

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

**EFICÁCIA DE ANTIPARASITÁRIOS SOBRE  
*Amblyomma sculptum* IN VITRO E NO SEMICAMPO:  
ESTUDO COMPARATIVO A *Rhipicephalus microplus***

**Gustavo Avelar Sousa  
Médico veterinário**

**2022**

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

**EFICÁCIA DE ANTIPARASITÁRIOS SOBRE  
*Amblyomma sculptum* IN VITRO E NO SEMICAMPO:  
ESTUDO COMPARATIVO A *Rhipicephalus microplus***

**Gustavo Avelar Sousa**

**Orientadora: Profa. Dra. Ana Carolina de Souza Chagas**

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias (área: Saúde Única, Relação Parasita-Hospedeiro)

## FICHA CATALOGRÁFICA

S725e      Sousa, Gustavo Avelar  
Eficácia de antiparasitários sobre *Amblyomma sculptum* in vitro e no semicampo: estudo comparativo a *Rhipicephalus microplus* / Gustavo Avelar Sousa. -- Jaboticabal, 2022  
81 f. : il., tabs., fotos, mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal  
Orientadora: Ana Carolina de Sousa Chagas

1. Controle ambiental. 2. Febre Maculosa Brasileira. 3. Forrageiras. 4. Antiparasitários. 5. Ação Larvicida. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

# CERTIFICADO DE APROVAÇÃO



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal



## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO DA DISSERTAÇÃO:** EFICÁCIA DE ANTIPARASITÁRIOS SOBRE *Amblyomma sculptum* IN VITRO E NO SEMICAMPO: ESTUDO COMPARATIVO A *Rhipicephalus microplus*

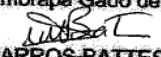
**AUTOR:** GUSTAVO AVELAR SOUSA

**ORIENTADORA:** ANA CAROLINA DE SOUZA CHAGAS

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Medicina Veterinária Preventiva pela Comissão Examinadora:

  
Pesquisadora Dra. ANA CAROLINA DE SOUZA CHAGAS (Participação Virtual)  
EMBRAPA / São Carlos/SP

  
Profa. Dra. MÁRCIA CRISTINA DE AZEVEDO PRATA (Participação Virtual)  
Laboratório de Acardologia da Embrapa Gado de Leite (CNPGL) / Embrapa Gado de Leite

  
Profa. Dra. DARCI MORAES BARROS-BATTESTI (Participação Virtual)  
Departamento de Patologia Veterinária / FCAV-UNESP / Câmpus de Jaboticabal

Jaboticabal, 02 de junho de 2022

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**Gustavo Avelar Sousa** - nascido em 11 de setembro de 1997, no município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. Mudou-se ainda criança para a cidade de Illicínea, Estado de Minas Gerais, onde concluiu o ensino fundamental e ensino médio. Logo ao término do colegial, iniciou a graduação em Medicina Veterinária no ano de 2015 na Universidade de Franca - UNIFRAN. Durante a graduação, foi membro do Grupo de Estudos em Reprodução Animal “GERA UNIFRAN”. Participou como ouvinte e na organização de eventos referentes ao curso. Realizou seu estágio obrigatório na fazenda experimental da EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE- Unidade de São Carlos, SP, sob supervisão do Dr. Sérgio Novita Esteves na área de Produção de Ovinos de Corte, Bovinos de Corte e de Leite. Ainda, durante a fase final de conclusão do curso em outubro de 2019, durante o estágio obrigatório, foi aprovado na UNESP (Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Jaboticabal - SP) para iniciar o mestrado em março de 2020 no curso de pós-graduação em Medicina Veterinária, área de Saúde Única, com foco em Parasitologia de Animais de Produção – Controle dos Carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus*, sob a orientação da Dra. Ana Carolina de Souza Chagas.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à toda minha família, especialmente aos meus pais, Edmilson Andrade de Sousa e Débora Adriana Avelar, pelo exemplo de vida e de seres humanos honestos e honrados, e, de não medir esforços em tornar possível essa conquista e a todo o apoio e incentivo concedidos durante minha graduação. Agradeço a todos por toda confiança, tornando este sonho, em realidade.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por iluminarem os meus caminhos e fazerem com que tudo aconteça, pois sem Eles nada seria possível.

Aos meus pais, Edmilson Andrade de Sousa e Débora Adriana Avelar por todo o apoio dedicado a mim nesta jornada da vida, por sempre estarem comigo nos momentos bons ou ruins, vocês são a razão da minha vida.

Ao meu amigo Sérgio Berteli Garcia, mais conhecido como “Saponga”, instrutor do SENAR de Patrocínio Paulista, que abriu todas as portas com o pessoal da EMBRAPA para meu estágio obrigatório, sem a sua ajuda eu não estaria onde estou hoje, sempre será por mim lembrado.

À Profa. Dra. Ana Carolina de Souza Chagas, mais que uma orientadora, uma verdadeira “mãe”, que acima dos conselhos, do conhecimento e da oportunidade a mim concedida, sempre transmitiu imensa paciência, calma e confiança, facilitando minha jornada.

Ao Dr. Sérgio Novita Esteves, pelos ensinamentos, todo apoio dentro da Unidade da EMBRAPA Pecuária Sudeste, e grandes oportunidades a mim concedidas, que, com certeza, aceleraram minha aprendizagem, fazendo com que me tornasse um profissional mais completo.

Aos Professores, Doutores, que compuseram a banca de defesa do projeto de pesquisa, Ana Carolina de Souza Chagas, Luiz Antônio Mathias, Patrícia Rosa de Oliveira, Rosângela Zacarias Machado e Willian Giquelin Maciel pela grande contribuição com este trabalho, ajudando a enriquecê-lo imensamente.

Ao meu grande amigo Msc. Eduardo Luiz de Oliveira, que sempre me motivou a evoluir como pessoa e profissional, mostrando e corrigindo meus erros e defeitos, me aconselhando, alertando, ajudando, e também negociando, sendo praticamente um “pai” pra mim dentro e fora da EMBRAPA. Sempre serei grato.

À Profa. Valeska Rodrigues, minha orientadora de TCC, por todos os ensinamentos no início desta jornada científica, além da confiança, paciência e incentivo para que seguisse na área acadêmica.

À minha grande amiga Isabella Barbosa dos Santos, por todos os momentos de aprendizado durante o meu estágio obrigatório e o mestrado na EMBRAPA, todos os conselhos, incentivos, pela participação na minha banca de TCC, por não medir esforços em auxiliar e se disponibilizar em todas as etapas experimentais, mesmo nos momentos adversos, sempre com muita boa vontade e disponibilidade. Sem você nada disso seria possível.

Ao meu parceiro de campo e laboratório e ajudante Luís Adriano Anholetto, por todo auxílio e amparo durante o estudo, direto e indireto, sempre se dispondo a ajudar no que fosse necessário e a me orientar em tudo que tive dúvidas durante a execução das etapas do projeto. Com você aprendi muito, sem sua ajuda isto não seria possível, serei sempre imensamente grato.

À colega Amanda Figueiredo, por todo suporte e ensino das técnicas laboratoriais necessárias para a execução deste projeto e à Dra. Vera Lúcia de Castro da Embrapa Meio Ambiente pela ajuda nos testes de ecotoxicidade.

À todos os funcionários da Fazenda Canchim, Sr. Rafael Rosendo, Sr. Lázaro Tadeu dos Santos e Dona Rosa (Setor Ovinos), Sr. José Carlos Didoné (Doné) e Sr. Paulo (Setor Leite), Antônio Marcos (Mineiro), Henrique, Thiago e Adão (Setor Corte), Paulo Virgulino e Emar “Mineiro” (Setor Forrageiras), Verônica Pereira, Raul Mascarenhas e Eduardo Luiz de Oliveira (Veterinários da Unidade),

Ao Prof. Dr. Alessandro Pelegrine Minho pelo auxílio na execução da parte de semicampo deste projeto, orientações, correções e conselhos a mim dispensados.

Também a todos os estagiários pela ajuda, compreensão e paciência, contribuindo no que fosse necessário e em todos os manejos de animais e campo experimental na Unidade.

Aos meus avós Jacyr Luiz de Sousa e Tereza Augusta de Andrade, meus tios Miguel e Rosângela Doratiotto, meus padrinhos Clério “tio Clerinho” e Fátima “tia Fatinha”,

Tio Odair, meu saudoso avô João Batista Avelar o “João do Zote” (In memoriam), meu bisavô Antônio Luiz de Sousa (In memoriam), e toda minha família, que, sempre presentes, me deram apoio, atenção e confiança.

Aos meus amigos verdadeiros, Nilton “Baton” e Vanderluce que sempre me incentivaram e vibraram comigo à cada conquista desde o início, Elias Junior, Otávio “Tião”, Edson “Delegado”, José Luiz, Alan “Domador”, Laura Damasceno, Silvio “Couros”, Sr. Ronaldo, Sr. Olisso e Dona Elza, Sirley e Maria, “Cleitinho”, Juliano, Althieres “Custódio”, Mariana “Marana” e todos que vez ou outra me deram palavras de incentivo, e os que sempre estavam ali nos momentos de alegria e também de tristezas, sou grato por terem feito parte da minha vida.

Ao meu fiel cavalo baio Campolina, Havaí de Santa Anna, que nas minhas férias e viagens à terra amada de Ilícinea - Minas Gerais, sempre foi a minha maior alegria e orgulho, que me deu tanta felicidade ao montá-lo e a paz nos momentos de aflição. Meus dois pés moveram meu corpo, as tuas quatro patas moveram a minha alma.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

Aos Bezerros e Garrotes que participaram do estudo, contribuindo para que esta pesquisa traga melhor qualidade de vida para milhões de animais.

E a todas as pessoas que indireta ou diretamente contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                                    |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Certificado do Comitê de Ética .....                                                                                                                                               | xi   |
| RESUMO.....                                                                                                                                                                        | xii  |
| ABSTRACT .....                                                                                                                                                                     | xiii |
| LISTA DE TABELAS.....                                                                                                                                                              | xiv  |
| LISTA DE FIGURAS .....                                                                                                                                                             | xv   |
| CAPÍTULO 1 – Considerações gerais.....                                                                                                                                             | 17   |
| 1. Introdução .....                                                                                                                                                                | 17   |
| 2. Revisão bibliográfica.....                                                                                                                                                      | 19   |
| 2.1. Carrapatos envolvidos no estudo.....                                                                                                                                          | 19   |
| 2.1.1. <i>Amblyomma sculptum</i> .....                                                                                                                                             | 19   |
| 2.1.2. <i>Rhipicephalus microplus</i> .....                                                                                                                                        | 22   |
| 2.2. Controle químico de carrapatos.....                                                                                                                                           | 25   |
| 2.2.1. Acaricidas comerciais.....                                                                                                                                                  | 25   |
| 2.2.2. Antiparasitários foco do presente estudo.....                                                                                                                               | 28   |
| 2.2.3. Resistência aos acaricidas comerciais.....                                                                                                                                  | 30   |
| 2.2.4. Relatos de resistência parasitária em <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Rhipicephalus microplus</i> no Brasil.....                                                             | 31   |
| 3. Referências.....                                                                                                                                                                | 35   |
| <br>CAPÍTULO 2 – Eficácia <i>in vitro</i> e no semicampo de antiparasitários sobre larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> : estudo comparativo a <i>Rhipicephalus microplus</i> ..... | 42   |
| 1. Introdução .....                                                                                                                                                                | 43   |
| 2. Material e Métodos.....                                                                                                                                                         | 45   |
| 2.1. Obtenção dos carrapatos.....                                                                                                                                                  | 45   |
| 2.2. Formulações avaliadas sobre <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Rhipicephalus microplus</i> .....                                                                                  | 46   |
| 2.3. Teste de pacote de larvas (TPL) sobre <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Rhipicephalus microplus</i> .....                                                                        | 47   |
| 2.4. Teste de semicampo com <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Rhipicephalus microplus</i> .....                                                                                       | 48   |
| 2.5. Coleta dos dados climáticos .....                                                                                                                                             | 55   |

|                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.6. Avaliação da ecotoxicidade das formulações com <i>Caenorhabditis elegans</i> ..... | 56 |
| 2.7. Análises estatísticas .....                                                        | 57 |
| 3. Resultados.....                                                                      | 58 |
| 3.1. Teste de pacote de larvas (TPL) .....                                              | 58 |
| 3.2. Testes de semicampo .....                                                          | 63 |
| 3.3. Dados climáticos.....                                                              | 66 |
| 3.4. Teste de ecotoxicidade com <i>Caenorhabditis elegans</i> .....                     | 67 |
| 4. Discussão.....                                                                       | 68 |
| 5. Conclusão.....                                                                       | 73 |
| 6. Referências.....                                                                     | 74 |
| Considerações finais.....                                                               | 79 |

## Certificado do Comitê de Ética



### CERTIFICADO

PRT. Nº 01/2019

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado: **Desenvolvimento de métodos alternativos para controle de ectoparasitos de interesse veterinário**, registrado com o nº 01/2019 sob a responsabilidade do pesquisador científico Alessandro Pelegrine Minho, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exclui humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DA EMBRAPA PECUÁRIA SUDESTE.

São Carlos, 18 de junho de 2019

Dra. Márcia Cristina de Sena Oliveira  
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Embrapa Pecuária Sudeste

Reunião de 19/03/2019

|                         |                                    |
|-------------------------|------------------------------------|
| Finalidade              | Pesquisa Científica                |
| Vigência da autorização | 01/07/2019 a 31/03/2022            |
| Espécie/linhagem/rça    | <i>Bos taurus</i> - raça Holandesa |
| Nº de animais           | 34                                 |
| Peso/idade              | 200-300 kg                         |
| Sexo                    | Machos                             |
| Origem                  | Embrapa Pecuária Sudeste           |

## EFICÁCIA DE ANTIPARASITÁRIOS SOBRE *Amblyomma sculptum* IN VITRO E NO SEMICAMPO: ESTUDO COMPARATIVO A *Rhipicephalus microplus*

**RESUMO** - O carrapato da espécie *Amblyomma sculptum* é o principal vetor do agente etiológico da Febre Maculosa Brasileira - FMB, provocando até mesmo casos letais desta enfermidade. Por isso, as ações preventivas dessa zoonose devem ser constantes. O carrapato bovino da espécie *Rhipicephalus microplus* é responsável por enormes perdas econômicas na pecuária nacional, especialmente devido à resistência que as populações adquiriram frente aos acaricidas químicos. Diante da importância de ambas as espécies, faz-se necessária a busca por métodos mais eficientes de controle, mais seguros e de menor impacto ambiental. Assim, este estudo teve por objetivo avaliar a eficácia de antiparasitários no controle de *A. sculptum* *in vitro* e em diferentes gramíneas (semicampo), por meio de metodologia adaptada. Foram executados testes de pacote com larvas (TPL) para determinação das CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> para a *A. sculptum* e *R. microplus*. Foram avaliados os antiparasitários Butox<sup>®</sup>, Colosso<sup>®</sup>, Triatox<sup>®</sup>, Demand<sup>®</sup>, Plenoway Top<sup>®</sup>, Regent<sup>®</sup>, Vertimec<sup>®</sup>. Demand<sup>®</sup>, Plenoway Top<sup>®</sup> e Vertimec<sup>®</sup> também foram avaliados quanto à sua ecotoxicidade sobre o nematoide da espécie *Caenorhabditis elegans* e no semicampo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu para *A. sculptum*, e em *B. brizantha*, *Panicum maximum* cv. BRS Zuri e *Cynodon* cv. Tifton 85 para *R. microplus*. Foi feita a infestação de cada parcela com 3 g de larvas, as quais foram coletadas das extremidades do capim pela técnica da bandeira de flanela para posterior contagem e determinação da eficácia larvicida. Para os produtos químicos avaliados no TPL, as CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> obtidas para *A. sculptum*, em mg/mL, foram 0,00003 e 0,0024, 0,00019 e 0,0026, 0,000069 e 0,030, 0,00046 e 0,014, 0,00005 e 0,0086, 0,00006 e 0,0081, e 0,025 e 1,39 para os produtos Butox<sup>®</sup>, Colosso<sup>®</sup> e Triatox<sup>®</sup>, Demand<sup>®</sup>, Plenoway Top<sup>®</sup> SC, Regent<sup>®</sup> e Vertimec<sup>®</sup>, respectivamente. Para *R. microplus*, em mg/mL, foram 0,0026 e 0,02, 0,007 e 0,04, 0,0054 e 0,095, 0,030 e 0,35, 0,035 e 0,26, 0,0015 e 0,009, e 0,040 e 0,56 para os mesmos produtos, respectivamente. No semicampo, Demand<sup>®</sup>, Plenoway Top<sup>®</sup> e Vertimec<sup>®</sup> apresentaram eficácia de 93,1%, 96,4% e 97,0%, respectivamente, sobre larvas de *A. sculptum* em *Brachiaria*. Para *R. microplus*, Demand<sup>®</sup> obteve eficácia de 80,8%, 95,1% e 75,2%, Plenoway Top<sup>®</sup> 87,8%, 97,9% e 88,8%, Vertimec<sup>®</sup> 40,7%, 56% e 6,2% para *Brachiaria*, Tifton e Zuri, respectivamente. As condições de macro e microclima não variaram entre gramíneas e favoreceram a sobrevivência das larvas, exceto pela ação da chuva em *A. sculptum*. Demand<sup>®</sup> e Plenoway Top<sup>®</sup> tiveram algum impacto na recuperação, crescimento e fertilidade de *C. elegans* no ensaio de ecotoxicidade. Este trabalho servirá de base para outras pesquisas que busquem alavancar o uso e o aperfeiçoamento do controle ambiental de larvas de ixodídeos, como também terá importância na saúde pública, no desenvolvimento de medidas de controle seguras e com mínimo impacto ambiental para a prevenção de doenças como a FMB.

**Palavras-chave:** Controle ambiental, Febre Maculosa Brasileira, forrageiras, ação larvicida, resíduos.

## EFFICACY OF ANTIPARASITICS ON *Amblyomma sculptum* IN VITRO AND IN THE SEMI-FIELD: COMPARATIVE STUDY TO *Rhipicephalus microplus*

**ABSTRACT** – The tick of the *Amblyomma sculptum* species is the main vector of the etiologic agent of the Brazilian Spotted Fever - BSF, causing even lethal cases of this disease. Therefore, preventive actions of this zoonosis must be constant. The bovine tick of the *Rhipicephalus microplus* species is responsible for enormous economic losses in national livestock, especially due to the resistance that populations have acquired against chemical acaricides. Given the importance of both species, it is necessary to search for more efficient methods of control, safer and with less environmental impact. Thus, this study aimed to evaluate the efficacy of antiparasitics in the control of *A. sculptum* *in vitro* and in different pastures (“semi-field”), through an adapted methodology. The results were also compared to those obtained with *R. microplus*. Larval package tests (LPT) were performed in order to determine the LC<sub>50</sub> and LC<sub>99</sub> for *A. sculptum* and *R. microplus*. The antiparasitics Butox®, Colosso® Pulverização, Triatox®, Demand®, Plenoway Top®, Regent® and Vertimec® were evaluated. Demand®, Plenoway Top® and Vertimec® were also evaluated for their ecotoxicity on nematodes of the species *Caenorhabditis elegans* and in the semi-field on *Brachiaria brizantha* cv. Marandu for *A. sculptum*, and in *B. brizantha*, *Panicum maximum* cv. BRS Zuri and *Cynodon* cv. Tifton 85 for *R. microplus*. Each plot was infested with 3 g of larvae, which were collected from the top of the grass using the flannel flag technique for later counting and determination of larvicidal efficacy. For the chemicals evaluated in the LPT, the LC<sub>50</sub> and LC<sub>99</sub> obtained for *A. sculptum*, in mg/mL, were 0.00003 and 0.0024, 0.00019 and 0.0026, 0.000069 and 0.030, 0.00046 and 0.014, 0.00005 and 0.0086, 0.00006 and 0.0081, and 0.025 and 1.39 for the products Butox®, Colosso®, Triatox®, Demand® 10CS, Plenoway Top®, Regent® and Vertimec® 1.8%, respectively. For *R. microplus*, in mg/mL, they were 0.0026 and 0.02, 0.007 and 0.04, 0.0054 and 0.095, 0.030 and 0.35, 0.035 and 0.26, 0.0015 and 0.009, and 0.040 and 0.56 for the same products, respectively. In the semi-field with *R. microplus*, Demand® obtained efficacy of 80.8%, 95.1% and 75.2%, Plenoway Top® 87.8%, 97.9% and 88.8%, Vertimec® 40.7%, 56% and 6.2% for *Brachiaria*, Tifton and Zuri, respectively. The macro and microclimate conditions did not varied among grasses and favored the larvae survival, except for the action of rain on *A. sculptum*. Demand® and Plenoway Top® had some impact on recovery, growth and fertility of *C. elegans* in the ecotoxicity assay. This study will serve as a basis for other research that seeks to leverage the use and improvement of environmental control of ixodid larvae, as well as being important in public health, in the development of safe control measures with minimal environmental impact for the prevention of diseases such as the BSF.

