

Clinical safety of dichlorvos (45%), cypermethrin (5%) and piperonyl butoxide (25%) administered by spray on the skin of cattle

Seguridad clínica del diclorvos (45%), cipermetrina (5%) y butóxido de piperonilo (25%) administrado por aspersión sobre la piel de bovinos

Alessandra C Moraes,¹ M.Sc, Ed JR Prado,² M.Sc, Vanessa P Faria,¹ MV,
Thais MS Gírio,³ Ph.D, Wilson G Manrique,² Ph.D, Marco AA Belo,^{1,4*} Ph.D.

¹ São Paulo State University – UNESP, Department of Preventive Veterinary Medicine, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n CEP 14884-900, Jaboticabal/SP - Brazil. São Paulo State University – UNESP, ²Department of Veterinary Pathology, Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane s/n CEP 14884-900, Jaboticabal/SP - Brazil. ³Uzinas Químicas Brasileiras S.A. Department of Research and Technical Development, Praça Dr. Joaquim Batista, 150, Centro 14870-090, Jaboticabal/SP – Brazil. ⁴Camilo Castelo Branco University, Laboratory of Animal Pharmacology and Toxicology. Av. Hilário da Silva Passos, 950. Parque Universitário CEP. 13690-000, Descalvado/SP - Brazil. *Correspondence: maabelo@hotmail.com

Received: October 2014; Accepted: March 2015.

ABSTRACT

Objective. Due to the importance of controlling ectoparasites, associated with the necessity of technical knowledge on the safety of topical treatment with organophosphates, pyrethroids and piperonyl butoxide to the animal organism, this bioassay was carried out to evaluate the clinical safety of the association of dichlorvos (45%) + cypermethrin (5%) + piperonyl butoxide (25%) administered by spray on the skin of cattle, through the study of clinical parameters, biochemical, haematological and behavioral changes. **Materials and methods.** Sixteen crossbred animals with a mean age of 18 months, males and females grouped into two treatments with eight animals each: T1 (1:800 v/v) and T2 (1:200 v/v). Were collected blood samples at six different times: before treatment (BT), 24, 48, 72, 96 and 192 hours post treatment (HPT). **Results.** The antiparasitic association administered by spray on the skin did not result in changes in the enzymatic activity of ALT, AST, GGT and ALP, as well as in serum albumin, triglycerides, cholesterol, urea and creatinine, demonstrating the safety of this antiparasitic compound for maintaining hepatic and renal functionality. The erythrocyte, leukocyte and platelet studies showed no changes caused by treatments, and no clinical signs and behavioral changes were observed after treatment. **Conclusions.** These findings demonstrated good safety margin for spray treatment on the skin with this antiparasitic compound, even when administered at a dilution of 1:200 v/v, which is four times the dose recommended for ectoparasite control.

Key words: Clinical safety, bovine, organophosphates, piperonyl butoxide, pyrethroids, spray (*Source: DeCS, USDA*).

RESUMEN

Objetivo. Debido a la importancia del control de ectoparásitos en bovinos, asociado a la necesidad de conocimientos técnicos sobre la seguridad del tratamiento tópico con organofosforados, piretroides y butóxido de piperonilo, se realizó este bioensayo para la evaluación de la seguridad clínica de la asociación de diclorvos (45%) + cipermetrina (5%) + butóxido de piperonilo (25%), administrado por aspersión en la piel del ganado bovino, a través del estudio de los parámetros clínicos, bioquímicos, hematológicos y comportamentales. **Materiales y métodos.** Dieciséis animales entre machos y hembras cruzados con edad media de 18 meses, agrupados en dos tratamientos de ocho animales cada uno: T1 (1:800 v/v) y T2 (1:200 v/v). Fueron colectadas muestras de sangre en seis momentos diferentes: antes del tratamiento (BT), 24, 48, 72, 96 y 192 horas post tratamiento (HPT). **Resultados.** La asociación antiparasitaria administrada por aspersión en la piel no alteró la actividad enzimática de ALT, AST, GGT y FA, así como la albúmina, triglicéridos, colesterol, urea y creatinina, que demuestra la seguridad de este compuesto antiparasitario en la función renal y hepática. El análisis de eritrocitos, leucocitos y plaquetas no mostraron cambios en los tratamientos, tampoco fueron observados signos clínicos y de comportamiento post tratamiento. **Conclusiones.** Estos resultados demostraron buen margen de seguridad en el tratamiento por aspersión en la piel con este compuesto antiparasitario, incluso cuando se administra en una dilución de 1:200 v/v, que es cuatro veces la dosis recomendada para el control de ectoparásitos.

Palabras clave: Aspersión, bovino, butóxido de piperonilo, organofosforados, piretroides, seguridad clínica (*Fuentes: DeCS, USDA*).

INTRODUCTION

The South America assumes an important position as a world producer of beef, contributing to economic and social development, responsible for thousands of direct and indirect jobs (1). According to Soares et al (2), the development of the cattle industry depends on the health herd management, and the control of parasitic diseases is revealed as an essential factor to make this activity more effective and competitive.

The ectoparasitoses are responsible for high economic losses to the cattle industry in regions with tropical and subtropical climates (3). However, there are a number of active principles that participate in chemotherapy formulations used for parasite control, and the administration of them without epidemiological criteria and incorrect doses, may compromise the therapeutic efficacy and the health of cattle (4).

The animals are constantly exposed to many potentially toxic substances, such as pesticides, spoiled food, industrial waste, toxic plants, among others (5). Most of these chemical compounds induce lipid peroxidative processes mediated by the action of free radicals, resulting in damage to biomembranes, consequently promoting cellular and tissue dysfunction (6).

In cases of poisoning is high the occurrence of hepato-renal syndromes. According to Varga and Puschner (7) and Belo et al (8), severe damage to liver by different etiologies can cause changes in renal function, aggravating the clinical condition

INTRODUCCIÓN

Suramérica asume una posición importante como productor mundial de carne de res, contribuyendo al desarrollo social y económico, siendo responsable por miles de trabajos directos e indirectos (1). De acuerdo con Soares et al (2), el desarrollo de la industria ganadera depende de la gestión sanitaria del rebaño, y el factor principal para hacer esta actividad más efectiva y competitiva es el control de enfermedades parasitarias.

La ectoparasitosis es la responsable de las altas pérdidas económicas de la industria ganadera en regiones con climas tropicales y subtropicales (3). Sin embargo, existe una cantidad de principios activos que hacen parte de formulaciones de quimioterapia y que son utilizados para el control parasitario sin criterio epidemiológico y en dosis incorrectas, lo que puede comprometer su efecto terapéutico y la salud del ganado (4).

Los animales se exponen constantemente a muchas sustancias potencialmente tóxicas, tales como pesticidas, alimentos en mal estado, desechos industriales, plantas tóxicas, entre otros (5). La mayoría de estos compuestos químicos provocan procesos de peroxidación lipídica mediante la acción de radicales libres, produciendo daños a las biomembranas, y por consiguiente promoviendo la disfunción celular y de los tejidos (6).

