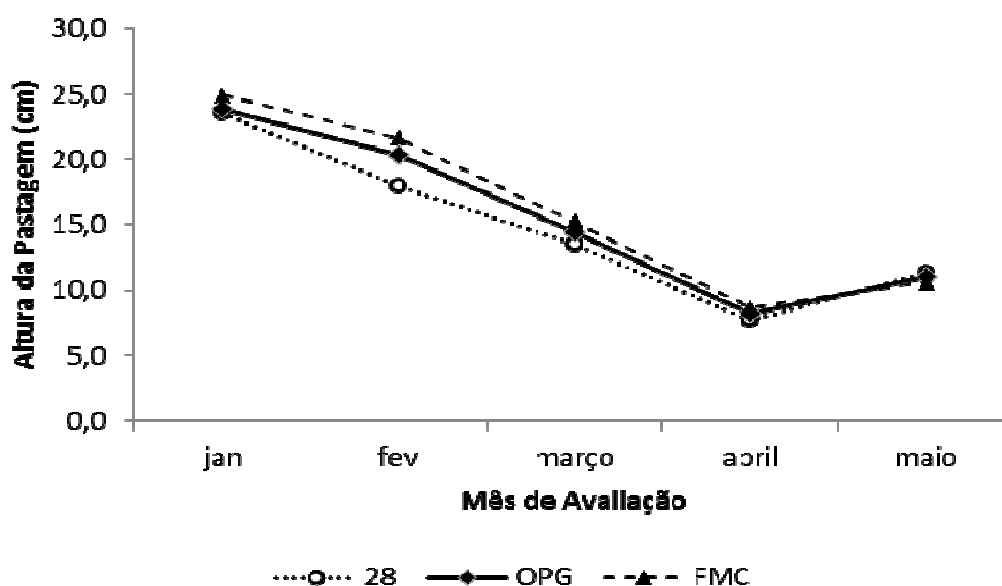


FIGURA 4.2 - ALTURA MÉDIA DA PASTAGEM DE TIFTON-85 (*Cynodon spp.*) DOS PIQUETES DE CORDEIROS TERMINADOS SEM DESMAME E SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS: TRP= TRATAMENTO PREVENTIVO A CADA 28 DIAS; OPG= CONTAGEM DE OVOS POR GRAMA DE FEZES ≥ 700 ; FMC= MÉTODO SELETIVO FAMACHA (3,4, OU 5).
FONTE: O autor (2015)

TABELA 4.3 – MÉDIAS E ERRO-PADRÃO PARA ALTURA, MASSA DE FORRAGEM (MF), LÂMINAS FOLIARES (LF), COLMO E BAINHA (CB), MATERIAL MORTO (MM) E RELAÇÃO FOLHA:COLMO (F:C) DA PASTAGEM DE TIFTON-85 DE ACORDO COM O PROGRAMA PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS EM CORDEIROS.

Variável	PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS			Valor de P
	TrP*	OPG	FMC	
Altura (cm)	16,0 ± 1,2	16,8 ± 1,3	17,6 ± 1,3	0,3892
MF (kg de MS/ha)	3.670,9 ± 303,5	3.957,4 ± 316,9	4.079,9 ± 279,7	0,4904
LF (kg de MS/ha)	899,3 ± 135,9	751,1 ± 105,8	802,5 ± 107,4	0,3920
CB (kg de MS/ha)	1.279,9 ± 199,6	1.441,3 ± 173,9	1.540 ± 123,3	0,9780
MM (kg de MS/ha)	1.230,4 ± 197,6	1.280,71 ± 180,2	1.435,9 ± 213,6	0,3027
Relação F:C	0,88 ± 0,11	0,61 ± 0,07	0,60 ± 0,07	0,4632

FONTE: O autor (2015)

NOTA: *TrP= tratamento preventivo a cada 28 dias; OPG= contagem de ovos por grama de fezes ≥ 700; FMC = método seletivo FAMACHA (3, 4 ou 5).

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

4.3.3 Condição Sanitária dos Animais

A dinâmica das oscilações observadas nos valores médios de OPG por avaliação (FIGURA 4.3) indica que o monitoramento dos cordeiros durante o verão deve ser intenso, pois as condições de infecção são contínuas. Animais com características de elevado ganho em peso e terminação precoce são geralmente mais susceptíveis à infecção parasitária, como é o caso da raça Suffolk (AMARANTE *et al.*, 2004). Além da raça, a idade dos animais utilizados no presente estudo, entre 42 e 140 dias, caracteriza-se por uma fase de alta suscetibilidade às endoparasitoses. COLDITZ *et al.* (1996) afirmam que essa suscetibilidade em animais jovens não está apenas relacionada com o fato desses indivíduos não terem sido suficientemente desafiados com os patógenos para desenvolver sua imunidade, mas sim, devido às baixas proporções de linfócitos CD4+ e CD8+, quando comparados com animais adultos. Essa deficiência no mecanismo imunológico reflete na resposta humoral e mediada por células na resiliência aos parasitas.

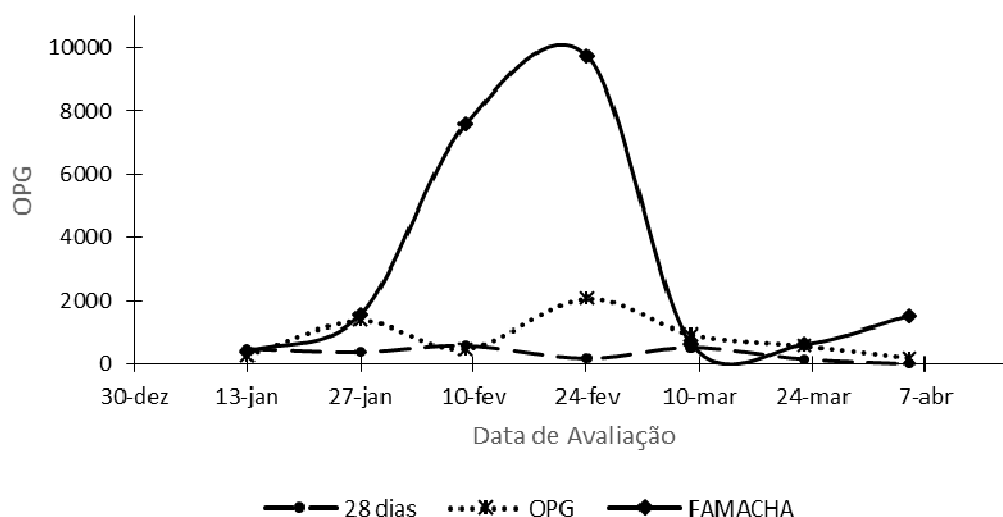


FIGURA 4.3 - CONTAGEM DE OVOS POR GRAMA DE FEZES (OPG) DE CORDEIROS TERMINADOS EM PASTAGEM DE VERÃO SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS: TRATAMENTO PREVENTIVO A CADA 28 DIAS; OPG $\geq$ 700 E MÉTODO FAMACHA (3, 4 E 5).
FONTE: O autor (2015)

No presente estudo, três fatores podem ter contribuído para o aumento no desafio dos cordeiros frente às endoparasitoses, evidenciado pelas altas contagens de OPG (FIGURA 4.3) ao longo de todas as avaliações. O primeiro fato é que o sistema utilizado teve como base a pastagem, o que proporciona um ambiente favorável ao desenvolvimento das larvas até a forma infectante (L3) e sua sobrevivência. O segundo fato está correlacionado à redução na altura da pastagem (FIGURA 4.2) e consequentemente, da oferta de forragem, que aumenta a chance de ingestão de L3 durante o pastejo, pois a distribuição vertical das larvas predomina em estratos de 5 cm em relação ao solo, sendo que a quantidade de larvas diminui consideravelmente em estratos com 10 a 15 cm do solo (PELLEGRINI *et al.*, 2011). Portanto, com a redução da oferta de forragem, pode ocorrer maior ingestão de larvas L3 por kg de matéria seca de forragem. O último fator, é que quando os cordeiros chegavam próximo ao peso de abate (entre 29-30 kg), não eram mais dosificados com o anti-helmíntico com o objetivo de respeitar o tempo de carência de 28 dias, mesmo que apresentassem um dos parâmetros utilizados para determinar o tratamento (OPG $\geq$ 700 ou FMC 3, 4 e 5).

A redução no percentual do gênero *Haemonchus* sp. e aumento no de *Ostertagia* sp. e *Trichostrongylus* sp. (TABELA 4.2) podem ter influenciado no desempenho dos animais no controle por FMC (118 g/dia) pois o método controla apenas helmintos hematófagos. Este fato demonstra a necessidade de implantação de outros parâmetros para diagnóstico de animais com elevada carga parasitária durante os períodos de redução do gênero *Haemonchus* sp.. Uma vez que a diarreia e o emagrecimento são considerados sinais clínicos frequentes e causas de perdas produtivas em animais parasitados por estrongilídeos (TAYLOR *et al.*, 2010), estes podem ser utilizados como parâmetros associados ao método FMC na decisão de tratar ou não um animal, para aumentar sua acurácia.

Siqueira *et al.* (1993) relataram média de 16% de mortalidade por endoparasitoses para cordeiros recriados em pastagem no Estado de São Paulo. Ribeiro *et al.* (2009) também verificaram em Curitiba, PR, elevada mortalidade (20%) por intensa anemia nos cordeiros recriados em pastagem de inverno (azevém), ocasionada pela alta infecção parasitária. No presente estudo, independentemente do método de controle de endoparasita, não houve óbito de cordeiros.

Os métodos seletivos de controle, OPG e FMC, e preventivo não apresentaram diferença ($P > 0,05$) em relação ao número de aplicações de anti-helmíntico durante o período experimental de 4 meses (TABELA 4.4). Estudos em várias regiões do mundo observaram redução no número de aplicações de anti-helmíntico quando a decisão foi baseada no OPG (LEATHWICK *et al.*, 2006; CRINGOLI *et al.*, 2009; GALLIDIS *et al.*, 2009; GABA *et al.*, 2010) ou FMC (DEPNER *et al.*, 2007; EJLERTSEN *et al.*, 2006; MOLENTO, 2009). O número de aplicações de anti-helmínticos por cordeiros foi, em média de: 3,0 aplicações para o tratamento preventivo, 2,9 para o programa por OPG e 2,4 para o método FMC. Entretanto, a distribuição do percentual de animais que não receberam nenhum tratamento com anti-helmíntico com os que receberam até seis aplicações (FIGURA 4.4), apresenta diferenças entre os métodos. No método FMC, 17% dos animais não receberam nenhuma dose de anti-helmíntico durante todo o período experimental. Esse método permite a seleção intra-rebanho de animais tolerantes que recebem menos anti-

helmíntico e consequentemente contaminam menos o ambiente com resíduos de fármacos e apresentam baixo risco de resíduos nos seus subprodutos.

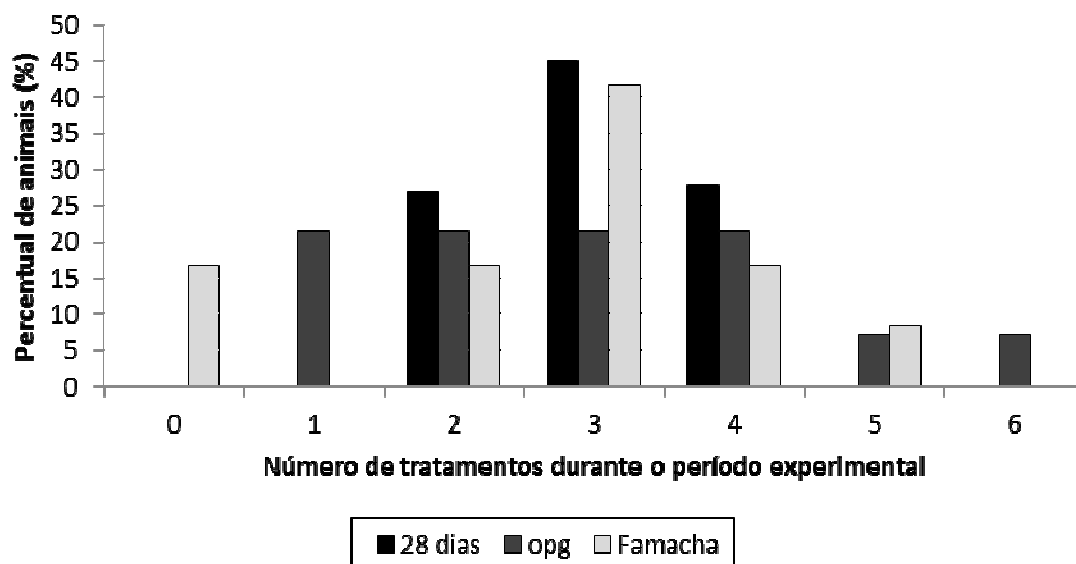


FIGURA 4.4 – PERCENTUAL DE CORDEIROS QUE RECEBERAM DE ZERO A SEIS APLICAÇÕES DE ANTIHELMÍNTICO DE ACORDO COM O MÉTODO DE CONTROLE DE ENDOPARASITAS: TRATAMENTO PREVENTIVO A CADA 28 DIAS; OPG $\geq$ 700 E MÉTODO FAMACHA (3, 4 E 5).
FONTE: O autor (2015)

TABELA 4.4 - LEVANTAMENTO DE CUSTOS COM APLICAÇÕES DE ANTI-HELMÍNTICAS POR PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS, CONSIDERANDO UM MODELO DE PRODUÇÃO COM 600 CORDEIROS.

VARIÁVEL	PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS		
	TRP*	OPG	FMC
Número médio de aplicações por animal	3,0	2,9	2,4
Custo/ cordeiro (R\$)	1,29	1,247	1,032
Custo Total (R\$)	774,0	748,2	619,2

FONTE: O autor (2015)

NOTA: *TrP= tratamento preventivo a cada 28 dias; OPG= contagem de ovos por grama de fezes $\geq$ 700; FMC = método seletivo FAMACHA (3, 4 ou 5)

*Foi considerado o valor de R\$ 0,43 por aplicação e peso médio de 25 kg por cordeiro.