**Keywords:** Environmental control, Brazilian Spotted Fever, forages, larvicidal action, residues.

## Lista de Tabelas

### CAPÍTULO 1

|                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Lista contendo os antiparasitários avaliados sobre <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> ..... | 28 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

### CAPÍTULO 2

|                                                                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1: Informações sobre os antiparasitários utilizados no estudo da eficácia in vitro e no semicampo sobre larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> : estudo comparativo a <i>Ripicephalus microplus</i> ..... | 47 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 2: Porcentagem média de mortalidade das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Butox <sup>®</sup> no teste de pacote de larvas ..... | 59 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 3: Porcentagem média de mortalidade das larvas ( $\pm$ erro padrão) de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) da associação Cipermetrina+Clorpirifós+Citronelal (Colosso <sup>®</sup> ) no teste de pacote de larvas..... | 60 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 4: Porcentagem média de mortalidade das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Amitraz (Triatox <sup>®</sup> ) no teste de pacote de larvas..... | 60 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 5: Porcentagem média de mortalidade das larvas ( $\pm$ erro padrão) de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) de Lambda-Cialotrina (Demand <sup>®</sup> ) no teste de pacote de larvas..... | 61 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                                  |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 6: Porcentagem média de mortalidade das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Plenoway Top <sup>®</sup> no teste de pacote de larvas ..... | 61 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 7: Porcentagem média de mortalidade das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Regent <sup>®</sup> no teste de pacote de larvas ..... | 62 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                                                              |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 8: Porcentagem média de mortalidade das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Vertimec <sup>®</sup> no teste de pacote de larvas ..... | 62 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                                                                                                                                         |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| Tabela 9: Estimativa das concentrações letais 50% (CL <sub>50</sub> ) e 99% (CL <sub>99</sub> ) (mg/mL) e menores concentrações ([ ], mg/mL) nas quais obteve-se 100% de eficácia sobre |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|

*Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus*, para as bases químicas avaliadas no teste de pacote de larvas.....63

Tabela 10: Médias de contagem de larvas, médias das três coletas e erro padrão (E.P.) de larvas de *Amblyomma sculptum* coletadas nos dias D4, D7 e D10 em *Brachiaria* e de *Ripicephalus microplus* em *Brachiaria*, Tifton e Zuri, submetidas à pulverização com os produtos Demand®, Plenoway Top® e Vertimec®, e eficácia (E%) dos tratamentos em relação ao controle.....64

Tabela 11: Informações sobre os dados de macroclima durante o período experimental do semicampo com *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* (verão 2021/2022): temperatura média, máxima e mínima (TMed, TMax, Tmín - C°), umidade relativa (UR, %), precipitação (mm<sup>3</sup>), vento (m/s), radiação solar (MJ.m<sup>-2</sup>) e evapotranspiração (Eto/mm) .....66

Tabela 12: Dados referentes ao microclima das parcelas de forrageiras, próximo ao solo, durante o período experimental do semicampo com *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* (verão 2021/2022): temperatura do solo (C°) e umidade do solo (cm<sup>3</sup> de água/cm<sup>3</sup> de solo) .....67

## Lista de Figuras

### CAPÍTULO 1

Figura 1. Esquema representando o ciclo de vida de *Amblyomma sculptum* e seus possíveis hospedeiros. Fonte: Witt (2018) .....22

Figura 2. Representação esquemática do ciclo de vida do carrapato *Ripicephalus microplus*. Fonte: Fortes (2004) .....25

Figura 3 Mapa da distribuição da resistência de *Ripicephalus microplus* frente às bases químicas empregadas em seu controle no Brasil. Fonte: Higa et al. (2015, modificado) .....34

### CAPÍTULO 2

Figura 1: Croqui exemplificando a distribuição das gramíneas e metragem da área do experimento de semicampo Fonte: Gustavo Avelar Sousa.....49

Figura 2: Demarcação das parcelas com estacas de madeira Fonte: Gustavo Avelar Sousa.....50

|                                                                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 3: Manejo de capina dos corredores entre as parcelas. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.....                                                                                                                                                                                           | 50 |
| Figura 4: Gramíneas em crescimento e o entorno da área cercada com tela de mangueiro. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.....                                                                                                                                                                  | 51 |
| Figura 5: Pulverização cronometrada das parcelas utilizando bomba costal elétrica. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.....                                                                                                                                                                     | 53 |
| Figura 6: Coleta das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> na extremidade do capim utilizando flanela branca. Fonte: Gustavo Avelar Sousa .....                                                                                                           | 54 |
| Figura 7: Contagem manual das larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ripicephalus microplus</i> utilizando bomba a vácuo. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.....                                                                                                                            | 55 |
| Figura 8: Curva das médias de larvas de <i>Amblyomma sculptum</i> das três coletas (dias 4, 7 e 10) realizadas em <i>Brachiaria</i> cv. Marandú, submetida à pulverização com os produtos Demand®, Plenoway Top®, Vertimec® e controle água.....                                        | 65 |
| Figura 9: Curvas das médias de larvas de <i>Ripicephalus microplus</i> das três coletas (dias 4, 7 e 10) realizadas nas gramíneas <i>Brachiaria</i> cv. Marandú, BRS Zuri e Tifton 85, submetidas à pulverização com os produtos Demand®, Plenoway Top®, Vertimec® e controle água..... | 66 |
| Figura 10: Recuperação, fertilidade e crescimento de <i>Caenorhabditis elegans</i> mediante diferentes concentrações do Demand® no Teste de ecotoxicidade crônica. Asterisco = diferença estatística.....                                                                               | 68 |
| Figura 11: Recuperação, fertilidade e crescimento de <i>Caenorhabditis elegans</i> mediante diferentes concentrações do Plenoway Top® no Teste de ecotoxicidade crônica. Asterisco = diferença estatística .....                                                                        | 68 |

## CAPÍTULO 1 – Considerações Gerais

### 1. Introdução

Os carrapatos são ixodídeos pertencentes ao filo Arthropoda e classe Arachnida (Rey, 2002; D'Alessandro, 2012). Um ixodídeo amplamente disseminado no Brasil, e de grande importância na área veterinária e saúde pública, é a espécie *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888), conhecida popularmente como “carrapato-estrela” na forma adulta e como “micuim” em sua forma larval (Gerardi, 2016). Este parasita tem baixa especificidade na escolha de hospedeiros, podendo infestar diferentes espécies animais como equídeos, roedores, bovinos, caprinos, suínos, aves silvestres, cães, gatos e inclusive o homem (Labruna et al., 2001). O parasitismo por *Amblyomma* spp. em humanos é de caráter preocupante, devido à possibilidade de transmissão de agentes patogênicos. Dentre os microrganismos de potencial transmissão estão as bactérias *Ehrlichia* sp., *Coxiella burnetii*, *Borrelia* sp., e em especial *Rickettsia rickettsii*, responsável por causar a Febre Maculosa Brasileira - FMB (D'Alessandro, 2012). A transmissão de *R. rickettsii* para os seres humanos é realizada pela picada do carrapato infectado em qualquer fase do seu ciclo de vida (Del Fiol et al., 2010; Gerardi, 2016). A FMB também é reconhecida como a principal doença transmitida por carrapatos a humanos na América Latina, devido à sua alta letalidade. Capivaras, equídeos, canídeos e algumas aves podem atuar como hospedeiros e transportadores de carrapatos infectados, bem como amplificadores de riquetsias (Labruna et al., 2008).

Outro ixodídeo, conhecido como carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) é responsável por grandes impactos na cadeia de produção pecuária, tanto de leite quanto de corte, causando prejuízos financeiros anuais de cerca de R\$ 3,4 bilhões (Grisi et al., 2014; Paixão, 2016). É também transmissor dos hemoparasitas *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* e é considerado o principal transmissor de *Anaplasma marginale* (Guglielmone, 1995; Taylor et al., 2010), que em conjunto são os agentes causadores do complexo TPB “Tristeza Parasitária Bovina”. Essa enfermidade é altamente debilitante, acarretando várias perdas econômicas devido à morte de indivíduos e despesas com tratamentos,

bem como retardo no desenvolvimento dos animais e queda na produção de leite e de carne (Paixão, 2016).

*Ripicephalus microplus* ocorre amplamente nas áreas tropicais e subtropicais do mundo. Nas américas esta espécie está distribuída desde o sul do México até o norte da Argentina, incluindo o Caribe, fazendo-se também presente em praticamente todo o território brasileiro. Além da transmissão biológica de *A. marginale*, este hemoparasita pode também ser transmitido mecanicamente por picadas de moscas hematófagas ou através de fômites. Diante deste cenário, a babesiose e a anaplasmose ocorrem em todo o país, de forma endêmica, durante todo o ano. Seu controle e prevenção baseiam-se principalmente no uso de acaricidas e na imunização dos bovinos usando infestações controladas, a fim de produzir certa resistência nos animais através do contato prévio com os agentes infecciosos (Palmer e McElwain, 1995). Porém, devido ao uso incorreto desses acaricidas (subdosagens utilizadas, falta de supervisão profissional e estratégias para uso) percebe-se resultados minimamente efetivos no controle do carrapato (Kocan et al., 2003; D'Alessandro, 2012). Acaricidas químicos são usados com grande frequência no controle das infestações de carrapatos. Em geral este tipo de ectocida é administrado por meio de pulverização, aplicação dorsal *pour-on* e injetável, no caso das avermectinas (Klafke, 2011). Porém, o uso contínuo e inadequado desses acaricidas acarreta o surgimento de populações de carrapatos resistentes às formulações existentes e, mesmo com o desenvolvimento de novas substâncias químicas, acontece o aparecimento de novas cepas resistentes (Martinez, 2004).

A grande dificuldade de controle destes ixodídeos, especialmente devido ao fato de as populações de carrapatos já serem resistentes à maioria dos acaricidas químicos presentes no mercado, abre um leque para elaboração de outras alternativas que busquem formas eficientes e seguras de controle desses ectoparasitas (Labruna et al., 2008). O tratamento do ambiente com acaricidas, sejam pastagens ou outras áreas infestadas, mostra-se como uma alternativa em potencial para auxiliar o controle desse artrópode nas fases não parasitárias de seu ciclo de vida, visando atingir a maior parcela da população do parasita. Relatos sobre a eficácia da aplicação de acaricidas no ambiente foram feitos em outras partes do mundo com foco em diversas

espécies de carrapatos, porém, no Brasil, esses estudos são escassos (Labruna, 2008).

Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar a eficácia *in vitro* de antiparasitários e selecionar os mais eficazes para serem aplicados em três espécies de forrageiras em condições de semicampo, e comparar os resultados obtidos nos testes de *A. sculptum* com os testes feitos com *R. microplus*.

## **2. Revisão bibliográfica**

Em todo o mundo, são conhecidas mais de 950 espécies de carrapatos (Dantas-Torres et al., 2019), sendo elas agrupadas na subordem Ixodida, e esta ordem se divide nas famílias Ixodidae, esta com cerca de 742 espécies, família Argasidae com 218 espécies e a família Nuttalliellidae com uma única espécie (Guglielmone et al., 2020).

### **2.1. Carrapatos envolvidos no estudo**

#### **2.1.1. *Amblyomma sculptum***

É conhecido como “carrapato estrela”, “carrapato do cavalo”, “rodoleiro”, e em sua fase larval é chamado de “carrapato-pólvora”, “micuim” ou “vermelhinho”. Por muitos anos acreditou-se que os carrapatos do gênero *Amblyomma* fossem uma só espécie. Porém estudos avançados em filogenia, morfologia e genética demonstraram que *Amblyomma cajennense sensu lato* é um complexo de pelo menos seis espécies de carrapatos distribuídas pelas Américas, das quais duas ocorrem no Brasil, *Amblyomma cajennense sensu strictu* e *A. sculptum*, sendo este último de maior incidência nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste do país de acordo com trabalho de campo feito por Nava et al. (2014).

*Amblyomma sculptum* é um artrópode hematófago transmissor de alguns patógenos a animais, incluindo os humanos, devido ao fato de ter baixa especificidade na escolha dos hospedeiros, especialmente nas fases de larva e ninfa. Esta espécie pode parasitar animais silvestres e domésticos, mas também pode acidentalmente parasitar humanos. As antas, capivaras e equídeos são os

animais mais frequentemente parasitados, por serem os hospedeiros primários. Além destes, os suídeos, bovinos, bubalinos, pequenos ruminantes, canídeos, e animais silvestres como gambás, cotias, tamanduás, tatus, répteis, anfíbios e aves como galinhas, perus, seriemas, gaviões e outros são susceptíveis ao parasitismo de *A. sculptum*.

Esta espécie é tida como o principal vetor do agente causador da Febre Maculosa Brasileira - FMB, *Rickettsia rickettsii*, bactéria gram-negativa intracelular obrigatória. Esta doença afeta principalmente a população economicamente ativa, na faixa de 20 a 49 anos, e cerca de 10% dos casos são em crianças menores de 9 anos de idade. Esta doença na maioria dos casos apresenta alta taxa de mortalidade (SES MS, 2019). No período que compreende do ano de 2007 até 2021, foram registrados 821 casos da doença no estado de São Paulo (SINAN, 2021), e só no ano de 2021 até o mês de setembro foram registrados 69 casos e 19 mortes pela FMB no estado (Ministério da Saúde, 2021). As taxas de letalidade variam de 20% a 30% e o principal agravante é a dificuldade na realização do diagnóstico e na definição do tratamento. Na maioria das vezes, esta se apresenta com sintomatologia pouco específica, dificultando um diagnóstico assertivo (Del Fiol, et al., 2010).

Segundo o levantamento feito por Perez et al. (2008), sobre os hospedeiros primários e secundários de *A. sculptum* em área endêmica de FMB na região de Piracicaba-SP, várias espécies de mamíferos e algumas aves têm participação na manutenção da população de carrapatos da região, tendo destaque para o gambá (*Didelphis albiventris*) que apresentou grande participação na manutenção de estágios imaturos de *A. sculptum*, e a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), sendo mais frequentemente parasitada pelos estágios adultos do carrapato. Diversas espécies podem servir de amplificadores para *R. rickettsii* nas áreas endêmicas da FMB, sendo a maioria destas áreas localizadas no sudeste do país, nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

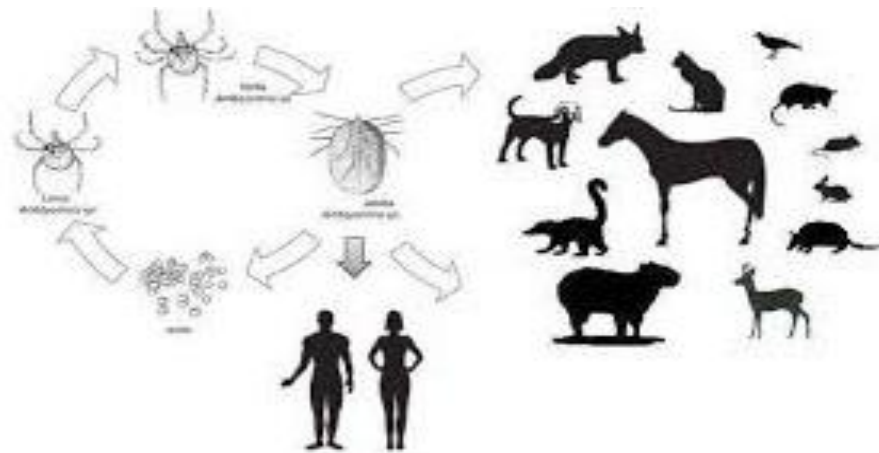
O controle de *Amblyomma sculptum* em áreas rurais e urbanas é de grande importância à saúde pública, pois são carrapatos bastante agressivos aos seres humanos, causando lesões de difícil cicatrização no local da picada e intenso prurido

(Guglielmone et al., 2006; Brasil, 2017; Pajuaba et al., 2018). Na veterinária também se mostra importante por causar lesões na pele dos animais pela picada, anemia pela grande espoliação sanguínea, irritação, paralisia em pequenos ruminantes, e pelo fato de ser um possível transmissor da *Theileria equi*, agente etiológico da piroplasmose ou theileriose equina, hipótese essa sem comprovação científica até o momento (Barros Battesti et al., 2006; Labruna et al., 2009; Ferreira, 2017).

*Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus* pertencem ao filo Arthropoda, subclasse Acari, ordem Ixodida e família Ixodidae. Os carrapatos do gênero *Amblyomma* são facilmente diferenciados dos demais gêneros devido às suas características morfológicas e tamanho dos adultos, pois algumas espécies são maiores quando comparadas às espécies de outros gêneros. Dentre as principais características que diferem *A. sculptum* das outras espécies, podem ser observados os escudos dorsais ornamentados com manchas esbranquiçadas ou acobreadas, festões bem evidenciados, hipostômio e palpos longos, contendo denticulação 3 x 3. Em machos se observa dois espinhos desiguais na coxa I e escudo recobrindo todo o corpo, e em fêmeas a coxa IV com um único espinho e escudo recobrindo apenas a parte dorsal próximo ao capítulo (Onofrio et al., 2006).

São carrapatos de ciclo de vida trioxeno, ou seja, necessitam de três hospedeiros diferentes para completarem seu desenvolvimento. A teleógina de *A. sculptum*, após completar o ingurgitamento, desprende-se do hospedeiro e cai ao solo, onde procurará um local seguro na base da vegetação para realizar a oviposição. Uma única fêmea pode ovipor de 5000 a 8000 ovos por postura, morrendo após este processo. Os ovos após o período de incubação, dependendo das condições de temperatura e umidade, eclodem e dão origem às larvas, popularmente chamadas de micuins. Estas sobem até a ponta da vegetação onde ficam aglomeradas aguardando a passagem do hospedeiro. Após se fixarem no hospedeiro, iniciam o repasto sanguíneo. Por volta de 4 a 5 dias se desprendem e voltam ao solo onde sofrem a primeira ecdise, passando para o estágio de ninfa, fase em que ocorre também a diferenciação sexual. Neste estágio as ninfas voltam à ponta do capim para espreitarem novo hospedeiro, onde se fixarão por 5 dias em média. Depois se desprendem e voltam ao solo para realizarem a muda para adultos.

Estes, por meio de emboscada ou busca ativa, encontram novo hospedeiro, onde as fêmeas se fixam para se ingurgitar e realizarem a cópula com o macho, que tem o papel de fecundar a fêmea, consumindo pouquíssimo sangue e podendo acasalar-se com várias fêmeas. Após o total ingurgitamento a fêmea cai ao solo onde dará início a um novo ciclo (Fig. 1) (Furlong et al., 2005).



**Figura 1:** Esquema representando o ciclo de vida de *Amblyomma sculptum* e seus possíveis hospedeiros. Fonte: <https://cevs-admin.rs.gov.br/upload/arquivos/201611/03111315-1462979596-folder-febre-maculosa.pdf>

As fases do ciclo de *A. sculptum* apresentam-se bem demarcadas ao longo do ano, com ocorrência do estágio de larvas nos meses mais secos, geralmente de abril a setembro, ninfas ocorrendo de junho a outubro, e adultos aparecendo nos meses mais quentes e úmidos, ou seja, de outubro a março (Labruna et al., 2002). Esta dinâmica sazonal da espécie é devida ao comportamento chamado diapausa. As larvas permanecem inativas em determinados períodos, aguardando condições de fotoperíodo e temperatura favoráveis para iniciarem a busca por um hospedeiro (Labruna, 2009; Andreotti et al., 2015).

### 2.1.2. *Rhipicephalus microplus*

Também conhecido como “Carrapato-do-boi”, é um ectoparasita pertencente a família Ixodidae e possui ampla distribuição geográfica (Guglielmone et al., 2020). Sua posição taxonômica foi revisada por Murrell e Baker (2003), com base em

estudos morfológicos, moleculares e filogenéticos. O subgênero *Rhipicephalus* (*Boophilus*) inclui espécies monoxenas.

*Boophilus* foi mantido como subgênero. Esta é a única espécie presente no Brasil dentre as 5 espécies existentes dentro do subgênero (Guclielmone, et al., 2020; Nava, et al., 2018). A palavra “*boophilus*” é de origem grega, e significa “amigo do boi”. O termo *microplus* deriva de uma expressão latina e significa “menor”, portanto, *Boophilus microplus* significa “o menor amigo do boi” (Taylor et al., 2017).

Originário da Ásia, mais precisamente da Índia e Ilha de Java, sua disseminação para outras partes do mundo se deu por meio de expedições exploradoras, transporte de gado e mercadorias asiáticas para outros continentes (Godoi e Silva, 2009; Gomes, 1998; Gonzales, 1993), tornando-se o ectoparasita causador de maior prejuízo econômico e de maior importância nas regiões tropicais e subtropicais do planeta, e, no Brasil, é a principal causa de perdas, tanto na produção de leite quanto na produção de carne (Castro e Newson, 1993).

Esta espécie é amplamente distribuída pelo território brasileiro e ocorre em todas as épocas do ano na maior parte das regiões do país (Silva e Rocha, 2004). É o principal vetor do complexo conhecido como “Tristeza Parasitária Bovina”, que acarreta diminuição na produção de leite e de carne, anemia, fraqueza, baixo desenvolvimento, podendo evoluir ao óbito dos animais afetados (Cordovés, 1997)

*Rhipicephalus microplus* faz parte da família dos ixodídeos, conhecidos como “carrapatos duros”. Isso se deve pela presença do escudo, de cor castanho-avermelhada e sem ornamentação, presente no dorso desses artrópodes, sendo uma das principais características que os identificam. No macho, este escudo recobre todo o dorso e nas fêmeas se apresenta menor, recobrindo apenas a região dorsal próxima ao capítulo (Andreotti et al., 2016). Outras estruturas servem para diferenciá-los de outras espécies, tais como a localização dos estigmas respiratórios posterior ao quarto par de pernas, de formato arredondado ou oval, a base do gnátossoma (falsa cabeça) de formato hexagonal implantado na extremidade anterior do corpo e o hipostômio curto, porém sendo mais longo que os palpos, apresentando quatro fileiras de dentes de cada lado do hipostômio. Machos possuem

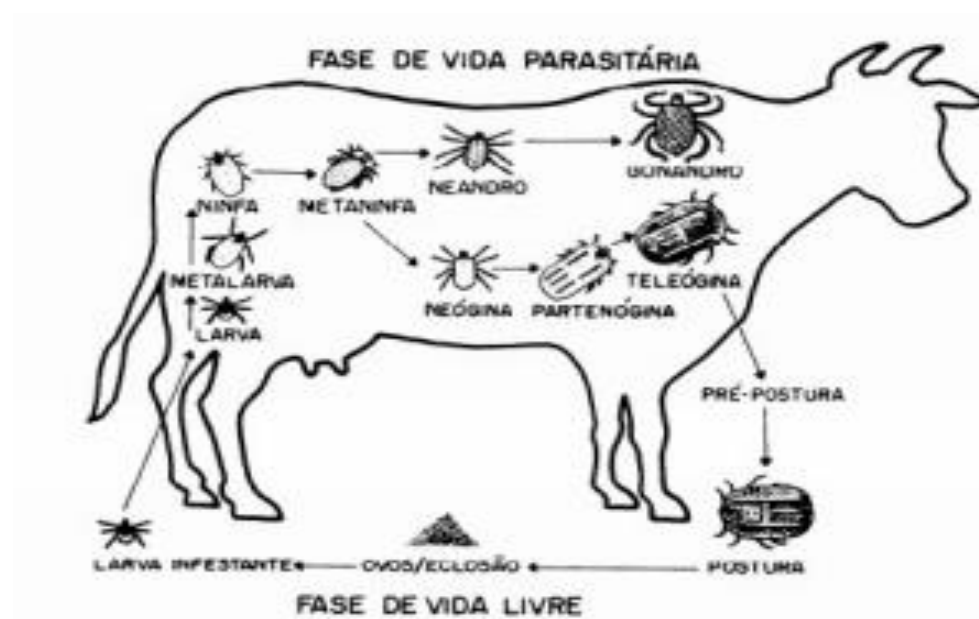
dois pares de placas adanais bem desenvolvidas com prolongamento caudal (Monteiro, 2011).