En casos de intoxicación, la aparición de síndromes hepatorenales es alta. De acuerdo con Varga y Puschner (7) y Belo et al (8), daños severos al hígado por diferentes etiologías pueden causar cambios de

of the animal. In this context, haematological and serum biochemical analysis provide important information in the diagnosis and prognosis of morbid conditions in animal populations (9).

Another extremely important aspect is related to the safety of exogenous administration of pharmacological compounds. In addition to their therapeutic activity, these formulations should provide clinical safety to animals, considering that every substance is potentially harmful to the organism, the right dose differentiates the medicine from the toxicant (10).

Considering the great importance of controlling ectoparasites in cattle, associated with lack of technical information on the safety of topical treatments with organophosphates, pyrethroids and piperonyl butoxide to the animal organism, this study aimed to evaluate the clinical safety of dichlorvos (45%) + cypermethrin (5%) + piperonyl butoxide (25%) after topical administration by spray, through the study of evolution of the clinical and toxicological changes.

MATERIALS AND METHODS

Animals. Sixteen crossbred animals with a mean age of 18 months, males and females, were divided into two treatments with eight animals each: T1 (treated with the dose recommended by parasite control at a dilution of 1:800) and T2 (treated with four times the recommended dose, dilution of 1:200). After treatment, both groups were kept in different pastures in Estância Modelo Farm, City of Descalvado, São Paulo State, Brazil, during the period of analysis. The experimental design is in accordance with the Guideline for Good Clinical Practice described by McGroth et al (11), and was approved by the UNICASTELO Institutional Ethics Committee with the process number 2517-2737/09.

Experimental Design. The 16 bovines were sampled at six different times: before treatment (BT) to obtain the basal values (standard physiology), 24, 48, 72, 96 and 192 hours post treatment (HPT). This experimental model allows the evaluation of the toxicological and clinical evolution of animals after treatment.

Antiparasitic treatment. The treatments were performed in covered paddock, being sprayed five liters of antiparasitic (Colpo 75[®], Cypermethrin 5% + 45% Dichlorvos + 25% butoxide Piperolina - Uzinás Químicas Brasileiras Company) per animal, in two treatments with eight animals each: T1 (dilution of 1:800) and T2 (dilution of 1: 200).

la función renal, agravando la condición clínica del animal. Respecto a esto, análisis hematológicos y bioquímicos del suero proporcionan información importante para el diagnóstico y pronóstico de condiciones mórbidas en poblaciones de animales (9).

Otro aspecto sumamente importante se relaciona con la seguridad de la administración exógena de compuestos farmacológicos. Además de su actividad terapéutica, estas formulaciones deben proveer seguridad clínica a los animales, considerando que cada sustancia es potencialmente perjudicial para el organismo, la dosis correcta diferencia la medicina del tóxico (10).

Teniendo en cuenta la gran importancia de controlar los ectoparásitos en el ganado, junto con la ausencia de información técnica sobre la seguridad de tratamientos tópicos con organofosforados, piretroides y butóxido de piperonilo en el organismo del animal, se realizó este estudio orientado a evaluar la seguridad clínica de diclorvos (45%) + cipermetrina (5%) + butóxido de piperonilo (25%) después de su administración tópica por aspersión, mediante la observación de la evolución de los cambios clínicos y toxicológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales. Dieciséis animales, entre machos y hembras, con una edad promedio de 18 meses, se dividieron en dos grupos con ocho animales en cada uno: T1 (tratado con la dosis recomendada para el control parasitario con una dilución de 1:800) y T2 (tratado con cuatro veces la dosis recomendada, dilución 1:200). Después del tratamiento, durante el período de análisis, ambos grupos se mantuvieron en pasturas diferentes en la finca "Estância Modelo", en la ciudad de Descalvado, estado de Sao Paulo, Brasil. El diseño experimental está de acuerdo con la Guía de las Mejores Prácticas Clínicas descrita por McGrot et al (11) y aprobada por el Comité Ético Institucional UNICASTELO con número de proceso 2517-2737 / 09.

Diseño experimental. Los 16 bovinos fueron sometidos a muestreo en seis momentos diferentes: antes del tratamiento (BT) para obtener los valores basales (fisiología estándar), 24, 48, 72, 96 y 192 horas después del tratamiento (HPT). Este modelo experimental permite la evaluación de la evolución clínica y toxicológica de los animales después del tratamiento.

Tratamiento antiparasitario. Los tratamientos se llevaron a cabo en potreros cubiertos, rociando cinco litros de antiparasitario (Colpo 75[®], 5% cipermetrina + 45% diclorvos + 25% butóxido de piperolino - Uzinás Químicas Brasileiras Company) por animal, en dos tratamientos con ocho animales cada uno: T1 (dilución de 1:800) y T2 (dilución de 1:200).

Haematological study. Sampling of blood for clinical and haematological evaluation were performed by jugular vein puncture, and aliquoted two sets of syringes of 5 mL (40x16 needles), and the first "set" was used 50 μ L of EDTA anticoagulant for collection of the plasma and the second without anticoagulant to obtain serum. For determination of erythrocyte was used automatic blood cell counter (Model CC510, Celm). The counting of leukocytes and platelets was performed manually in a Neubauer chamber. The percentage of packed cell volume was determined by micro-capillary hematocrit tubes, centrifuged 5 minutes 600 x *g*. At the time of blood collection, small samples were aimed at making blood extensions for differential leukocyte counts. After staining with May-Grünwald-Giemsa-Wright, was performed by counting 200 cells, establishing the percentage of each cell type (12).

Serum biochemical. Blood samples without anticoagulant were centrifuged at 500 x *g*/10 minutes, the serum was separated for determining levels of aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), albumin, urea, creatinine, total and direct bilirubin, triglycerides and cholesterol, performed enzymatic and colorimetrically in a semi-automatic biochemical analyzer, model LabQuest.

Clinical and behavioral evaluation. During the experimental period, the possible occurrences of clinical and behavioral changes in animals subjected to treatment with the antiparasitic compound were observed. Physiological parameters such as heart frequency, respiratory frequency, body temperature and capillary perfusion time were measured at the time of blood collection.

Statistical analysis. The data was subjected to analysis of variance using completely randomized split plot design, the main treatments of the experimental groups (two treatments) and the subplot experimental periods (six periods), using the PROC MIXED procedure in the SAS program, version 8.2 (13). Multiple comparisons were assessed by the Tukey test at 95% confidence level according to Snedecor and Cochran (14).