Quanto menor é o OPG estabelecido para determinar se um animal deve ou não receber o tratamento, maior será o número de aplicações de anti-helmíntico e consequentemente, maior será a pressão de seleção de parasitas resistentes ao princípio ativo. O OPG estabelecido como limite nesse estudo

(≥ 700) é classificado, segundo Ueno e Gonçalves (1998), como sendo uma infecção leve (de 500 a 800 OPG). Como observado, houve segurança na condição sanitária dos animais ao se adotar esse limite como padrão.

Para o método FMC, entre os fatores que podem ter elevado o número de tratamentos, estão os animais falsos positivos (animais não anêmicos com FMC 3, 4 ou 5), que representaram 20% dos animais tratados. O percentual de cordeiros falso positivos pode estar relacionado a dificuldade de análise da mucosa ocular devido a pequena área para avaliação (relato dos avaliadores do presente estudo) nos animais jovens. Apesar de muitos trabalhos utilizarem o método FMC como parâmetro para controle de endoparasitas, a sua aplicação em animais jovens e sua relação com o desempenho e características da carcaça ainda são pouco estudados (DEPNER *et al.*, 2007).

O levantamento de custos com aplicações anti-helmínticas (TABELA 4.4) foi realizado com base na cotação de preço no mês de junho de 2015 para os anti-helmínticos utilizados. O Nitroxinil (Dovenix) foi cotado em 0,38 R\$/ml e a Moxidectina (Cydectin) em 0,29 R\$/ mL. Considerando o peso médio de 25 kg por cordeiro e a dose de 1,5 mL/50 kg do Nitroxinil e 1 mL/50 kg da Moxidectina, o custo por aplicação por animal foi R\$ 0,43 (R\$ 0,285 + R\$ 0,145). O custo total com anti-helmínticos por método de controle de endoparasitas foi calculado para um modelo de produção de 600 cordeiros de acordo com as recomendações de Barros *et al.* (2009)

Segundo Barros *et al.* (2009), os gastos com anti-helmíntico devem ser considerados no sistema de produção de cordeiros, uma vez que a elevação dessa despesa aumenta o custo de produção, podendo estar relacionado em maior ou menor lucratividade do sistema. A decisão de tratar os animais pelo método seletivo FMC (R\$1,29/ animal) promoveu redução de 20% no custo do tratamento com anti-helmíntico em relação ao tratamento preventivo e 17% em relação ao controle por OPG.

4.3.4 Produtividade Animal

Os pesos dos cordeiros no início do experimento e ao abate não diferiram ($P>0,05$) entre os programas para controle de endoparasitas (TABELA 4.5). A homogeneidade e a baixa variação (baixos valores de EP) destas variáveis foram determinadas pelo controle rigoroso dos pesos individuais dos animais no início do experimento. O peso médio dos cordeiros ao abate foi 29,6 kg, abaixo do pré-estabelecido no início do período experimental, entre 32-34 kg. Essa redução no peso médio de abate ocorreu porque 35% dos animais não atingiram o peso de abate.

Houve efeito ($P<0,05$) de bloco (sexo e tipo de parto) sobre o desempenho (GMD e idade de abate) e as características da carcaça estudadas. Cordeiros e cordeiras provenientes de parto simples apresentaram desempenho produtivo superior ($P<0,05$) ao de parto duplo. O menor desempenho produtivo dos animais de parto duplo pode estar associado ao menor consumo de leite (SILVA, 2000; SNOWDER E GLIMP, 1991), que além de compor a dieta como fonte de nutrientes, auxilia na recomposição dos danos ocasionados pelo parasitismo.

O controle de parasitas gastrintestinais por meio dos tratamentos seletivos, OPG ou FMC, ou preventivo (a cada 28 dias) não influenciaram ($P>0,05$) as variáveis: ganho médio diário; idade de abate; escore corporal ao abate; peso e rendimento de carcaça quente e fria; perda por resfriamento e espessura de gordura de cobertura (TABELA 4.5). A semelhança entre os programas demonstra que o controle de endoparasitas de cordeiros terminados em pastagem sem desmame por métodos seletivos, OPG ou FMC, não interfere no desempenho e características da carcaça. Depner *et al.* (2007) também não observaram efeito ($P>0,05$) do método de controle (FMC ou preventivo a cada 30 dias) sobre o desempenho (ganho médio diário e total) de cordeiras Ille de France com quatro meses de idade, acompanhadas até os oito meses.

TABELA 4.5 - MÉDIAS E ERRO PADRÃO ($M \pm EP$) PARA DESEMPENHO E CARACTERÍSTICAS DA CARÇA DE CORDEIROS TERMINADOS EM PASTAGEM DE TIFTON-85, SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS DE CONTROLE DE ENDOPARASITAS.

VARIÁVEL	PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS			VALOR DE P
	TRP*	OPG	FMC	
Peso Inicial (kg)	19,1 $\pm$ 1,3	18,6 $\pm$ 1,1	19,2 $\pm$ 1,3	0,9896
Idade de Inicial (dias)	45 $\pm$ 3	41 $\pm$ 2	40 $\pm$ 3	0,5384
Peso de Abate (kg)	30,9 $\pm$ 1,3	29,7 $\pm$ 1,4	28,4 $\pm$ 1,2	0,0917
Idade de Abate (dias)	135 $\pm$ 5	130 $\pm$ 6	139 $\pm$ 6	0,1393
Ganho médio diário (g/ dia)	138 $\pm$ 13	142 $\pm$ 20	118 $\pm$ 13	0,1286
Escore corporal ao abate	2,8 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,1	2,6 $\pm$ 0,1	0,8596
Peso de Carça Quente (kg)	13,5 $\pm$ 0,8	13,4 $\pm$ 0,9	12,6 $\pm$ 0,8	0,0684
Peso de Carça Fria (kg)	13,2 $\pm$ 0,8	13,0 $\pm$ 0,9	12,3 $\pm$ 0,8	0,0685
Rendimento de Carça Quente (%)	43,5 $\pm$ 1,2	44,7 $\pm$ 1,3	42,7 $\pm$ 1,2	0,0687
Rendimento de Carça Fria (%)	42,5 $\pm$ 1,2	43,5 $\pm$ 1,3	41,6 $\pm$ 1,2	0,0742
Perda por resfriamento (%)	2,3 $\pm$ 0,1	2,3 $\pm$ 0,1	2,5 $\pm$ 0,1	0,2170
Espessura de Gordura (mm)	3,16 $\pm$ 0,52	2,66 $\pm$ 0,42	2,27 $\pm$ 0,48	0,304

FONTE: o autor (2015)

NOTA: *TrP= tratamento preventivo a cada 28 dias; OPG= contagem de ovos por grama de fezes $\geq$ 700; FMC = método seletivo FAMACHA (3, 4 ou 5)

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

Esses resultados demonstram que o método FMC, apesar de representar um desafio parasitário aos cordeiros, pois a decisão de tratar ou não com anti-helmíntico considera como parâmetro o limite entre um animal saudável e anêmico, não afetou o desempenho e as características das carças dos cordeiros. O programa de controle por meio da contagem de OPG também demonstrou ser uma alternativa conveniente em substituição ao manejo tradicional preventivo. A desvantagem da OPG em relação ao método seletivo FMC é que este requer certo tempo para análise das amostras, pessoal treinado, equipamento e a análise das fezes de todos os animais para que a decisão de administração do anti-helmíntico seja realizada de forma seletiva.

Segundo Molento *et al.* (2004), os bons índices produtivos obtidos nos animais submetidos aos tratamentos frequentes dão a falsa impressão benéfica em curto prazo. Entretanto, quanto maior a frequência e menor o período de intervalo, maior será a exposição e pressão de seleção de parasitas resistentes

e, conseqüentemente, redução da população refúgia. A seleção de parasitas resistentes à maioria dos princípios ativos existentes é resultado direto desse método de controle de endoparasitas (KAPLAN *et al.*, 2004; PAPADOPOULOS *et al.*, 2013; TORRES-ACOSTA *et al.*, 2012).

Independente do programa de controle de endoparasitas, os cordeiros do presente estudo apresentaram GMD inferior ao mínimo esperado para cordeiros mantidos em pastagem, que é de 200 g/dia, segundo Kenyon & Webby (2007). Silva *et al.* (2012) avaliaram cordeiros não desmamados mantidos terminados em pastagem de Tifton-85 sobressemeado com azevém e observaram GMD de 130 g/dia, estes próximos aos observados no presente estudo. Todavia, Poli *et al.* (2008) observaram ganho de 281 g/dia (Tifton-85) e Ribeiro *et al.* (2009), de 303 g/dia (azevém), para cordeiros com o mesmo padrão genético do presente estudo, terminados em pastagem sem desmame. Segundo Silva *et al.* (2012), os cordeiros não desmamados e terminados em pastagem com baixa qualidade nutricional são obrigados a realizar maior consumo dessa forragem para atender suas exigências nutricionais, implicando em competição com as mães pela forragem. No presente estudo, a redução na oferta de lâmina foliar e aumento no percentual de material morto na pastagem (TABELA 4.3) associado a alta infecção parasitária (FIGURA 4.3), podem ter comprometido o desempenho dos cordeiros.

As carcaças apresentaram rendimento médio de 43% para carcaça quente e 42% para carcaça fria. As semelhanças observadas com relação aos rendimentos de carcaça são dados importantes do ponto de vista de mercado, pois, de acordo com Carvalho *et al.* (2005), o menor rendimento de carcaça faz com que uma menor proporção de material comestível resultante do abate esteja disponível para o consumidor, o que poderia prejudicar o resultado final obtido pelo método de controle de endoparasitas utilizado.

Níveis semelhantes ($P>0,05$) de deposição de gordura (espessura de gordura no corte lombo - EG) foram verificados entre os cordeiros submetidos aos programas seletivos (OPG e FMC) ou preventivo de controle de endoparasitas. De acordo com Silva Sobrinho (2001), as carcaças ovinas são classificadas como magras (gordura ausente), com gordura escassa (1 a 2 mm), com gordura mediana (acima de 2 a 5 mm), com gordura uniforme (acima de 5 a 10 mm) e com gordura excessiva (acima de 10 mm). A gordura de

cobertura, se não for em excesso, contribui positivamente na qualidade de carcaça, além de protegê-la da desidratação, durante o resfriamento, evitando o escurecimento da superfície externa dos músculos (SAÑUDO, 2002). Segundo Luchiari Filho (2000), para evitar esses problemas, é necessário 2 a 3 mm de EG na carcaça. No presente trabalho, as carcaças apresentaram média de 2,4 mm de EG, classificada como mediana. Essa EG foi adequada para reduzir as perdas durante o processo de resfriamento das carcaças, que correspondeu a 2,4%, em média. Este valor é inferior aos níveis máximos de 3 a 4% considerados aceitáveis, segundo Almeida Júnior *et al.* (2004). Esse é um ponto positivo sob o aspecto econômico, pois indica baixa perda de peso por gotejamento durante o processo de resfriamento das carcaças.

Segundo Pereira Neto (2004), a avaliação da condição corporal ao abate é um bom indicador do grau de acabamento, e assim é recomendado o abate de cordeiros com condição corporal entre 3,0 e 3,5 para atender as exigências do mercado brasileiro. Os cordeiros apresentaram escore corporal médio ao abate de 2,7, ligeiramente inferior ao recomendado pelo mercado.

Nos sistemas de produção em pastagens, são muito importantes as informações sobre a produtividade animal por área (TABELA 4.6). Nenhuma das variáveis referentes a produtividade animal individual ou por área (ha) foram influenciadas pelos programas de controle de endoparasitas estudados. Portanto, tratar todos os animais em datas fixas (tratamento preventivo) não se justifica, uma vez que esse manejo não aumenta a carga animal (kg de PV por hectare), lotação (número de animais por hectare) ou variação do peso por hectare.

No presente estudo, a metodologia escolhida para calcular a carga animal por meio da massa de forragem total (considera a massa de forragem verde + massa de material morto) provavelmente induziu a elevação da estimativa em relação a disponibilidade real de forragem (massa de forragem verde). Silva *et al.* (2012), avaliaram cordeiros Suffolk não desmamados e sem suplementação em pastagem e encontraram carga animal total duas vezes menor do observado no presente estudo (705 kg), com lotação média de 9 cordeiros e 7 ovelhas. Fagundes *et al.* (2011) observaram carga animal média, no mês de fevereiro, em época próxima a do presente estudo, com média de 1453 kg/ha, para cordeiros terminados em pastagem de Tifton-85 com ganho

médio de 86 kg/ha/dia. Como consequência direta do aumento da lotação, observou-se redução na disponibilidade de oferta de lâmina foliar e provável, aumento da infestação da pastagem e, conseqüentemente, das infecções parasitárias. Thamsborg *et al.* (1998) observaram que animais pastoreando em piquetes com alta lotação são expostos a um maior desafio parasitário do que animais manejados em piquetes com baixa lotação devido a maior infestação da pastagem com larvas de endoparasitas.

TABELA 4.6 - MÉDIAS E ERRO-PADRÃO PARA CARGA ANIMAL (CA), LOTAÇÃO, VARIAÇÃO DO PESO CORPORAL INDIVIDUAL (VPC) E VARIAÇÃO DO PESO POR ÁREA DE PASTAGEM (VPA) DE CORDEIROS E OVELHAS SUBMETIDOS TRÊS PROGRAMAS DE CONTROLE DE ENDOPARASITAS.