Quanto às dimensões dos indivíduos desta espécie, as fêmeas podem medir de 2,34 a 2,85 mm de comprimento por 1,4 a 1,50 mm de largura, e após as fêmeas completarem o ingurgitamento podem atingir até 13 mm de comprimento por 9 mm de largura. Os machos podem medir de 1,75 a 2 mm de comprimento por 1,05 a 1,20 mm de largura. Estes se alimentam poucas vezes e amadurecem mais rapidamente do que as fêmeas, ficando atentos à detecção da presença das parceiras por meio de feromônios. Quando as encontram, mesmo que imaturas, abraçam-se a elas garantindo a cópula (Fortes, 2004).

É um parasita de ciclo monoxeno, ou seja, utiliza apenas um hospedeiro na sua fase de vida parasitária. As larvas infectantes posicionam-se nas pontas do capim onde esperam a passagem do hospedeiro. Após se aderirem à pele do animal, a larva parasitária passa para o estágio de metalarva. A larva passa por várias mudanças até a fase adulta, mudando de metalarva para ninfa em aproximadamente 8 dias, e de ninfa à metaninfa por volta de 13 dias de média. Nesta fase acontece a diferenciação sexual, onde de metaninfa passa para o estágio de neandro por volta de 14 dias em média, e depois passando para gonandro com 2 dias de média, podendo permanecer em cima do animal por até 38 dias, e podem acasalar com várias fêmeas. A transformação de metaninfa para neógina dura em média 17 dias, evoluindo à partenógina em 3 dias e à teleógina em 2 dias. Após estarem totalmente ingurgitadas, as teleóginas começam a se desprenderem do hospedeiro por volta de 22 a 23 dias pós infestação, em média.

As fêmeas ingurgitadas caem na pastagem, onde procuram um local seguro na base das gramíneas para realizarem a postura dos ovos. Esse período denominado pré postura dura por volta de 3 dias. A postura dos ovos dura em média 3 semanas e cada fêmea dá origem a cerca de 3000 ovos, e a eclosão ocorre em média 22 dias pós postura. As larvas recém eclodidas têm a cutícula ainda mole, necessitando de 2 a 3 dias para seu enrijecimento e por volta de 7 dias para se tornarem infectantes. Estas são capazes de sobreviver até 60 dias sem um

hospedeiro (Fig. 2) (Gonzales, 1974; Godoi e Silva, 2009; Andreotti et al., 2016; Dantas et al., 2017).



**Figura 2.** Representação esquemática do ciclo de vida do carrapato *R. microplus*. Fonte: Fortes (2004).

A duração do ciclo de *R. microplus* pode variar de acordo com as condições climáticas ao longo do ano, prolongando-se mais nos meses de frio e baixa umidade. Já nos meses mais quentes e úmidos o desenvolvimento do parasita é favorecido, sendo a umidade por volta de 80% e temperatura entre 27°C as condições ótimas ao seu desenvolvimento, permitindo um ciclo ocorrer em torno de 21 a 22 dias (Guimarães et al., 2001).

## 2.2. Controle químico de carrapatos

### 2.2.1. Acaricidas comerciais

O uso de substâncias para o controle de ectoparasitas teve início no século 16, mais precisamente no final do século XVII, com o uso empírico da nicotina, seguida pelo uso do piretrum na década de 1820. Porém o controle dos carrapatos dos bovinos utilizando químicos se tornou popular em 1896, quando começaram a utilizar os arsenicais para reduzir as populações deste parasita no gado. Em 1910 a venda de arsênico foi liberada, abrindo o mercado para outras partes do mundo.

Porém, com o uso indiscriminado deste composto a resistência dos parasitas logo foi relatada pela primeira vez em 1937 na Austrália. Devido à alta toxicidade a humanos e animais, e à preocupação com resíduos em carne e leite, todos estes pontos levaram ao incentivo de buscas por novas bases químicas para controle do carrapato. Em ordem cronológica vieram depois os produtos à base de organoclorados no ano de 1946. Neste grupo ficaram famosos o DDT e BHC. Em 1947 surgiram os ciclodienos e toxafeno, no ano de 1955 foram lançados os organofosforados, durante a década de 70 surge a thiazolina, em 1975 as formamidas, sendo seu principal representante o amitraz, em 1977 os compostos do grupo dos piretroides. Em 1981 as lactonas macrocíclicas ganharam o mercado dos antiparasitários injetáveis, com as avermectinas e milbemicina. No ano de 1993 foi lançado o fipronil, pertencente ao grupo dos fenilpirazoles, e no ano de 2000 surgiu no mercado o spinosad, da família naturalyte, sendo a mais nova base química disponível (George et al., 2008; Andreotti, 2010).

No Brasil, são oito os grupos antiparasitários mais usados no controle dos carrapatos, sendo estes também classificados de acordo com o modo de ação no organismo do animal. Eles podem ser acaricidas de contato, os quais são administrados na forma de banho de aspersão ou *pour-on*, e os acaricidas sistêmicos, os quais precisam ser metabolizados e transportados via corrente sanguínea aos tecidos do animal, sendo injetáveis em sua maioria, mas também com formulações para aplicação *pour-on* (Andreotti, 2010). Os grupos químicos mais utilizados no Brasil para o controle de artrópodes praga, em ordem cronológica, são:

- Organofosforados: foram criados para serem substitutos dos organoclorados, que vinham apresentando resistência cruzada em várias espécies de carrapatos pelo país. São altamente tóxicos ao meio ambiente, além de se acumularem no tecido adiposo dos animais. Os organofosforados são o grupo mais antigo de acaricidas comercializados até hoje no país. Consistem em derivados orgânicos do ácido fosfórico, atuando na paralisação do parasita por contrações musculares exacerbadas, provocadas pela inibição da enzima acetilcolinesterase e consequente aumento de acetilcolina no organismo do artrópode (George et al., 2008; Andreotti, 2010).

- Amidinas: este grupo foi amplamente comercializado; é encontrado até hoje no mercado, sendo o amitraz o principal representante. Seu sítio de ação consiste na inibição do metabolismo de enzimas de grande importância para o carrapato, como as monoaminoxidase. Após a absorção da amidina e sua metabolização, é gerado um composto denominado N-2,4-dimetilfenil N-metilformamidina, sendo este extremamente tóxico para os estádios imaturos do carrapato, e tendo grande efeito redutor na massa de ovos postas pelas fêmeas. Este princípio ativo se mostra perigoso para equinos, que são os principais hospedeiros domésticos para *Amblyomma sculptum*, podendo causar intoxicações e levar a complicações do trato gastrointestinal, ficando assim contra indicado no controle dos carrapatos nestes animais (Duarte et al., 2003; Li et al., 2004; Andreotti, 2010).

- Piretroides: este grupo se divide em diversos subgrupos, porém entre os subgrupos de maior destaque, podemos citar a deltametrina, cipermetrina e a alfa-metrina. Hoje em dia, com o aumento da resistência dos carrapatos frente a esses grupos químicos, é comum encontrarem-se no mercado fórmulas de piretroides associados à organofosforados, com o intuito de aumentar o poder de ação carrapaticida. Piretroides levam vantagem em ter menor toxicidade aos mamíferos, quando comparados aos organofosforados (Guerrero et al., 2001; Andreotti, 2010).

- Lactonas macrocíclicas: derivadas de produtos de fermentação do fungo *Streptomyces avermitilis*, são divididas em 4 subgrupos, sendo estes o Ivermectina, Moxidectina, Doramectina e Abamectina, comercializados em grande escala no mercado brasileiro, e muito conhecidos como endectocidas, por atuarem tanto no controle do carrapato, quanto de vermes e larvas de berne e miíases. Esta base química fez grande sucesso na pecuária nacional e mundial. Seu sítio de ação consiste no bloqueio da transmissão de sinais nervosos nos carrapatos, causando paralisia e posterior morte dos parasitas (Furlong e Martins, 2000; Andreotti, 2010).

- Fluazuron: pertencente à classe das benzoilfeniluréias e com ação bastante peculiar, age inibindo o crescimento e a produção da quitina, substância que confere rigidez à cutícula do carrapato, inibindo as mudas de larva para ninfa e de ninfa para adultos, impedindo a reprodução e continuação do ciclo, promovendo o controle

populacional. Disponível em formulações para aplicação pour-on, age sendo metabolizado no organismo e sendo transportado pela corrente sanguínea até os tecidos do animal (Furlong e Martins, 2000; Alves-Branco et al., 2001; Andreotti, 2010).

- Thiazolina: é uma substância da família do cymiazol, tendo sido muito pouco usada no controle do carrapato até a década de 70. Posteriormente foi reintroduzida no mercado dos antiparasitários em formulação associada à um piretroides sintético, indicada para banho de aspersão dos animais (Furlong, 2005).
- Fipronil: pertencente ao grupo dos fenilpirazois. Apresenta ação semelhante às avermectinas, atuando sobre o sistema nervoso, bloqueando íons de cloreto controlados por GABA, causando paralisia e consequente morte dos carrapatos. É frequentemente encontrado na forma de produtos pour-on (Furlong, 2005; Narahashi et al., 2007; Amaral, 2012).
- Naturalyte: Espinosade é a mais nova base química disponível no Brasil, sendo derivada de metabólitos produzidos pela fermentação biológica da bactéria *Saccharopolyspora spinosa*, um organismo de ocorrência natural no solo, tendo como princípio ativo as espinosinas A e D. Age por contato, se ligando aos receptores nicotínicos de acetilcolina do parasita, causando paralisia e levando à morte rapidamente após a exposição (Gulias-Gomes, 2009).

### 2.2.2. Antiparasitários foco do presente estudo

Os antiparasitários que foram avaliados no presente estudo constam na Tabela 1.

**Tabela 1:** Lista contendo os antiparasitários avaliados sobre *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus*.

| Produto Comercial | Princípio ativo | Diluição de Bula | [ ] Mãe LPV | Categoria | Classificação Toxicológica (GHS)* | Classificação do potencial periculosidade ambiental (PPP)** |
|-------------------|-----------------|------------------|-------------|-----------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|
|-------------------|-----------------|------------------|-------------|-----------|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------|

|                         |                                                                                                                         |                                                                                      |                                                                              |                                                                                                                                  |                                     |                           |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| Butox P CE (MSD)        | Deltametrina 25g em 1L = 25 mg/mL                                                                                       | <i>R. microplus</i> : 10mL em 10L de água<br><i>A. sculptum</i> : 10mL em 5L de água | 25 mg/mL                                                                     | 3A sistema nervoso e muscular: piretroides: moduladores dos canais de sódio                                                      | Não Obrigatória                     | Não definido              |
| Triatox (MSD)           | Amitraz 12,5g (em 100mL) = 125 mg/mL                                                                                    | 2mL em 1Litro de água para carrapatos                                                | 500 mg/mL                                                                    | 19 sistema nervoso e muscular: agonistas do receptor de octopamina                                                               | Não Obrigatória                     | Não definido              |
| Colosso CE pulverização | Cipermetrina 15g (em 100mL) = 150 mg/mL / Clorpirifós 25g (em 100 mL) = 250 mg/mL / Citronelal 1g (em 100mL) = 10 mg/mL | 25 mL em 20 Litros de água para carrapatos                                           | Cipermetrina = 1000 mg/mL, Clorpirifós = 1666 mg/mL, Citronelal = 66,6 mg/mL | 3A sistema nervoso e muscular: piretroide moduladores dos canais de sódio                                                        | Não Obrigatória                     | Não definido              |
| Demand 2,5CS            | Lambda-Cialotrina 25 g em 1L = 25 mg/mL                                                                                 | 50 mL em 10 Litros de água para insetos e aracnídeos                                 | 125 mg/mL                                                                    | 3A sistema nervoso e muscular: piretroide moduladores dos canais de sódio                                                        | 5 (improvável de causar dano agudo) | I (extremamente perigoso) |
| Plenoway Top            | Thiametoxam 14,1% p/p = 0,141g/mL = 141 mg/mL                                                                           | 30 mL em 10 Litros de água para controle de aracnídeos e escorpiões                  | 500 mg/mL                                                                    | 4A neonicotinoides moduladores competitivos do receptor nicotínico de acetilcolina (nAChR)                                       | 2 (altamente tóxico)                | II (muito perigoso)       |
| Regent 800WG            | Fipronil granulado dispersível em água (800 g/Kg - em 1000 g de produto tem 800g de fipronil)                           | Produto agrícola com doses para cada cultura, sem indicação p/ carrapato             | 200 mg/mL                                                                    | 2B (sistema nervoso e muscular: antagonistas de canais de cloro mediados pelo GABA 2A ciclodienos, 2B fenilpirazóis (fiproles)   | 2 (altamente tóxico)                | II (muito perigoso)       |
| Vertimec 18 EC          | Abamectina 1,8% m/v CE (18g/L) = 18 mg/mL                                                                               | Produto agrícola com doses para cada cultura, sem indicação p/ carrapato             | 1000 mg/mL                                                                   | 6 (sistema nervoso e muscular: moduladores alostéricos de canais de cloro mediados pelo glutamato 6A avermectinas e milbemicinas | 4 (pouco tóxico)                    | II (muito perigoso)       |

\* Fonte: <https://ghs-sga.com/classificacao-de-perigos/?lang=pt-br>

\*\*Fonte: <https://www.ibama.gov.br/agrotoxicos/182-quimicos-e%20biologicos/agrotoxicos/1156-ppa>

As diversas bases químicas disponíveis no mercado atualmente apresentam diferentes efeitos, grau de permanência de resíduos e impactos no ambiente. Os organoclorados possuem elevada toxicidade para humanos e artrópodes, sendo altamente bioacumulativos e afetando vários degraus da cadeia alimentar, além de deixarem resíduos de difícil degradação e alta permanência no ambiente. Os organofosforados possuem alta toxicidade para aves, porém o período de persistência dos seus resíduos no ambiente é menor quando comparado aos organoclorados. Os piretroides possuem ação extremamente nociva ao meio ambiente devido ao seu

espectro de ação altamente abrangente, sendo altamente tóxico em meio aquático, afetando diretamente peixes e outros organismos (Kunz e Kemp, 1994; Muniz, 2018).

### **2.2.3. Resistência aos acaricidas comerciais**

Embora seja ampla a gama de produtos químicos utilizados para o controle dos carrapatos, a grande maioria destes já apresentam eficácia bastante reduzida frente às populações desse parasita no Brasil e no mundo (Reck et al., 2014). Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2004), o uso exacerbado e sem critério de antiparasitários cria uma situação de pressão de seleção artificial nas populações de carrapatos expostos aos produtos, acarretando à conhecida resistência, sendo esta definida como a capacidade de sobrevivência do carrapato após contato com soluções acaricidas.

No processo de estabelecimento da resistência, ocorrem mudanças na frequência de genes de um grupo de indivíduos, sendo uma resposta evolutiva das populações expostas a condições de sobrevivência severas e de modo contínuo (Neves, 2011). As populações de carrapatos utilizam diversos mecanismos para tornarem-se resistentes à ação dos carrapaticidas, sendo estes a redução na taxa de penetração do produto, mudanças no metabolismo, no armazenamento e na eliminação do produto químico do organismo, além de alterações no local de ação dos compostos químicos (Furlong, 2005).

Existem três tipos conhecidos de bases moleculares da resistência a pesticidas em carrapatos, sendo estas: amplificação e alteração da regulação, ambas tendo como resultado alterações quantitativas, e a alteração estrutural do gene, sendo uma mudança estrutural em sua expressão. Na metabolização dos pesticidas no carrapato, três proteínas desempenham funções importantes, como os citocromos P450, as esterases e a glutathione S-transferase, estando intimamente ligadas à síntese e degradação de uma ampla gama de compostos metabólicos endógenos, atuando também na proteção contra o estresse oxidativo, transmissão de sinais nervosos e no transporte de compostos através das células (Scott, 1995; Ranson et al., 2002; Veríssimo et al., 2015).

Mutações genéticas estão fortemente ligadas à capacidade dos parasitas sobreviverem à exposição de pesticidas. Os carrapatos possuem um curto período entre gerações, condição propícia ao aparecimento de populações com diferentes genótipos, a depender da pressão de seleção que lhes é imposta. Estas alterações reduzem a eficácia dos acaricidas em um pequeno espaço de tempo, fazendo-se necessário o ajuste da concentração a fim de aumentá-la, bem como a mudança para outro princípio ativo de família distinta da anterior e, muitas vezes, a utilização de formulações de diferentes princípios ativos associados (Veríssimo et al., 2015).

O período de estabelecimento da resistência em uma determinada população é concomitante ao grau de pressão de seleção ao qual ela está exposta, a depender das dosagens dos acaricidas utilizados, sendo subdosagens e superdosagens elementos que corroboram para este processo. Além disso, o histórico de uso de cada base química naquela população de carrapatos e as falhas de manejo favorecendo a sobrevivência dos parasitas são fatores que definirão o grau de resistência de cada cepa.

#### **2.2.4. Relatos de resistência parasitária em *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus* no Brasil**

A falta de trabalhos científicos abordando metodologias para o controle de *A. sculptum* impacta diretamente na quantidade de produtos com instruções para uso em equinos nos últimos 30 anos, pois poucos produtos para tal finalidade foram lançados, sendo comum o uso de produtos destinados à bovinos nesses animais. Labruna et al. (2004) descrevem que poucas formulações de piretroides ainda estão disponíveis para o controle de *A. sculptum* em equídeos.

Freitas et al. (2011), em monitoramento de fazendas no estado de Goiás, constataram que em 32 das fazendas, cerca de 52,6% do total de fazendas acompanhadas, os compostos mais comumente utilizados eram os organofosforados, piretroides e suas respectivas associações, sendo evidenciada uma sensibilidade de *A. sculptum* à deltametrina de 76% em adultos e de 86% em larvas.

Souza et al. (2015) testou a eficácia dos carrapaticidas Amitraz 12,5%, associação de Cipermetrina 15% + Clorpirifós 25% + Citronela 1%; Cipermetrina 15% e Deltametrina 25% sobre larvas de *A. sculptum*. Foram testadas as doses recomendadas pelos fabricantes e observada a eficácia nos tempos de 5', 60', 120', 6, 12 e 24 horas pós-tratamento. Verificou-se indícios de resistência da espécie ao amitraz observando efeito transitório da formulação sobre as larvas, diminuindo a motilidade de 90% das mesmas na fase aguda (5' e 60'), porém apenas 56,5% das larvas perderam motilidade após 24 horas do tratamento. Além disso, detectaram respectivamente as seguintes mortalidades frente aos demais tratamentos: 90% para a associação Cipermetrina 15% + Clorpirifós 25% + Citronela 1%; 83,3% para Deltametrina 25% e 56,6% para Cipermetrina.

Borges et al. (2020) realizaram estudo da atividade acaricida *in vitro* de diferentes classes de ectoparasiticidas contra larvas de *A. sculptum*, utilizando a técnica de imersão de larvas. As larvas apresentaram maior susceptibilidade ao grupo dos piretroides sintéticos, seguido pelos grupos fenilpirazol, organofosforado e lactona macrocíclica.

Os relatos de resistência aos acaricidas utilizados no controle de *R. microplus* no Brasil são abundantes, visto que a frequência de erros no manejo e aplicação de parasiticidas nos animais são comuns e, conseqüentemente, atuam no aumento da pressão de seleção de cepas de carrapatos resistentes às principais bases químicas utilizadas (Andreotti et al., 2011; Freitas et al., 2018).

Freire (1953) descreveu pela primeira vez a resistência de *R. microplus* aos arsenicais no ano de 1950, e mais tarde (1956); Freire também relatou os primeiros casos de resistência à compostos clorados no Rio Grande do Sul.

Martins e Furlong (2001) constataram evidências de resistência à moxidectina, doramectina e ivermectina em cepas brasileiras de *R. microplus*, indicando a ocorrência de resistência cruzada ao grupo químico das avermectinas.

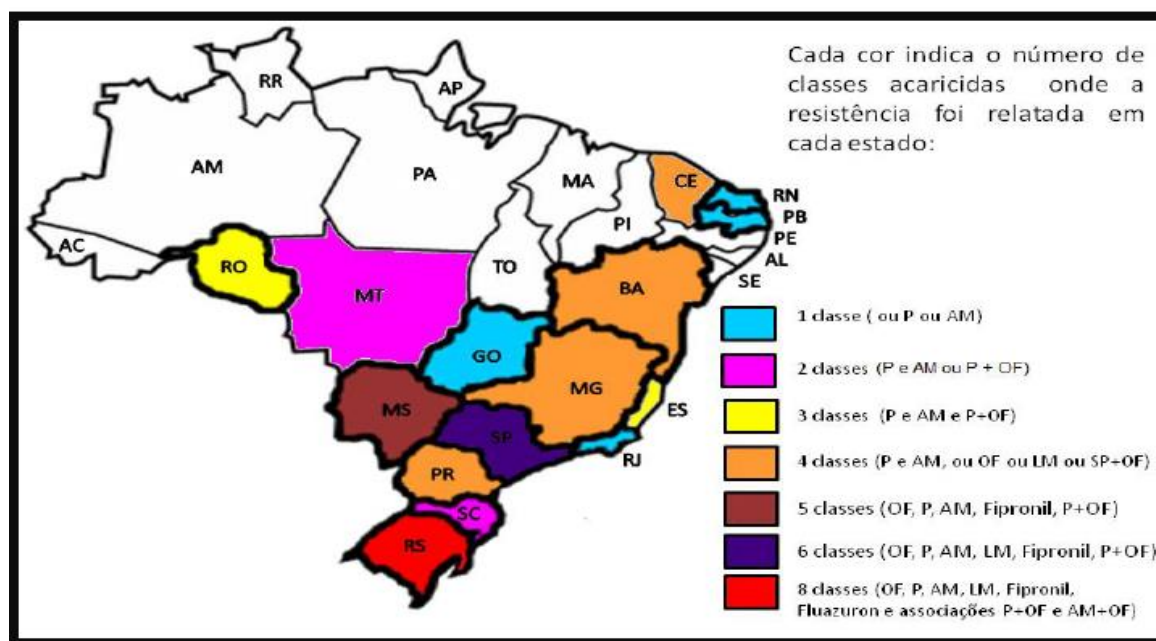
Castro-Janer et al. (2010) realizaram testes *in vitro*, por meio da técnica de imersão de larvas (LIT), avaliando a eficácia do fipronil diante de 11 populações de

carrapatos do Rio Grande do Sul, do Mato Grosso do Sul e de São Paulo, relatando a ocorrência dos primeiros casos de resistência ao fipronil no Brasil.

