

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**PERFIL FARMACOCINÉTICO E ATIVIDADE
ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA MOLÉCULA
(ARILPIRAZOL) EM BOVINOS**

Lucas Vinicius Costa Gomes
Médico Veterinário

2018

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**PERFIL FARMACOCINÉTICO E ATIVIDADE
ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA MOLÉCULA
(ARILPIRAZOL) EM BOVINOS**

Lucas Vinicius Costa Gomes

Orientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa

Coorientador: Prof. Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em Medicina
Veterinária, área de Patologia Animal.**

2018

G633p

Gomes, Lucas Vinicius Costa

Perfil farmacocinético e atividade ectoparasiticida de uma nova molécula (Arilpirazol) em bovinos / Lucas Vinicius Costa Gomes. -- Jaboticabal, 2018

55 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal

Orientador: Alvimar José da Costa

Coorientador: Welber Daniel Zanetti Lopes

1. Fenilpirazol. 2. Sisapronil. 3. Carrapato bovino. 4. Berne. 5. Mosca. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

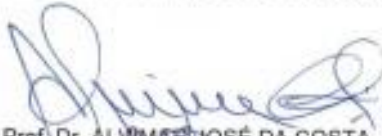
TÍTULO DA TESE: PERFIL FARMACOCINÉTICO E ATIVIDADE ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA
MOLECULA (ARILPIRAZOL) EM BOVINOS

AUTOR: LUCAS VINÍCIUS COSTA GOMES

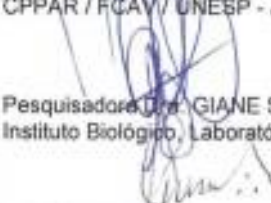
ORIENTADOR: ALVIMAR JOSÉ DA COSTA

COORIENTADOR: WELBER DANIEL ZANETTI LOPES

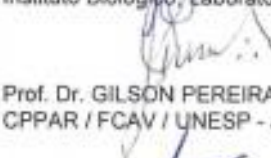
Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em MEDICINA
VETERINÁRIA, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. ALVIMAR JOSÉ DA COSTA
CPPAR / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Pesquisadora Dra. GIANE SERAFIM DA SILVA
Instituto Biológico, Laboratório de Parasitologia Animal / APTA - Votuporanga/SP



Prof. Dr. GILSON PEREIRA DE OLIVEIRA
CPPAR / FCAV / UNESP - Jaboticabal



Prof. Dr. LUIS FERNANDO SANTANA
Departamento de Zootecnia / IUFTM - Uberaba/MG



Prof. Dr. GUSTAVO FELIPELLI
CPPAR / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 19 de outubro de 2018

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUCAS VINICIUS COSTA GOMES, nascido em 24 de agosto de 1989, em Janaúba - MG, Brasil, cursou o ensino fundamental e o médio em Itacarambi - MG. Iniciou o curso de graduação em Medicina Veterinária em 2008, na Universidade Presidente Antônio Carlos - UNIPAC, Juiz de Fora - MG, em dezembro de 2012, realizou estágio curricular no Centro de Pesquisas em Sanidade Animal (CPPAR) pertencente à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP, câmpus de Jaboticabal - SP, e no Instituto de Pesquisas em Saúde Animal Ltda. (IPESA, Formiga - MG), entre agosto e dezembro de 2012, mesmo ano em que obteve o título de Médico Veterinário. Ingressou no curso de mestrado em Medicina Veterinária, área de Patologia Animal, na FCAV/UNESP Jaboticabal - SP em março de 2013, foi bolsista CNPq e obteve o título de mestre em fevereiro de 2015 com a dissertação “Dinâmica populacional de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) em bovinos mestiços, mantidos em pastagens de *Brachiaria decumbens* no município de Formiga, Minas Gerais”. Iniciou o curso de Doutorado na mesma Universidade em março de 2015. Atuou como pesquisador do CPPAR de fevereiro de 2013 a agosto de 2018.

*Dedico este trabalho aos meus queridos Pais, Maria Aparecida
Silveira Costa Gomes e Valdeci Gomes dos Santos, à minha
maninha, Núbia Costa Gomes, à minha amada noiva, Thaís
Eugênio Duarte, e à minha querida avó, Helena Gomes dos
Santos.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, aquele que proporciona tantas coisas boas em minha vida e me permitiu tudo isso.

Ao Prof. Dr. Alvimar José da Costa, pela orientação, por todos ensinamentos, por ter acreditado em mim e por todas as oportunidades oferecidas.