RESULTS

In serum-biochemical study of the cattle treated with antiparasitic association, no significant changes ($p > 0.05$) in serum enzyme activity of ALT, AST, GGT and ALP were observed in bovines treated with a dilution of 1:800 (T1) when compared to animals subjected to a dilution of

Examen hematológico. El muestreo de sangre para la evaluación clínica y hematológica se efectuó por punción de la vena yugular, y se dividió en alícuotas de dos grupos de jeringas de 5 mL (aguja 40x16). En el primer grupo se usó 50 μ L de anticoagulante EDTA para recolectar el plasma y en el segundo no se usó anticoagulante para obtener el suero. Para determinar el eritrocito se usó el contador automático de células de sangre (Modelo CC510, Celm). El conteo de leucocitos y plaquetas se realizó manualmente en una cámara Neubauer. El porcentaje de volumen celular aglomerado se determinó por tubos microcapilares de hematocrito, centrifugados 5 minutos a 600 x *g*. En el momento de la recolección de sangre, se destinaron muestras pequeñas con el fin de hacer extensiones de sangre para el recuento diferencial de leucocitos. Después de la tinción con May-Grünwald-Giemsa-Wright, se realizó mediante el conteo de 200 células, estableciendo el porcentaje de cada tipo de célula (12).

Serología. Las muestras de sangre sin anticoagulante se centrifugaron a 500 x *g*/10 minutos; el suero se separó por niveles determinados de aspartato aminotransferasa (AST), alanina aminotransferasa (ALT), gama glutamil transferasa (GGT), fosfatasa alcalina (FA), albúmina, urea, creatinina, bilirrubina total y directa, triglicéridos y colesterol. Se llevó a cabo enzimática y colorimétricamente en un analizador bioquímico semi-automático, modelo LabQuest.

Evaluación clínica y comportamental. Durante el período experimental, se observaron posibles eventos de cambios clínicos y de comportamiento en animales sometidos a tratamientos con compuestos antiparasitarios. En el momento de la colecta de la sangre se midieron parámetros fisiológicos tales como la frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura corporal y tiempo de perfusión capilar.

Análisis estadístico. Los datos se sometieron a análisis de varianza utilizando un diseño completamente aleatorio en parcelas divididas; los principales tratamientos de los grupos experimentales (dos tratamientos) y los períodos experimentales de la subparcela (seis períodos), utilizando el procedimiento PROC MIXED en el programa SAS, versión 8.2 (13). Se evaluaron múltiples comparaciones mediante la prueba de Tukey, con un intervalo de confianza del 95% de acuerdo con Snedecor y Cochran (14).

RESULTADOS

En el análisis bioquímico serológico del ganado, tratado con la mezcla antiparasitaria, no se observaron cambios significativos ($p > 0.05$) en la actividad enzimática de ALT, AST, GGT y FA de bovinos tratados con una dilución de 1:800 (T1) en comparación con animales sometidos a una dilución de 1:200 (T2), así como en la comparación de los resultados clínicos de

1:200 (T2), as well as the comparison of clinical outcome of animals in each treatment (Table 1).

In the study of liver function, bovines treated with both doses presented no significant changes ($p < 0.05$) in serum determination of triglycerides, cholesterol, albumin, total and direct bilirubin (Table 1). Likewise, there were no significant changes in serum levels of these biochemical parameters when comparing the controls values measured before treatment related to different times after treatment. Only total and direct bilirubin were significantly increased ($p < 0.05$) 48 h after treatment in both concentrations (Table 1). Other relevant data shown in table 1 refers to normal values in blood urea and creatinine, in all analyzed periods.

In erythrocyte study (Table 2), bovines treated with both dilutions showed no significant changes ($p > 0.05$) in the number of erythrocytes, percentage of hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), hemoglobin levels and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), as well as the comparison of the clinical evolution of animals in each treatment. Similarly, platelet and leukocyte study (Table 2) presented no significant changes ($p > 0.05$) between the animals throughout the experimental period, including differential leukocyte count

los animales con cada tratamiento (Tabla 1).

En el examen de la función hepática, los bovinos tratados con ambas dosis no presentaron cambios significativos ($p < 0.05$) en la determinación del suero, de parámetros como triglicéridos, colesterol, albúmina, bilirrubina directa y total (Tabla 1). De igual forma, no hubo cambios considerables en los niveles de suero de estos parámetros bioquímicos cuando se compararon los valores de control, medidos antes del tratamiento con relación a los medidos en diferentes momentos después del tratamiento. Solamente hubo un incremento significativo ($p < 0.05$) de la bilirrubina directa y total 48 horas después del tratamiento con ambas concentraciones (Tabla 1). Otros datos relevantes mostrados en la tabla 1 hacen referencia a valores normales de creatinina y urea en la sangre, en todos los períodos analizados.

En el análisis de eritrocitos (Tabla 2), los bovinos tratados con ambas diluciones no mostraron cambios significativos ($p > 0.05$) en el número de eritrocitos, porcentaje de hematocrito, volumen corpuscular medio (VCM), niveles de hemoglobina y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), así como en la comparación de la evolución clínica de animales con cada tratamiento. De manera similar, el análisis de leucocitos y plaquetas (Tabla 2) no presentó cambios considerables ($p > 0.05$) entre los animales a través del período experimental, incluyendo el recuento

Table 1. Mean values¹ (respective standard deviations) and ANOVA² of biochemical parameters in cattle submitted to topical administration by spray with the association of dichlorvos 45% + cypermethrin 5% + piperonyl butoxide 25%.