Faza et al. (2013) identificaram que 91,9 % das populações de larvas de *R. microplus* provenientes de 587 populações avaliadas no estado de Minas Gerais são heterozigotas para alelos tipo KDR, demonstrando que a maioria das populações apresentam o alelo que proporciona a resistência aos piretroides.

Reck et al. (2014) avaliaram a resistência de uma cepa de carrapatos contra acaricidas, em uma fazenda de gado de corte no estado do Rio Grande do Sul. Foram feitos testes *in vitro* e os resultados mostraram que a cepa Jaguar (como foi denominada) demonstrou resistência a todas as drogas testadas (cipermetrina, clorpirifós, fipronil, amitraz e ivermectina), documentando o primeiro caso de resistência ao fluazuron em *R. microplus* e a primeira população de carrapatos resistente a seis classes de acaricidas no Brasil.

Segundo Higa et al. (2015), relatos de resistência já foram descritos em 15 estados brasileiros a pelo menos uma das bases químicas disponíveis hoje no mercado, sendo que o estado do Rio Grande do Sul relatou resistência a todos os compostos químicos listados. Na figura 3 podemos observar através do mapa a distribuição da resistência aos acaricidas nos estados brasileiros.



**Figura 3:** Mapa da distribuição da resistência de *Ripicephalus microplus* frente às bases químicas empregadas em seu controle no Brasil. Fonte: Higa et al. (2015, modificado). OP= organofosforados; SP= piretróides; AM= amidina; ML= lactonas macrocíclicas.

Klafke et al. (2017) coletaram 104 amostras de *R. microplus* de diferentes fazendas no Rio Grande do Sul e realizaram testes de imersão de adultos. Quatro níveis de resistência foram observados de acordo com o percentual de mortalidade das larvas, sendo o nível 1: mortalidade entre 82% e 95%, o nível 2: mortalidade entre 57% e 82%; o Nível 3: mortalidade entre 25% e 57%; e o nível 4: mortalidade inferior a 25%. Com os resultados, conseguiram detectar resistência à cipermetrina em 98,08% das amostras, com a maioria estando no nível de resistência 4. A quantidade de cepas resistentes ao amitraz, clorpirifós, ivermectina e fipronil foi respectivamente de 76,92%, 60,58%, 60,58% e 53,85%. Esses autores também encontraram um alto percentual de resistência múltipla a três ou mais compostos, cerca de 78,85% das amostras. Tais resultados evidenciam a rápida evolução das cepas de carrapatos resistentes frente aos químicos disponíveis no mercado.

### 3. REFERÊNCIAS

- Almeida, L.R de; Bittencourt, V. R. E. P (2013). **Manejo de Parasitoses em Sistema Orgânico de Produção de Leite**. Arquivo Instituto Biológico, São Paulo, 80 (1): 129-134.
- Alves-Branco, F. de P. J.; Correa, I. F.; Sapper, M. de F. M.; Franco, J. C. B. (2002) Impacto econômico sanitário do fluazuron no controle do carrapato *Boophilus microplus* em bovinos de corte no Rio grande do Sul. **A Hora Veterinária** 22 (129): 19-23.
- Amaral, R. B. (2012). **Investigação do comportamento eletroquímico do inseticida fipronil e desenvolvimento de metodologia eletroanalítica**. Tese (Doutorado) – Instituto de Química de São Carlos/Universidade de São Paulo, 123.
- Andreotti, R. (2010). **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* aos acaricidas no Brasil** / Renato Andreotti. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 36: 21 cm.
- Andreotti, R.; Garcia, M. V.; Koller, W. W. (2019) (Ed.). **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília, DF: Embrapa. 240 f. ilustrado. Colorido.
- Andreotti, R.; Guerrero, F. D.; Soares, M. A.; Barros, J. C.; Miller, R. J.; de León, A. P. (2011). Acaricide resistance of *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 20: 2: 127-133
- Andreotti, R.; Koller, W. W.; Garcia, M. V. (2016). **Carrapatos. Protocolos e técnicas para estudos**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Embrapa Gado de Corte Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília.
- Angelo I.C., Diniz-Neto H.C., Santos S.V., Perinotto W.M.S., Quinelato S., Santos H.A. Gôlo P.S., Camargo M.G., Marciano A.F. Bittencourt V.R.E.P. (2015). Formulações oleosas contendo fungos artropodopatogênicos para o controle de *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 37(Supl.1): 18-24.
- Bahiense, T.C.; Fernandes, E.K.K.; Angelo, I.C.; Perinotto, W.M.S.; Bittencourt, V.R.E.P. (2007). Avaliação do potencial de controle biológico do *Metarhizium anisopliae* sobre *Boophilus microplus* em teste de estábulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 16:243-245.
- Barros, B. D. M.; Arzura, M.; Bechara, G. H. (2006). **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies**. 223 f. São Paulo, Vox/ICTTD-3-Butantan.
- Beati, L., Keirans, J. E. (2001). Analysis of the systematic relationships among ticks genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S

ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. **Journal of Parasitology**, 87 (1): 32-48.

BRASIL. (2017). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**: 468f. volume único. Brasília, DF: Ministério da Saúde.

Camargo, M. G.; Marciano, A. F.; SÁ, F. A.; Perinotto, W. M. S.; Quinelato, S.; Gôlo, P. S.; Angelo, I. C.; Prata, M. C. A.; Bittencourt, V. R. E. P. (2014). Commercial formulation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. **Veterinary Parasitology**, 205 (1–2): 271-276.

Camargo, M. G. Nogueira, M. R. S; Marciano, A. F; Perinotto, W. M. S; Coutinho-Rodrigues, C. J. B; Scott, F. B; Angelo, I. C; Prata, M. C. A; Bittencourt, V. R. E. P. (2015). *Metarhizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. **Veterinary Parasitology**, 223: 38–42.

Castro, J. J.; Newson, R. M. (1993). Host resistance in cattle tick control. **Parasitology Today**, Limerick, 9: 13-7.

Castro-Janer, E; Martins, J. R; Mendes, M. C; Namindome, A; Klafke, G. M; Schumaker, T. T. (2010). Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*) using in vitro larval bioassays. **Veterinary Parasitology**, 173 (3-4) 300–306.

Cordovés, C. O. (1997). **Carrapato: controle ou erradicação** (Vol. 1). Porto Alegre, Rio Grande do Sul: Guaíba Agropecuária.

D'Alessandro, W. B. (2012). **Potencial de fungos para combate de carrapatos vetores da febre maculosa**. [manuscrito]/ Walmirton Bezerra D'Alessandro. 141p

Dantas, A.C.S. (2017). Atividade acaricida das folhas de *Morus nigra* em carrapato *Rhipicephalus microplus*. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia** [on-line], 69(3): 523-528.

Dantas-Torres, F. M; Martins, T; Muñoz Leal, S; Onofrio, V; Barros Battesti, D. (2019). Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 10: 101252.

Del Fiol, F. S.; Junqueira, F. M.; Rocha, M. C. P.; Toledo, M. I.; Barberato Filho, S. (2010). A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, 461–467.

Duarte M.D., Peixoto P. V., Bezerra P. S., Oliveira K. D., Loretto A. P., Tokarnian C.H. (2003). [Natural and experimental poisoning by amitraz in horses and donkey: Clinical aspects.] Intoxicações natural e experimental por amitraz em eqüídeos: aspectos clínicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 23(3):105-118.

- Faza, A.P.; Pinto, I.S.B.; Fonseca, I.; Antunes, G.R.; Monteiro, C.M.O.; Daemon, E.; Muniz, M.S.; Martins, M.F.; Prata, M.C.A.; Furlong, J.A. (2013). New approach to characterization of the resistance of populations of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to organophosphate and pyrethroid in the state of Minas Gerais, Brazil. **Experimental Parasitology**, 134: 519-523.
- Fernandes, É. K. K.; Bittencourt, V. R. E. P. (2008). Entomopathogenic fungi against South American tick species. **Experimental & Applied Acarology**, 46: 71-93.
- Ferreira, L.L. (2017). **Amblyomma sculptum: Identificação de alomônio em hospedeiro resistente (*Equus asinus*) e olfatometria para candidatos a semioquímicos** [manuscrito]. 94f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ). Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia.
- Fortes, E. (2004). **Parasitologia Veterinária** 4ª ed. Rev. e ampl. - São Paulo: Icone.
- Furlong, J.; Martins, J. R. S. (2000). **Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas**. 25 f. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite (Embrapa Gado de Leite. Circular técnica, 59).
- Furlong J.; Martins J.R.S.; Prata M.C.A. (2005). **Carrapatos: problemas e soluções**. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora. 65f.
- Freitas D.R.J., Pohl P.C., Da Silva Vaz Jr. I. (2018). Caracterização da resistência para acaricidas no carrapato *Boophilus microplus*. **Acta Scientiae Veterinariae**. 33: 109-117
- Freitas, S. E. P.; Zapata, M. T.; Fernandes, F. de F. (2011). Monitoring of resistance or susceptibility of adults and larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) o synthetic acaricides in Goiás, Brazil. **Experimental Applied Acarology**, 53 (2-11): 189-202.
- George, J. E.; Pound, J. M.; Davey, R. B. (2008). **Acaricides for controlling ticks on cattle and the problem of acaricide resistance**. In: Bowman, A. S.; Nuttall, P. A. Ticks: biology, disease and control. Cambridge, UK: Cambridge. University Press. 415-416.
- Gerardi, M. (2016). **Perfil genético e susceptibilidade de diferentes populações do carrapato *Amblyomma sculptum* à infecção pelo patógeno *Rickettsia rickettsii***. 140 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Grisi L, Leite R.C, Martins J.R.D.S, Barros A.T.M.D, Andreotti I R, Cançado P.H. D, Villela H.S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 3: 150-156.

Godoi, C.R., Silva, E.F.P. (2009). **Carrapato *Boophilus microplus* e impacto na produção animal - Revisão de literatura.** PUBVET, Londrina, 3: 22, Art#606.

Gomes, A. (1998). **Controle do carrapato do boi: Um problema para quem cria raças européias**, EMBRAPA gado de corte – Campo Grande/ MS. Disponível em: <<http://www.cnpqc.embrapa.br/publicacoes/divulga/GCD31.html>> Acesso em: 03/06/2021

Gonzales, J. C. (1974). **O carrapato do boi: vida, resistência e controle.** 101 f. São Paulo: Mestre Jou.

Gonzales, J.C. (1993). **O controle do carrapato do boi.** 80 f. Porto Alegre: Editora Universidade Passo Fundo.

Guerrero, F. D.; Davey, R. B.; Miller, R. J. (2001). Use of an allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, 38(1):44-50.

Guglielmone, A.A. (1995). Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. **Veterinary Parasitology**, 57: 109-19.

Guglielmone, A.A; Petney T. N; Robbins, R. G. (2020). Ixodidae (Acari: Ixodoidea): descriptions and redescriptions of all known species from 1758 to December 31, 2019. **Zootaxa**, 4871(1):zootaxa.4871.1.1.

Guimarães, J.H.; Tucci, E.C.; Barros-Battesti, D.M. (2001). **Ectoparasitos de Importância Veterinária.** Editora Plêiade/FAPESP.

Gulias-Gomes, C. C. (2009). **O carrapato-do-boi e o manejo da resistência aos carrapaticidas.** Bagé: Embrapa Pecuária Sul. 5 f. (Embrapa Pecuária Sul. Comunicado técnico, 70). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/55777/1/C070.pdf> Acesso em: 16/06/2021.

Higa, L. O. S.; Garcia, M. V.; Barros, J. C.; Koller, W. W.; Andreotti, R. (2015). Acaricide resistance status of the *Rhipicephalus microplus* in Brazil: a literature overview. **Medicine Chemistry**. 5: 326-333.

Klafke, G. M. (2011). **Diagnóstico e mecanismos de resistência a ivermectina em *Rhipicephalus (B.) microplus* (Acari: Ixodidae).** Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 176f.

Kocan, K.M; de la Fuente, J; Guglielmone, A.A; Meléndez, R.D. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology Reviews**, 16 (4): 698-712.

Labruna M.B. (2008). Combate contra *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*, p.81-105. In: Pereira M.C., Labruna M.B., Szabó M.P.J., Klafke G.M. (Orgs). ***Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*: Biologia, Controle e Resistência**. Medvet, São Paulo.

Labruna, M. B. (2009). Ecology of *Rickettsia* in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1166: 156-166.

Labruna, M. B. (2009). **Ecology of *Rickettsia* in South America. Annals of the New York Academy of Sciences**, 1166: 156-166.

Labruna, M. B.; Kasai, N.; Ferreira, F.; Faccini, J. L. H.; Gennari, S. M. (2002). Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 105: 65-77.

Labruna M. B.; Terassini F. A.; Camargo L.M.A. (2009). Notes on population dynamics of *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) in Brazil. **Journal Parasitology**. 95 (4):1016-1018.

Li, A.Y.; Davey, R. B.; Miller, R. J.; George, J. E. (2004). Detection and characterization of amitraz resistance in the southern cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, 41(2): 193-200.

Lopes, R.B.; Alves, S.B.; Padulla, L.F.L.; Pérez, C.A. (2007). Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 16(1):27-31.

Martinez, M.L.V (2004). **Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal**.

Monteiro, S. G. (2011). **Parasitologia na medicina veterinária** (Vol. 1). São Paulo: Roca.

Muniz, N. C. (2018). **Efeito do carvacrol sobre larvas de *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) em condições seminaturais e citogenotoxicidade sobre *Brachiaria ruziziensis* R. Germain & Evrard (Poacea)**. Universidade Federal de Juiz de Fora, dissertação de mestrado, 50f.

Murrel, A.; Barker, S. C. (2003). Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, 56 (1): 169-172.

Murrel, A.; Campbell, N.J.H.; Barker, S.C. (2000). Phylogenetic analyses of *Rhipicephaline* ticks indicate that the genus *Rhipicephalus* is paraphyletic. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 16 (1): 1-7.

Murrel, A.; Campbell, N.J.H.; Barker, S.C. (2001). Total evidence phylogeny of ticks provides insights into the evolution of life cycles and biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 21(2): 244-258.

Narahashi, T.; Zhao, X.; Ikeda, T.; Nagata, K.; Yeh, J.Z. (2007). Differential actions of insecticides on target sites: basis for selective toxicity. **Human Experience Toxicologic**, 26: 361–366.

Nava, S.; Beati, L.; Labruna, M.B.; Cáceres, A. G. Mangold, A.J., Gugliemone, A.A. (2014). Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick Borne Diseases**, 5: 252-275.

Neves, E. S. (2011). **Avaliação “in vitro” da eficiência de dois imunógenos recombinantes derivados do peptídeo SBm7462® para o controle do carrapato *Rhipicephalus (B.) microplus*** (Canestrini 1887). 97f. Dissertação (Magister scientiae) Universidade Federal de Viçosa, programa de pós-graduação em medicina veterinária.

Onofrio, V. C.; Labruna, M. B.; Pinter, A.; Giacomini, F. G.; Barros-Battesti, D. M. (2006). **Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*. In Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.** São Paulo: ICTTD-3/Instituto Butantan.. 53-113.

Paixão, F. R. S. (2016) **Formulação peletizada de *Metarhizium* spp.: Produção, termotolerância e potencial no controle de *Rhipicephalus microplus*.** Dissertação. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás, 60p.

Pajuaba, A. A.; Ramos, V. N.; Martins, M. M.; Osava, C. F.; Pascoal J. O.; Suzin, A.; Yokosawa, J.; Szabó, M. P. J. (2018). Influence of microhabitat use and behavior of *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma dubitatum* nymphs (Acari: Ixodidae) on human risk for tick exposure, with notes on *Rickettsia* infection. **Ticks and Tick-borne Diseases**, 9: 67-71.

Palmer, G.H.; McElwain, T.F. (1995). Molecular basis for vaccine development against anaplasmosis and babesiosis. **Veterinary Parasitology**, 57: 153-65.

Perez, C; Almeida, A; Almeida, A; Carvalho, V; Balestrin, D; Guimarães, M; Costa, J; Ramos, L; Arruda-Santos, A; Máximo-Espíndola; Barros Battesti, D. (2008). Ticks of genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) and their relationship with hosts in endemic area for spotted fever in the State of São Paulo **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. 17(4): 210-217.

Ranson, H.; Claudianos, C.; Ortelli, F.; Abgrall, C.; Hemingway, J.; Sharakhova, M.V.; Unger, M.F.; Collins, F.H.; Feyereisen, R. (2002). Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. **Science**, 298: 179-181.

Reck, J.; Klafke, G. M.; Webster, A.; Dall'agnol, B.; Scheffer, R.; Souza, U. A.; Corassini, V. B.; Vargas, R.; Santos, J. S.; Martins, J. R. S. (2014). First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary Parasitology**, 201(1-2):128-136.

Rio Grande do Sul. (2018). Secretaria Estadual da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Acaralógica: vetores e hospedeiros da febre maculosa e outras riquetsioses no Rio Grande do Sul** / Org. André Alberto Witt – Porto Alegre CEVS/RS. 112 f.

Rodrigues, V.; Koller, W.; Garcia, M.; Barros, J.; Andreotti, R. (2019). **Carrapatos em cavalos : *Amblyomma sculptum* e *Dermacentor nitens***. Embrapa Gado de Corte.

Scott, J.A. (1995). The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. **Florida Entomologist**, 78: 399-414.

Secretaria de Vigilância em Saúde. (2021). Departamento de Vigilância Epidemiológica . Sistema de Informação de Agravos de Notificação - **SINAN**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde

Silva, C. R.; Rocha, E. F. (2004). Estudo sazonal da dinâmica populacional dos estágios parasitários de *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) na pele de hospedeiros da raça Gir. **A Hora Veterinária**, 24(142):19-22.

Silveira, W.H.; Carvalho, G.D.; Peconick, A.P. (2014). Medidas de controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*: uma breve revisão. **PUBVET**, 8 (10): 259: 1715..

Souza, L. M. ; Belo, M. A. A. ; Silva, I. C. . **Eficácia de diferentes formulações de acaricidas sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)**. Biotemas (UFSC), v. 30, p. 65-72, 2017. Biotemas. 30: 65-72

Taylor, M. A.; Hunt, K. R.; Goodyear, K. L. (2017). Anthelmintic resistance detection methods: review. **Veterinary Parasitology**, 1033: 183-194.

Taylor, M.A; Coop, R.L; Wall, R.L. (2010). **Parasitologia Veterinária**, 3ª ed, Guanabara Koogan.

Veríssimo, C.J.(2015). **Fatores que afetam a fase de vida livre de carrapatos. Controle de carrapatos nas pastagens**. 2nd ed. Nova Odessa: Instituto de Zootecnia. p. 2-17.

## **CAPÍTULO 2 – Eficácia *in vitro* e no semicampo de antiparasitários sobre larvas de *Amblyomma sculptum*: estudo comparativo a *Rhipicephalus microplus***

**Resumo** – Estudos sobre a susceptibilidade de *Amblyomma sculptum*, vetor da Febre Maculosa Brasileira (FMB), ainda são escassos e necessários para a prevenção dessa zoonose. Este estudo teve por objetivo avaliar a eficácia dos antiparasitários Butox®, Colosso®, Triatox®, Demand®, Plenoway Top®, Regent® e Vertimec® sobre larvas de *A. sculptum*, por meio do teste de pacote de larvas (TPL) e no semicampo. Testes larvicidas sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* também foram realizados a título de comparação.). Demand®, Plenoway Top® e Vertimec® também foram avaliados no teste de ecotoxicidade e de semicampo em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu para *A. sculptum*, e em *B. brizantha*, *Panicum maximum* cv. BRS Zuri e *Cynodon* cv. Tifton 85 para *Rhipicephalus microplus*. Foi feita a infestação de cada parcela com aproximadamente 49.200 larvas de *A. sculptum* ou 60.000 larvas de *R. microplus*, as quais foram recuperadas pela técnica da bandeira de flanela para determinação da eficácia. As CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> obtidas para *A. sculptum* no TPL, em mg/mL, foram: 0,00003 e 0,0024, 0,00019 e 0,0026, e 0,000069 e 0,030, 0,00046 e 0,014, 0,00005 e 0,0086, 0,00006 e 0,0081, 0,025 e 1,39, para os antiparasitários Butox®, Colosso®, Triatox®, Demand®, Plenoway Top®, Regent® e Vertimec® respectivamente. Já para *R. microplus*, em mg/mL, foram: 0,0026 e 0,02, 0,007 e 0,04, e 0,0054 e 0,095, 0,030 e 0,35, 0,035 e 0,26, 0,0015 e 0,009, e 0,040 e 0,56, respectivamente. No semicampo, Demand®, Plenoway Top® e Vertimec® apresentaram eficácia de 93,1%, 96,4% e 97,0%, respectivamente, sobre larvas de *A. sculptum* em *Brachiaria*. Para *R. microplus*, Demand® obteve eficácia de 80,8%, 95,1% e 75,2%, Plenoway Top® 87,8%, 97,9% e 88,8%, Vertimec® 40,7%, 56% e 6,2% para *Brachiaria*, Tifton e Zuri, respectivamente. As condições de macro e microclima não variaram entre gramíneas e favoreceram a sobrevivência das larvas, exceto pela ação da chuva em *A. sculptum*. Demand® e Plenoway Top® tiveram algum impacto na recuperação, crescimento e fertilidade de *Caenorhabditis elegans* no ensaio de ecotoxicidade. Os resultados indicam que o controle de larvas de *A. sculptum* a campo em áreas com risco de FMB pode ser realizado pelos três produtos avaliados, com destaque para Plenoway Top® em ambas as espécies de carrapato, pois alcançaram

elevada eficácia, porém fazem-se necessários estudos mais aprofundados sobre os impactos dos princípios ativos no ambiente, organismos e período residual.

**Palavras-chave:** Controle ambiental, Febre Maculosa Brasileira, ambiente, ação larvívica, resíduos.

## 1. Introdução

Várias espécies de carrapato são vetores de patógenos causadores de doenças em animais, incluindo os humanos. A espécie *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888), popularmente conhecida como carrapato-estrela, é o principal responsável pela transmissão da bactéria *Rickettsia rickettsii*, causadora da Febre Maculosa Brasileira – FMB em humanos no país. A presença de *A. sculptum* em locais arborizados, pelos quais há uma busca cada vez maior da população para a prática de exercícios e passeios ao ar livre, especialmente após a pandemia do COVID-19, e muitas vezes com presença dos hospedeiros de predileção, tais como cavalos e capivaras, estreita o contato entre humanos e esta espécie de carrapato (Labruna, 2009).