VARIÁVEL	PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS			VALOR DE P
	TRP*	OPG	FMC	
Cordeiros				
CA (kg de PV/ha)	468,7 ± 33,2	508,5 ± 35,4	485,1 ± 28,0	0,1045
Lotação (cordeiros/ ha)	19 ± 1	20 ± 1	19 ± 1	0,1045
VPC (g/animal/ dia)	138 ± 13	142 ± 20	118 ± 13	0,1257
VPA (kg de PV/ha/ dia)	2,6 ± 0,2	3,1 ± 0,4	2,5 ± 0,2	0,1286
Ovelhas				
CA (kg de PV/ha)	1105,5 ± 159,5	1312,9 ± 161,4	1257,5 ± 57,9	0,6628
Lotação (ovelha/ ha)	18 ± 2	20 ± 2	19 ± 1	0,6628
VPC (g/animal/ dia)	-135 ± 0,10	-127 ± 0,12	-124 ± 0,10	0,7992
VPA (kg de PV/ha/ dia)	-2,4 ± 0,3	-2,5 ± 0,3	-2,5 ± 0,5	0,7987
CAT	1619,3 ± 170,3	1821,4 ± 163,8	1742,6 ± 270,6	0,8559

FONTE: o autor (2015)

NOTA:*TrP= tratamento preventivo a cada 28 dias; OPG= contagem de ovos por grama de fezes ≥ 700; FMC = método seletivo FAMACHA (3, 4 ou 5).

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Os métodos de controle de endoparasitas não apresentaram efeito (P>0,05) sobre o desempenho individual e por área das ovelhas. Durante todo o período experimental, observou-se perda de peso das ovelhas, em média de -129 g/dia. Esses resultados demonstram que a ingestão de nutrientes por ovelhas Suffolk durante a lactação (média de peso de 62,2 kg), obtida exclusivamente de pastagem da Tifton-85 não supriu suas exigências de manutenção e produção de leite, considerando as recomendações do NRC (1985). Este fato também foi observado por Poli *et al.* (2008) e Hentz *et al.* (2012) para ovelhas Suffolk em lactação, mantidas com seus cordeiros em

pastagem de Tifton-85. Segundo os autores, esta perda de peso durante a lactação revela a importância da ovelha de elevada demanda alimentar parir, com condição corporal acima de 3.

4.4 CONCLUSÃO

Os métodos seletivos, OPG e FAMACHA, podem ser indicados para o controle de endoparasitas em cordeiros não desmamados terminados em pastagem, em substituição ao método preventivo de tratamento a cada 28 dias, sem prejuízos no desempenho individual e por área e nas características da carcaça.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA JÚNIOR, G.A.; COSTA, C.; MONTEIRO, A.L.G.; GARCIA, C.A.; MUNARI, D.P.; NERES, M.A. Desempenho, características de carcaça e resultado econômico de cordeiros criados em *creep feeding* com silagem de grãos úmidos de milho. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.4, p.1048-1059, 2004.

AMARANTE, A. F. T.; BRICARELLO, P. A.; ROCHA, R. A.; GENNARI, S. M. Resistance of santa ines, suffolk and ile de France lambs to naturally acquired gastrointestinal nematode infections. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam,, v. 120, p. 91-106, 2004.

AMARANTE, A.F.T.; BARBOSA, M.A. Seasonal variations in populations of infective larvae on pasture and nematode faecal egg output sheep. **Vet. Zootec.**, v.7, p.127-133, 1995.

BARROS, C.S.; MONTEIROS, A.L.G.; POLI, C.E.C.; DITTRICH, J.R.; CANZIANI, J.R.F.; FERNANDES, M.A.M. Rentabilidade da produção de ovinos de corte em pastagem e em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2270-2279, 2009.

BARTHRAM, G. T. **Experimental techniques**: the HFRO sward stick. Penicuik: Hill Farming Research Organization, p. 29-30, 1986.

BATH G.F. & VAN WYK J.A. 2001. Using the Famacha system on commercial sheep farms in South Africa. **International Sheep Veterinary Congress**, Cape Town, South Africa, Vol.1, p.3, 2001.

BATH G.F. & VAN WYK, J.A. The Five Point Check for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.86, p.6-13, 2009.

BATH, G.F.; MALAN, F.; VAN WYK, J.A. The Famacha ovine anemia guide to assist with the control of haemonchosis. In: CONGRESS OF THE LIVESTOCK HEALTH AND PRODUCTION, 7., Port Elizabeth, África do Sul, Proceedings...In: Port Elizabeth: Associação Sul-africana de Medicina Veterinária, 1996. 5p.

BOWMAN, D. D.; GEORGI, J. R.; LYNN, R. C. Georgi's Parasitology for Veterinarians. 8 ed. Saunders Publishing Company, St. Louis, Missouri, 2003. 422p.

CAMPBELL, A. G. Grazed pastures parameters: I. Pasture dry matter production and availability in a stocking rate and grazing management experiment with dairy cows. **Journal of Agricultural Science**, v. 67, n. 2, p. 211-216, 1966.

CARNEVALLI, R.A.; SILVA, S.C.; FAGUNDES, J.L.; SBRISSIA, A.F.; CARVALHO, C.A.B.; PINTO, L.F.M.; PEDREIRA, C.G.S. Desempenho de ovinos e respostas das pastagens de Tifton-85 (*Cynodon spp.*) sob lotação continua. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 1, p. 7-15, 2001

CARVALHO, P. C. F. Manejando pastagens para ovinos. In: PEREIRA NETO, O. A.(Ed.); CARVALHO, P.C.F.; BONINO, J.; CONDORELLI, E. Práticas em ovinocultura: ferramentas para o sucesso. Porto Alegre: SENAR, 2004. p. 15-28. Disponível em: <<http://www.senarrrs.com.br/>>. Acesso em: 24 abr. 2015.

CARVALHO, S. et al. Avaliação da suplementação concentrada em pastagem de Tifton-85 sobre os componentes não carcaça de cordeiros. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.2, p.435- 439, 2005

COLDITZ, I.G., WATSON, D.L., GRAY, G.D., EADY, S.J. Some relationships between age, immune responsiveness and resistance in ruminants. **Intenational Journal Parasitology** v.26, p. 869-877, 1996

CRINGOLI, C.; RINALDI, L.; VENEZIANO, V.; MEZZINO, L.; VERCROYSSSE, J.; JACKSON, F. Evaluation of targeted selective treatments in sheep in Italy: Effects on faecal worm egg count and milk production in four case studies, **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 1, p. 36-43, 2009

DEPNER R.A., GAVIÃO A.A., CECIM M., ROCHA R. & MOLENTO M.B. Desempenho de cordeiros naturalmente infectados com parasitas gastrintestinais utilizando o tratamento seletivo com o método FAMACHA e o tratamento preventivo. **Arch. Vet. Sci.** v.11, p. 32-37, 2007.

EJLERTSEN, M.; GITHIGIA, S.M.; OTIENO, R.O.; THAMSBORG, S.M. Accuracy of an anaemia scoring chart applied on goats in sub-humid Kenya and its potential for control of *Haemonchus contortus* infections. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 141, n. 3-4, p. 291-301, 2006.

FAGUNDES, J. L.; MOREIRA, A. L.; FREITAS, A. W. de P.; ZONTA, A.; HENRICHES, R.; ROCHA, F. C.; BACKES, A. A.; VIEIRA, J. S. Capacidade de suporte de pastagens de capim-tifton 85 adubado com nitrogênio manejadas em lotação contínua com ovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, n. 12, p. 2651-2657, 2011.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência antihelmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

GABA, S.; CABARET, J.; SAUVÉB, C.; CORTETB, J.; SILVESTRE, A. Experimental and modeling approaches to evaluate different aspects of the efficacy of Targeted Selective Treatment of anthelmintics against sheep parasite nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 171, n. 3-4, p. 254-262, 2010.

GALLIDIS, E.; PAPADOPOULOS, E.; PTOCHOS, S.; ARSENOS, G. The use of targeted selective treatments against gastrointestinal nematodes in milking

sheep and goats in Greece based on parasitological and performance criteria. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 164, n. 1, p. 53-58, 2009.

GONZÁLEZ-GARDUÑO R., TORRES-ACOSTA J.F.J. & CHAY-CANUL A.J. Susceptibility of hair sheep ewes to nematode parasitism during pregnancy and lactation in a selective anthelmintic treatment scheme under tropical conditions. **Res. Vet. Sci.** 96:487-492, 2014.

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

HENTZ, F.; PRADO, O. R.; MONTEIRO, A. L. G.; DE SOUZA, D. F.; FERREIRA, F. S.; DE BARROS FILHO, I. R. Influência de sistemas de terminação de cordeiros sobre a produção e condição sanitária das ovelhas em pastagem. **Archives of Veterinary Science**, v. 17, n. 3, p.1-9, 2012.

KAPLAN, R.M., BURKE, J.M., TERRIL, T.H., MILLER, J.E., GETZ, W.R., MOBINI, S., VALENCIA, E., WILLIAMS, M.J., WILLIAMSON, L.H., LARSEN, M., VATTA, A.F. Validation of the FAMACHA® eye color chart for detecting clinical anemia in sheep and goats on farms in the southern United States. **Veterinary Parasitology**, v.123, p. 105–120, 2004.

KENYON, P.R.; WEBBY, R.W. Pastures and supplements in sheep production systems. In: RATTRAY, P.V.; BROOKES, I.M.; NICOL, A.M. (Eds.) *Pasture and Supplements for Grazing Animals*. 14. ed. Hamilton, p.255-274, 2007.

LEATHWICK, D.M.; WAGHORN, T. S.; MILLER, C.M.; ATKINSON, D.S.; HAACK, N.A.; OLIVER, A.M. Selective and on-demand drenching of lambs: impact on parasite populations and performance of lambs. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 54, n. 6, p. 305-312, 2006.

LUCHIARI FILHO, A. **Pecuária da carne bovina**. São Paulo: A. Luchiari Filho, 2000. 134p.

MOLENTO M.B. Parasite control in the age of drug resistance and changing agricultural practices. **Veterinary Parasitology** 3:188-196, 2009.

MOLENTO, M.B.; TASCA, C.; GALLO, A.; FERREIRA, M.; BONONI, R.; STECCA, E. Método FAMACHA® como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1139- 1145, 2004.

MOTA, M.A.; CAMPOS, A.K.; ARAÚJO, J.V. Controle biológico de helmintos parasitos de animais: estágio atual e perspectivas futuras. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.23, n.3, p.93 100, 2003.

National Research Council – NRC (1985) Nutrient requirements of sheep. Washington DC, National Academy Press. 99p.

PAPADOPOULOS, E.; GALLIDIS, E.; PTOCHOS, S.; FTHENAKIS, C.G. Evaluation of the FAMACHA® system for targeted selective anthelmintic treatments for potential use in small ruminants in Greece. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 110, n. 2-3, p. 124-127, 2013.

PELLEGRINI, L. G.; PELLEGRINI, A. C. R. S.; MONTEIRO, A. L. G. et al. Infecção parasitária de cordeiros e contaminação larval em pasto submetido à adubação nitrogenada. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 1097-1101, 2011.

PEREIRA NETO, O.A. Escore e condição corporal - instrumento de tomada de decisão. In: PEREIRA NETO, O.A. (Ed.). **Práticas em ovinocultura: ferramentas para o sucesso**. Porto Alegre: SENAR/RS, 2004. p.67-78.

POLI, C.H.E.C.; MONTEIRO, A.L.G.; BARROS, C.S.; MORAES, A.; FERNANDES, M.A.M.; PIAZZETTA, H.V.L. Produção de ovinos de corte em quarto sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 666-673, 2008.

RIBEIRO, T.M.D.; MONTEIRO, A.L.G.; POLI, C.H.E.C.; MORAES, A.; SILVA, A.L.P.; BARROS, C.S. Características da pastagem de azevém e a produtividade de cordeiros em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 580-587, 2009.

ROBERTS, F. H. S.; O'SULLIVAN, J. P. Methods for egg counts and larval cultures for strongyles infesting the gastrointestinal tract of cattle. **Australian Agriculture Records**, v. 1, p. 99-102, 1950.

ROSALINSKI-MORAES, F., FERNANDES, F. G., MUNARETTO, A., DE OLIVEIRA, S., WILMSEN, M. O., PEREIRA, M. W., & MEIRELLES, A. C. F. Método FAMACHA®, escore corporal e de diarreia como indicadores de tratamento anti-helmíntico seletivo de ovelhas em reprodução. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 6, 2012.

RUSSEL, A.J.F.; DONEY, J.M.; GUNN, R.G. Subjective assessment of body fat in live sheep. *Journal Agricultural Science*, v.72, p.451-454, 1969.

SAÑUDO, C. Factors affecting carcass and meat quality in lambs. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39., Recife - PE. **Anais...** Brasília: SBZ, 2002. p. 434-455, 2002.

SAS Institute. 2001. **SAS** Systems for Windows. Version 9 ed. SAS Inst., Inc., Cary, NC.

SILVA F.L.R. & ARAÚJO, A.M. Características de reprodução e de crescimento de ovinos mestiços Santa Inês, no Ceará. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 29:1712-1720, 2000.

SILVA SOBRINHO, A. G. Aspectos quantitativos e qualitativos da produção de carne ovina. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38., 2001, Piracicaba-SP. **Anais...** Brasília: SBZ, 2001a. p. 425-446.

SILVA, C. J. A.; MONTEIRO, A. L. G.; FERNANDES, S. R.; POLI, C. H. E.; PRADO, O. R.; DE SOUZA, D. F. Efeito do creep feeding e creep grazing nas características da pastagem de tifton e azevém e no desempenho de ovinos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 13, n.2, p. 165-174, 2012.

SIMEPAR, Sistema Meteorológico do Paraná. Disponível em <http://www.simepar.br>, acesso em julho de 2013.

SIQUEIRA, E.R., AMARANTE, A.F.T., FERNANDES, S. Estudo comparativo da recria de cordeiros em confinamento e pastagem. **Vet e Zoot**, v. 5, p. 17-28, 1993.