Ao Prof. Dr. Welber Daniel Zanetti Lopes, pela coorientação na realização desta Tese, pelo incentivo e amizade.

Aos meus queridos pais, Maria Aparecida Silveira Costa Gomes e Valdeci Gomes dos Santos, por terem me ensinado a viver com dignidade, pelo apoio dado durante todo esse tempo, pelo amor, confiança, incentivo e dedicação permanente.

À minha maninha, Núbia Costa Gomes, e a minha noiva, Thaís Eugênio Duarte, que mesmo distantes sempre estiveram presentes me apoiando, incentivando e me dando muita força e amor para seguir em frente.

Aos professores que aceitaram fazer parte das bancas de qualificação e defesa, Prof. Dr. Gilson Pereira de Oliveira, Dr. Willian Giquelin Maciel, Dra. Giane Serafim da Silva, Prof. Dr. Gustavo Felippelli e Prof. Dr. Luís Fernando Santana, pela amizade e por toda contribuição no enriquecimento deste trabalho.

Aos laboratórios Zoetis, Brasil, Saúde Animal, especialmente Lilian Clarion Franz Boldt, Maria do Carmo Cilento, Bruna Cerruti de Godoi, Carolina Cive Barbosa e Joseph Boucher, por concederem os produtos do ensaio experimental e por todo apoio no desenvolvimento desta Tese.

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

Aos animais que fizeram parte deste trabalho, sem os quais nada seria possível.

Aos grandes companheiros do Instituto de Pesquisas em Saúde Animal - IPESA, Formiga – MG, Aurélio (*in memorian*), Clóvis, Dilcélio, Pacheco, Fabinho, Heitor,

Mardem, Igor, Benedicto, Gustavo e Leandro, pela amizade, pelos bons momentos vividos e pela força no desenvolvimento deste trabalho.

A toda equipe do Centro de Pesquisas em Sanidade Animal – CPPAR, FCAV/UNESP Jaboticabal-SP, que tive a honra de conviver ao longo dessa caminhada, Ana (*in memorian*), Carolina Buzzulini, Elaine, Dalmo, Breno Cayeiro Cruz, Isabella Barbosa dos Santos, Gabriel Pimentel Campos, Flávia Carolina Fávero, Carlos Augusto Nicolino, Weslen Fabrício Pires Teixeira, Luciana Prando, Murilo Abud Bichuette e aos demais funcionários, por todo aprendizado, companheirismo e amizade.

Ao meu primo Maicon, ao Sidnei e ao casal de amigos Geisa e Willian, por terem me acolhido em suas residências, pelo apoio sempre distendidos, amizade, confiança e pela ótima convivência.

A todos os professores, funcionários e colegas do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da FCAV/UNESP de Jaboticabal-SP.

A todos meus amigos e familiares que acreditaram e torceram por mim mesmo distantes.

Enfim, a todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para que este trabalho pudesse ser concluído, deixo o meu MUITO OBRIGADO!

SUMÁRIO

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1. <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (Canestrini, 1887).....	2
2.2. <i>Haematobia irritans</i> (Linnaeus, 1758).....	4
2.3. <i>Dermatobia hominis</i> (Linnaeus Jr., 1781).....	7
2.4. <i>Cochliomyia hominivorax</i> (Coquerel, 1858).....	9
2.5. Controle ectoparasitário.....	11
2.6. Arilpirazol.....	15
3. OBJETIVOS.....	16
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1. Perfil farmacocinético - Estudo I.....	18
4.2. Eficácia contra <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> - Estudo II.....	19
4.3. Eficácia contra <i>Haematobia irritans</i> - Estudo III.....	20
4.4. Eficácia contra larvas de <i>Dermatobia hominis</i> - Estudo IV.....	21
4.5. Eficácia preventiva contra larvas de <i>Cochliomyia hominivorax</i> - Estudo V.....	22
4.6. Análise estatística.....	22
5. RESULTADOS.....	23
6. DISCUSSÃO.....	33
7. CONCLUSÕES.....	36
8. REFERÊNCIAS.....	36

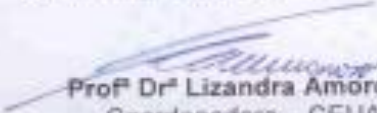
CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"Farmacocinética e atividade ectoparasitícida de uma nova formulação (Aripirazol) como alternativa no controle parasitário em bovinos"**, protocolo nº 008238/17, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alvimar José da Costa, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao Filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 06 de setembro de 2017.