O controle destes ectoparasitas foi feito empiricamente por décadas, utilizando substâncias químicas sem critérios ou quaisquer orientações de uso correto, o que gerou uma pressão de seleção e o desenvolvimento da resistência parasitária à maioria das bases químicas conhecidas, dificultando ainda mais o controle (Sonenshine e Roe 2014; Araújo, 2015). Com isso, ao longo dos anos, os produtos químicos se tornam cada vez menos eficazes devido ao aparecimento de populações resistentes em todo o país (Patarroyo e Sossai, 2010). O controle de *A. sculptum* em equinos no Brasil é usualmente realizado por meio de pulverização com organofosforados, piretroides e suas associações. Inevitavelmente ocorre a seleção de populações menos susceptíveis aos mesmos, pois, além da exposição aos carrapaticidas, não é rara a ocorrência de aplicações sem intervalos estratégicos ou sem outras medidas de controle integrado, o que demonstra a falta de protocolos válidos para o controle desta espécie tão intimamente ligada aos seres humanos (Da Cunha et al., 2007; Freitas et al., 2011; Piña, 2018).

A resistência parasitária pode ocorrer de diferentes formas, tais como a redução da penetração do produto, mudanças no metabolismo e na eliminação do produto químico do organismo, alterações no local de ação dos compostos químicos e mudanças nas frequências gênicas (Furlong, 2005; Neves, 2011). Devido à importância que o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1888) possui na pecuária brasileira, esta pressão de seleção foi maior e mais intensa quando comparada a *A. sculptum*, que se mostra como um problema maior em saúde pública. O fato de *R. microplus* possuir um ciclo de vida mais curto e sem sazonalidade, conseguindo realizar até 5 gerações por ano em condições de umidade e temperatura adequadas (Vacari et al., 2013; Nicaretta 2018), enquanto *A. sculptum* realiza apenas 1 geração por ano, influencia diretamente no processo de estabelecimento de resistência (Furlong, 2005; Piña, 2018). *A. sculptum*, por sua vez, realiza apenas uma única geração por ano, sendo um incômodo frequente a criadores de equinos e muares, mas até o momento, não representa grandes riscos à pecuária bovina no país (Rodrigues et al., 2015).

Após uma certa população de carrapatos apresentar resistência à um produto antiparasitário, é provável que todas as outras substâncias daquela família também se tornem ineficazes, sendo necessária a troca das bases químicas por outros compostos de famílias totalmente distintas, a fim de frear o avanço da resistência na propriedade (Brito et al., 2006). Para o sucesso da estratégia de controle dos carrapatos, o conhecimento das bases químicas e de como elas agem no parasita é uma ferramenta indispensável (Gomes, 1998; Soares et al., 2011). Com isto, a realização dos testes para a detecção da resistência se mostra indispensável, pois somente com base nestes resultados é possível afirmar qual o perfil de susceptibilidade das cepas, proporcionando assim maior assertividade na escolha do acaricida a ser utilizado no controle e maior eficácia sobre cada população de carrapatos (Klafke, et al., 2017).

Os animais criados extensivamente e o homem estão continuamente sujeitos a infecções por agentes de doenças transmitidas por animais silvestres parasitados por ixodídeos, opondo de um lado os pecuaristas e a vigilância sanitária, e de outro os órgãos responsáveis pela conservação ambiental. A transmissão de doenças entre os animais selvagens e domésticos resulta do fato de dividirem o mesmo espaço, fontes

de alimentos e água, sendo a transmissão de zoonoses agravada pelo avanço das populações em direção ao campo e pelo turismo rural. Nesta situação, a frequência e a eficiência da aplicação de acaricidas no ambiente dependem diretamente do grau de infestação, do local e da frequência de uso das áreas pelos hospedeiros naturais, visto que os mesmos circulam livremente no ambiente. O efeito residual do carrapaticida é um fator limitante, pois o uso indiscriminado e sem medidas de segurança pode ocasionar contaminação ambiental e toxicidade, tanto para a fauna local quanto para humanos (Dantas-Torres, 2008; Araújo, 2015).

Dito isto, as aplicações de acaricidas no ambiente devem ser criteriosamente avaliadas e planejadas, visando, principalmente, o controle de carrapatos que transmitem zoonoses e sistemas de produção em situação crítica quanto à presença dos mesmos, buscando minimizar ao máximo os impactos ambientais. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a eficácia de sete bases químicas comerciais, utilizadas no controle de carrapatos e de pragas agrícolas em todo Brasil, sobre larvas de *A. sculptum* em laboratório e em diferentes gramíneas (semicampo). Como *R. microplus* coexiste com *A. sculptum* nos animais da mesma área experimental, testes larvicidas sobre *R. microplus* também foram realizados a título de comparação.

## **2. Material e Métodos**

Os experimentos aqui executados foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso de Animais em Experimentos da Embrapa Pecuária Sudeste - CPPSE (CEUA CPPSE) (Processo nº. 01/2019).

### **2.1. Obtenção dos carrapatos**

Os exemplares de *A. sculptum* e *R. microplus* foram obtidos por meio de coleta de teleóginas nos bovinos leiteiros e em equinos de trabalho das raças Árabe e Crioulo da Embrapa Pecuária Sudeste, em São Carlos, SP. O padrão de resistência da cepa de *R. microplus* do CPPSE, monitorado anualmente, identificou sensibilidade aos produtos Ciclorfós®, Cyperclor Plus Pulverização® e Máximo Pulverização® (cipermetrina/clorpirifós/butóxido de piperonila), Colosso FC 30® (clorpirifós/cipermetrina/fenthion), Flytion EC 50® (cipermetrina/clorpirifós), Supokill (a

base de Supona), Ectobat 80® (diclorvós/clorpirifós) e Colosso Pulverização® (cipermetrina/clorpirifós/citronelal), que demonstraram eficácia acima de 90%. Foi constatada resistência apenas ao produto Triatox® (amitraz). Os testes de biocarrapaticidograma foram realizados na Embrapa Gado de Leite, em Juiz de Fora – MG. A cepa de *A. sculptum* não foi caracterizada.

Para a manutenção e multiplicação de *A. sculptum* e *R. microplus*, as teleóginas coletadas foram levadas para o Laboratório de Parasitologia Veterinária do CPPSE, onde foram lavadas e selecionadas de acordo com tamanho, viabilidade e espécie. Após a seleção estas teleóginas foram alojadas em placas de Petri por espécie e acondicionadas em estufa (27°C; ±UR 80%). Após o término da postura, as massas de ovos foram então colocadas em seringas plásticas adaptadas (1 g de ovos). As seringas foram vedadas com algodão e acondicionadas em estufa para a eclosão das larvas. Cada 1 g de ovos corresponde a 20.000 larvas de *R. microplus* (Drummond et al., 1973) e a cerca de 16.400 ovos de *A. sculptum* (Prata e Daemon, 1997).

Para a multiplicação de *R. microplus* foram realizadas infestações artificiais com larvas de uma seringa em cada hospedeiro bovino (holandês puro ou ¾ Holandês/Jersey). Os animais foram mantidos em pastagem extensiva próxima à área de preservação permanente, onde havia circulação de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Estas espalhavam estágios imaturos de *A. sculptum* na pastagem, que infestavam naturalmente os bovinos. A saúde dos bovinos era acompanhada mensalmente para monitoramento da ocorrência de anemia, babesiose e anaplasmoses, bem como machucados ou miíases, ocorrendo intervenção com tratamento sempre que necessário. As coletas diárias manuais das teleóginas eram realizadas de 19 a 23 dias após a infestação dos animais.

## 2.2 Formulações avaliadas sobre *A. sculptum* e *R. microplus*

As formulações parasitocidas comerciais foram escolhidas de modo que englobassem os princípios ativos mais comumente utilizados ou indicados para o controle de ixodídeos. As formulações avaliadas foram Deltametrina (Butox®, MSD Saúde Animal) da concentração 0,6mg/mL a 0,0002 mg/mL, Cipermetrina+Clorpirifós+Citronelal (Colosso® Pulverização, Ouro Fino Saúde Animal)

da concentração 5 mg/mL a 0,0025 mg/mL + 15 mg/mL a 0,0035 mg/mL, e Amitraz (Triatox<sup>®</sup>, MSD Saúde Animal) da concentração 10 mg/mL a 0,001 mg/mL. Lambda-Cialotrina (Demand<sup>®</sup> 10CS, Syngenta) da concentração 125 mg/mL a 0,02 mg/mL, Thiametoxam (Plenoway Top<sup>®</sup> SC, Quimiway Ltda) da concentração 50 mg/mL a 0,006 mg/mL, Fipronil (Regent<sup>®</sup> 800WD, Basf) da concentração 5 mg/mL a 0,0006 mg/mL e Abamectina (Vertimec<sup>®</sup> 1,8% EC) da concentração 800 mg/mL a 0,1 mg/mL (Tabela 1).

**Tabela 1:** Informações sobre os antiparasitários utilizados no estudo da eficácia *in vitro* e no semicampo de antiparasitários sobre larvas de *Amblyomma sculptum*: estudo comparativo a *Ripicephalus microplus*.

| Nome comercial                       | Fabricante             | Princípio ativo                             | Concentrações (mg/mL)        |
|--------------------------------------|------------------------|---------------------------------------------|------------------------------|
| Butox <sup>®</sup>                   | MSD Saúde Animal       | Deltametrina                                | 0,6 a 0,0002                 |
| Colosso <sup>®</sup><br>Pulverização | Ouro Fino Saúde Animal | Cipermetrina+<br>Clorpirifós<br>+Citronelal | 5 a 0,0025 +<br>15 a 0,0035* |
| Triatox <sup>®</sup>                 | MSD Saúde Animal       | Amitraz                                     | 10 a 0,001                   |
| Demand <sup>®</sup> 10CS             | Syngenta               | Lambda-Cialotrina                           | 125 a 0,02                   |
| Plenoway Top <sup>®</sup> SC         | Quimiway Ltda          | Thiametoxam                                 | 50 a 0,006                   |
| Regent <sup>®</sup> 800WD            | Basf                   | Fipronil                                    | 5 a 0,0006                   |
| Vertimec <sup>®</sup> 1,8% EC        | Syngenta               | Abamectina                                  | 800 a 0,1                    |

\*Concentração da Cipermetrina + Clorpirifós.

### 2.3. Teste de pacote de larvas (TPL) sobre *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus*

Para a definição das menores doses eficazes contra larvas de ixodídeos *in vitro*, foram realizados Testes de Pacote de Larvas (TPL), utilizando o método de diluição seriada, a fim de detectar a menor dose de cada produto que proporcionasse 100% de mortalidade das larvas em laboratório. Aproximadamente 100 larvas de 14 a 21 dias de vida foram colocadas entre papéis de filtro impregnados pelos antiparasitários, que foram inseridos em um envelope também de papel de filtro e vedado (FAO, 1971).

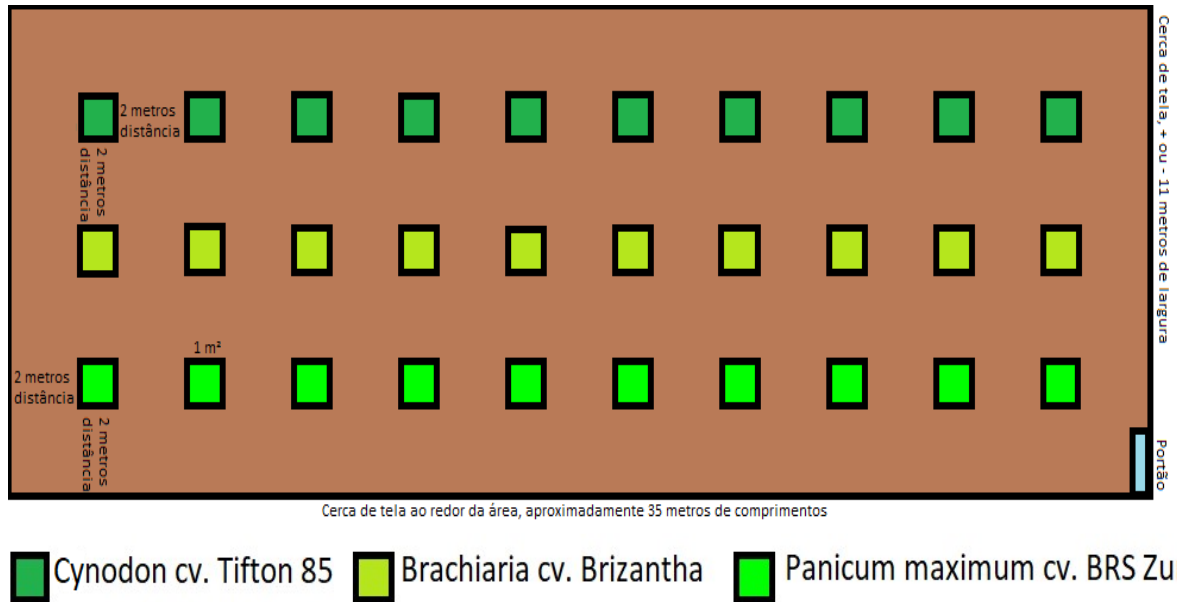
Para a definição das concentrações foi utilizado método de diluição seriada, a fim de se obter de 0 a 100% de eficácia para cada produto. Os envelopes ficaram em estufa ( $\pm 27^{\circ}\text{C}$ ,  $\pm \text{UR } 80\%$ ) e as contagens foram feitas após 24 horas, contando-se larvas vivas e mortas com o auxílio de bomba vácuo contendo mangueira com ponteira acoplada na extremidade. Todos os testes foram realizados em triplicata, incluindo o controle negativo constituído de água destilada. Os testes foram repetidos em pelo menos três ocasiões diferentes, com diferentes populações de carrapato, para cálculos estatísticos mais fidedignos. Os mesmos procedimentos foram realizados para as duas espécies de carrapatos, que foram avaliadas separadamente.

#### **2.4. Teste de semicampo com *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus***

Para avaliação da ação larvívora das formulações selecionadas no TPL sobre *R. microplus*, foram formadas um total de 36 parcelas medindo um metro quadrado (esquema adaptado de Basso et al., 2005), de três capins forrageiros (*Brachiaria* cv. Brizantha, *Panicum* cv. Zuri e *Cynodon* cv. Tifton 85). A distância entre as parcelas e a distribuição destas na área destinada ao ensaio experimental foi definida de acordo com a necessidade de manejo das forrageiras, a fim de facilitar o manuseio, a manutenção e as recuperações de larvas do ambiente, evitando assim a migração de larvas entre parcelas. Para isso, priorizou-se a distância entre parcelas de 2 m, para que quando as gramíneas crescessem, o corredor ao redor das parcelas ficasse livre para a circulação e manuseio. As parcelas foram estruturadas em três fileiras (uma para cada gramínea), contendo 12 canteiros cada (Fig. 1). O entorno da área destinada à formação das parcelas foi cercado com tela para evitar a entrada de animais e humanos.

A área do experimento foi previamente preparada com arado e grade niveladora; depois as parcelas foram demarcadas com estacas de madeira para início do plantio. O plantio das gramíneas foi realizado em fevereiro de 2020, durante a estação chuvosa, quando as cultivares BRS Zuri e *Brachiaria Brizantha* cv. Marandú foram plantadas por semeadura, utilizando o espaçamento de 20 cm por linha, totalizando cinco linhas de plantio dentro de cada parcela e a semeadura foi realizada nos sulcos com adubação 20-0-20 (NPK). O Tifton 85 foi plantado por plantio direto

de mudas, utilizando cerca de cinco mudas por parcela e adubo 20-0-20 (NPK). Após as gramíneas estabelecidas, foi mantido o manejo de capina e/ou aplicação de herbicida nos corredores e o corte/desbaste das laterais das parcelas a fim de evitar a migração de larvas e facilitar a circulação da equipe nas coletas.



**Figura 1:** Croqui exemplificando a distribuição das gramíneas e metragem da área do experimento de semicampo na Embrapa Pecuária Sudeste.

As figuras 2, 3 e 4 representam a demarcação das parcelas com estacas de madeira, as gramíneas já plantadas e a área do experimento cercada, e o manejo de capina dos corredores, respectivamente.



**Figura 2:** Demarcação das parcelas com estacas de madeira. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.



**Figura 3:** Manejo de capina dos corredores entre as parcelas. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.



**Figura 4:** Gramíneas em crescimento e o entorno da área cercada com tela de mangueiro. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.

Três parcelas de cada capim forrageiro foram destinadas ao controle negativo (sem tratamento). Devido à restrição na quantidade de larvas de *A. sculptum*, *B. Brizantha* cv Marandú foi escolhida para representar o gênero *Brachiaria*, visto que é a espécie forrageira de maior importância no Brasil. A quantidade de larvas utilizadas nos ensaios de semicampo foi padronizada visando garantir que as parcelas tivessem quantidade de larvas suficientes até a última das três coletas previstas no ensaio. Cada parcela foi contaminada experimentalmente com aproximadamente 60 mil larvas de *R. microplus* ou com 49,2 mil larvas de *A. sculptum*, em ambos os casos equivalente a 3 g de ovos, com taxa de eclosão acima de 85%. As larvas tinham aproximadamente 30 dias de vida e foram mantidas em estufa sem fotoperíodo, no escuro, a fim de evitar a diapausa em *A. sculptum*. A infestação das parcelas foi feita pouco antes dos capins atingirem a altura recomendada de pastejo (50 cm para BRS Zuri, 40 cm para *B. brizantha* cv. Marandu e 20 cm para Tifton 85), visando o alcance dessa altura nos dias das coletas das larvas.

Os experimentos foram feitos com cada espécie de carrapato separadamente, em períodos distintos, com espaçamento entre experimentos superior à 90 dias, a fim de se evitar infestação simultânea com as duas espécies de carrapato. Como medida

de descontaminação, foi feita a roçada das gramíneas até a altura de 20 cm para *Panicum* e *Brachiaria*, e de 10 cm para *Cynodon*, retirada dos resíduos pós roçada, e passagem de pano branco de algodão para verificar a presença de larvas remanescentes (Sonenshine, 1996).

As formulações a base de Lambda-Cialotrina (Demand® 10CS, indicado para o controle de *A. sculptum* no ambiente), Thiametoxam (Plenoway Top® SC, controle de escorpiões e insetos), e Abamectina (Vertimec® 1,8% EC, contra pragas em lavouras), foram avaliadas nas concentrações 0,125 mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,4 mg/mL, respectivamente. Tais concentrações foram as que causaram 100% de mortalidade das larvas de ambas as espécies de carrapato no TPL. Além de boa eficácia no TPL, as formulações também foram selecionadas por serem produtos para indicação pra uso no campo para aracnídeos.

Para a definição do volume de calda necessário para a aplicação em cada uma das espécies de capins, foram realizados testes prévios de vasão cronometrada das bombas costais elétricas utilizadas durante o experimento (Fig. 5). A vasão da bomba foi calculada realizando uma simulação de aplicação com água, em potência máxima, em três das parcelas de um m<sup>2</sup> de cada capim, em tempo cronometrado, de modo que avaliássemos o tempo necessário para que as parcelas ficassem molhadas por completo. Após a realização dos testes obteve-se os tempos de 10" (segundos) para Tifton 85, 15" para *Brachiaria* cv Marandú e 20" para BRS Zuri. Após a definição do tempo de aplicação, foi validado o volume aplicado dentro deste tempo, utilizando-se uma proveta de vidro graduada e um cronômetro nos tempos pré-estabelecidos para umidificar toda a parcela teste. Os volumes obtidos foram de 300 mL para Tifton 85, 450 mL para *Brachiaria* cv. Marandú e 600 mL para BRS Zuri, sendo estes respectivos volumes suficientes para molhar toda a superfície das três forrageiras em 1 m<sup>2</sup> de área (Fig. 5). Com base nestes volumes foram calculadas e preparadas as diluições dos produtos a serem testados no ensaio de semicampo.



**Figura 5:** Pulverização cronometrada das parcelas utilizando bomba costal elétrica. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.

A infestação das parcelas com as larvas ocorreu em torno das 7h do dia considerado D1. As larvas foram liberadas abrindo-se as seringas vedadas com algodão e espalhando-as na base das gramíneas. As parcelas foram pulverizadas em torno das 17h do D3 (prazo estimado para a subida das larvas até a extremidade das gramíneas, Furlong et al., 2002). Cada produto foi aplicado em 3 parcelas diferentes de cada espécie de gramínea.

A recuperação das larvas nas parcelas foi realizada nos dias D4, D7 e D10 do experimento, utilizando-se um pano branco (tipo flanela de algodão) de 80 x 80 cm para captura das larvas em cada parcela, este pano era fixado com fita crepe em uma haste de bambu de, aproximadamente, 1,5 metros, a fim de facilitar a passagem do mesmo sobre a extremidade do capim de modo a evitar que as larvas subissem nos membros da equipe de coleta (Fig. 6).



**Figura 6:** Coleta das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* na extremidade do capim utilizando flanela branca. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.

Os tecidos foram então colocados em sacos plásticos transparentes de 70 x 50 cm, identificados com o número de cada parcela, e então levados ao laboratório para congelamento em freezer (-20°C) e posterior contagem das larvas. Após o congelamento e morte das larvas, os sacos plásticos contendo os panos foram abertos sobre uma bancada branca, a fim de facilitar a visualização e separação das larvas, bem como a remoção de resíduos de vegetação, fragmentos de solo e outros insetos que eventualmente se aderiam ao pano no momento da coleta. A contagem das larvas de *A. sculptum* e *R. microplus* foi feita manualmente utilizando bomba a vácuo com uma ponteira com filtro acoplada para a sucção individual das larvas e contagem com auxílio de contadores manuais (Fig. 7).



**Figura 7:** Contagem manual das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* utilizando bomba a vácuo. Fonte: Gustavo Avelar Sousa.

## 2.5. Coleta dos dados climáticos

Os dados climáticos foram acompanhados em nível de macroclima e microclima. Os dados do macroclima foram obtidos através da estação meteorológica da Embrapa Pecuária Sudeste com as respectivas coordenadas: Latitude: 21°57'42"(S) Longitude: 47°50'28"(W) Altitude: 860m [21°57'42" S, 47°50'28" W, 860m]. Estas informações ficam disponíveis através do site da estação. Com base nos relatórios eram feitas médias semanais de temperatura média, temperatura máxima, temperatura mínima, umidade relativa (UR, %), precipitação (mm<sup>3</sup>), vento (m/s), radiação solar (MJ.m<sup>-2</sup>) e evapotranspiração (Eto/mm).