SNOWDER, G.D.; GLIMP, H.A. Influence of breed, number of suckling lambs, and stage of lactation on ewe milk production and lamb growth under range conditions. **J. Anim. Sci.**, v.69, p.923-930, 1991.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Parasitologia Veterinária**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 780 p.

THAMSBORG, S.M.; JORGENSEN, R.J.; RANVIG, H.; BARTLETT, P.; WALLER, P.J.; NANSEN, P. The performance of grazing sheep in relation to stocking rate and exposure to nematode infections. **Livestock Production Science**, v. 53, n. 3, p. 265-277, March 1998.

TORRES-ACOSTA, J. F. J.; HOSTE, H. Alternative or improved methods to limit gastro-intestinal parasitism in grazing sheep and goats. **Small Ruminant Research**, v. 77, n. 2, p. 159-173, 2008.

TORRES-ACOSTA, J.F.J.; MOLENTO, M.; MENDOZA-DE-GIVES, P.; Research and implementation of novel approaches for the control of nematode parasites in Latin America and the Caribbean: Is there sufficient incentive for a greater extension effort?. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 186, n. 1-2, p. 132-142, 2012

UENO, H.; GONÇALVES, P.C. **Manual para o diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Salvador: Press Color, 1998. p. 143.

VAN WYK, J.A. & MAYHEW E. Morphological identification of parasitic nematode infective larvae of small ruminants and cattle: a practical lab guide, Onderstepoort. **J. Veterinary Research** 80:14, 2013.

VAN WYK, J.A., BATH, G.F. The FAMACHA© system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research** v.33, p. 509–529, 2002.

VERÍSSIMO, C.J.; NICIURA, S.C.M.; ALBERTI, A.L.L.; RODRIGUES, C.F.C.; BARBOSA, D.P.C.; CARDOSO, D.; SILVA, G.S.; PEREIRA, JR.; MARGATHO, L.F.F.; COSTA, R.L.D.; NARDON, R.F.; UENO, T.E.H.; CURSI, V.C.L.M.; MOLENTO, M.B. Multidrug and multispecies resistance in sheep flocks from Sao Paulo state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 187, n. 1-2, p. 209-216, 2012.

VIEIRA, L.S.; CAVALCANTE, A.C.R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 3-4, p. 99-103, 1999.

5 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DE MOXIDECTINA NOS TECIDOS DE CORDEIROS SUBMETIDOS A TRÊS PROGRAMAS PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS

RESUMO

O trabalho foi dividido em dois experimentos. O primeiro experimento teve como objetivo determinar o tempo mínimo para que as concentrações de moxidectina (MOX) atingissem níveis inferiores ao limite máximo de resíduo (LMR) no músculo próximo ao local de aplicação (50 µg/kg) e gordura (500 µg/kg). Para tanto, foram utilizados 22 cordeiros, machos e fêmeas, abatidos em 2; 4; 7; 14; 28 e 42 dias após o tratamento (DPT) com uma única dose de MOX (0,2 mg/kg de PC). O segundo experimento teve como objetivo quantificar os resíduos de MOX no soro, músculo (próximo e longe ao local de aplicação), gordura, fígado e rim de cordeiros terminados em pastagem, sem desmame e submetidos a três programas para controle de endoparasitas: (T1) tratamento preventivo a cada 28 dias; (T2) tratamento após contagem de ovos por grama de fezes (OPG) igual ou superior a 700 e (T3) tratamento seletivo pelo método FAMACHA (FMC). Os cordeiros foram avaliados até atingirem, em média, 30 kg de peso vivo, respeitando o tempo de carência de 28 dias. Antes do abate foi realizada a coleta de sangue para determinação da concentração de MOX no soro e durante o abate a coleta das demais amostras. As análises para detecção e quantificação da MOX foram realizadas utilizando Cromatografia Líquida de Ultra Performance, com detecção por espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS). A curva de depleção da MOX no músculo demonstrou alta concentração 2 DPT (1854,2 µg/kg) seguida por rápida absorção do fármaco no local de administração, atingindo concentração menor do que o LMR com 5 DPT. A MOX apresentou longo período de persistência em alta concentração na gordura, com concentração acima do LMR por até 17 DPT. Das 756 amostras analisadas, apenas uma amostra de gordura proveniente do tratamento preventivo apresentou concentração (586,3 µg/kg) acima do LMR. Em nenhuma das amostras de soro avaliadas foi detectado resíduo do fármaco. Houve correlação significativa da concentração de resíduo de MOX na gordura com o peso de gordura omental ($P < 0,05$; $r = 0,5310$), demonstrando que animais com maior deposição de gordura podem apresentar maior persistência de resíduo no organismo. A terminação de cordeiros em pastagem de verão com controle de parasitas gastrintestinais por meio de métodos seletivos (OPG e FAMACHA) ou preventivo (tratamento a cada 28 dias), com abate após o período de carência (28 dias), apresenta baixo risco de incidência (menos de 1%) de amostras violadas quanto ao LMR para MOX no músculo, gordura, rim e fígado.

Palavras-chave: FAMACHA, fígado, gordura, músculo, OPG, rim, soro, UHPLC-MS/MS.

ASSESSMENT OF MOXIDECTIN RESIDUES IN TISSUES OF LAMBS SUBMITTED TO THREE PROGRAMS OF ENDOPARASITE CONTROL

ABSTRACT

This study was divided into two experiments. The first aimed to determine the time it took for concentration of moxidectin (MOX) to reach levels below the maximum residue limit (MRL) in the muscle near the site of application (50 µg/kg) and fat (500 µg/kg). Twenty-two lambs, males and females, used in the study, were slaughtered 2; 4; 7; 14; 28 and 42 days after treatment (DAT) with a single dose of MOX (0.2 mg kg⁻¹/body weight). The second experiment aimed to quantify MOX residue in serum, muscle (near and far to the application site), fat, liver and kidney of sucking lambs finished in pasture and subjected to three programs of endoparasites control: (T1) Preventive treatment every 28 days; (T2) treatment after egg count per gram feces (EPG) equal to or higher than 700; (T3) selective treatment FAMACHA method (FMC). The lambs were evaluated until reach an average of 30 kg liveweight, respecting the time of minimum grace period of 28 days. Before slaughter was carried out blood collect for evaluation of MOX concentration in serum and during slaughter was performed the collection of remaining samples. MOX residue was determined using liquid chromatography ultra-high pressure with mass spectrometry (LC-MS/MS). The depletion curve for MOX obtained from the muscle showed a high drug concentration at 2 DAT (1854.2 µg/kg) followed a rapid absorption of the drug at the site of administration, reaching a concentration below MRL of 5 DAT. The fat had a long persistence of MOX with high concentration, reaching levels below the MRL 17 DAT. Of the 756 samples analyzed for MOX residues of slaughtered lambs submitted to three methods to control endoparasites, just one sample of fat from the selective treatment group showed a concentration above (586.3 µg/kg) the MRL. No sample of serum showed MOX residue levels. A significant correlation was observed with MOX residue and omental fat ($P < 0.05$; $r = 0.5310$), suggesting that animals with more fat deposition may have increased residue persistence in their body. The termination of suckling lambs in summer pasture with control of gastrointestinal endoparasites by selective (OPG and FAMACHA) or preventive methods (treatment every 28 days), with slaughter after the minimum grace period (28 days) has low risk of incidence of samples infringed MRL for MOX in the muscle, fat, kidney and liver.

Keywords: FAMACHA, liver, fat, muscle, EPG, kidney, serum, UHPLC-MS / MS.

5.1 INTRODUÇÃO

A produção animal a pasto no Brasil, quando comparada com outros sistemas alimentares, apresenta-se como uma importante alternativa para assegurar redução nos custos produtivos (BARROS *et al.*, 2009; STIVARI *et al.*, 2013). Os reduzidos índices de produtividade observados na terminação de cordeiros em sistemas em que a dieta é exclusivamente à pasto, são frequentemente associados às infecções por nematódeos gastrintestinais, principalmente por *Haemonchus contortus* (POLI *et al.*, 2008; RIBEIRO *et al.*, 2009). Este parasita apresenta alta patogenicidade e elevada prevalência (MOLENTO *et al.*, 2004; BURKE *et al.*, 2007) sendo que as infecções agudas podem causar anemia severa, hipoproteïnemia e morte em casos severos (KAPLAN *et al.*, 2004; COSTA *et al.*, 2007).

Na tentativa de reduzir as perdas causadas pelas infecções por nematódeos gastrintestinais, as estratégias têm, tradicionalmente, envolvido o uso de anti-helmínticos em intervalos fixos e curtos (a cada 30 ou 45 dias), com alta frequência ou durante o pico de transmissão das larvas (GONZÁLEZ-GARDUÑO *et al.*, 2004). Esse esquema de tratamento preventivo que tenta eliminar 100% da carga parasitária, além de ser realizado com pouco conhecimento epidemiológico dos parasitas, não considera que 95% ou mais da população parasitária encontra-se no ambiente e apenas 5% ou menos, nos animais (ALMEIDA *et al.*, 2005). Como consequência, tem sido observada alta pressão de seleção de populações para parasitas resistentes (FORTES E MOLENTO, 2013).

Entre os grupos de anti-helmínticos disponíveis no mercado, as lactonas macrocíclicas (LMs) destacam-se pela sua ampla utilização em diversas espécies de animais, eficácia contra artrópodes e nematódeos (BORGES, 2003) e facilidade de administração (BORGES, 2003; MOLYNEUX *et al.*, 2003; KITA *et al.*, 2007). A Moxidectina (MOX) é uma milbemicina pertencente ao grupo das LMs, obtida a partir de uma modificação química da nemadectina, produto natural da fermentação do *Streptomyces cyanogriseus* subsp. *Noncyanogenus* (PÉREZ *et al.*, 2001). Entre as principais características desse fármaco, destaca-se a alta lipofilicidade que confere

longo tempo de permanência e ampla distribuição no organismo após sua administração (PRICHARD *et al.*, 2012).

O conhecimento da distribuição e depleção dos fármacos com longo efeito residual, de acordo com a categoria animal (cordeiros lactentes, cordeiros desmamados, ovelhas durante a fase de gestação e lactação, entre outros), o sistema de produção, a via de administração e o número de dosagens, entre outros, são importantes para garantir que o tempo de carência pré-estabelecido seja suficiente para que as concentrações dos resíduos atinjam níveis seguros ao consumo humano. Dentro desse contexto, este estudo teve como objetivos determinar o tempo mínimo para que a concentração de MOX no músculo e gordura de cordeiros alcance níveis abaixo do limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido pela legislação; e avaliar a presença de resíduos de MOX no momento do abate de cordeiros terminados em pastagem, submetidos a três programas para controle de nematódeos gastrintestinais.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi dividido em duas fases. Na primeira fase (FIGURA 5.1) foi realizado o estudo para determinação da depleção da moxidectina (MOX) 1% injetável (Cydectin® NF, Fort Dodge Saúde Animal) no músculo e gordura de cordeiros desmamados. Os resultados obtidos nessa fase foram utilizados como referência para discussão dos dados obtidos no segundo experimento. Na segunda fase (FIGURA 5.2), foi realizada a avaliação do impacto do método de controle de endoparasitas em cordeiros terminados em pastagem sobre as concentrações de resíduos de MOX no soro, gordura, músculo (próximo e longe ao local de aplicação), rim e fígado, no momento do abate.

Todas as avaliações e manejos envolvendo os animais foram realizados de acordo com as normas aprovadas pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Protocolo No. 055/2011).



FIGURA 5.1 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES RELIZADAS NA PRIMEIRA FASE DO ESTUDO.

FONTE: O autor (2015)

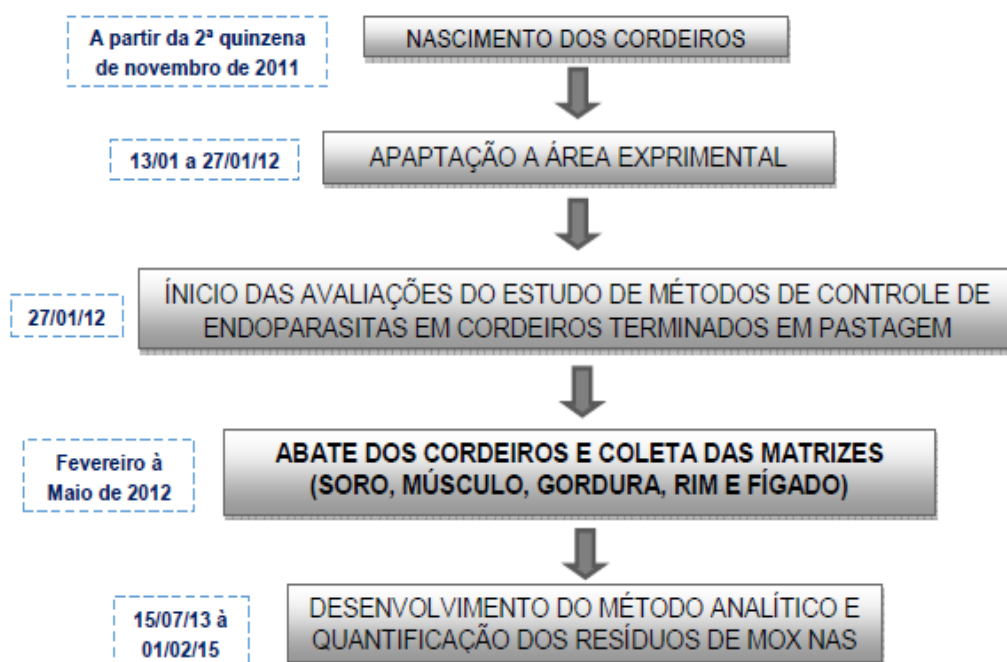


FIGURA 5.2 – FLUXOGRAMA DAS ATIVIDADES RELIZADAS NA SEGUNDA FASE DO ESTUDO.