Treatment	Period ³		Biochemical parameters ⁴									
	(HPT)	ALT	AST	ALP	GGT	Cholesterol	Triglycerides	Albumin	Total Bilirubin	Direct Bilirubin	Urea	Creatinine
Dilution 1:800	BT	26.7 ±10.7 ^{Aa}	59.1 ±13.1 ^{Aa}	179.8 ±66.9 ^{Aa}	19.1 ±3.3 ^{Aa}	273.0 ±107.1 ^{Aa}	18.3 ±14.9 ^{Aa}	2.1 ±0.2 ^{Aa}	0.2 ±0.1 ^{Aa}	0.1 ±0.0 ^{Aa}	32.5 ±14.9 ^{Aa}	1.3 ±0.3 ^{Aa}
	24	27.7 ±13.9 ^{Aa}	68.2 ±22.2 ^{Aa}	155.1 ±57.8 ^{Aa}	19.3 ±2.9 ^{Aa}	278.7 ±105.7 ^{Aa}	20.1 ±6.6 ^{Aa}	2.1 ±0.3 ^{Aa}	0.2 ±0.1 ^{Aa}	0.1 ±0.0 ^{Aa}	17.1 ±5.7 ^{Aa}	1.2 ±0.3 ^{Aa}
	48	29.0 ±10.9 ^{Aa}	68.8 ±15.4 ^{Aa}	180.0 ±53.1 ^{Aa}	17.4 ±3.6 ^{Aa}	287.1 ±106.2 ^{Aa}	30.0 ±26.7 ^{Aa}	2.3 ±0.1 ^{Aa}	0.5 ±0.1 ^{Aa}	0.1 ±0.0 ^{Aa}	15.2 ±5.8 ^{Aa}	1.2 ±0.3 ^{Aa}
	72	27.0 ±8.7 ^{Aa}	61.8 ±9.0 ^{Aa}	174.7 ±54.4 ^{Aa}	17.8 ±2.8 ^{Aa}	262.5 ±78.1 ^{Aa}	49.7 ±30.3 ^{Aa}	2.1 ±0.1 ^{Aa}	0.2 ±0.1 ^{Aa}	0.1 ±0.0 ^{Aa}	15.3 ±6.4 ^{Aa}	1.2 ±0.3 ^{Aa}
	96	25.0 ±9.1 ^{Aa}	60.6 ±11.1 ^{Aa}	197.7 ±45.5 ^{Aa}	18.4 ±1.9 ^{Aa}	293.7 ±105.8 ^{Aa}	53.2 ±37.0 ^{Aa}	2.4 ±0.3 ^{Aa}	0.1 ±0.1 ^{Aa}	0.1 ±0.0 ^{Aa}	13.6 ±6.4 ^{Aa}	1.1 ±0.3 ^{Aa}
	192	26.2 ±7.7 ^{Aa}	53.7 ±6.7 ^{Aa}	196.3 ±33.7 ^{Aa}	22.8 ±3.5 ^{Aa}	376.0 ±131.1 ^{Aa}	30.7 ±13.7 ^{Aa}	2.6 ±0.4 ^{Aa}	0.3 ±0.1 ^{Ab}	0.1 ±0.1 ^{Aa}	13.8 ±8.1 ^{Aa}	1.2 ±0.2 ^{Aa}
Dilution 1:200	BT	24.3 ±4.9 ^{Aa}	65.1 ±12.0 ^{Aa}	194.2 ±77.6 ^{Aa}	16.5 ±3.1 ^{Aa}	252.6 ±48.2 ^{Aa}	16.3 ±8.1 ^{Aa}	1.9 ±0.2 ^{Aa}	0.2 ±0.1 ^{Ab}	0.0 ±0.0 ^{Ab}	42.3 ±14.5 ^{Aa}	1.2 ±0.3 ^{Aa}
	24	23.5 ±6.4 ^{Aa}	74.1 ±12.1 ^{Aa}	191.5 ±81.1 ^{Aa}	15.6 ±2.3 ^{Aa}	269.6 ±64.4 ^{Aa}	44.1 ±33.0 ^{Aa}	2.0 ±0.3 ^{Aa}	0.2 ±0.1 ^{Ab}	0.1 ±0.0 ^{Ab}	23.3 ±9.4 ^{Aa}	1.3 ±0.2 ^{Aa}
	48	25.6 ±5.7 ^{Aa}	73.5 ±8.8 ^{Aa}	180.0 ±87.0 ^{Aa}	14.7 ±1.6 ^{Aa}	271.7 ±90.9 ^{Aa}	15.5 ±5.7 ^{Aa}	1.9 ±0.3 ^{Aa}	0.6 ±0.1 ^{Aa}	0.1 ±0.0 ^{Ab}	28.7 ±7.6 ^{Aa}	1.2 ±0.2 ^{Aa}
	72	26.4 ±5.2 ^{Aa}	72.8 ±10.5 ^{Aa}	193.5 ±72.6 ^{Aa}	14.8 ±4.3 ^{Aa}	284.3 ±62.8 ^{Aa}	29.7 ±19.9 ^{Aa}	2.3 ±0.6 ^{Aa}	0.2 ±0.1 ^{Ab}	0.1 ±0.0 ^{Ab}	27.4 ±11.6 ^{Aa}	1.1 ±0.3 ^{Aa}
	96	25.7 ±4.9 ^{Aa}	72.8 ±11.9 ^{Aa}	208.0 ±64.5 ^{Aa}	16.2 ±3.2 ^{Aa}	292.5 ±49.4 ^{Aa}	22.1 ±8.3 ^{Aa}	2.1 ±0.3 ^{Aa}	0.1 ±0.1 ^{Ab}	0.1 ±0.0 ^{Ab}	27.5 ±9.1 ^{Aa}	1.2 ±0.3 ^{Aa}
	192	23.7 ±7.4 ^{Aa}	66.2 ±16.8 ^{Aa}	194.5 ±57.1 ^{Aa}	16.9 ±3.6 ^{Aa}	355.4 ±90.9 ^{Aa}	18.1 ±6.8 ^{Aa}	2.5 ±0.5 ^{Aa}	0.3 ±0.9 ^{Ab}	0.1 ±0.0 ^{Aa}	18.4 ±9.2 ^{Aa}	1.1 ±0.2 ^{Aa}
Reference values	14 a 38	78 a 132	90 a 170	11 a 24	80 a 180	.	2.8 a 3.8	0.0 a 0.50	0.0 a 0.40	12 a 65	0.8 a 1.4	

¹ Means (n = 8) followed by the same letter do not differ by Tukey test ($p < 0.05$).

² The statistical analysis of variance is represented by uppercase letters that compare different treatments within each experimental day, lowercase letters compare the evolution of each treatment in different experimental days.

³ BT = Before treatment; HPT= hours post-treatment.

⁴ ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; ALP = alkaline phosphatase; GGT = Gamma glutamyl transferase

Table 2. Mean values¹ (respective standard deviations) and ANOVA² of haematological parameters in cattle submitted to topical administration by spray with the association of dichlorvos 45% + cypermethrin 5% + piperonyl butoxide 25%.