As informações sobre o microclima foram obtidas a partir de sensores higrômetros da marca Prezzi<sup>®</sup>, modelo TDR 100, que foram instalados dentro das nas parcelas dos três tipos de forrageiras, ao nível do solo. Foram utilizados um total de oito sensores, sendo dois para cada grupo experimental. Estes captavam informações sobre a temperatura e a umidade do solo (expressa em cm<sup>3</sup> de água/cm<sup>3</sup> de solo).

Também foram feitas médias semanais para cada uma das variáveis, dentro dos períodos de cada um dos dois experimentos (verão 2021/2022).

## **2.6. Avaliação da ecotoxicidade das formulações com *Caenorhabditis elegans***

Alguns dos produtos avaliados podem ter característica off label, ou seja, ter seu potencial acaricida avaliado para o controle de ectoparasitos que não constavam em sua bula, ou, pelo menos, não para controle ambiental, com isso, foi proposto nesse trabalho uma avaliação de impacto ambiental in vitro utilizando-se a mortalidade de *Caenorhabditis elegans* como modelo experimental.

### **Teste de toxicidade aguda**

Testes de toxicidade com *C. elegans* são usados para avaliar a toxicidade de amostras aquosas, sedimentares e de solo utilizando parâmetros de toxicidade, alterações de crescimento e de reprodução. Para tal, indivíduos adultos de *C. elegans* foram sincronizados 24h antes da realização do ensaio. As larvas de *C. elegans* com 24h de vida foram então suspensas em meio EPA previamente autoclavado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0,348 mM;  $\text{MgSO}_4$  0,498 mM;  $\text{NaHCO}_3$  1,143 mM; KCl 0,054 mM). Em cada placa teste foram adicionados pelo menos 10 organismos, sendo registrado o número inicial por placa. As placas foram incubadas a 20°C no escuro e o número de indivíduos vivos após a exposição aos produtos Demand® e Plenoway Top® em cada placa foi avaliado após 24h. Testes com o Vertimec® ainda serão executados. Os valores obtidos foram usados como norteadores para das concentrações empregadas no ensaio crônico.

### **Teste de toxicidade crônica**

Os ensaios foram conduzidos em placas descartáveis de poliestireno com 24 poços com capacidade de aproximadamente 2,5 mL cada. Em cada poço foram colocados pelo menos 10 indivíduos J2, além de suspensão nutritiva de *E. coli* OP50-1 em meio EPA e a suspensão *C. elegans* em todos os poços. Em seguida, foram adicionados 500 µL das diferentes soluções testes de Demand e Plenoway e colocado

apenas o meio de crescimento nos poços de controle, preparando quatro poços por concentração dada, totalizando no mínimo 40 organismos por concentração-teste. A exposição foi realizada num período de 96h a  $20 \pm 1$  °C, no escuro. Após 96 h de exposição, foi adicionado 0,5 mL da solução de Rosa Bengala (300 mg/L) em cada poço. A seguir, as placas com tampa foram aquecidas em uma estufa de secagem durante 10 minutos a 80°C para finalizar o teste.

O uso da solução de Rosa Bengala e aquecimento foram usados para facilitar a mensuração e coloração dos organismos. As amostras foram armazenadas em  $8 \pm 2$  °C graus até o respectivo processamento em até oito semanas. Os seguintes parâmetros foram avaliados (ISSO, 2010):

Recuperação: Após 96 h, o número de indivíduos adultos em cada poço foi contado e foi calculada a recuperação através da divisão do número de adultos pelo número de organismos introduzidos no início do teste e multiplicado por 100. A recuperação deve estar entre 80 a 120%.

Fertilidade: Foi determinada a presença de um ou mais ovos no interior do corpo de cada indivíduo exposto com o auxílio de um microscópio no aumento de 25 vezes. Foi calculada a porcentagem de fertilidade dividindo-se o número de organismos testes com ovos em relação ao número total de organismos recuperados multiplicado por 100. A fertilidade deve ser maior que 80%.

Crescimento: O comprimento do corpo dos indivíduos adultos expostos foi medido em uma lâmina de microscópio com escavação sob câmera Optika 4083B3 acoplada a estereomicroscópio. Para tanto, foi usada uma escala de medida com aumento de 6 vezes com auxílio do software Optika View. O comprimento médio do corpo foi calculado para cada réplica avaliada da diferença do comprimento do corpo médio medido ao final e o comprimento médio do corpo de 30 indivíduos J2 no início do teste.

## **2.7. Análises estatísticas**

Os resultados dos testes laboratoriais com as larvas de carrapato e as formulações foram submetidos ao procedimento Probit utilizando o *software* MedCalc para determinação das concentrações letais CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub>. Os dados obtidos na avaliação do efeito acaricida e nos ensaios de ecotoxicidade foram analisados estatisticamente por meio da análise de variância (ANOVA), seguida pelo pós-teste

de Tukey ( $p < 0,05$ ) utilizando o *software* GraphPad Prism (GraphPad Software, São Diego, CA, EUA).

Os dados dos experimentos de semicampo foram submetidos a uma análise de variância pelo Procedimento Mixed do SAS (SAS, 2016), considerando nos modelos os efeitos de Tratamento, Dia e a interação TRAT\*DIA, seguindo uma estrutura de split-plot com medidas repetidas no tempo (DIA). Na seleção da melhor estrutura da matriz de variância e covariância adotou-se o critério de informação AIC (Smaller is Better - Akaike's Information Criterion). Para comparação múltipla de médias usou-se teste de Tukey (adjust Tukey), ao nível de significância de 5%. Como o número de lavas de carrapato é um dado de contagem, foram usadas as transformações  $\log(x+1)$  e  $\text{raiz}(x)$  na busca da normalidade dos dados e a homogeneidade de variâncias.

### 3. Resultados

#### 3.1. Teste de pacote de larvas (TPL)

Os resultados obtidos para cada produto no TPL foram, em sua maioria, dose-dependentes, com a mortalidade das larvas diminuindo de acordo com o decréscimo das concentrações. Estas foram diminuídas ou aumentadas de forma a se obter de 0% a 100% de mortalidade e cálculo mais preciso das concentrações letais. Estes dados podem ser visualizados nas Tabelas de 2 a 8. Não ocorreu mortalidade nos grupos controle negativo, composto por água, em todos os testes avaliados (0%).

O Butox<sup>®</sup> causou 100% de mortalidade de larvas de *A. sculptum* a 0,0006 mg/mL, bem abaixo da dose de bula que consiste em 0,002 mg/mL, enquanto o mesmo efeito foi obtido para *R. microplus* a 0,0125 mg/mL, ou seja, com uma dose 20 vezes maior do que a dose que obtivemos para *A. sculptum*, e 12 vezes acima da dose de bula recomendada para *R. microplus* (Tabela 2). Para o Colosso<sup>®</sup>, 100% de mortalidade foi obtida para *A. sculptum* a 0,025 mg/mL, ou seja, nossa dosagem foi 5 vezes menor que a dosagem recomendada na bula, enquanto que para *R. microplus* a dosagem que obtivemos foi o dobro da obtida para *A. sculptum* (0,05 mg/mL), porém ainda ficando abaixo da dosagem de bula (Tabela 3). O Triatox<sup>®</sup> obteve eficácia de

100% sobre *A. sculptum* na dose de 0,0025 mg/mL, que é a mesma dose da bula, mas não foi capaz de causar 100% de mortalidade em *R. microplus* (Tabela 4). Demand<sup>®</sup> obteve eficácia de 100% com uma dosagem 16 vezes menor do que a recomendação de bula, sendo eficaz a 0,00781 mg/mL sobre *A. sculptum* e na dose recomendada pelo fabricante, de 0,125 mg/mL, sobre *R. microplus* (Tabela 5). Plenoway Top<sup>®</sup> obteve eficácia de 100% a 0,012 mg/mL sobre *A. sculptum* e a 0,50 mg/mL sobre *R. microplus*, aproximadamente 46 vezes maior que a dose para *A. sculptum* (Tabela 6). Regent<sup>®</sup> foi 100% eficaz sobre *A. sculptum* a 0,0025 mg/mL e sobre *R. microplus* a 0,010 mg/mL, dose 4 vezes maior (Tabela 7). Vertimec<sup>®</sup> alcançou eficácia de 100% sobre *A. sculptum* a 0,4 mg/mL e sobre *R. microplus* a 0,5 mg/mL (Tabela 8). As concentrações mínimas que causaram 100% de mortalidade em ambas as espécies de carrapato podem ser visualizadas na Tabela 9.

**Tabela 2:** Porcentagem média de mortalidade das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) de Deltametrina (Butox<sup>®</sup>) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i> | Concentrações | <i>R. microplus</i> |
|---------------|--------------------|---------------|---------------------|
| 0,0006        | 100 <sub>a</sub>   | 0,05          | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,0003        | 78,3 <sub>a</sub>  | 0,025         | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,00015       | 81,4 <sub>a</sub>  | 0,0125        | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,00008       | 73,5 <sub>a</sub>  | 0,0062        | 92,7 <sub>a</sub>   |
| 0,00004       | 47,7 <sub>b</sub>  | 0,0031        | 48,7 <sub>b</sub>   |
| 0,00002       | 59,6 <sub>b</sub>  | 0,0015        | 16,2 <sub>c</sub>   |
| 0,00001       | 31,8 <sub>b</sub>  | 0,00078       | 9,3 <sub>d</sub>    |
| 0,000005      | 18,2 <sub>c</sub>  | 0,00039       | 7,7 <sub>d</sub>    |
| 0,000002      | 2,7 <sub>d</sub>   | 0,00019       | 0,3 <sub>d</sub>    |
| 0,000001      | 0 <sub>e</sub>     | 0,00009       | 0 <sub>bd</sub>     |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Tabela 3:** Porcentagem média de mortalidade das larvas ( $\pm$ erro padrão) de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) da associação Cipermetrina+Clorpirifós+Citronelal (Colosso®) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i>             | <i>R. microplus</i>            |
|---------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 0,05          | 100 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub>   | 100 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub>   |
| 0,025         | 100 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub>   | 88,08 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub> |
| 0,0125        | 97,49 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub> | 86,91 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub> |
| 0,0062        | 81,82 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub> | 41,03 $\pm$ 6,71 <sub>bB</sub> |
| 0,0031        | 72,61 $\pm$ 6,71 <sub>aA</sub> | 9,48 $\pm$ 6,71 <sub>bcB</sub> |
| 0,0016        | 34,92 $\pm$ 6,71 <sub>bA</sub> | 0 $\pm$ 6,71 <sub>cB</sub>     |
| 0,0008        | 14,03 <sub>c</sub>             | -                              |
| 0,0004        | 17,01 <sub>c</sub>             | -                              |
| 0,0002        | 0 <sub>d</sub>                 | -                              |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações e letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística entre espécies de carrapato ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Tabela 4:** Porcentagem média de mortalidade das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Amitraz (Triatox®) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i> | Concentrações | <i>R. microplus</i> |
|---------------|--------------------|---------------|---------------------|
| 0,005         | 100 <sub>a</sub>   | 0,05          | 95,95 <sub>a</sub>  |
| 0,0025        | 100 <sub>a</sub>   | 0,025         | 84,26 <sub>a</sub>  |
| 0,00125       | 92,69 <sub>a</sub> | 0,0125        | 85,89 <sub>a</sub>  |
| 0,0006        | 82,62 <sub>a</sub> | 0,006         | 58,94 <sub>b</sub>  |
| 0,0003        | 67,11 <sub>b</sub> | 0,003         | 24,61 <sub>b</sub>  |
| 0,00015       | 36,62 <sub>b</sub> | 0,0015        | 12,66 <sub>c</sub>  |
| 0,00007       | 26,99 <sub>b</sub> | 0,0007        | 4,96 <sub>c</sub>   |
| 0,00004       | 3,70 <sub>c</sub>  | 0,0004        | 5,84 <sub>c</sub>   |
| 0,00002       | 3,21 <sub>c</sub>  | 0,0002        | 0 <sub>c</sub>      |
| 0,00001       | 2,78 <sub>c</sub>  | -             | -                   |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Tabela 5:** Porcentagem média de mortalidade das larvas ( $\pm$ erro padrão) de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) de Lambda-Cialotrina (Demand®) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i>            | <i>R. microplus</i>           |
|---------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 0,125         | 100 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub>   | 100 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub>   |
| 0,0625        | 100 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub>   | 82,92 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub> |
| 0,03125       | 100 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub>   | 63,11 $\pm$ 6,6 <sub>bB</sub> |
| 0,01563       | 100 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub>   | 16,27 <sub>cB</sub>           |
| 0,00781       | 100 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub>   | 13,65 $\pm$ 6,6 <sub>cB</sub> |
| 0,00391       | 94,85 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub> | 10,73 $\pm$ 6,6 <sub>cB</sub> |
| 0,00195       | 87,55 $\pm$ 6,6 <sub>aA</sub> | 0 $\pm$ 6,6 <sub>cB</sub>     |
| 0,00098       | 66,71 <sub>b</sub>            | -                             |
| 0,00049       | 41,95 <sub>b</sub>            | -                             |
| 0,00024       | 23,63 <sub>c</sub>            | -                             |
| 0,00012       | 26,21 <sub>c</sub>            | -                             |
| 0,00006       | 8,18 <sub>d</sub>             | -                             |
| 0,00003       | 6,96 <sub>d</sub>             | -                             |
| 0,000015      | 0 <sub>d</sub>                | -                             |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações e letras maiúsculas diferentes na mesma linha significam diferença estatística entre espécies de carrapato ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Tabela 6:** Porcentagem média de mortalidade das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Thiametoxam (Plenoway Top®) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i> | Concentrações | <i>R. microplus</i> |
|---------------|--------------------|---------------|---------------------|
| 0,012         | 100 <sub>a</sub>   | 0,50          | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,006         | 98,33 <sub>a</sub> | 0,25          | 96,86 <sub>a</sub>  |
| 0,003         | 91,54 <sub>a</sub> | 0,125         | 91,54 <sub>a</sub>  |
| 0,0015        | 99,62 <sub>a</sub> | 0,0625        | 72,62 <sub>b</sub>  |
| 0,00078       | 89,65 <sub>a</sub> | 0,0313        | 67,14 <sub>b</sub>  |
| 0,00039       | 77,75 <sub>b</sub> | 0,0156        | 9,63 <sub>c</sub>   |
| 0,00019       | 61,57 <sub>b</sub> | 0,0078        | 5,13 <sub>c</sub>   |
| 0,000097      | 64,47 <sub>b</sub> | 0,0039        | 0,00 <sub>c</sub>   |
| 0,0000048     | 38,60 <sub>c</sub> | -             | -                   |
| 0,0000012     | 22,62 <sub>c</sub> | -             | -                   |
| 0,0000003     | 19,22 <sub>c</sub> | -             | -                   |
| 0,00000015    | 0 <sub>d</sub>     | -             | -                   |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Tabela 7:** Porcentagem média de mortalidade das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) do Fipronil (Regent®) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i> | Concentrações | <i>R. microplus</i> |
|---------------|--------------------|---------------|---------------------|
| 0,005         | 100 <sub>a</sub>   | 0,01000       | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,0025        | 100 <sub>a</sub>   | 0,00500       | 88,08 <sub>a</sub>  |
| 0,0003        | 87,25 <sub>a</sub> | 0,00250       | 86,91 <sub>a</sub>  |
| 0,00015       | 76,47 <sub>a</sub> | 0,00125       | 41,03 <sub>b</sub>  |
| 0,000003      | 38,95 <sub>b</sub> | 0,00063       | 9,48 <sub>c</sub>   |
| 0,0000009     | 27,65 <sub>b</sub> | 0,00031       | 0,00 <sub>c</sub>   |
| 0,0000004     | 6,13 <sub>c</sub>  | -             | -                   |
| 0,0000002     | 0 <sub>c</sub>     | -             | -                   |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

**Tabela 8:** Porcentagem média de mortalidade das larvas de *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* submetidas a diferentes concentrações (mg/mL) da Abamectina (Vertimec®) no teste de pacote de larvas.

| Concentrações | <i>A. sculptum</i> | Concentrações | <i>R. microplus</i> |
|---------------|--------------------|---------------|---------------------|
| 0,8           | 100 <sub>a</sub>   | 1             | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,4           | 100 <sub>a</sub>   | 0,5           | 100 <sub>a</sub>    |
| 0,2           | 79,50 <sub>a</sub> | 0,25          | 98,46 <sub>a</sub>  |
| 0,1           | 79,69 <sub>a</sub> | 0,125         | 74,32 <sub>b</sub>  |
| 0,05          | 71,54 <sub>a</sub> | 0,06          | 67,17 <sub>b</sub>  |
| 0,025         | 40,83 <sub>b</sub> | 0,03          | 38,54 <sub>c</sub>  |
| 0,0125        | 29,83 <sub>b</sub> | 0,015         | 28,30 <sub>c</sub>  |
| 0,006         | 15,85 <sub>b</sub> | 0,0078        | 1,43 <sub>d</sub>   |
| 0,003         | 37,34 <sub>b</sub> | 0,0039        | 1,75 <sub>d</sub>   |
| 0,0015        | 0 <sub>c</sub>     | 0,0019        | 0 <sub>d</sub>      |

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna significam diferença estatística entre concentrações ( $p < 0,05$ ) pelo Teste de Tukey.

Os resultados supracitados foram então utilizados para as estimativas das concentrações letais. Butox® foi o mais eficaz sobre *A. sculptum*, atingindo as menores CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> (0,000033 e 0,0024 mg/mL, respectivamente), enquanto Regent® foi o

mais eficaz sobre *R. microplus* (0,0015 e 0,0093 mg/mL, respectivamente). Vertimec® foi o menos eficaz, demandando maiores concentrações para atingir as CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub>, em ambas as espécies de carrapato (0,03 e 1,40 mg/mL para *A. sculptum*, 0,04 e 0,56 mg/mL para *R. microplus*, respectivamente). As CL<sub>50</sub> e CL<sub>99</sub> de cada um dos produtos avaliados podem ser visualizadas comparativamente na Tabela 9.

**Tabela 9:** Estimativa das concentrações letais 50% (CL<sub>50</sub>) e 99% (CL<sub>99</sub>) (mg/mL) e menores concentrações ([ ], mg/mL) nas quais obteve-se 100% de eficácia sobre *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus*, para as bases químicas avaliadas no teste de pacote de larvas.

| Produto       | <i>A. sculptum</i> |                  | <i>R. microplus</i> |                  | [ ] <i>A. Sculptum</i> | [ ] <i>R. microplus</i> |
|---------------|--------------------|------------------|---------------------|------------------|------------------------|-------------------------|
|               | CL <sub>50</sub>   | CL <sub>99</sub> | CL <sub>50</sub>    | CL <sub>99</sub> |                        |                         |
| Butox®        | 0,000033           | 0,0024           | 0,0026              | 0,0202           | 0,0006                 | 0,0125                  |
| Colosso®      | 0,00019            | 0,0027           | 0,0076              | 0,047            | 0,0025                 | 0,05                    |
| Triatox®      | 0,00007            | 0,031            | 0,0054              | 0,096            | 0,0025                 | 0,10                    |
| Demand®       | 0,00046            | 0,0143           | 0,030               | 0,36             | 0,007                  | 0,125                   |
| Plenoway Top® | 0,000059           | 0,0087           | 0,035               | 0,27             | 0,0125                 | 0,5                     |
| Regent®       | 0,00006            | 0,008            | 0,0015              | 0,0093           | 0,0025                 | 0,01                    |
| Vertimec®     | 0,03               | 1,40             | 0,04                | 0,56             | 0,4                    | 0,5                     |

### 3.2. Testes de semicampo

Na Tabela 10 podem ser visualizadas as médias por dia de coleta e a média geral do número de larvas de *A. sculptum* recuperadas em *Brachiaria* durante o experimento, além disso, observa-se a eficácia de cada um dos três tratamentos, calculada em relação ao grupo controle (água). Pode-se observar que as menores médias nas três coletas foram obtidas com Vertimec®, que alcançou uma eficácia de 97%, ao contrário do que foi observado em *R. microplus*. Os três produtos avaliados sobre *A. sculptum* demonstraram eficácias muito próximas, sem diferença estatística entre si na média geral, em comparativo ao grupo controle. Já para *R. microplus*, as menores médias de larvas recuperadas nas gramíneas foram obtidas com Plenoway Top®, que alcançou a eficácia de 89,9% em *Brachiaria*, 97,9% em Tifton 85 e 88,8% no BRS Zuri, respectivamente. Para as mesmas gramíneas, Demand® obteve eficácia de 80,8%, 95,1% e 75,2%. Vertimec® obteve as maiores médias de contagem de larvas

em relação aos três produtos avaliados, apresentando eficácia de 40,7% em *Brachiaria*, 56% em Tifton 85 e apenas 6,2% em BRS Zuri. As médias do número de larvas recuperadas em cada gramínea foram estatisticamente diferentes entre Vertimec® e os demais produtos em *Brachiaria* e Tifton 85, e diferentes entre si no Zuri.