FONTE: O autor (2015)

5.2.1 Primeira Fase: Taxa de depleção da MOX 1% injetável nos tecidos de cordeiros

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC), da Fazenda Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizada na região metropolitana de Curitiba (Pinhais), Paraná, Brasil, entre novembro 2011 e janeiro de 2012. O clima é do tipo Cfb, classificação de Köppen, que corresponde ao clima subtropical úmido (mesotérmico).

Para o estudo de avaliação da taxa de depleção da MOX 1% injetável por via subcutânea, no músculo e na gordura de cordeiros, por um período de até 42 dias após o tratamento (DPT), foram utilizados 22 cordeiros desmamados da raça Suffolk, machos e fêmeas, em bom estado nutricional e clinicamente saudáveis. Os animais selecionados, filhos de ovelhas que não eram tratadas com MOX há mais de seis meses, nunca haviam recebido tratamento com anti-helmíntico.

Do nascimento até o desmame, os cordeiros e as ovelhas foram mantidos em aprisco suspenso ripado. A partir da 1ª semana de vida, os cordeiros receberam dieta composta de concentrado farelado (20% de proteína bruta) e silagem de milho, por meio de suplementação em *creep feeding*. Os cordeiros foram vacinados contra as clostridioses e desmamados aos 74 ± 10 dias de idade e $27,0 \pm 2,1$ kg de peso corporal. Em seguida, foram confinados em baias individuais, em aprisco suspenso com piso ripado. A dieta era composta por 40% de feno de azevém (volumoso) e 60% de concentrado farelado (20% de proteína bruta), formulada para atender às exigências de cordeiros com potencial de crescimento rápido (NRC, 2007). A dieta foi fornecida *ad libitum*, duas vezes ao dia, com sobra diária de aproximadamente 10% para não limitar o consumo. Os animais foram tatuados na face interna da perna esquerda para padronização do local de aplicação do anti-helmíntico e coleta do material no momento da necropsia.

As avaliações iniciaram quando os cordeiros apresentavam peso vivo médio de $36,1 \pm 3,2$ kg e 113 ± 1 dias de idade média. Todos os cordeiros receberam uma única aplicação subcutânea de MOX 1%, na dose de 0,2 mg/

kg de peso corporal, aplicada no local previamente demarcado na face interna da perna esquerda. No dia anterior a aplicação do anti-helmíntico, os animais foram pesados após jejum sólido de 12h e a dose foi calculada individualmente com base no peso obtido. A dose de cada cordeiro foi aplicada com auxílio de seringa plástica graduada em escala de 0,1 mL. A quantidade total de MOX administrada, em mg, foi calculada por regra de três simples, sabendo que a sua concentração nominal na fórmula farmacêutica utilizada é de 1%.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado e os animais testes foram distribuídos aleatoriamente em seis tratamentos (tempos de abate após a aplicação da MOX), conforme a TABELA 5.1.

TABELA 5.1 – NÚMERO DE REPETIÇÕES POR TRATAMENTOS (TEMPO ENTRE O TRATAMENTO COM MOXIDECTINA E O ABATE PARA COLETA DAS MATRIZES).

TRATAMENTO	NÚMERO DE REPETIÇÕES
2 dias após a aplicação	4 animais
4 dias após a aplicação	4 animais
7 dias após a aplicação	3 animais
14 dias após a aplicação	3 animais
28 dias após a aplicação	4 animais
42 dias após a aplicação	4 animais

FONTE: O autor (2015)

Para o desenvolvimento e validação do método analítico na matriz branco, sem a presença de anti-helmíntico, foram coletadas amostras, após o abate, de dois cordeiros nascidos na mesma época e com peso semelhante aos animais tratados, mas que não foram expostos a nenhum anti-helmíntico.

Os abates foram realizados nas datas pré-determinadas (TABELA 5.1), após jejum sólido de 16 h. A insensibilização foi realizada por eletronarcose com descarga elétrica de 220 V por oito segundos e a sangria, pela secção das veias jugulares e artérias carótidas. Antes do início da esfola, o local de aplicação da MOX (face interna da perna esquerda), foi delimitado com um corte para posterior coleta do músculo próximo ao local de aplicação do fármaco.

Durante a evisceração das carcaças foi realizada a coleta de amostras da gordura perirrenal (ao redor do rim). As carcaças foram resfriadas em câmara fria a 5 °C por 24 h e, posteriormente, divididas longitudinalmente em duas metades carcaças. Estas foram seccionadas em sete regiões anatômicas: lombo, paleta, perna, costela, costela descoberta, pescoço e baixos. No corte lombo foram coletadas amostras da gordura subcutânea, que foram adicionadas a gordura perirrenal para determinação da curva de depleção da MOX no tecido adiposo. Também foi coletada amostra do músculo próximo ao local de aplicação do anti-helmíntico para determinação da taxa de depleção da MOX.

Todas as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos incolores devidamente identificados (tecido/órgão, dias pós-tratamento, data da amostragem, número do animal e grupo) e congeladas a -20 °C para posterior análise no Laboratório de Toxicologia de Alimentos, do Departamento de Ciência de Alimentos, da UNICAMP.

5.2.2 Segunda Fase: Resíduos de MOX 1% Injetável nos Tecidos de Cordeiros Submetidos a Três Métodos de Controle de Parasitas Gastrointestinais

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Produção e Pesquisa em Ovinos e Caprinos (LAPOC), da Fazenda Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizada na região metropolitana de Curitiba (Pinhais), Paraná, Brasil, entre janeiro a maio de 2012.

O experimento foi estabelecido em área de 1,8 ha, dividida em 9 piquetes de 0,2 ha de pastagem de Tifton-85 (*Cynodon* sp.). O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com três tratamentos (métodos de controle de endoparasitas) e três repetições (piquetes), sendo avaliados 14 cordeiros da raça Suffolk, por método de controle. Os animais foram distribuídos nos blocos no início do experimento, de acordo com o sexo (macho não castrado e fêmea) e o tipo de parto (simples ou duplo) e de forma homogênea, de acordo com o peso e idade. Foram avaliados 42 cordeiros

lactentes e suas respectivas mães (n=35). O grupo dos cordeiros foi composto por 20 machos não castrados e 22 fêmeas, provenientes de partos simples ou duplo, distribuídos nos blocos da seguinte forma: bloco um - fêmeas de parto simples; bloco dois - machos de parto simples; bloco três - animais de provenientes de parto duplo (machos e fêmeas). Os cordeiros foram distribuídos em três programas para controle de endoparasitas para pequenos ruminantes: tratamento preventivo a cada 28 dias (TrP), tratamento após contagem de ovos por grama de fezes (OPG) igual ou superior a 700 e tratamento seletivo com método FAMACHA (FMC) (BATH *et al.*, 1996). O OPG estabelecido como limite nesse estudo (≥ 700) é classificado, segundo Ueno e Gonçalves (1998), como sendo uma infecção leve (de 500 a 800 OPG).

O período experimental teve início quando os cordeiros apresentaram em média 18,9 kg de peso corporal e 42 dias de idade e suas mães 59,6 kg e 3,5 anos. Os dados de desempenho das ovelhas foram utilizados para os cálculos de produtividade animal por hectare.

Após o nascimento, os cordeiros foram pesados, identificados e mantidos com suas mães em aprisco suspenso. A partir de três semanas de idade até o início do período experimental, os animais tiveram acesso a pastagem de Tifton-85. Uma semana antes do início das avaliações, os animais foram adaptados à cerca elétrica e ao ambiente da pastagem.

O método de utilização da pastagem foi o sistema de pastejo contínuo, com taxa de lotação variável, mantendo-se os animais testes nos piquetes e utilizando-se animais reguladores para ajustar a lotação, de acordo com a técnica *put and take*. Os ajustes foram realizados a cada 14 dias com base na altura média da pastagem, mantendo-se a mesma aproximadamente em 15 cm, conforme descrito por Carvalho (2004).

5.2.2.1 Manejo dos programas para controle de endoparasitas

A partir do início do experimento (dia zero) e em intervalos de 28 dias, todos os animais submetidos ao tratamento preventivo (T1) foram tratados com MOX (Cydectin® - 1 mL/ 50kg de PV; 0,2 mg/ kg de peso corporal).

No grupo controlado por OPG, as coletas de fezes, feitas diretamente da ampola retal, foram realizadas em intervalos de 14 dias. A contagem de OPG de *estrongilídeos* foi realizada pela técnica modificada de Gordon e Whitlock (1939). Os animais que apresentaram OPG igual ou superior a 700 foram tratados com MOX na mesma dose descrita acima.

As avaliações pelo método FMC também foram realizadas em intervalos de 14 dias, sempre pelos mesmos três avaliadores, treinados de acordo com Van Wyk e Bath (2002) para comparar a coloração da conjuntiva (BATH e VAN WYK, 2001). Os cordeiros submetidos ao programa de controle de endoparasitas por esse método e que apresentavam média dos três avaliadores maior ou igual a 3, foram também tratados com MOX.

A aplicação dos anti-helmínticos foi realizada no mesmo dia da pesagem dos animais e a dose calculada com base no peso individual, pós jejum sólido de 16 h.

5.2.2.2 Abates e coleta das amostras

Os animais foram avaliados até atingirem o peso de abate individual de 32-34 kg após jejum de 16 h, respeitando o tempo mínimo de 28 dias de carência do anti-helmíntico, período este desde a última aplicação do anti-helmíntico até o abate. Os animais que não atingiram o peso de abate foram avaliados até 05/04/2012 (data da última aplicação do anti-helmíntico). Os abates desses animais foram realizados entre o dia 03 e 05/05/12, com 28 a 30 dias de carência.

Antes do abate foi realizada a coleta de sangue, individualmente, para determinação da concentração da MOX no soro no momento do abate. As amostras colhidas foram centrifugadas por 5 minutos a 3920 força G para extração do soro. Após a centrifugação, os soros separados foram armazenados em tubos *eppendorf* e congelados a temperatura de -20 °C, para posterior análise.

Os procedimentos de abate e coleta de amostras foram realizados conforme descrito para a primeira fase do presente estudo (Item 5.2.1).

Durante a evisceração foram coletadas amostras do fígado e rim, além da gordura perirrenal. As carcaças foram resfriadas em câmara fria a 5 °C por 24 h e, posteriormente, divididas longitudinalmente em duas meias carcaças. Estas foram seccionadas em sete regiões anatômicas: lombo, paleta, perna, costela, costela descoberta, pescoço e baixos. No corte lombo foram coletadas amostras do músculo *Longissimus dorsi* (músculo longe do local de aplicação) e da gordura subcutânea. A gordura subcutânea do lombo foi misturada com a gordura perirrenal para determinação da concentração de MOX no tecido adiposo. Também foi coletada amostra do músculo próximo ao local de aplicação do anti-helmíntico (face interna da perna esquerda), conforme descrito anteriormente.

Após o resfriamento, as carcaças foram seccionadas (cerca de 3 cm) entre a última vértebra torácica e a primeira lombar, e a espessura da gordura subcutânea (EG) foi mensurada com auxílio de um paquímetro digital.

Cada amostra tecidual foi acondicionada em saco plástico incolor, devidamente identificado (tecido, tratamento, número do animal e data de abate) e congelada a -20° C para posterior análise no Laboratório de Toxicologia de Alimentos, do Departamento de Ciência de Alimentos, da UNICAMP.

5.2.3 Análise laboratorial: Quantificação de Resíduo de MOX nas Amostras Obtidas na Primeira e Segunda Fase

O desenvolvimento e validação do método analítico e a quantificação da concentração de resíduos de MOX no soro, músculo, gordura, rim e fígado foi realizado entre julho de 2013 e fevereiro de 2015. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

As análises foram realizadas utilizando o sistema Agilent UHPLC 1290 composto por bombas quaternárias, injetor automático, termostato para coluna e amostrador equipado com *cooler*. O espectrômetro de massas utilizado para validação e análises das amostras foi um Triplo Quadrupolo 6460, utilizando ESI (*Electrospray Ionization*) como fonte de ionização em modo positivo

(sistema UPLC-ESI-MS/MS). O *software* utilizado para aquisição e tratamento de dados foi o MassHunter B.06.00 (Agilent Technology, CA, USA). A quantificação foi realizada pelo modo MRM (multiple reaction monitoring), com utilização de Emamectina como padrão interno. Foram monitoradas duas transições para cada molécula, sendo uma transição relacionada ao íon quantificador e outra relacionada ao íon qualificador, com objetivo de obter 3 pontos de identificação, como preconizado pelo Guia da Comunidade Europeia 2002/657/CE (EC, 2002).

O método de extração das amostras foi desenvolvido utilizando-se 2,0 g de amostra de cada um dos tecidos mencionados. A extração das amostras foi baseada no método QuEChERS (sigla de Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) segundo Anastassiades *et al.* (2003). Numa primeira etapa, as amostras de tecido foram trituradas ainda congeladas em microprocessador (Phillips-Walita modelo RI2086), pesadas em tubos de polipropileno de 50 mL e extraídas com acetonitrila e sais de QuEChERS.

Os padrões analíticos moxidectina (MOX) e emamectina (EMA), foram fornecidos pela Sigma-Aldrich/Fluka, apresentando grau de pureza 97,2% e 99,7%, respectivamente.

Amostras isentas de MOX (amostras branco) foram utilizadas para o desenvolvimento e validação da método analítico para determinar o fármaco em cada uma das matrizes. Nenhum interferente foi detectado nos tempos de retenção correspondentes a MOX e a EMA nas amostras branco, garantindo a seletividade e especificidade do método desenvolvido, assim como a viabilidade das amostras branco que foram utilizadas na validação do método analítico.