Treatment	Period ³		Haematological parameters ⁴					
	(HPT)	Erithrocytes (10 ⁶ /µL)	Hematocrit (%)	Hemoglobin (g/dL)	MCV (fL)	MCHC (g/dL)	Leukocytes (µL)	Platelets (µL)
Dilution 1:800	BT	7.2 ±1.1 ^{Aa}	33.8 ±5.6 ^{Aa}	9.5 ±1.4 ^{Aa}	46.9 ±1.7 ^{Aa}	28.3 ±4.2 ^{Aa}	14375.0 ±2213.4 ^{Aa}	304250.0 ±106762.4 ^{Aa}
	24	6.9 ±1.1 ^{Aa}	32.2 ±4.8 ^{Aa}	9.2 ±1.4 ^{Aa}	46.5 ±2.1 ^{Aa}	28.6 ±3.4 ^{Aa}	13862.5 ±2194.1 ^{Aa}	342000.0 ±119826.0 ^{Aa}
	48	7.1 ±1.4 ^{Aa}	33.5 ±6.0 ^{Aa}	9.4 ±1.8 ^{Aa}	47.4 ±1.9 ^{Aa}	28.1 ±4.2 ^{Aa}	13162.5 ±1966.8 ^{Aa}	481000.0 ±168607.7 ^{Aa}
	72	6.8 ±1.3 ^{Aa}	32.6 ±5.8 ^{Aa}	9.0 ±1.6 ^{Aa}	47.9 ±2.5 ^{Aa}	27.6 ±4.2 ^{Aa}	13100.0 ±2608.7 ^{Aa}	465250.0 ±167550.2 ^{Aa}
	96	6.9 ±1.2 ^{Aa}	33.7 ±6.1 ^{Aa}	9.2 ±1.7 ^{Aa}	48.9 ±1.2 ^{Aa}	27.6 ±4.4 ^{Aa}	14887.5 ±7128.5 ^{Aa}	482375.0 ±177344.6 ^{Aa}
	192	7.5 ±1.4 ^{Aa}	35.0 ±6.5 ^{Aa}	9.8 ±1.8 ^{Aa}	46.5 ±1.3 ^{Aa}	28.2 ±4.6 ^{Aa}	12762.5 ±2207.1 ^{Aa}	451875.0 ±188781.4 ^{Aa}
	Reference values		5 a 10	24 a 48	8 a 14	40 a 60	26 a 34	4000 a 12000
Dilution 1:200	BT	6.9 ±0.9 ^{Aa}	32.4 ±4.4 ^{Aa}	9.3 ±0.9 ^{Aa}	46.7 ±3.7 ^{Aa}	28.7 ±3.5 ^{Aa}	12362.5 ±4219.3 ^{Aa}	431000.0 ±138559.9 ^{Aa}
	24	6.7 ±0.8 ^{Aa}	31.5 ±4.8 ^{Aa}	9.2 ±0.9 ^{Aa}	46.8 ±2.1 ^{Aa}	29.2 ±3.8 ^{Aa}	11350.0 ±2703.4 ^{Aa}	442250.0 ±166691.9 ^{Aa}
	48	6.4 ±0.8 ^{Aa}	30.6 ±3.2 ^{Aa}	9.1 ±0.8 ^{Aa}	47.8 ±1.8 ^{Aa}	29.6 ±2.3 ^{Aa}	10475.0 ±2638.0 ^{Aa}	471500.0 ±131028.8 ^{Aa}
	72	6.5 ±1.0 ^{Aa}	31.7 ±4.2 ^{Aa}	9.4 ±0.8 ^{Aa}	49.9 ±3.7 ^{Aa}	28.4 ±3.4 ^{Aa}	11087.5 ±2306.1 ^{Aa}	443500.0 ±120705.1 ^{Aa}
	96	6.5 ±1.2 ^{Aa}	31.5 ±5.4 ^{Aa}	8.9 ±1.5 ^{Aa}	48.1 ±1.9 ^{Aa}	28.2 ±4.2 ^{Aa}	11550.0 ±2894.8 ^{Aa}	432250.0 ±125226.4 ^{Aa}
	192	6.8 ±1.6 ^{Aa}	31.1 ±6.8 ^{Aa}	8.8 ±2.1 ^{Aa}	45.8 ±2.2 ^{Aa}	28.1 ±4.7 ^{Aa}	11350.0 ±1759.0 ^{Aa}	388625.0 ±119541.9 ^{Aa}

¹ Means (n = 8) followed by the same letter do not differ by Tukey test (p<0.05).

² The statistical analysis of variance is represented by uppercase letters that compare different treatments within each experimental day, lowercase letters compare the evolution of each treatment in different experimental days.

³ BT = Before treatment; HPT= hours post-treatment.

⁴ MCV = mean corpuscular volume; MCHC = mean corpuscular hemoglobin concentration.

Table 3. Mean values¹ (respective standard deviations) and ANOVA² of leukocyte counts in cattle submitted to topical administration by spray with the association of dichlorvos 45% + cypermethrin 5% + piperonyl butoxide 25%.

Treatment	Period ³		Neutrophils		Lymphocytes		Monocytes		Eosinophils		Basophils	
	(HPT)	Relative (%)	Absolute (µL)	Relative (%)	Absolute (µL)	Relative (%)	Absolute (µL)	Relative (%)	Absolute (µL)	Relative (%)	Absolute (µL)	
Dilution 1:800	BT	24.2 ±11.9 ^{Aa}	3578.6 ±2022.1 ^{Aa}	69.0 ±9.1 ^{Aa}	9879.0 ±1858.0 ^{Aa}	3.3 ±1.3 ^{Aa}	483.6 ±187.7 ^{Aa}	2.7 ±3.1 ^{Aa}	353.6 ±401.7 ^{Aa}	0.6 ±0.7 ^{Aa}	80.1 ±97.5 ^{Aa}	
	24	26.3 ±7.3 ^{Aa}	3579.6 ±907.1 ^{Aa}	67.1 ±4.9 ^{Aa}	9355.8 ±1889.7 ^{Aa}	2.2 ±1.0 ^{Aa}	314.2 ±166.9 ^{Aa}	4.1 ±4.3 ^{Aa}	596.1 ±642.4 ^{Aa}	0.1 ±0.3 ^{Aa}	16.6 ±47.0 ^{Aa}	
	48	27.7 ±9.6 ^{Aa}	3674.2 ±1440.8 ^{Aa}	67.8 ±10.7 ^{Aa}	8903.6 ±1674.9 ^{Aa}	1.1 ±1.5 ^{Aa}	160.6 ±220.7 ^{Aa}	2.1 ±2.3 ^{Aa}	271.2 ±307.9 ^{Aa}	1.1 ±0.8 ^{Aa}	152.7 ±113.8 ^{Aa}	
	72	24.0 ±7.3 ^{Aa}	3220.5 ±1356.9 ^{Aa}	69.8 ±7.7 ^{Aa}	9047.6 ±1493.8 ^{Aa}	2.8 ±1.3 ^{Aa}	375.2 ±208.4 ^{Aa}	2.3 ±3.6 ^{Aa}	337.3 ±557.1 ^{Aa}	0.8 ±0.9 ^{Aa}	119.2 ±135.8 ^{Aa}	
	96	29.0 ±15.6 ^{Aa}	5160.8 ±6054.1 ^{Aa}	63.0 ±15.7 ^{Aa}	8524.3 ±1598.8 ^{Aa}	3.7 ±2.1 ^{Aa}	390.6 ±268.4 ^{Aa}	3.8 ±5.2 ^{Aa}	522.3 ±723.8 ^{Aa}	0.3 ±0.7 ^{Aa}	41.1 ±82.1 ^{Aa}	
	192	20.1± 10.1 ^{Aa}	2719.1 ±1853.9 ^{Aa}	72.5 ±10.8 ^{Aa}	9099.1 ±1093.9 ^{Aa}	3.8 ±2.2 ^{Aa}	467.7 ±244.4 ^{Aa}	2.5 ±4.0 ^{Aa}	345.1 ±613.3 ^{Aa}	1.0 ±0.7 ^{Aa}	131.3 ±106.0 ^{Aa}	
Dilution 1:200	BT	34.7 ±16.1 ^{Aa}	4459.3 ±2920.2 ^{Aa}	57.3 ±15.4 ^{Aa}	6966.5 ±2511.1 ^{Aa}	3.0 ±2.2 ^{Aa}	363.5 ±248.9 ^{Aa}	3.6 ±4.7 ^{Aa}	402.0 ±455.8 ^{Aa}	1.2 ±1.1 ^{Aa}	171.1 ±168.1 ^{Aa}	
	24	40.7 ±16.2 ^{Aa}	4663.1 ±2390.8 ^{Aa}	53.0 ±14.6 ^{Aa}	6022.5 ±2228.3 ^{Aa}	2.4 ±1.6 ^{Aa}	265.2 ±174.7 ^{Aa}	3.6 ±3.5 ^{Aa}	372.0 ±291.0 ^{Aa}	0.2 ±0.4 ^{Aa}	27.1 ±52.2 ^{Aa}	
	48	36.5 ±10.4 ^{Aa}	3785.5 ±1468.3 ^{Aa}	58.1 ±9.6 ^{Aa}	6136.4 ±1904.5 ^{Aa}	1.8 ±1.2 ^{Aa}	176.7 ±103.5 ^{Aa}	2.8 ±3.5 ^{Aa}	307.5 ±384.3 ^{Aa}	0.6 ±0.7 ^{Aa}	68.8 ±82.3 ^{Aa}	
	72	35.0 ±9.4 ^{Aa}	3904.7 ±1553.1 ^{Aa}	59.8 ±10.4 ^{Aa}	6612.6 ±1579.5 ^{Aa}	2.2 ±0.8 ^{Aa}	260.1 ±166.2 ^{Aa}	2.2 ±2.3 ^{Aa}	247.8 ±246.6 ^{Aa}	0.6 ±0.9 ^{Aa}	62.1 ±88.4 ^{Aa}	
	96	37.7 ±6.4 ^{Aa}	4382.3 ±1409.8 ^{Aa}	55.7 ±4.3 ^{Aa}	6430.8 ±1658.5 ^{Aa}	3.3 ±1.5 ^{Aa}	383.6 ±202.6 ^{Aa}	2.6 ±1.8 ^{Aa}	290.5 ±178.2 ^{Aa}	0.5 ±0.5 ^{Aa}	62.6 ±70.7 ^{Aa}	
	192	32.5 ±10.4 ^{Aa}	3750.5 ±1525.7 ^{Aa}	60.0 ±10.1 ^{Aa}	6783.6 ±1479.0 ^{Aa}	3.7 ±3.0 ^{Aa}	397.7 ±276.3 ^{Aa}	3.0 ±2.6 ^{Aa}	325.1 ±255.4 ^{Aa}	0.7 ±0.8 ^{Aa}	93.0 ±110.6 ^{Aa}	