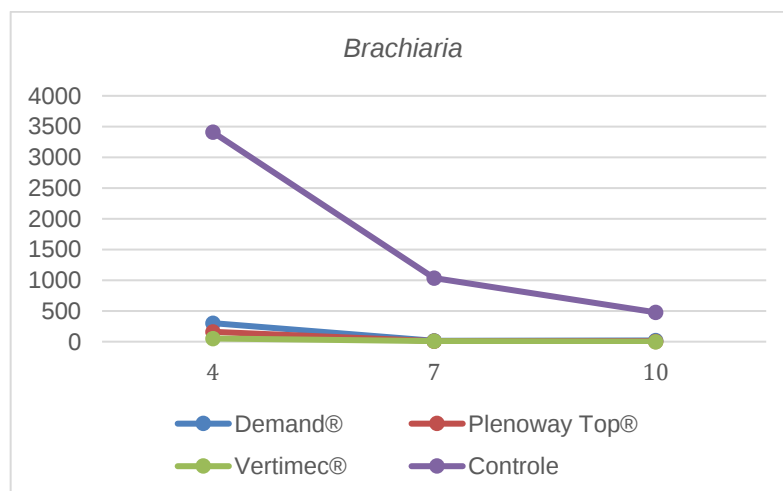
**Tabela 10:** Médias de contagem de larvas, médias das três coletas e erro padrão (E.P.) de larvas de *Amblyomma sculptum* coletadas nos dias D4, D7 e D10 em *Brachiaria* e de *Rhipicephalus microplus* em *Brachiaria*, Tifton e Zuri, submetidas à pulverização com os produtos Demand®, Plenoway Top® e Vertimec®, e eficácia (E%) dos tratamentos em relação ao controle.

| <i>Amblyomma sculptum</i>      |                          |                         |                        |                           |      |
|--------------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|------|
| <i>Brachiaria</i>              | D4                       | D7                      | D10                    | Média                     | E(%) |
| Demand®                        | 302±225 <sub>aB</sub>    | 15±22 <sub>aB</sub>     | 19±31 <sub>aB</sub>    | 112±91 <sub>B</sub>       | 93,1 |
| Plenoway Top®                  | 161±225 <sub>aB</sub>    | 7±22 <sub>aB</sub>      | 7±31 <sub>aB</sub>     | 58±91 <sub>B</sub>        | 96,4 |
| Vertimec®                      | 53±225 <sub>aB</sub>     | 9±22 <sub>aB</sub>      | 0±31 <sub>aB</sub>     | 21±91 <sub>B</sub>        | 97,0 |
| Controle                       | 3410±225 <sub>aA</sub>   | 1038±22 <sub>bA</sub>   | 478±31 <sub>cA</sub>   | 1642±91 <sub>A</sub>      |      |
| <i>Rhipicephalus microplus</i> |                          |                         |                        |                           |      |
| <i>Brachiaria</i>              | D4                       | D7                      | D10                    | Média                     | E(%) |
| Demand®                        | 4207±1791 <sub>aAB</sub> | 99±511 <sub>bB</sub>    | 74±448 <sub>bC</sub>   | 1460±644 <sub>C</sub>     | 80,8 |
| Plenoway Top®                  | 2120±1791 <sub>aB</sub>  | 150±511 <sub>aB</sub>   | 52±448 <sub>aC</sub>   | 774±644 <sub>C</sub>      | 89,8 |
| Vertimec®                      | 9293±1791 <sub>aA</sub>  | 2520±511 <sub>bA</sub>  | 1720±448 <sub>bB</sub> | 4511±644 <sub>B</sub>     | 40,7 |
| Controle                       | 13973±1791 <sub>aA</sub> | 4067±511 <sub>bA</sub>  | 4793±448 <sub>bA</sub> | 7611±644 <sub>A</sub>     |      |
| <i>Tifton 85</i>               | D4                       | D7                      | D10                    | Média                     | E(%) |
| Demand®                        | 936±3113 <sub>aB</sub>   | 353±313 <sub>aB</sub>   | 351±367 <sub>aB</sub>  | 546,4±1233 <sub>C</sub>   | 95,1 |
| Plenoway Top®                  | 544±3113 <sub>aB</sub>   | 86±313 <sub>aB</sub>    | 60±367 <sub>aB</sub>   | 230,1±1233 <sub>C</sub>   | 97,9 |
| Vertimec®                      | 14240±3113 <sub>aA</sub> | 307±313 <sub>bB</sub>   | 75±367 <sub>cB</sub>   | 4874,2±1233 <sub>B</sub>  | 56,0 |
| Controle                       | 25880±3113 <sub>aA</sub> | 3533±313 <sub>bA</sub>  | 3800±367 <sub>bA</sub> | 11071,0±1233 <sub>A</sub> |      |
| <i>Zuri</i>                    | D4                       | D7                      | D10                    | Média                     | E(%) |
| Demand®                        | 1027±844 <sub>aB</sub>   | 731±311 <sub>aBC</sub>  | 167±131 <sub>bCB</sub> | 641±291 <sub>B</sub>      | 75,2 |
| Plenoway Top®                  | 662±844 <sub>aB</sub>    | 187±311 <sub>bD</sub>   | 19±131 <sub>cD</sub>   | 289±291 <sub>C</sub>      | 88,8 |
| Vertimec®                      | 6360±844 <sub>aA</sub>   | 1467±311 <sub>bAB</sub> | 427±131 <sub>cAB</sub> | 2751±291 <sub>A</sub>     | 6,2  |
| Controle                       | 4053±844 <sub>aA</sub>   | 2511±311 <sub>abA</sub> | 1206±131 <sub>bA</sub> | 2590±291 <sub>A</sub>     |      |

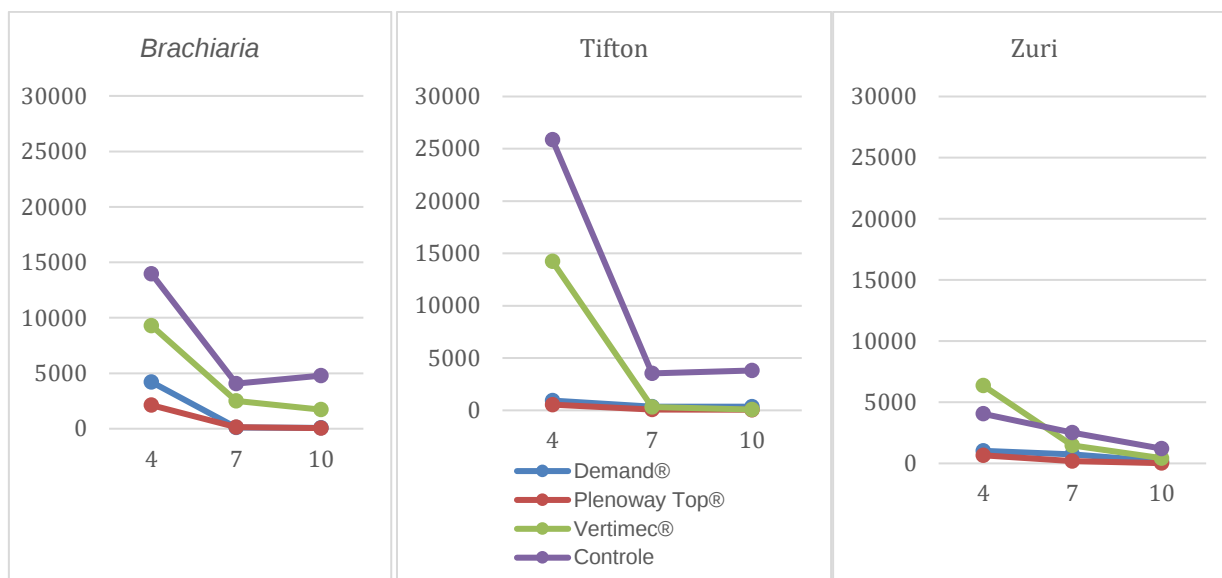
Letras minúsculas distintas na linha (mesmo produto), e maiúsculas na coluna (mesma gramínea), correspondem a diferença significativa entre médias pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Controle composto de água.

Na Figura 8 podem ser observadas as curvas decrescentes da quantidade de larvas de *A. sculptum* coletadas em *Brachiaria* nos três tratamentos e no grupo controle. Pode-se observar que o número de larvas recuperadas, do D4 ao D10, foi bem menor em relação ao grupo controle (Fig. 9), e relativamente semelhante entre

os três produtos. Já para *R. microplus* utilizou-se a mesma escala no eixo Y a título comparativo. Fica bem clara a diferença entre os três tratamentos na primeira coleta, onde Plenoway Top® obteve maior eficácia expressa pelos menores números de larvas, seguido pelo Demand®. Estatisticamente ambos apresentaram perfis de eficácia semelhante. O número de larvas coletadas de *R. microplus* reduz em relação ao tempo, sendo que o grupo controle foi o que apresentou o maior número de larvas, em todas as gramíneas. Vertimec® apresentou a menor eficácia, com curva de contagem de larvas pouco menor que o grupo controle em Tifton e *Brachiaria*, e mais alta do que o controle em BRS Zuri na avaliação do D4, porém caindo abaixo da contagem do grupo controle a partir do D7. Nesse comparativo observa-se que Tifton teve a maior quantidade de larvas, excedendo 25.000 indivíduos no D4 do experimento. *Brachiaria* apresentou perfil mediano de contagem de larvas em comparação às outras gramíneas avaliadas, apresentando pico de aproximadamente 15.000 indivíduos. Zuri foi a que apresentou as menores contagens de larvas, pouco mais de 5000 indivíduos no D4.



**Figura 8:** Curva das médias de larvas de *Amblyomma sculptum* das três coletas (dias 4, 7 e 10) realizadas em *Brachiaria* cv. Marandú, submetida à pulverização com os produtos Demand®, Plenoway Top®, Vertimec® e controle água.



**Figura 9:** Curvas das médias de larvas de *Ripicephalus microplus* das três coletas (dias 4, 7 e 10) realizadas nas gramíneas *Brachiaria* cv. Marandú, BRS Zuri e Tifton 85, submetidas à pulverização com os produtos Demand®, Plenoway Top®, Vertimec® e controle água.

### 3.3. Dados climáticos

Os dados climáticos obtidos em ambos os experimentos com as duas espécies de carrapatos indicaram condições de umidade e temperatura estáveis, e em níveis favoráveis à sobrevivência dos ixodídeos, tanto no macroclima quanto no microclima (Tabelas 11 e 12). A temperatura média durante os experimentos girou em torno dos 22°C e umidade relativa entre 70% e 80%, condições estas consideradas próximas ao ótimo para a sobrevivência dos carrapatos, evidenciando assim a coerência dos resultados obtidos e a confiabilidade dos dados que não sofreram interferências climáticas ao longo dos experimentos. Também pode-se observar, em ambas as tabelas, que os dados climáticos foram bem semelhantes entre as espécies de gramíneas e de carrapatos.

**Tabela 11:** Informações sobre os dados de macroclima durante o período experimental do semicampo com *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* (verão 2021/2022): temperatura média, máxima e mínima (TMed, TMax, TMín - °C), umidade relativa (UR, %), precipitação (mm<sup>3</sup>), vento (m/s), radiação solar (MJ.m<sup>-2</sup>) e evapotranspiração (Eto/mm).

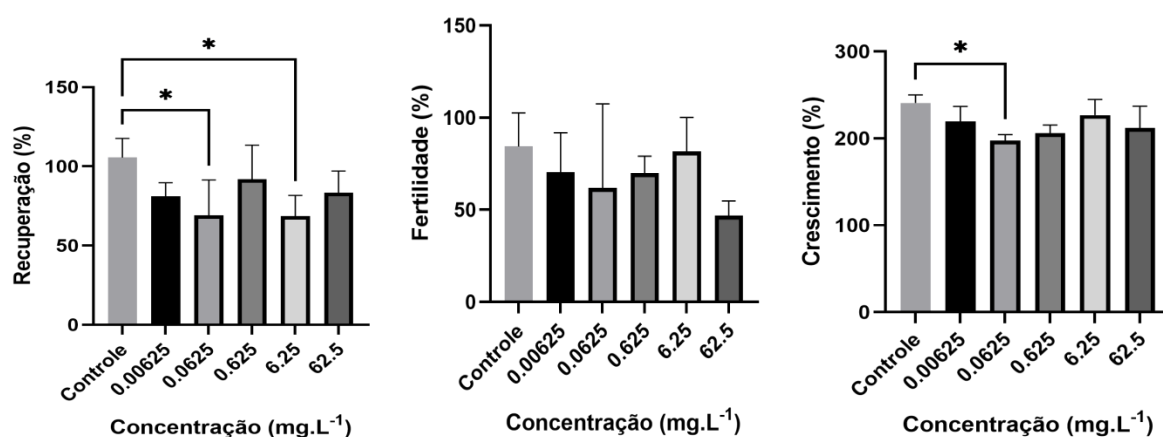
| Semana                               | TMed        | TMax        | TMín        | UR          | chuva      | vento      | radiação    | evap       |
|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|
| <b><i>Amblyomma sculptum</i></b>     |             |             |             |             |            |            |             |            |
| 1                                    | 23,4        | 29,4        | 18,7        | 78,9        | 1,0        | 1,4        | 20,7        | 4,0        |
| 2                                    | 22,2        | 28,4        | 17,8        | 82,7        | 11,3       | 2,5        | 18,6        | 3,2        |
| <b>Médias</b>                        | <b>22,8</b> | <b>28,9</b> | <b>18,2</b> | <b>80,8</b> | <b>6,1</b> | <b>1,9</b> | <b>19,6</b> | <b>3,6</b> |
| <b><i>Ripicephalus microplus</i></b> |             |             |             |             |            |            |             |            |
| 1                                    | 21,3        | 30,8        | 14,1        | 77,0        | 3,9        | 3,5        | 25,3        | 4,2        |
| 2                                    | 22,8        | 31,3        | 13,6        | 68,5        | 7,3        | 2,1        | 24,0        | 4,3        |
| <b>Médias</b>                        | <b>22,0</b> | <b>31,0</b> | <b>13,9</b> | <b>72,8</b> | <b>5,6</b> | <b>2,8</b> | <b>24,6</b> | <b>4,2</b> |

**Tabela 12:** Dados referentes ao microclima das parcelas de forrageiras, próximo ao solo, durante o período experimental do semicampo com *Amblyomma sculptum* e *Ripicephalus microplus* (verão 2021/2022): temperatura do solo (C°) e umidade do solo (cm<sup>3</sup> de água/cm<sup>3</sup> de solo).

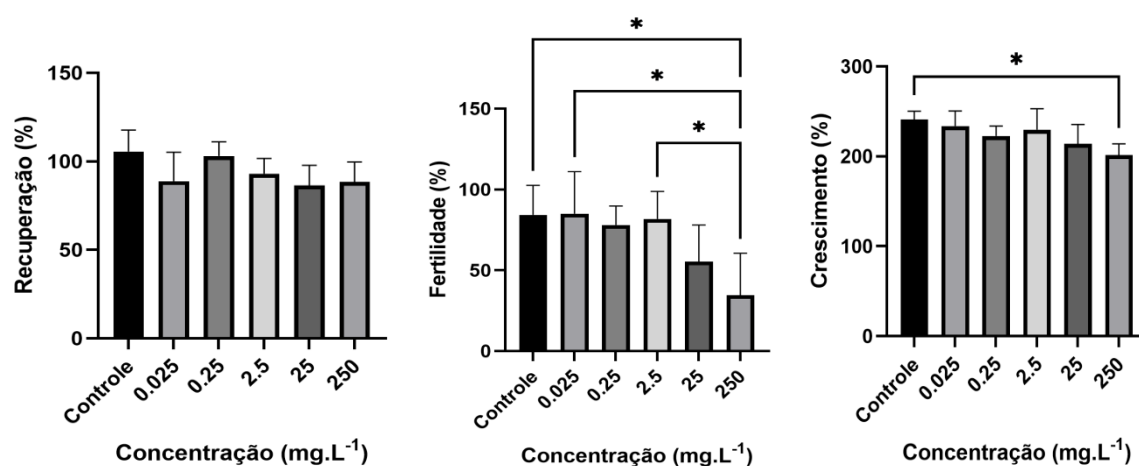
| Semana                               | Temperatura solo |             |                   | Umidade solo |            |                   |
|--------------------------------------|------------------|-------------|-------------------|--------------|------------|-------------------|
|                                      | Zuri             | Tyfton      | <i>Brachiaria</i> | Zuri         | Tyfton     | <i>Brachiaria</i> |
| <b><i>Amblyomma sculptum</i></b>     |                  |             |                   |              |            |                   |
| 1                                    |                  |             | 20,7              |              |            | 0,225             |
| 2                                    |                  |             | 20,1              |              |            | 0,279             |
| <b>Médias</b>                        |                  |             | <b>20,4</b>       |              |            | <b>0,252</b>      |
| <b><i>Ripicephalus microplus</i></b> |                  |             |                   |              |            |                   |
| 1                                    | 19,1             | 19,1        | 19,1              | 0,265        | 0,284      | 0,285             |
| 2                                    | 20,3             | 20,3        | 20,3              | 0,249        | 0,208      | 0,232             |
| <b>Médias</b>                        | <b>19,7</b>      | <b>19,7</b> | <b>19,7</b>       | <b>0,3</b>   | <b>0,2</b> | <b>0,3</b>        |

### 3.4. Teste de toxicidade com *Caenorhabditis elegans*

Os resultados obtidos nos ensaios podem ser visualizados nas Figuras 10 e 11. Observou-se que, em relação ao controle, que o Demand® não reduziu a fertilidade de *C. elegans*, mas que ocorreu algum impacto na recuperação e no crescimento na maioria das concentrações avaliadas. Para o Plenoway Top® não houve impacto na recuperação, mas diferenças estatísticas foram observadas, especialmente nas maiores concentrações, para a fertilidade e para o crescimento de *C. elegans*.



**Figura 10:** Recuperação, fertilidade e crescimento de *Caenorhabditis elegans* mediante diferentes concentrações do Demand® no Teste de ecotoxicidade crônica. Asterisco = diferença estatística.



**Figura 11:** Recuperação, fertilidade e crescimento de *Caenorhabditis elegans* mediante diferentes concentrações do Plenoway Top® no Teste de ecotoxicidade crônica. Asterisco = diferença estatística.

#### 4. Discussão

Na região Sudeste do Brasil as capivaras vivem tanto em áreas rurais quanto em áreas urbanas, em estreito contato com animais domésticos e com o homem. Elas são muito suscetíveis às infestações por carrapatos, tendo já relatos da presença de várias espécies do gênero *Amblyomma* e das espécies *Dermacentor nitens* e *R. microplus*, sendo o último o principal ectoparasita de bovinos (Nogueira e Cruz, 2007; Krawczak et al, 2014). No Brasil, as espécies de carrapatos de maior importância na

transmissão da FMB são *A. sculptum*, *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) e *Amblyomma ovale* (Koch, 1844). *A. sculptum* é encontrado em abundância na região Sudeste e Centro Oeste, mas também na Bahia, Paraná e Santa Catarina, já *A. aureolatum* está presente em regiões de planalto específicas de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais e Região Sul do Brasil (Oliveira, 2004). Apesar da importância da FMB em termos de saúde pública e possibilidades de óbito, observa-se que estudos de acaricidas que sejam eficazes sobre *A. sculptum* são relativamente escassos, bem como produtos comerciais para seu controle.

Os resultados do presente estudo indicaram eficácia sobre larvas *in vitro* superior a 90% sobre *A. sculptum* para Butox® a partir de 0,0006 mg/mL, Colosso® a partir de 0,0125 mg/mL, Triatox® a partir de 0,0012 mg/mL, Demand® a partir de 0,0039 mg/mL, Plenoway Top® a partir de 0,0015 mg/mL, Regent® a partir de 0,0025 mg/mL e Vertimec® a partir de 0,4 mg/mL, não havendo diferença estatística entre as concentrações superiores às mesmas. Já para *R. microplus*, os resultados foram a partir de 0,006 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,01 mg/mL e 0,25 mg/mL respectivamente. Portanto, de uma maneira geral, observa-se que *A. sculptum* se mostrou mais susceptível às diferentes classes químicas, em relação a *R. microplus*, demandando doses menores para alcançar 100% de mortalidade das larvas. Isto pode ser explicado pela hipótese de que as populações de *A. sculptum* presentes na área experimental não sofreram alta pressão de seleção por tratamentos acaricidas, ocorrendo o oposto com a espécie *R. microplus* presentes nos bovinos. Apenas uma pequena parte desta população de *A. sculptum* se encontrava nos bovinos e a maior parte era mantida nos bandos de capivaras, que acessavam esporadicamente os bovinos. Também o fato de que *A. sculptum* só consegue completar um único ciclo de vida por ano impacta diretamente no grau de susceptibilidade do parasita aos antiparasitários, pois o processo de estabelecimento da resistência ao longo das gerações demora mais, comparativamente a *R. microplus*, que consegue completar até cinco gerações em um único ano.

Bittencourt et al. (1989) observaram que a flumetrina obteve eficácia *in vitro* sobre larvas de *A. sculptum* (citado como *A. cajennense*) apresentando CL<sub>50</sub> = 0,85 µg/mL e CL<sub>90</sub> = 2,7 µg/mL. A deltametrina atingiu as CL<sub>50</sub> = 2,2 µg/mL e CL<sub>90</sub> = 6,2 µg/mL, alfametrina CL<sub>50</sub> = 2,4 µg/mL e CL<sub>90</sub> = 23 µg/mL, e fenvalerato CL<sub>50</sub> = 7,5

$\mu\text{g/mL}$  e  $\text{CL}_{90} = 80 \mu\text{g/mL}$ . As  $\text{CL}_{50}$  e  $\text{CL}_{90}$  obtidas para Deltametrina no presente estudo foram menores do que as de Bittencourt et al. (1989) e menores ainda do que a dosagem da bula. Isso pode ser explicado pelo estágio de vida dos carrapatos avaliados, pois as larvas são mais sensíveis ao contato com os antiparasitários, justificando as menores doses eficazes obtidas em ambos estudos. Isto implica que, para o sucesso do tratamento a campo de outros estágios de vida de *A. sculptum*, sejam necessários ajustes na concentração, pois as formas adultas apresentam menor susceptibilidade aos princípios ativos

Freitas et al. (2011), também em experimento *in vitro* sobre larvas de *A. sculptum* (citado como *A. cajennense*), obtiveram para a deltametrina  $\text{CL}_{50} = 0,03 \mu\text{g/mL}$  e  $\text{CL}_{90} = 0,2 \mu\text{g/mL}$ , permetrina com as  $\text{CL}_{50} = 0,06 \mu\text{g/mL}$  e  $\text{CL}_{90} = 1,15 \mu\text{g/mL}$ , a associação de cipermetrina + butóxido de piperonila com  $\text{CL}_{50} = 0,017 \mu\text{g/mL}$  e  $\text{CL}_{90} = 0,81 \mu\text{g/mL}$  e o amitraz com  $\text{CL}_{50} = 0,003 \mu\text{g/mL}$  e  $\text{CL}_{90} = 3,6 \mu\text{g/mL}$ . Em comparação com o presente estudo, as CLs obtidas para a deltametrina foram semelhantes e, para a associação de cipermetrina + butóxido de piperonila, a  $\text{CL}_{50}$  foi menor e a  $\text{CL}_{90}$  foi maior do que as obtidas por Freitas et al. (2011). Também fica evidente que ambas as CLs obtidas para amitraz ficaram abaixo das obtidas por Freitas et al. (2011).