O método foi validado com base nas recomendações do guia de Validação de Métodos Analíticos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2011) e da Comunidade Europeia (EC, 2002), os quais estabelecem critérios de desempenho para os métodos analíticos destinados a determinação de resíduos e contaminantes em alimentos de origem animal. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) determinados foram de 2,0 ng.mL⁻¹ e 5,0 ng.mL⁻¹, respectivamente. Os resultados dos parâmetros de validação demonstraram que o método foi adequado para determinar a presença da MOX nas matrizes estudadas. Todos os dados referentes a etapa

de validação do método estão armazenados no Laboratório onde foram realizadas as análises.

5.2.4 Análise dos Resultados

Os dados obtidos no primeiro estudo foram submetidos à análise de regressão polinomial com auxílio do programa ASSISTAT 7.7 Beta (SILVA e AZEVEDO, 2009). Para a matriz músculo, a concentração 2 DPT não foi considerada na análise de regressão e para matriz gordura, todas as avaliações foram utilizadas. As concentrações de MOX no músculo e gordura em cada data de abate (2; 4; 7; 14; 28 e 42 DPT) foram submetidas à análise de variância pelo modelo linear geral (GLM) e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância, utilizando o programa ASSISTAT 7.7 Beta (SILVA E AZEVEDO, 2009). As concentrações de MOX no músculo e gordura, por data de avaliação, foram submetidas ao Teste “t” (Student), com nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

O Controle de Resíduos e Contaminantes na Carne de Ovinos e Caprinos foi estabelecido no Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), a partir de 2014, por meio da Instrução Normativa SDA N° 11, de 07 de maio de 2014. No entanto, apesar da inclusão da carne ovina no PNCRC/2014, a normativa ainda não estabelece a adoção de medidas regulatórias para MOX nessa espécie.

Sendo assim, os resultados obtidos nas análises das matrizes soro, músculo (longe e próximo do local de aplicação), rim, fígado e gordura provenientes de cordeiros submetidos aos três programas para controle de endoparasitas (preventivo a cada 28 dias, OPG e FMC) foram interpretados a partir dos limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pelo *Codex Alimentarius* e exigências dos países importadores, de acordo com a matriz de coleta, Tabela 5.2.

TABELA 5.2 – LIMITES MÁXIMOS DE RESÍDUOS (LMR) DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO, GORDURA, FÍGADO E RIM DE OVINOS.

GRUPO	ANALÍTO	MATRIZ	LMR (µg/kg)
Anti-helmíntico	Moxidectina	Músculo	50
		Gordura	500
		Fígado	100
		Rim	50

FONTE: *Codex Alimentarius* (2014)

As amostras que apresentaram resultados menor ou igual ao LOQ do método (2 µg/kg para o soro e 5 µg/kg para as demais matrizes) foram consideradas como “não detectado”; aquelas com resultados acima de 5 µg/kg e inferior ao LMR foram consideradas “detectado” ou “positivo<LMR”; e as que apresentaram nível de MOX igual ou superior a este LMR foram consideradas como “violado” ou “positivo>LMR”.

A análise dos dados incluiu estatística descritiva (média e frequências) e análise de correlação (coeficiente de Pearson). As correlações foram calculadas com auxílio do programa estatístico ASSISTAT 7.7 Beta (SILVA e AZEVEDO, 2009).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Depleção da MOX no músculo e gordura de cordeiros após uma única aplicação

A MOX na formulação injetável foi bem tolerada pelos cordeiros após sua administração subcutânea na dose recomendada pelo fabricante (0,2 mg/kg de peso corporal). Não foi observada nenhuma reação adversa no local de administração do fármaco.

A MOX foi detectada em todas as datas de avaliação, tanto no músculo (próximo ao local de aplicação) quando na gordura dos cordeiros (FIGURAS 5.3 e 5.4). A curva de depleção da MOX no músculo próximo ao local de

aplicação demonstra alta concentração do fármaco 2 DPT, com média de 1.854,2 µg/kg, seguida por rápida absorção (FIGURA 5.3). Na avaliação de 4 DPT, 79% dessa concentração já havia sido absorvida e 7 DPT, a concentração no músculo já era inferior ao LMR de 50 µg/kg (TABELA 5.3). Esta dinâmica da MOX no músculo está relacionada à adequada absorção do fármaco, uma vez que a concentração reduziu bruscamente nos primeiros dias após a administração. Esses dados estão de acordo com as características farmacológicas da MOX, que apresenta baixo tempo de persistência nos tecidos magros (LIFSCHITZ *et al.*, 2000).

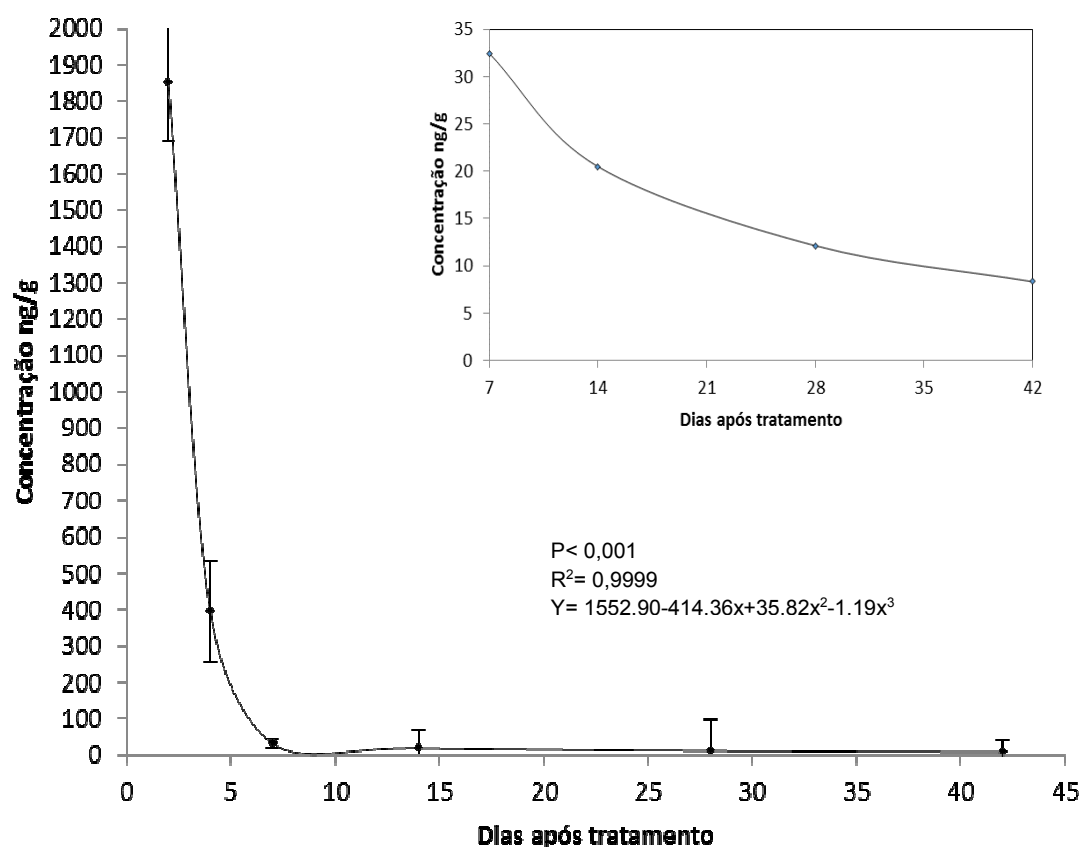


FIGURA 5.3 – CONCENTRAÇÃO MÉDIA E DESVIO-PADRÃO DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO DE CORDEIROS, PRÓXIMO AO LOCAL DE APLICAÇÃO, APÓS ÚNICA ADMINISTRAÇÃO SUBCUTÂNEA (0,2 mg/kg de PC). NA INSERÇÃO É APRESENTADA A CONCENTRAÇÃO DA MOXIDECTINA NO INTERVALO ENTRE 7 E 42 DIAS APÓS O TRATAMENTO.
FONTE: O autor (2015)

A curva de depleção da MOX na gordura dos cordeiros (FIGURA 5.4) demonstra longo período de persistência do fármaco nesse tecido, fato esse, relacionado a alta lipofilicidade do fármaco, conforme também observado por Lifschitz *et al.* (2000). As concentrações no tecido adiposo não diferiram ($P>0,05$) de 2 DPT até 14 DPT, com redução significativa ($P<0,05$) na concentração na avaliação 28 DPT. A concentração de resíduos de MOX no músculo apresentou-se superior à na gordura apenas na primeira avaliação (TABELA 5.3). Essa dinâmica está relacionada com a absorção do fármaco do local de administração (músculo) para a circulação sanguínea, com ampla distribuição pelo organismo e acúmulo no tecido adiposo, conforme descrito por Lifschitz *et al.* (2000).

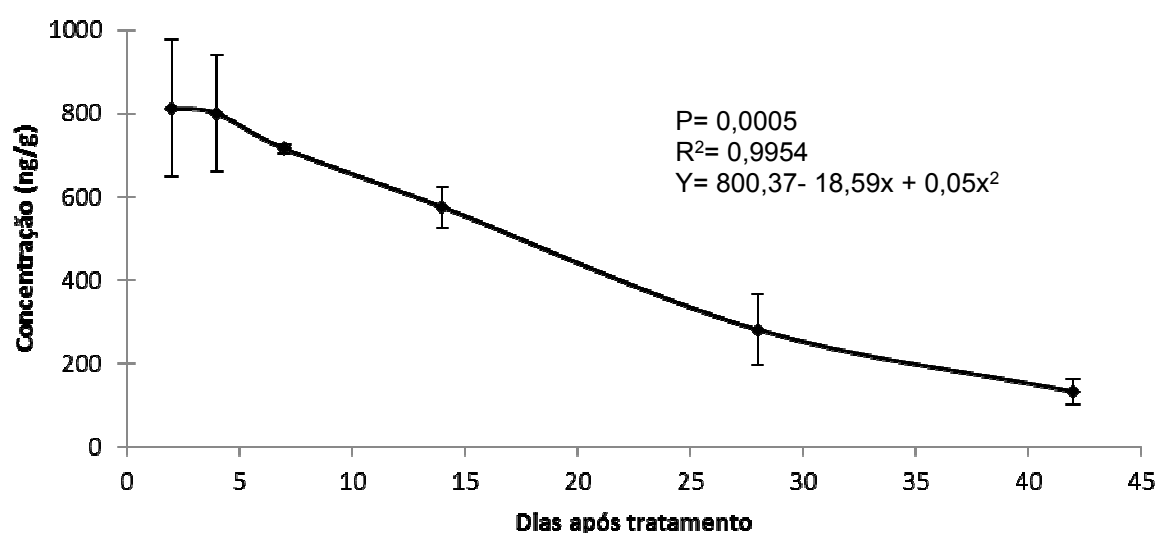


FIGURA 5.4 - CONCENTRAÇÃO DE MOX NA GORDURA DE CORDEIROS, APÓS ÚNICA ADMINISTRAÇÃO SUBCUTÂNEA (0,2 mg/kg de PC).
FONTE: O autor (2015).

Os valores dos coeficientes de determinação das equações de regressão para as variáveis músculo e gordura demonstram que as equações foram bem ajustadas, com baixa dispersão dos dados em torno da linha de regressão e alto coeficiente de determinação ($R^2=0,99$). Com auxílio da equação ajustada para predição da concentração de MOX na gordura e

músculo de cordeiros em função do tempo após a aplicação, em dias, é possível obter valores confiáveis para esta variável. Isto apresenta como vantagem a informação sobre o tempo (dias) mínimo para que a concentração do fármaco atinja valores inferiores ao LMR em cordeiros sem que haja necessidade de avaliação em todas as datas.

TABELA 5.3 – COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES ($\mu\text{g/kg}$) DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO (PRÓXIMO AO LOCAL DE APLICAÇÃO) E NA GORDURA DE CORDEIROS ABATIDOS EM DIFERENTES INTERVALOS DE TEMPO APÓS ÚNICA APLICAÇÃO SUBCUTÂNEA (0,2 mg/ kg).

DATA DE ABATE	MÚSCULO	GORDURA
2 DPT	1854,21 $\pm$ 495,01a*	750,12 $\pm$ 176,70b
4 DPT	396,14 $\pm$ 125,44b	729,18 $\pm$ 246,45a
7 DPT	32,45 $\pm$ 1,28b	625,57 $\pm$ 282,26a
14 DPT	20,48 $\pm$ 0,70b	575,73 $\pm$ 181,64a
28 DPT	12,13 $\pm$ 1,46b	297,80 $\pm$ 83,41a
42 DPT	8,33 $\pm$ 0,88b	123,29 $\pm$ 34,43a

NOTA: DPT= dias após o tratamento com o anti-helmíntico. *Letras minúsculas diferentes na mesma linha diferem ($P < 0,05$) pelo Teste T.

FONTE: O autor (2015)

Segundo o Comité dos Medicamentos Veterinários da Agência Europeia de Avaliação dos Medicamentos (EMA, 1999), e Comissão do *Codex Alimentarius* (2014), o limite máximo de resíduos (LMR) é a concentração máxima de resíduos resultante da utilização de um medicamento legalmente autorizada ou que é reconhecida como aceitável nos alimentos e não produz nenhum risco toxicológico para a saúde humana. No presente estudo, após uma única dose de MOX administrada por via SC em cordeiros resultou em concentração abaixo do LMR no músculo (local de aplicação) 5 DPT. Já na gordura, a concentração abaixo do LMR foi observada 17 DPT, sendo que 28 DPT a concentração foi de 319,1 $\mu\text{g/kg}$. Estes resultados confirmam que a MOX apresenta depleção lenta na gordura e rápida no músculo. Lifschitz *et al.* (2000) observaram concentração de MOX nos tecidos (fígado; gordura; músculo e músculo + gordura no local de aplicação) abaixo do LMR, 21 DPT após administração subcutânea em ovelhas. Essa diferença de 4 dias pode estar relacionada com a maior dose administrada no estudo de

Lifschitz *et al.* (2000), no qual foram utilizados animais adultos (ovelhas) quando comparado com o presente estudo em que foram utilizados cordeiros. Outro fato está relacionado com o percentual de gordura corporal. Em razão da maturidade fisiológica, os animais jovens apresentam maior relação músculo:gordura que os animais adultos (CAMERON e DRURY, 1985; PINHEIRO *et al.*, 2007).