¹ Means (n = 8) followed by the same letter do not differ by Tukey test (p<0.05).

² The statistical analysis of variance is represented by uppercase letters that compare different treatments within each experimental day, lowercase letters compare the evolution of each treatment in different experimental days.

³ BT = Before treatment; HPT= hours post-treatment.

(Table 3) that showed no significant changes ($p>0.05$) in the absolute and relative number of circulating neutrophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils and basophils in cattle treated with both concentrations of 1:800 v/v and 1:200 v/v.

The behavioral evaluation and clinical signs of the cattle treated (Table 4) showed no changes that could suggest the occurrence of toxic effects resulting from the use of this antiparasitic compound when sprayed at concentrations of 1:800 v/v and 1:200 v/v. However, it was found transitory and no significant increase ($p>0.05$) in body temperature, cardiac frequency and respiratory frequency 24 hours after treatment.

deferencial de leucocitos (Tabla 3), el cual no mostró cambios significativos ($p>0.05$) entre los valores absolutos y relativos de los neutrófilos circulantes, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos en el ganado tratado con ambas concentraciones de 1:800 v/v y 1:200 v/v.

La evaluación de comportamiento y signos clínicos del ganado tratado (Tabla 4) no mostró cambios que pudieran sugerir la aparición de efectos tóxicos producidos por el uso de este compuesto antiparasitario, cuando se roció en concentraciones de 1:800 v/v y 1:200 v/v. Sin embargo, se encontró un aumento significativo y temporal ($p>0.05$) en la temperatura corporal, frecuencia cardiaca y frecuencia respiratoria, 24 horas después del tratamiento.

Table 4. Mean values¹ (respective standard deviations) and ANOVA² of clinical parameters in cattle submitted to topical administration by spray with the association of dichlorvos 45% + cypermethrin 5% + piperonyl butoxide 25%.

Treatment	Period ³		Clinical parameters ⁴		
	(HPT)	CFM	RFM	BT	CPT
Dilution 1:800	BT	98.8±18.8 ^{Aa}	33.2 ± 4.9 ^{Aa}	38.8±0.3 ^{Aa}	2.6±0.7 ^{Aa}
	24	109.5±26.6 ^{Aa}	41.5±6.8 ^{Aa}	39.7±0.2 ^{Aa}	2.7±0.7 ^{Aa}
	48	112.0±30.8 ^{Aa}	33.5±8.3 ^{Aa}	39.2±0.3 ^{Aa}	3.1±0.8 ^{Aa}
	72	95.0±27.7 ^{Aa}	26.8±10.2 ^{Aa}	38.9±0.4 ^{Aa}	3.0±0.5 ^{Aa}
	96	89.0±18.6 ^{Aa}	35.0±8.2 ^{Aa}	38.4±0.5 ^{Aa}	2.5±0.5 ^{Aa}
	192	91.5±17.0 ^{Aa}	32.0±5.4 ^{Aa}	37.6±0.6 ^{Aa}	3.1±0.6 ^{Aa}
Dilution 1:200	BT	93.8±15.3 ^{Aa}	36.4±6.0 ^{Aa}	38.9±0.6 ^{Aa}	2.8±0.8 ^{Aa}
	24	97.7±19.2 ^{Aa}	47.7±12.1 ^{Aa}	39.5±0.5 ^{Aa}	3.2±0.7 ^{Aa}
	48	98.5±20.7 ^{Aa}	37.5±6.0 ^{Aa}	39.4±0.6 ^{Aa}	3.2±0.8 ^{Aa}
	72	93.0±22.6 ^{Aa}	33.4±7.1 ^{Aa}	39.1±0.6 ^{Aa}	2.6±0.7 ^{Aa}
	96	90.0±24.2 ^{Aa}	34.0±8.8 ^{Aa}	38.7±0.8 ^{Aa}	3.2±0.7 ^{Aa}
	192	92.0±18.8 ^{Aa}	30.5±6.8 ^{Aa}	37.8±0.7 ^{Aa}	3.2±0.7 ^{Aa}

¹ Means (n = 8) followed by the same letter do not differ by Tukey test ($p<0.05$).

² The statistical analysis of variance is represented by uppercase letters that compare different treatments within each experimental day, lowercase letters compare the evolution of each treatment the evolution of each treatment in different experimental days.

³ BT = Before treatment; HPT= hours post-treatment.

⁴ CFM = Cardiac frequency per minute; RFM= Respiratory frequency per minute; RT = Rectal temperature; CPT= Capillary perfusion time (seconds).

DISCUSSION

The results of serum-biochemical study demonstrated the clinical safety of this compound which did not cause significant changes in permeability of the cell membrane of hepatocytes, or even lysis these cells. Tests for serum enzyme activity of ALT, AST, LDH, ALP and GGT are indicative of hepatocellular injury and cholestatic changes, while the functional tests determine the concentration of substances synthesized in the liver or belonging to metabolic processes, such as albumin, urea, glucose, cholesterol, triglycerides, among other (15, 16).