Borges et al. (2021) observaram que o grupo dos piretroides causou mortalidade de 100% das larvas de *A. sculptum* a  $0,625 \mu\text{g/mL}$ ,  $5 \mu\text{g/mL}$  e  $20 \mu\text{g/mL}$ , para flumetrina, deltametrina e cipermetrina respectivamente. Clorpirifos, coumafos e fipronil causaram 100% de mortalidade das larvas a  $500 \mu\text{g/mL}$ ,  $75 \mu\text{g/mL}$  e  $60 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente. A ivermectina alcançou 100% de eficácia apenas na maior concentração de  $5500 \mu\text{g/mL}$ . As doses eficazes contra 100% das larvas de *A. sculptum* no presente estudo foram maiores do que as obtidas por Borges et al. (2021) para a deltametrina e a cipermetrina, enquanto as doses obtidas para fipronil e abamectina foram menores.

Alonso-Díaz et al. (2013), fizeram estudos *in vitro* a fim de determinar o grau de susceptibilidade de cepas de *Amblyomma mixtum* (Koch, 1844), no México frente à acaricidas sintéticos, onde puderam observar altas taxas de resistência a organofosforados e ao amitraz, e salientam a importância da realização de estudos

*in vitro* para o monitoramento da resistência deste parasita e possíveis medidas de controle.

Demand® e Plenoway Top® no semicampo sobre *R. microplus* indicaram diminuição das populações de carrapatos presentes no ambiente com uma única aplicação dos produtos, ambos demonstrando eficácia acima de 75% em todas as gramíneas avaliadas. O número de larvas mostrou-se decrescente ao passar dos dias, conforme foi observado no D7 e D10, o que sugere que um protocolo de aplicações mais espaçadas, com intervalos de aplicação de acordo com o ciclo e presença do parasita nos animais, possa suprimir o número das populações de vida livre do carrapato a níveis bem baixos, diminuindo o uso de carrapaticidas nos animais domésticos e possivelmente reduzindo os custos e gastos gerados pelo controle deste parasita.

Brites-Neto et al (2017) avaliaram o produto Tenopa® (3% alfa-cipermetrina + 3% flufenoxuron) no controle das populações de *A. sculptum* e *Amblyomma dubitatum* (Neumann, 1899), em uma área de ocorrência de FMB na cidade de Americana, SP. Foram avaliados os graus de infestação das áreas por meio de armadilhas de CO<sub>2</sub> nos dias 0, 22, 43 e 62 após a aplicação do tratamento. A aplicação em 200 m<sup>2</sup> foi realizada com pulverizador motorizado, na dosagem de 80 mL do produto diluído em 10 L de água. Os autores observaram reduções nos níveis de infestação do estágio adulto nos dias 22 (33%), 43 (87%) e 62 (70%) e nos estágios imaturos de larvas e ninfas nos dias 22 (54%), 43 (87%) e 62 (97%), em relação ao dia 0 e aos níveis de infestação na área controle. Este estudo demonstrou o potencial de redução significativa de populações de carrapatos em ambiente de campo. O efeito persistiu dois meses após uma única aplicação, indicando diminuição de risco de ocorrência da FMB na área. O intuito e os resultados obtidos no presente trabalho vão de encontro aos resultados obtidos por Brites-Neto et al. (2017), visto que as altas taxas de letalidade nos casos de FMB são preocupantes, e faz-se extremamente necessária a validação de protocolos e produtos a serem empregados no controle de *A. sculptum* em áreas antropizadas.

Embora as condições de microclima não tenham variado entre as espécies de gramíneas utilizadas no presente estudo, observaram-se algumas diferenças na contagem de larvas em relação às médias. Tifton 85, que apresenta porte rasteiro,

menor porte (cerca de 20 a 25 cm no experimento) e folhas e colmos curtos, possibilitou maior acesso e adesão das larvas ao pano durante a coleta, pois é uma planta que se multiplica por estolões. Resultados intermediários foram obtidos na *Brachiaria*, onde o tipo de crescimento e estrutura da planta (aproximadamente 40 cm no experimento), com folhas e colmos medianos, proporcionou maior superfície para a dispersão das larvas, sendo coletadas apenas as larvas presentes no terço superior da gramínea. Zuri apresentou as menores contagens de larvas, fato este que pode ser explicado pelo maior porte (cerca de 70 a 75 cm no experimento), o que aumenta a dispersão das larvas pelas folhas e caules dificultando o acesso às mesmas durante a coleta. Essas características também favoreceram a sobrevivência das larvas, promovendo maior proteção ao parasita. Acredita-se que o grande volume de chuva ocorrida na segunda semana do experimento com *A. sculptum* justifique o menor número de larvas recuperadas, em relação a *R. microplus*. Os dados referentes ao microclima de cada forrageira mantiveram padrões muito próximos entre si, favorecendo as condições de sobrevivência das larvas pelos níveis de temperatura e umidade do solo terem se mantido próximos às condições ótimas para a sobrevivência dos ixodídeos.

Plenoway Top® foi o produto mais eficaz sobre *R. microplus*, cujo grupo químico essa espécie de ixodídeos ainda não havia sido exposta. Por outro lado, Vertimec®, que havia sido o menos eficaz sobre *R. microplus*, apresentou a maior eficácia sobre *A. sculptum*. Além disso, como essa espécie quase não é exposta aos acaricidas na área experimental, se mostrou susceptível ao Demand® e Plenoway Top®. Estas observações podem direcionar os protocolos de aplicações, bem como sugerir manejos das pastagens para obtenção de melhores resultados no controle do carrapato.

Em relação ao ensaio de ecotoxicidade, Demand® teve algum impacto na recuperação e no crescimento de *C. elegans*, ocorrendo o mesmo para o Plenoway Top® em relação à fertilidade e ao crescimento. Bradford et al. (2020) quando estudaram o efeito de um inseticida a base de Imidacloprida, pertencente à família dos neonicotinóides, também verificaram alterações no crescimento e fertilidade de *C. elegans*, provavelmente devido ao estresse oxidativo nos organismos expostos. Os dados aqui obtidos sinalizam que, apesar do Demand® e Plenoway Top® serem

eficazes no controle de carrapatos *A. sculptum* e *R. microplus* no ambiente, são necessários mais estudos que verifiquem o impacto da utilização desses compostos químicos na fauna edáfica, bem como a definição de doses que sejam eficazes para o controle de carrapatos e ao mesmo tempo seguras aos organismos não-alvos.

Estudos que visem conhecer o fluxo das doenças nas populações de animais silvestres e, assim, estabelecer métodos de controle nos animais domésticos, ou em ambos, são essenciais (Bengis et al., 2002), assim como promover o controle parasitário no ambiente (local onde se encontra o maior número de formas imaturas dos carrapatos) são abordagens complementares, mas de fundamental importância para o controle estratégico de parasitas e de doenças transmitidas por carrapatos, conceito básico para o planejamento sanitário de rebanhos e de abordagens fundamentadas no conceito de Saúde Única.

## 5. Conclusão

Os resultados obtidos para cada produto no TPL foram dose-dependentes, demonstrando maior susceptibilidade de *A. sculptum* aos diferentes grupos químicos, com destaque para o Butox<sup>®</sup> e Regent<sup>®</sup>. No semicampo, as contagens médias de larvas de *A. sculptum* foram semelhantes para Demand<sup>®</sup>, Plenoway Top<sup>®</sup> e Vertimec<sup>®</sup>, todos com eficácia elevadas, enquanto que para *R. microplus*, Plenoway Top<sup>®</sup> se destacou nas três forrageiras avaliadas. As condições de macro e microclima pouco influenciaram na sobrevivência das larvas, visto que o experimento de semicampo é de curto período, exceto pela ação da chuva sobre *A. sculptum*. Os resultados indicam que o controle de larvas de *A. sculptum* a campo em áreas com risco de FMB pode ser realizado pelos três produtos avaliados, destacando-se Plenoway Top<sup>®</sup> pela ação concomitante sobre *R. microplus*. Apesar de terem alcançado elevada eficácia, fazem-se necessários mais estudos sobre os impactos dos princípios ativos no ambiente, organismos e período residual. A disponibilização de novos antiparasitários para uso no ambiente pode ser um ferramenta adjuvante na prevenção e mitigação dos riscos da FMB para a população e trabalhadores rurais em regiões de ocorrência da doença. Desta forma, os conhecimentos gerados no presente estudo, associados à epidemiologia de todos os agentes envolvidos, podem

contribuir para a elaboração de estratégias de controle de *A. sculptum*, visto que as alternativas ainda são limitadas.

## 6. Referências

Almeida, L.R de, Bittencourt. V. R. E. P. (2013). **Manejo de Parasitoses em Sistema Orgânico de Produção de Leite**, Arquivo Instituto Biológico, São Paulo. 80(1): 129-134.

Alonso-Díaz M. A.; Fernández-Salas A.; Martínez-Ibáñez F.; Osorio-Miranda J. (2013). *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) populações de carrapatos suscetíveis ou resistentes a acaricidas nos trópicos mexicanos. **Veterinary Parasitology**, 197 (1-2): 326-331.

Angelo I.C., Diniz-Neto H.C., Santos S.V., Perinotto W.M.S., Quinelato S., Santos H.A. Gôlo P.S., Camargo M.G., Marciano A.F. Bittencourt V.R.E.P. (2015). Formulações oleosas contendo fungos artropodopatogênicos para o controle de *Rhipicephalus microplus*. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 37: 18-24.

Araújo, L.X.; Novato, T.P.L.; Zeringota, V.; Matos, R.S.; Senra, T.O.S.; Maturano, R.; Prata, M.C.A.; Daemon, E.; Monteiro, C.M.O. (2015). Acaricidal activity of thymol against larvae of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) under semi-natural conditions. **Parasitology Research**, 114: 3271–3276.

Bahiense, T.C.; Fernandes, E.K.K.; Angelo, I.C.; Perinotto, W.M.S.; Bittencourt, V.R.E.P. (2007). Avaliação do potencial de controle biológico do *Metarhizium anisopliae* sobre *Boophilus microplus* em teste de estábulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 16 (4): 243-245.

Basso, L.M.D., Monteiro, A.C., Belo, M.A.D., Soares, V.E., Garcia, M.V., Mochi, D.A. (2005). Control of *Boophilus microplus* larvae by *Metarhizium anisopliae* in artificially infested pastures. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 40: 595–600.

Borges D.A.; Cid Y.P.; Avelar B.R.; Ferreira T.P.; Campos D.R.; Santos G.C.M.(2020). Atividade acaricida in vitro de diferentes classes de ectoparasitocidas contra larvas de *Amblyomma sculptum*. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, 29 (3): e003020.

Bradford, B.R., Whidden, E., Gervasio, E.D., Checchi, P.M., Raley-Susman, K.M. (2020). Neonicotinoid-containing insecticide disruption of growth, locomotion, and fertility in *Caenorhabditis elegans*. **Plos One**, 15(9), e0238637.

Brites-Neto, J., Brasil, J., Andrade, J., Saqui, G.L. (2017). Evaluation of an association of alpha-cypermethrin and flufenoxuron for tick control in an area at risk of Brazilian spotted fever. **Veterinary Parasitology**, 238, 1-4.

Brito, L. G.; Netto, F. G. S.; Oliveira, M. C. S.; Barbieri, F. S. (2006). **Bio-ecologia, importância médico veterinária e controle do carrapato, com ênfase no carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus***, EMBRAPA Rondônia – Porto Velho/ RO.

Camargo, M. G. Nogueira, M. R. S; Marciano, A. F; Perinotto, W. M. S; Coutinho-Rodrigues, C. J. B; Scott, F. B; Angelo, I. C; Prata, M. C. A; Bittencourt, V. R. E. P. (2015). *Metharizium anisopliae* for controlling *Rhipicephalus microplus* ticks under field conditions. **Veterinary Parasitology**, 223: 38–42.

Camargo, M. G.; Marciano, A. F.; SÁ, F. A.; Perinotto, W. M. S.; Quinelato, S.; Gôlo, P. S.; Angelo, I. C.; Prata, M. C. A.; Bittencourt, V. R. E. P. (2014). Commercial formulation of *Metarhizium anisopliae* for the control of *Rhipicephalus microplus* in a pen study. **Veterinary Parasitology**, 205 (1–2): 271-276.

Da Cunha, A. P.; Bello, A. C. P. de P.; Leite, R. C.; Bastianetto, E.; Ribeiro, A. C. C. L.; de Freitas, C. M. V.; Oliveira, P. R. (2007). Controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em eqüinos, Minas Gerais, Brasil - Parte I; **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 16 (4): 221-228.

D'Alessandro, W. B. (2012). **Potencial de fungos para combate de carrapatos vetores da febre maculosa**. [manuscrito]/ Walmirton Bezerra D'Alessandro. 141p

Del Fiol, F. S.; Junqueira, F. M; Rocha, M. C. P.; Toledo, M. I.; Barberato-Filho, S. A. (2010). A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, 27: 461-466.

Drummond, R.O., Ernest, S.E., Trevino, J.L., Gladney, W.J., Graham, O. H. (1973). *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. **Journal Economic Entomologic**, 66: 130–133.

FAO. (1971). Recommended method for the detection and measurement of resistance of agricultural pests to pesticides: tentative methods for larvae of cattle tick *Boophilus* spp. Plant **Protection Bulletin**, 19: 15–18.

Fernandes, É. K. K.; Bittencourt, V. R. E. P. (2008). Entomopathogenic fungi against South American tick species. **Experimental & Applied Acarology**, 46: 71-93.

Freitas, S. E. P.; Zapata, M. T.; Fernandes, F. de F. (2011). Monitoring of resistance or susceptibility of adults and larvae of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) o synthetic acaricides in Goiás, Brazil. **Experimental Applied Acarology**, 53 (2-11): 189-202.

Furlong, J.; Chagas, A.C.S.; Nascimento, C.B.(2002) Comportamento e ecologia de larvas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**., São Paulo, 39 (4): 213-217.

Gerardi, M. (2016). **Perfil genético e susceptibilidade de diferentes populações do carrapato *Amblyomma sculptum* à infecção pelo patógeno *Rickettsia rickettsii***. 140 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

Grisi L, Leite R.C, Martins J.R.D.S, Barros A.T.M.D, Andreotti I R, Cançado P.H. D, Villela H.S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 3: 150-156.

Gomes, A. (1998). **Controle do carrapato do boi: Um problema para quem cria raças européias**, EMBRAPA gado de corte – Campo Grande/ MS.

Guglielmone, A.A. (1995). Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. **Veterinary Parasitology**, 57: 109-19.

ISO - International Organization for Standardization (2010). **Water quality—Determination of the toxic effect of sediment and soil samples on growth, fertility and reproduction of *Caenorhabditis elegans* (Nematoda)**. N°. 10872, Geneva, Switzerland.

Junqueira, L. C. U.; Junqueira, L. M. M. S. (1983). **Técnicas básicas de citologia e histologia**, São Paulo: Livraria Editora Santos.

Klafke, G. M. (2011). **Diagnóstico e mecanismos de resistência a ivermectina em *Rhipicephalus (B.) microplus* (Acari: Ixodidae)**. Tese (Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro) Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 176f.

Kocan, K.M; de la Fuente, J; Guglielmone, A.A; Meléndez, R.D. (2003). Antigens and alternatives for control of *Anaplasma marginale* infection in cattle. **Clinical Microbiology Reviews**, 16 (4): 698-712.

Krawczak, F.S., Nieri-Bastos, F.A., Nunes, F.P., Soares, J.F., Moraes-Filho, J., Labruna, M. B. (2014). Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasites and Vectors**, 7, 7.

Labruna M.B. (2008). Combate contra *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*, p.81-105. In: Pereira M.C., Labruna M.B., Szabó M.P.J., Klafke G.M. (Orgs). ***Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: Biologia, Controle e Resistência**. Medvet, São Paulo.

Labruna, M. B. (2009). Ecology of *Rickettsia* in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, 1166: 156-166.

Labruna, M. B.; Kerber, C. E.; Ferreira, F.; Faccini, J. L. H.; Waal, D. T.; Gennari, S. M. (2001). Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 97: 1–14.

Labruna, M. B.; Leite, R. C.; Gobesso, A. A. O.; Gennari, S. M.; Kasai, N. (2004). Controle estratégico do carrapato *Amblyomma cajennense* em eqüinos. **Ciência Rural**, Santa Maria, 34 (1): 195-200

Labruna, M.; Whitworth, T.; Horta, M.C.; Bouyer, D.H.; McBride, J.w.; Pinter, A.; Popov, V.; Gennari, S.M.; Walker, D.H. (2004). *Richettsia* Species Infecting *Amblyomma cooperi* Ticks from an Area in the State of São Paulo, Brazil, Where Brazilian Spotted Fever Is Endemic. **Journal Clinical Microbiology**, 42 (1): 90-98.

Leite, R.C. (1988). ***Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). Susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticida em propriedades das Regiões Fisiogeográficas da Baixada do Grande-Rio e Rio de Janeiro, uma abordagem epidemiológica**, 151f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Lopes, R.B.; Alves, S.B.; Padulla, L.F.L.; Pérez, C.A. (2007). Eficiência de formulações de *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae* para o controle de ninfas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 16: (1), 27-31.

Martinez, M.L.V (2004). **Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal**.

Ministério da Saúde (Brasil). (2018). **Febre Maculosa: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**, Rio de Janeiro, DF: Ministério da Saúde. Acesso em 29.08.2019. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/febre-maculosa>

Nogueira, M.F., Cruz, T.F. (2007). **Doenças da Capivara**, Dados eletrônicos. – Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 74 f. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAP/56262/1/Livro030.pdf>.

Nicaretta, J. E. (2018). **Dinâmica Populacional de *Rhipicephalus microplus* em uma região de clima tropical semiúmido**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Goiás. 61f.

Oliveira, P.R. (2004). Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 23 (supl. 1), 118-22.

Paixão. F. R. S. (2016). **Formulação peletizada de *Metarhizium* spp.: Produção, termotolerância e potencial no controle de *Rhipicephalus microplus***, Dissertação. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás, 60f.

Palmer, G.H.; McElwain, T.F. (1995). Molecular basis for vaccine development against anaplasmosis and babesiosis. **Veterinary Parasitology**, 57: 153-65.

Rey L. (2002). **Bases da Parasitologia Médica**, 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 695f.

Scott, J.A. (1995). The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. **The Florida Entomologist**. 78: 399–414.

Sonenshine D.E; Roe R.M. (2014). **Biology of ticks**, 2nd edn. Oxford University Press, Oxford. ISBN 978-0-19-974405-3.

Sonenshine, D. E; Allan, S. A; Norval, R. A. I; Burrridge, M. J .(1996), Aplicador automedicável para controle de carrapatos em veados. **Entomologia Médica e Veterinária**, 10: 149-154.

Soares, V. E.; Belo, M. A. A.; Rezende, P. B.; Soccol, V. T.; Fukuda, R. T.; Oliveira, G. P.; Costa, A. J. (2011). Distribution of *Taenia saginata* metacestodes: comparison of routine meat inspection and carcass dissection results in experimentally infected calves. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, 105: 393-401.

Taylor, M.A; Coop, R.L; Wall, R.L. (2010). **Parasitologia Veterinária**, 3<sup>a</sup> ed, Guanabara Koogan.

Vacari, A.C.; Neves, J.H; Costa, R.L.D; Barreto, T.N; Oliveira, M.Z; Campos, J.S; et al. (2013). **Prevalência de *Rhipicephalus Boophilus microplus* em Machos das Raças Nelore e Guzerá**. Ciências Agrárias e da Saúde. 9:49–53

Wharton, R. H.; Uteck, K. B. W. (1970). The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. **Journal Australian Entomological Society**, 9: 171-182.

## Considerações finais

Devido à escassez de testes para avaliação do controle de larvas de carrapato em nível de campo, sistematizou-se uma metodologia, aqui denominada de “semicampo”, para a avaliação de produtos acaricidas químicos biológicos ou de outra

natureza, no controle de ixodídeos de interesse na saúde pública e na medicina veterinária de ruminantes. Foram estipuladas condições de testes para diferentes gramíneas, espécies de carrapato, volume de aspersão, intervalos de contagens e aferições de macro e microclima. Espera-se que a mesma seja um modelo prático a ser seguido e adaptado de acordo com as necessidades e condições experimentais.

Nossos resultados indicam que *Amblyomma sculptum* tem sido exposto aos mesmos acaricidas que são utilizados nos tratamentos dos bovinos da área experimental, porém em intensidade e frequência muito inferiores aos carrapatos dos bovinos. Como consequência, observou-se que *A. sculptum* se mostrou mais susceptível às diferentes classes químicas nos testes *in vitro*, quando comparado a *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Em relação ao experimento do semicampo, o número de larvas mostrou-se decrescente ao longo dos dias após uma única aplicação da solução teste, o que sugere que um protocolo de aplicações mais espaçadas, com intervalos de acordo com o ciclo e presença do parasita nos animais, possa suprimir o número de larvas de carrapato, diminuindo o uso de carrapaticidas nos animais domésticos e possivelmente reduzindo os custos e gastos gerados pelo controle. A aplicação de carrapaticidas no ambiente, especificamente nos locais de repouso dos hospedeiros e de maior infestação do parasita, pode ser uma alternativa eficaz no manejo integrado do controle de *A. sculptum*. Porém a definição de protocolos e frequências de aplicação necessita de ajustes finos e avaliação do risco ambiental antes de serem implantadas.

Observou-se alguns efeitos sobre fertilidade, taxa de crescimento e recuperação do *Caenorhabditis elegans* no ensaio de ecotoxicidade, o que indica a necessidade de estudos mais aprofundados sobre o impacto de aplicações de antiparasitários diretamente no campo a longo prazo.

A escassez de estudos *in vitro* e a campo que avaliem antiparasitários no controle de *A. sculptum* indica a relevância dos resultados obtidos no presente trabalho. Na interface entre animais silvestres e animais de produção, a exposição de ambos a diferentes ectoparasitas e aos agentes etiológicos transmitidos pelos mesmos (principalmente os de carácter zoonótico) é uma realidade muito pouco estudada no Brasil. Esse tema vem ganhando relevância mundial, principalmente,

pelos estudos em Saúde Única (One Health), que avaliam a interação entre a saúde animal, a saúde pública e o meio ambiente. Portanto, o estudo das diferenças eco-epidemiológicas entre as regiões é essencial para melhor compreensão da doença, visando o aperfeiçoamento das ações de prevenção e precocidade no diagnóstico. Isso é fundamental, uma vez que na FMB a demora no diagnóstico e no início do tratamento contribui para a elevada letalidade da doença.