5.3.2 Resíduos de MOX nos Tecidos de Cordeiros Submetidos à Três Programas Para Controle de Endoparasitas

Os resultados obtidos nas análises para detecção de resíduos de MOX em amostras coletadas durante o abate dos cordeiros terminados em pastagem e submetidos a três programas para controle de parasitas gastrintestinais são apresentados nas Tabelas 5.4, 5.5 e 5.6. No total foram analisadas 756 amostras provenientes de 42 cordeiros, sendo 126 amostras de cada uma das matrizes: soro, músculo próximo e longe ao local de aplicação, fígado, rim e gordura.

Do total de amostras avaliadas, em 368 (48,7%) não foram detectados resíduos de MOX acima do LOQ do método analítico (<5 µg/kg). Em nenhuma das amostras de soro coletadas no momento do abate foi detectado resíduo de MOX acima do LOQ (2,0 ng/ml). Segundo Alvinerie *et al.* (1998) e Sumano e Ocampo (2006), após a absorção no local de aplicação, a MOX é amplamente distribuída por todo o organismo por meio da circulação sanguínea e se propaga para o tecido alvo para exercer o efeito sistêmico. Devido à sua alta lipofilicidade, o tecido adiposo funciona como reservatório do fármaco após sua absorção, com lenta liberação para a corrente sanguínea (ZULALIAN *et al.*, 1994). No presente estudo, apesar da presença de resíduo de MOX na gordura dos cordeiros (TABELA 5.6), a baixa vascularização desse tecido, e a lenta e gradual liberação do fármaco para a corrente sanguínea não foi possível a sua detecção no soro obtido no momento do abate. Baptista (2013) avaliou a farmacocinética da MOX no soro dos cordeiros provenientes do primeiro estudo do presente trabalho e relataram que a MOX permaneceu quantificável por até

nove dias após uma única administração subcutânea (LOQ= 2,0 ng/ml). Portanto, mesmo com múltiplas administrações do fármaco durante a terminação dos cordeiros, conforme os três métodos de controle de endoparasitas, não foi possível quantificar resíduo de MOX no soro após, no mínimo, 28 dias da última aplicação do anti-helmíntico.

TABELA 5.4 – ANÁLISE PARA DETECÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA, CLASSIFICADOS EM INTERVALOS DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES, NO MÚSCULO PRÓXIMO (PERNIL) E LONGE (LOMBO) DO LOCAL DE APLICAÇÃO DE CORDEIROS SUBMETIDOS À DOIS PROGRAMAS SELETIVOS (OPG E FAMACHA) E UM PREVENTIVO (TRATAMENTO A CADA 28 DIAS) PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS.

CONCENTRAÇÃO (µg/kg)	PROGRAMA PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS						TOTAL	
	PREVENTIVO		OPG		FAMACHA			
	N	%	N	%	N	%	N	%
Músculo próximo ao local de aplicação (pernil)							0	0
>LOQ	23	59,0	22	48,9	32	76,2	77	61,4
5-25	15	38,5	23	51,1	10	23,8	48	37,8
26-50	1	2,5	0	0	0	0	1	0,8
>50	0	0,0	0	0	0	0	0	0,0
Músculo longe do local de aplicação (lombo)								
>LOQ	27	69,2	42	93,3	30	71,4	99	78,0
5-25	12	30,8	3	6,7	12	28,6	27	22,0
26-50	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
>50	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TOTAL	78	31,0	90	35,7	84	33,3	252	100

FONTE: O autor (2015)

NOTA: Menor que o limite de quantificação (LOQ= 5 µg/kg)

O músculo foi a segunda matriz a apresentar maior percentual de amostras em que não foi detectado resíduo de MOX (69,8%). O músculo longe do local de aplicação (lombo) apresentou 78,0% das amostras negativas para resíduo de MOX e o músculo próximo ao local de aplicação (pernil), 61,4% das amostras (TABELA 5.4). Das amostras em que foi detectado o resíduo do anti-helmíntico (30,2%), a maior concentração foi de 30 µg/kg no músculo próximo ao local de aplicação, proveniente de um cordeiro submetido ao tratamento preventivo. Nenhuma das amostras de músculo apresentou concentração acima do LMR (50 µg/kg). A baixa concentração de resíduo de MOX no músculo pode estar relacionada à rápida absorção do fármaco nessa matriz,

conforme demonstrado no primeiro estudo em que 7 dias após a administração a concentração foi inferior ao LMR. Portanto, mesmo após múltiplas administrações da MOX em cordeiros, quando o abate ocorre após o período de carência estabelecido para este fármaco (28 dias), a concentração de resíduo no músculo é inferior ao LMR estabelecido pelo *Codex Alimentarius*.

Em todas as amostras de fígado analisadas (n=126) foram detectados resíduos de MOX. A maior concentração observada foi de 35 µg/kg no fígado proveniente de um cordeiro submetido ao tratamento preventivo. No entanto, essa concentração está bem abaixo do LMR estabelecido para essa matriz de 100 µg/kg (*Codex Alimentarius*, 2014). A MOX é biotransformada em baixa proporção no fígado, sendo secretada pela bile na forma ativa e eliminada juntamente com as fezes. Esta é a principal via de excreção da MOX, representando até 90% da dose administrada (MULROY, 2001), sendo que somente uma pequena fração é eliminada pela urina (MULROY, 2001; LIFSCHITZ *et al.*, 1999) e leite (CARCELES *et al.*, 2001). No presente estudo a concentração de resíduo de MOX no fígado apresentou correlação significativa ($P < 0,01$) positiva com a concentração na gordura ($r = 0,5719$), demonstrando que a alta lipofilicidade do fármaco permite longo período de resíduos no fígado e de excreção nas fezes. Gilaverte (2014) avaliou o tempo de excreção de MOX nas fezes dos cordeiros. Os animais estudados nesse estudo foram os mesmos utilizados na presente tese para avaliação da depleção da MOX nos tecidos (músculo e gordura; Item 5.2.1). A autora observou excreção nas fezes por até 42 dias após única administração do fármaco.

Apesar da baixa taxa de eliminação da MOX via urina (MULROY, 2001), 47,6% das amostras apresentaram resíduo acima do LOQ (TABELA 5.5). A máxima concentração observada foi de 47,2 µg/kg no rim, proveniente de uma cordeira submetida ao tratamento preventivo. Esse animal havia recebido três doses durante o período que permaneceu no experimento até atingir o peso de abate, que ocorreu 32 dias após a última aplicação do anti-helmíntico. Não houve correlação ($P > 0,05$) entre a concentração de MOX no rim e o número de tratamentos com o anti-helmíntico e baixa correlação ($P < 0,01$) com o tempo de carência ($r = 0,2991$). Ressalta-se que esta concentração próxima ao LMR estabelecido para essa matriz, de 50 µg/kg (*Codex Alimentarius*, 2014), demonstra que mesmo após o tempo de carência

de 28 dias há risco da presença de resíduo de MOX acima do LMR em cordeiros que recebem múltiplas doses durante a terminação.

TABELA 5.5 – ANÁLISE PARA DETECÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA, CLASSIFICADOS EM INTERVALOS DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES, NO FÍGADO E RIM DE CORDEIROS SUBMETIDOS À DOIS PROGRAMAS SELETIVOS (OPG E FAMACHA) E UM PREVENTIVO (TRATAMENTO A CADA 28 DIAS) PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS.

CONCENTRAÇÃO (µg/kg)	PROGRAMA PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS						TOTAL	
	PREVENTIVO		OPG		FAMACHA			
	N	%	N	%	N	%	N	%
	FÍGADO						0	0
>LOQ	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
5-25	35	89,7	40	88,9	42	100	117	92,9
26-50	4	10,3	5	11,1	0	0,0	9	7,1
51-100	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
>100	0	0	0	0,0	0	0,0	0	0,0
	RIM							
>LOQ	24	61,5	27	60,0	15	35,7	66	52,4
5-25	9	23,1	15	33,3	22	52,4	46	36,5
26-50	6	15,4	3	6,7	5	11,9	14	11,1
>50	0	0,0	0	0,0	0	0	0	0,0
TOTAL	78	31,0	90	35,7	84	33,3	252	100

FONTE: O autor (2015)

Devido á característica da MOX de alta afinidade pelo tecido adiposo, conforme demonstrado no estudo de depleção (FIGURA 5.4), as maiores concentrações do fármaco no momento do abate foram observadas na gordura (TABELA 5.6) dos cordeiros, sendo que 100% das amostras apresentaram resíduo acima do LOQ. Destas, 11,9% apresentaram concentração acima da observada 28 DPT após uma única administração de MOX em cordeiros (TABELA 5.2; 320 µg/kg). Contudo, apenas uma amostra apresentou concentração acima da LMR (500 µg/kg; *Codex Alimentarius*, 2014). Essa amostra era proveniente da mesma cordeira que apresentou a maior concentração observada na matriz rim. Não houve correlação ($P>0,05$) entre a concentração de resíduo de MOX na gordura dos cordeiros e o número de tratamentos, e houve baixa correlação negativa com o tempo de carência ($P<0,01$; $r=-0,2631$). No entanto, houve correlação significativa positiva ($P<0,01$; $r=0,5310$) com o total de gordura interna (omental). Portanto,

diferenças entre os animais em relação a deposição de gordura de cobertura e interna, podem determinar diferentes tempos de persistência do fármaco no organismo.

O fígado e gordura são normalmente escolhidos como os tecidos alvo para a monitorização da MOX, visto que os resíduos são mais persistentes nestes tecidos e por apresentarem maiores LMR (DANAHER *et al.*, 2006). No presente estudo, a concentração de MOX na gordura apresentou correlação de média intensidade com a concentração no fígado ($P<0,05$; $r=0,5719$). Entretanto, a amostra de gordura considerada violada (acima do LMR) apresentou baixa concentração no fígado (15,85 µg/kg).

TABELA 5.6 – ANÁLISE PARA DETECÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA, CLASSIFICADOS EM INTERVALOS DE ACORDO COM AS CONCENTRAÇÕES, NA GORDURA DE CORDEIROS SUBMETIDOS À DOIS PROGRAMAS SELETIVOS (OPG E FAMACHA) E UM PREVENTIVO (TRATAMENTO A CADA 28 DIAS) PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS.

CONCENTRAÇÃO (µg/kg)	PROGRAMA PARA CONTROLE DE ENDOPARASITAS						TOTAL	
	PREVENTIVO		OPG		FAMACHA			
	N	%	N	%	N	%	N	%
>LOQ	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0
5-50	15	38,5	9	20,0	18	42,9	42	33,3
51-100	6	15,4	12	26,7	7	16,7	25	19,8
101-150	6	15,4	5	11,1	5	11,8	16	12,7
151-200	0	0,0	7	15,7	5	11,8	12	9,5
201-250	3	7,7	5	11,1	1	2,4	9	7,1
251-300	2	5,0	1	2,2	2	4,8	5	4,0
301-350	1	2,6	2	2,2	2	4,8	4	3,2
351-400	1	2,6	2	4,4	1	2,4	4	3,2
401-450	4	10,2	1	2,2	0	0,0	5	4,0
451-500	0	0,0	2	4,4	1	2,4	3	2,4
>501	1	2,6	0	0,0	0	0,0	1	0,8
TOTAL	39	100	45	100	42	100	126	100

FONTE: O autor (2015)

TABELA 5. 7 – COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO SIMPLES DE PEARSON ENTRE NÚMERO DE DOSES, TEMPO DE CARÊNCIA, ESPESSURA DE GORDURA DE COBERTURA DO CORTE LOMBO, PESO DA GORDURA OMENTAL E AS CONCENTRAÇÕES DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA NO MÚSCULO PRÓXIMO (PERNIL) E LONGE AO LOCAL DE APLICAÇÃO (LOMBO), RIM, FÍGADO E GORDURA DE CORDEIROS.

VARIÁVEIS	CONCENTRAÇÃO DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA				
	MÚSCULO		RIM	FÍGADO	GORDURA
	PERNIL	LOMBO			
Número de doses	0,0129 ^{ns}	0,0491 ^{ns}	0,0417 ^{ns}	0,0315 ^{ns}	0,0212 ^{ns}
Tempo de carência	-0,1963*	-0,2377**	-0,2991**	-0,2717**	-0,2631**
Espessura de gordura	0,2118*	0,0920 ^{ns}	0,1236 ^{ns}	0,1065 ^{ns}	0,1501 ^{ns}
Gordura omental	0,2902**	0,2952**	0,2367**	0,1501**	0,5310**
Pernil	1	0,4615**	0,3905**	0,4063**	0,5342**
Lombo	0,4615**	1	0,8200**	0,5485**	0,7667**
Rim	0,3905**	0,8200**	1	0,5853**	0,7532**
Fígado	0,4063**	0,5485**	0,5853**	1	0,5719**
Gordura	0,5342**	0,7667**	0,7532**	0,5719**	1

FONTE: O autor (2015)

NOTA: ns= não significativo ($P>0,05$); * $P<0,05$; ** $P<0,01$

Dois cordeiros submetidos ao programa de controle de endoparasitas pelo método FAMACHA, que não receberam nenhuma dose do anti-helmíntico durante o período de terminação, apresentaram resíduo de MOX na gordura (média de 5,5 $\mu\text{g/kg}$) e no fígado (média de 10,2 $\mu\text{g/kg}$). O método analítico utilizado apresenta seletividade e especificidade para o fármaco estudado e está de acordo com o preconizado pelos guias de validação do MAPA (2011) e Comunidade Europeia (EC, 2002), o que garante que não há interferentes que possam ter sido interpretados de maneira errada como sendo o analito avaliado. Gilaverte (2014) relatou alta persistência do fármaco no ambiente em sua forma ativa após sua excreção nas fezes, com taxa média de degradação de 27% após 88 dias de exposição no ambiente. Portanto, a presença da MOX, mesmo que em baixas concentrações, no fígado que é o principal órgão responsável pela sua excreção e no tecido adiposo, são indicativos de que há risco de contaminação exógena a partir da ingestão da pastagem em sistemas em que os animais são mantidos em pastejo contínuo. Ressalta-se que nenhuma das ovelhas, mães dos cordeiros, receberam tratamento com MOX, descartando assim a ingestão indireta da MOX via leite.