Bovines treated with both doses presented no significant changes in serum determination

DISCUSIÓN

Los resultados del examen serológico demostraron la seguridad clínica de este compuesto, el cual no causó cambios significativos en la permeabilidad de la membrana celular de los hepatocitos, o incluso la lisis de estas células. Los ensayos para la actividad enzimática de ALT, AST, LDH, FA y GGT, son indicativos de lesión hepatocelular y cambios colestáticos, mientras que los ensayos funcionales determinaron la concentración de sustancias sintetizadas en el hígado o relacionados con los procesos metabólicos, tales como albúmina, urea, glucosa, colesterol, triglicéridos, entre otros (15, 16).

Los bovinos tratados con ambas dosis no presentaron cambios significativos en la determinación sérica de triglicéridos, colesterol y albúmina. Estos resultados

of triglycerides, cholesterol and albumin. These results suggest the maintenance of liver functions. Changes in energy metabolism are generally present in acute liver failure (17). Moreover, the high concentration of glucocorticoids due to handling stress and treatment could promote energy metabolism by stimulating gluconeogenesis, increasing the bioavailability of free fatty acids resulting from the breakdown of triglycerides (15). Only total and direct bilirubin increased 48h after treatment in both concentrations. However, the current mean values of 0.57 and 0.62 mg/dL observed in animals treated with dilutions of 1: 800 and 1: 200, respectively, are close to the reference values for the species. According to Ohgi et al (18), serum total bilirubin up to 50 mg/dL is considered normal for cattle. Bilirubin is a byproduct of the breakdown of heme molecule present in red blood cells, and hyperbilirubinemia can be primarily resulting from the destruction of red blood cells or liver dysfunctions.

The transitory increase in serum bilirubin levels observed 48 hours after treatment showed no positive correlation with haematological parameters that showed complete normal in relation to the number of circulating erythrocytes. Likewise, hyperbilirubinemia induces jaundice, and this clinical sign was not observed in the examination of the animals. On the other hand, normal values in blood urea and creatinine was observed in all analyzed periods, indirectly demonstrating the clinical safety of the treatments on the process of excretion of these substances by the kidneys, as well as in protein catabolism in hepatic tissues, responsible for producing large part of the circulating urea (7).

In cattle treated with both concentrations of 1:800 v/v and 1:200 v/v no significant changes were observed in erythrocyte, platelet and leukocyte studies, at the same time, the mean values observed were within of the normal range described for bovines according to Grunwaldt et al (19). Therefore, these results demonstrated the clinical safety of this antiparasitic formulation, even when applied at a concentration four times greater the dose recommended for parasite control. Other studies demonstrated the clinical safety and efficacy of antiparasitic treatment administered through skin route, White et al (20) demonstrated the persistent efficacy of spinosad administered by spray on the skin in natural infestations of chewing and sucking lice on cattle and Davey et al (21) observed the efficacy of a single whole-body treatment of spinosad against ticks (*Rhipicephalus Boophilus microplus*) on cattle, in both studies were not reported the occurrence of side effects of drug therapy.

sugieren el mantenimiento de funciones hepáticas. Los cambios en el metabolismo energético están generalmente presentes en la insuficiencia hepática aguda (17). Por otra parte, la alta concentración de glucocorticoides debido al estrés causado por la manipulación y el tratamiento, podrían promover el metabolismo energético por estimulación gluconeogénica, aumentando la biodisponibilidad de ácidos grasos libres resultantes de la descomposición de triglicéridos (15). Únicamente la bilirrubina directa y total aumentó 48 horas después del tratamiento con ambas concentraciones. Sin embargo, los valores promedio actuales de 0.57 y 0.62 mg/dL observados en animales tratados con diluciones de 1:800 y 1:200, respectivamente, están cercanos a los valores de referencia para las especies. De acuerdo con Ohgi et al (18), la bilirrubina total por encima de 50 mg/dL se considera normal para el ganado bovino. La bilirrubina es un subproducto de la descomposición de la hemo molécula presente en los glóbulos rojos, y la hiperbilirrubinemia puede ser principalmente resultado de la destrucción de los glóbulos rojos o por disfunciones hepáticas.

El aumento temporal de los niveles de bilirrubina en el suero, observado 48 horas después del tratamiento no mostró una correlación positiva con los parámetros hematológicos, los cuales presentaron completa normalidad respecto al número de eritrocitos circulantes. Asimismo, la hiperbilirrubinemia ocasiona ictericia, y no se observó este síntoma clínico en el examen de los animales. Por otra parte, se observaron valores normales de creatinina y urea en la sangre en todos los períodos analizados, demostrando indirectamente la seguridad clínica de los tratamientos en los procesos de eliminación de estas sustancias por los riñones, así como en el catabolismo de proteínas en los tejidos hepáticos, responsable de la producción de gran parte de urea circulante (7).

No se observaron cambios significativos en los análisis de eritrocitos, plaquetas y leucocitos en el ganado tratado con ambas concentraciones, de 1:800 v/v y 1:200 v/v; al mismo tiempo, de acuerdo con Grunwaldt et al (19), los valores promedio observados estaban dentro del rango normal descrito para bovinos. Por consiguiente, estos resultados demostraron la seguridad clínica de esta formulación antiparasitaria incluso cuando se aplicó en una concentración cuatro veces mayor a la dosis recomendada para el control parasitario. Otros estudios demostraron la seguridad clínica y la efectividad del tratamiento antiparasitario administrado vía cutánea; White et al (20) demostraron la eficacia persistente del spinosad administrado por aspersión sobre la piel, en el caso de infestaciones naturales de piojos chupadores y masticadores en el ganado; Davey et al (21) observó la eficacia de un tratamiento con spinosad en una sola aplicación sobre todo el cuerpo del ganado, contra garrapatas (*Rhipicephalus Boophilus microplus*), y en

Despite the lipophilic characteristic of many active principles, little is known about the absorption, systemic toxicity and side effects of drugs administered by spray on the skin to control ectoparasites (22). The treatment with this antiparasitic compound when sprayed on the skin at concentrations of 1:800 v/v and 1:200 v/v do not result in behavioral and clinical changes. However, it was found transitory increase in body temperature, cardiac frequency and respiratory frequency 24 hours after treatment. A hypothesis which explains these findings relates to the occurrence of stress, resulting from the containment and treatment. The organic response to stress conditions is complex, involving neuro-endocrine mechanisms with the release of cortisol and catecholamines (23) that act by increasing the metabolic activity and therefore heat production, as well as cardiac and respiratory function (24).

Bovines treated with both dilutions did not present ataxia, salivation, jaundice, inappetence, among others, which could characterize intoxication throughout the experimental period, demonstrating the safety of the treatments, even when administered at a dilution of 1:200 v/v. Therefore, the results in the studies of clinical parameters, biochemical, haematological and behavioral evaluation demonstrated good safety margin for spray treatment on the skin with this antiparasitic compound (dichlorvos 45%+cypermethrin 5% + piperonyl butoxide 25%) in cattle.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

ambos estudios no se reportó la aparición de efectos secundarios del tratamiento con medicamentos.