Ressalta-se a importância de políticas públicas para regulamentação do controle de resíduos de medicamentos veterinários nos produtos provenientes

de ovinos, com o objetivo de garantir a segurança do alimento, a manutenção e conquista de novos mercados, sendo esse um fator decisivo na competitividade internacional.

5.4 CONCLUSÃO

As concentrações de resíduos de MOX no músculo (próximo ao local de aplicação) e na gordura de cordeiros apresentaram-se abaixo do LMR, 5 e 17 dias após o tratamento com uma única dose subcutânea (0,2 mg/kg de PC).

A terminação de cordeiros em pastagem de verão com controle de parasitas gastrintestinais por meio de métodos seletivos (OPG e FAMACHA) ou preventivo (tratamento a cada 28 dias), com abate após o tempo de carência (28 dias), apresenta baixo risco de incidência (menos de 1%) de amostras violadas quanto ao LMR para MOX no músculo, gordura, rim e fígado.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L.R.; CASTRO, A.A.; SILVA, F.J.M.et al. Desenvolvimento, sobrevivência e distribuição de larvas infectantes de nematóides gastrintestinais de ruminantes, na estação seca da baixada fluminense, RJ. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.14, n.3, p.89-94, 2005

ALVINERIE, M., E. ESCUDERO, J.F. SUTRA, C. EECKHOUTTE AND P. ALTIER. The pharmacokinetics of moxidectin after oral and subcutaneous administration to sheep. **Veterinary Research**. v.157, n.1-2, p. 117–122, 1998.

BAPTISTA, R. C. Moxidectina no Soro de Cordeiros: Perfil Farmacocinético e Avaliação de seus Resíduos em Diferentes Métodos de Controle Parasitário. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2013.

BARROS, C.S.; MONTEIROS, A.L.G.; POLI, C.E.C.; DITTRICH, J.R.; CANZIANI, J.R.F.; FERNANDES, M.A.M. Rentabilidade da produção de ovinos de corte em pastagem e em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2270-2279, 2009.

BATH G.F. & VAN WYK J.A. Using the Famacha system on commercial sheep farms in South Africa. **International Sheep Veterinary Congress**, Cape Town, South Africa, Vol.1, p.3, 2001.

BATH G.F. & VAN WYK, J.A. The Five Point Check for targeted selective treatment of internal parasites in small ruminants. **Small Ruminant Research**, v.86, p. 6-13, 2009.

BORGES, F. A. Farmacocinética e atividade endectocida de uma nova formulação contendo avermectinas em bovinos. 2003. 88 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

BRASIL (País). Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Plano nacional de controle de resíduos e contaminantes em produtos de origem animal PNCRC/Animal. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/animal/qualidade-dosalimentos/residuos-e-contaminantes> Acessado em: 12 de março de 2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 24. Anexo II: Guia para Validação de Métodos Analíticos e Controle de Qualidade Interna das Análises de Monitoramento do Plano Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes – PNCRC. Diário Oficial, nº 138, jul. 2011.

BURKE, J.M.; KAPLAN, R.M.; MILLER, J.E.; TERRILL, T.H.; GETZ, W.R.; MOBINI, S.; VALENCIA, E.; WILLIAMS, M.J.; WILLIAMSON, L.H.; VATTA, A.F. Accuracy of the FAMACHA© system for on-farm use by sheep and goat producers in the southeastern United States. **Veterinary Parasitology**, v.147, n. 1-2, p. 89-95, June 2007.

CARCELES, C.; DIAZ, M.; VICENTE, M.; SUTRA J.; ALVINERIE, M.; ESCUDERO, E. Milk kinetics of moxidectin and doramectin in goats. **Research Veterinary Science**, v.68, p.1-5, 2001.

CARVALHO, P. C. F. Manejando pastagens para ovinos. In: PEREIRA NETO, O. A.(Ed.); CARVALHO, P.C.F.; BONINO, J.; CONDORELLI, E. Práticas em ovinocultura: ferramentas para o sucesso. Porto Alegre: SENAR, 2004. p. 15-28. Disponível em: <<http://www.senarrs.com.br/>>. Acesso em: 24 abr. 2015.

CAMERON, N.D.; DRURY, D.J. Comparison of terminal sire breeds for growth and carcass traits in crossbred lambs. **Animal Production**, v.40, p.315-322, 1985.

COSTA R.L.D., BUENO M.S., VERISSIMO C.J., CUNHA E.A., SANTOS L.E., OLIVEIRA S.M., SPOSITO FILHA E. & OTSUK I.P. Performance and nematode

infection of ewe lambs on intensive rotational grazing with two different cultivars of *Panicum maximum*. **Trop. Anim. Health Prod.** v.39, p.255-263, 2007.

DANAHER, M.; HOWELLS, L. C.; CROOKS, S. R. H.; CERKVENIK-FLAJS, V.; O'KEEFFE, M.. Review of methodology for the determination of macrocyclic lactone residues in biological matrices. **Journal of Chromatography**, v. 844, p. 175–203, 2006.

EC. European Comission. Official Journal of the European Communities, 17/08/2002, L221/8-36.

EMA. Moxidectin Summary report. European Medicines Evaluation Agency. London, England: EMA, 1999.

FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Resistência antihelmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes: avanços e limitações para seu diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 12, p. 1391-1402, 2013.

GILAVORTE, S. TAXA DE EXCREÇÃO, IMPACTO E PERSISTÊNCIA DE RESÍDUO DE MOXIDECTINA NAS FEZES DE OVINOS NO AMBIENTE. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós Graduação em Agronomia, 2014.

GONZÁLEZ-GARDUÑO R., TORRES-ACOSTA J.F.J. & CHAY-CANUL A.J. Susceptibility of hair sheep ewes to nematode parasitism during pregnancy and lactation in a selective anthelmintic treatment scheme under tropical conditions. **Research Veterinary Science**, 96, p. 487-492, 2004.

HAYES, P. W.. Proceedings of Australian Veterinarians In Industry. Australian Veterinary Association Annual Conference, Canberra, Australia, 1994.

KAPLAN R.M., BURKE J.M., TERRILL T.H., MILLER J.E., GETZ W.R., MOBINI S., VALENCIA E., WILLIAMS M., WILLIAMSON L.H., LARSEN M. & VATTA

A.F. Validation of the FAMACHA eye color chart for detecting clinical anemia on sheep and goat farms in the southern United States. **Veterinary Parasitology**, v.123, p.105-120, 2004.

KITA, K., SHIOMI, K., OMURA, S. Advances in drug discovery and biochemical studies. **Trends Parasitology**, 23, 223–229, 2007.

LIFSCHITZ, A.; IMPERIALE, F.; VIRKEL, G.; MUNOZ COBENAS, M.; SCHERLING, N.; DELAY, R.; LANUSSE, C.. Depletion of moxidectin tissue residues in sheep. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 6011-6015, 2000.

LIFSCHITZ, A.; VIRKEL, G.; PIS, A.; IMPERIALE, F.; SÁNCHEZ, S.; ALVAREZ, L.; KUYANEK R.; LANUSSE, C. Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 203-215, 1999

MOLENTO M.B., TASCA C., GALLO A., FERREIRA M., BONONI R. & STECCA E. Método FAMACHA como parâmetro clínico individual de infecção por *Haemonchus contortus* em pequenos ruminantes. **Ciência Rural**, v.34, p.1139-1145, 2004.

MOLYNEUX, D.H., BRADLEY, M., HOERAUF, A., KYELEM, D., TAYLOR, M.J. Mass drug treatment for lymphatic filariasis and onchocerciasis. **Trends Parasitology**, v.19, p. 516-522, 2003.

MULROY, A. Monitoring and Analysis of Water and Wastes. **Water Environment Technology**. v. 13, n. 2, p. 32-36, 2001.

NRC, **Nutrient requirements of small ruminants:sheep, goats, cervids and new world camelids**. Washington: National Academy Press, 2007. 362pp.

PÉREZ, R.; CABEZAS, I.; GODOY, C.; RUBILAR, L.; DÍAZ, L.; MUÑOZ, L.; ARBOIX, M.; ALVINIERIE, M. Disposición plasmática y fecal de moxidectina

administrada por vía oral en caballos. **Archivos de Medicina Veterinaria**. v. 33, p. 77-88, 2001.

PINHEIRO, R.S.B.; SILVA SOBRINHO, A.G.; YAMAMOTO, S.M.; BARBOSA, J.C. Composição tecidual dos cortes da carcaça de ovinos jovens e adultos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 4, p. 565-571, 2007.

POLI, C.H.E.C.; MONTEIRO, A.L.G.; BARROS, C.S.; MORAES, A.; FERNANDES, M.A.M.; PIAZZETTA, H.V.L. Produção de ovinos de corte em quarto sistemas de produção. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 4, p. 666-673, 2008.

PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, p. 134-153, 2012.

RIBEIRO, T.M.D.; MONTEIRO, A.L.G.; POLI, C.H.E.C.; MORAES, A.; SILVA, A.L.P.; BARROS, C.S. Características da pastagem de azevém e a produtividade de cordeiros em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 38, n. 3, p. 580-587, 2009.

SILVA, F. DE A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. de. Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009.

STIVARI, T.S.S.; MONTEIRO, A.L.G.; GAMEIRO, A.H.; CHEN, R.F.F.; SILVA, C.J.A.; PAULA, E.F.E.; PRADO, O. R. Financial-economic feasibility of not-weaned grazing lambs supplemented in privative trough or with pasture. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, 14(3), 396-405, 2013.

SUMANO L.H.; OCAMPO, C.L. **Farmacología Veterinaria**. 3ra ed. MacGraw-Hill Interamericana, México D.F., México, p. 481-482, 2006.

VAN WYK J.A. & BATH G.F. The FAMACHA system for managing haemonchosis in sheep and goats by clinically identifying individual animals for treatment. **Veterinary Research** 33:509-529, 2002.

ZULALIAN, J., S. J. STOUT, A. R. DA CUNHA, T. GARCÉS, P. MILLER. Absorption, tissue distribution, metabolism and excretion of moxidectin in cattle. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 42: 381-387, 1994.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente trabalho demonstram que os métodos seletivos Famacha (FMC) e pela contagem de ovos por grama de fezes (OPG) são alternativas viáveis para o controle de endoparasitas nas terminações de cordeiros em pasto sem a realização do desmame. Ambos os métodos apresentaram resultados produtivos (desempenho individual e por área, escore corporal ao abate, peso e rendimento de carcaça) e redução dos gastos com anti-helmíntico, quando comparados ao tratamento preventivo a cada 28 dias. Cabe ao produtor avaliar, conforme a disponibilidade de realizar exames periódicos de OPG ou o treinamento para aplicação do método FMC, qual opção será adotada.

A segurança dos alimentos é um tema amplamente discutido e cada vez com maior relevância mundial. A inclusão da carne ovina no Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, a partir do ano de 2014, representa um importante passo no estabelecimento de medidas mitigatórias que visam direcionar a produção para exportação de produtos dessa espécie. No entanto, a ausência, na legislação, de limites máximos de resíduos (LMR) específicos para ovinos, ainda fragiliza o seu controle.

Antiparasitários com longo tempo de persistência no organismo, mesmo após uma única aplicação, como demonstrado para MOX em relação ao tecido adiposo, apresentam maior risco da ocorrência de resíduos acima da LMR. Os dados obtidos no presente estudo demonstraram que são necessários, no mínimo, 17 dias de carência para que o resíduo de MOX alcance níveis abaixo do LMR. Ressalta-se que esse valor está relacionado a um único tratamento, e que após tratamentos sucessivos pode haver efeito somatório de doses, com aumento do tempo de carência para atingir o LMR.

Há escassez de trabalhos no Brasil com o objetivo de avaliar o impacto da adoção de sistemas de terminação associados aos métodos de controle de endoparasitas, na incidência de carcaças com resíduos acima da LMR. O alto custo dessas análises pode ser o grande limitante para as pesquisas nacionais nessa área.

Com os dados obtidos no presente estudo, verificou-se que a violação do LMR na carne e órgãos (fígado e rim) apresenta baixa incidência, menos de 1,0%, quando o tempo de carência (tempo mínimo entre a última aplicação e o abate) para a MOX e a dose são respeitados, mesmo após múltiplos tratamentos (até 6 aplicações/animal em 5 meses). Esses resultados indicam a importância da associação de medidas regulatórias, com a orientação dos produtores de ovinos sobre as boas práticas no uso dos antiparasitários (dose, via de administração, tempo de carência, frequência de tratamento, entre outros), uma vez que o manejo utilizado para o controle de endoparasitas na propriedade é a causa primária da ocorrência de resíduos acima do LMR.

ANEXO

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 055/2011, referente ao projeto “Resíduo de Moxidectina nos tecidos de cordeiros terminados em pasto submetidos a três programas de controle de endoparasitas e seu impacto no ambiente”, sob a responsabilidade de Alda Lucia Gomes Monteiro, na forma que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 16 de dezembro de 2011.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 055/2011, regarding the project “Moxidectin residue in tissues of lambs finishing on pasture in three endoparasites control programs and its impact on the environment”, in charge of Alda Lucia Gomes Monteiro, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on December 2011.

Curitiba, 16 de dezembro de 2011.

Geraldo Camilo Alberton
Presidente

Patrick Schmidt
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.