A pesar de la característica lipofílica de muchos principios activos, poco se sabe sobre la absorción, toxicidad sistémica y efectos secundarios de medicamentos, administrados por aspersión sobre la piel, para el control ectoparasitario (22). El tratamiento con estos compuestos antiparasitarios cuando se rociaron sobre la piel en concentraciones de 1:800 v/v y 1:200 v/v no produjo cambios clínicos ni comportamentales. Sin embargo, se encontró un incremento temporal de la temperatura del cuerpo, frecuencia cardíaca y respiratoria, 24 horas después del tratamiento. Este resultado se explicaría mediante la hipótesis que lo relaciona con la aparición de estrés, resultante del confinamiento y del tratamiento. La respuesta orgánica a las condiciones de estrés es compleja, ya que involucra mecanismos neuro-endocrinos con la liberación de cortisol y catecolaminas (23), las cuales actúan aumentando la actividad metabólica y por tanto la producción de calor, así como las funciones respiratoria y cardíaca (24).

Los bovinos tratados con ambas diluciones no presentaron ataxia, salivación, ictericia o inapetencia, entre otros, lo que caracterizaría su intoxicación a través del periodo experimental, demostrando la seguridad de los tratamientos, incluso cuando se administraron en una dilución de 1:200 v/v. Por consiguiente, los resultados de los análisis de parámetros clínicos, bioquímicos, hematológicos y evaluación de comportamiento demostraron un buen margen de seguridad para tratamientos por aspersión sobre la piel del ganado, con compuestos antiparasitarios (diclorvos 45%+cypermethrina 5%+butóxido de piperonilo 25%).

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no hay ningún conflicto de intereses con respecto a la publicación de este artículo.

REFERENCES

1. Macedo MCM. Integração lavoura e pecuária: o estado da arte e inovações tecnológicas. Rev Bras Zoot 2009; 38 (Supl.):133-146.
2. Soares VE, Belo MAA, Rezende PB, Soccol VT, Fukuda RT, Oliveira GP, Costa AJ. Distribution of *Taenia saginata* metacestodes: comparison of routine meat inspection and carcass dissection results in experimentally infected calves. Annals Trop Med Parasitol 2011; 105(5):393-401.
3. Soares VE, Belo MAA, Souza LM, Guiaro CR, Bortoletto-Neto O, Girio TMS. Associação de cipermetrina, diclorvos e butóxido de piperolina contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em bovinos naturalmente infestados. Arch Vet Sci 2009; 14(1):1-8.
4. Belo MAA, Prado EJ, Soares VE, Souza LM, Mota FCC, Giamlorenço TF, Girio TMS. Eficácia de diferentes formulações no controle da mosca *Haematobia irritans* em bovinos naturalmente infestados. Biosci J 2012; 28(2):245-250.

5. Glantzounis GK, Salacinski HJ, Yang W, Davidson BR, Seifalian AM. The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: A review. *Liver Transplant* 2005; 11:1031-1047.
6. Mudron P, Rehage J, Qualmann K, Sallmann HP, Scholz H. A study of lipid peroxidation and vitamin E in dairy cows with hepatic insufficiency. *J Vet Med A* 1999; 46:219-224.
7. Varga A, Puschner B. Retrospective study of cattle poisonings in California: recognition, diagnosis, and treatment. *Vet Med: Res Reports* 2012; 3:111-127.
8. Belo MAA, Souza LM, Soares VE, Sobreira MFR, Cassol DMS, Toma SB. Tratamento hepatoprotetor favorece a resposta leucocitária de ratos Wistar intoxicados por CCL₄. *Arch Vet Sci* 2009; 14(2):74-82.
9. Belo MAA, Souza LM, Soares VE, Sobreira MFR, Cassol DMS, Toma SB. Hepatoprotective treatment attenuates oxidative damages induced by carbon tetrachloride in rats. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64(3):155-165.
10. Melo DO, Ribeiro E, Storpirtis S. A importância e a história dos estudos de utilização de medicamentos. *Rev Bras Cienc Farm* 2006; 42(4):475-485.
11. McGroth JC, Drummond GB, McLachlon EM, Kilkenny C, Wainwright CL. Guidelines for reporting experiments involving animals: the arrive guidelines. *Brit J Pharmacol* 2010; 160(7):1573-1576.
12. Belo MAA, Souza DGF, Faria VP, Prado EJ, Moraes FR, Onaka EM. Haematological response of curimbas *Prochilodus lineatus*, naturally infected with *Neoechinorhynchus curemai*. *J Fish Biol* 2013; 82(4):1403-1410.
13. SAS Institute Inc. SAS/STAT software changes and enhancements though [computer program]. Release 8.2. Cary: SAS Institute; 2001.
14. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Iowa, USA, 1980.
15. Scarpelli LC, Belo MAA, Souza LM, Sabatini GA, Costa AJ, Moraes FR. Parâmetros hematológicos e bioquímicos de bovinos submetidos a diferentes doses de sulfóxido de albendazole, ivermectin e abamectin. *ARS Veterinária* 1999; 15:57-62.
16. Bode G, Young JW, Beitz DC. Invited review: Pathology, etiology, prevention and treatment of fatty liver in dairy cows. *J Dairy Sci* 2004; 87(10):3015-3124.
17. Mathur S, Constable PD, Eppley RM, Waggoner AL, Tumbleson ME, Haschek WM. Fumonisin B1 is hepatotoxic and nephrotoxic in milk-fed calves. *Toxic Sci* 2001; 60:385-396.
18. Ohgi T, Kamimura S, Minezaki Y, Takahashi M. Relationship between fat accumulation in the liver and energy intake, milk fat yield and blood metabolites in dairy cows. *Anim Sci J* 2005; 76(6):549-557.
19. Grunwaldt EG, Guevara JC, Estevez OR, Vicente A, Rouselle H, Alcuten N, Aguerregaray D, Stasi CR. Biochemical and haematological measurements in beef cattle in Mendonza plain Rangelands (Argentina). *Trop Anim Health Prod* 2005; 37(6):527-540.
20. White WH, Hutchens DE, Jones C, Firkins LD, Paul AJ, Smith LL, Snyder DE. Therapeutic and persistent efficacy of spinosad applied as a pour-on or a topical spray against natural infestations of chewing and sucking lice on cattle. *Vet Parasitol* 2007; 143(3-4):329-336.
21. Davey RB, George JE, Snyder DE. Efficacy of a single whole-body spray treatment of spinosad, against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. *Vet Parasitol* 2001; 99(1): 41-52.
22. Beyene T, Tesega B. Rational veterinary drug use: Its significance in public health. *J Vet Med Anim Health* 2014; 6(12):302-308.
23. Belo MAA, Schalch SHC, Moraes FR, Soares VE, Otoboni AM, Moraes JRE. Effect of dietary supplementation with vitamin E and stoking density on macrophage recruitment and giant cell formation in the teleost fish, *Piaractus mesopotamicus*. *J Comp Pathol* 2005; 133(2-3):146-154.
24. Sordillo LM, Aitken SL. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 128(1-3):104-109.