Vigência do Projeto	26/06/2017 a 30/06/2018
Espécie / Linhagem	Bovina
Nº de animais	124
Peso / Idade	80 a 300 Kg / 8 a 24 meses
Sexo	Ambos os sexos
Origem	Fazenda Estiva, Formiga, Minas Gerais

Jaboticabal, 06 de setembro de 2017.


Profª Drª Lizandra Amoroso
Coordenadora – CEUA

PERFIL FARMACOCINÉTICO E ATIVIDADE ECTOPARASITICIDA DE UMA NOVA MOLÉCULA (ARILPIRAZOL) EM BOVINOS

RESUMO - Com o aumento da resistência frente a maior parte dos ectoparasitoides, novos métodos de controle para os principais parasitos de bovinos, tais como novas classes de terapêuticos são urgentemente necessários. Como parte de um programa integrado para endereçar essa demanda, foram realizados estudos para avaliar o perfil farmacocinético de uma formulação não comercializada a base de arilpirazol (nome comum sisapronil), bem como os efeitos terapêutico e residual contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Haematobia irritans*, larvas de *Dermatobia hominis* e larvas de *Cochliomyia hominivorax*. Em todos os estudos, os animais receberam pela via subcutânea, 2,0mg/kg de peso vivo do princípio ativo. Para avaliação do perfil farmacocinético, amostras de sangue foram obtidas nos dias 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126 e 140 pós-tratamento. Não foram identificadas concentrações da molécula nos momentos pré-tratamento, bem como não foram observadas alterações sistêmicas ou locais nos animais submetidos ao estudo, após a administração do arilpirazol. De acordo com os resultados de farmacocinética, o sisapronil alcançou uma concentração máxima de 74,8 ng/mL (C_{max}), detectada em 15,8 dias (T_{max}), e meia vida de eliminação de 23,0 dias. Um estudo para avaliar a atividade carrapaticida do arilpirazol contra *R. (B.) microplus* foi realizado em bovinos naturalmente infestados. Para tal, 20 animais, foram randomizados em dois grupos (T01: controle e T02: arilpirazol), de acordo com as contagens de carrapatos obtidas no pré-tratamento. Percentuais de eficácia foram calculados no 3° e 7° dia pós-tratamento (DPT), e posteriormente, semanalmente até 91° DPT. O grupo tratado com sisapronil atingiu percentuais de eficácia superiores a 90,00% entre o 7° e o 63° DPT. Um outro estudo realizado para avaliar a eficácia mosquicida contra *H. irritans* (mosca-do-chifre), 30 bovinos naturalmente infestados foram randomizados em dois grupos de acordo com a média aritmética obtida das contagens de moscas antes do tratamento (D-2 e D-1). Os percentuais de eficácia foram calculados nos dias 3,7,14,21,28 e 35 após o tratamento, sendo que a eficácia máxima observada foi de 89,73% no 3° DPT. Para avaliar a eficácia contra larvas de *D. hominis*, dois grupos, de 10 animais cada, naturalmente infestados foram utilizados. O sisapronil atingiu 100,00% de eficácia entre o 14° e 28° DPT e permaneceu acima de 90,00% até 63° DPT. No estudo para avaliar a eficácia contra larvas de *C. hominivorax*, 30 bovinos orquiectomizados foram distribuídos em dois grupos com 15 animais cada. Considerando à presença de mífase ativa avaliada entre o 1° e 15° DPT, o sisapronil alcançou 100.00% de eficácia após o 10° DPT. Bovinos medicados com arilpirazol apresentaram quantificações de ectoparasitos estatisticamente inferiores ($p \leq 0.05$) às do grupo controle em todos os estudos conduzidos. Em síntese, arilpirazol (sisapronil), na dose e via empregadas, constitui uma alternativa promissora para o controle e tratamento dos principais ectoparasitos que acometem os bovinos.

Palavras-chave: Fenilpirazol, Sisapronil, Carrapato bovino, Berne, Mosca.

PHARMACOKINETIC PROFILE AND ECTOPARASITICIDE ACTIVITY OF A NEW MOLECULE (ARILPIRAZOLE) IN BOVINES

ABSTRACT - With the increase in ectoparasite resistance to major classes of ectoparasiticides, new control methods for main bovine parasites, such as new classes of therapeutics, are urgently needed. As part of an integrated program to address this demand, studies have been conducted to evaluate the pharmacokinetic profile of a non-marketed formulation based on arylpyrazole (common name sisapronil), as well as the therapeutic and residual effects against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Haematobia irritans*, larvae of *Dermatobia hominis* and larvae of *Cochliomyia hominivorax*. In all the studies, the animals received by the subcutaneously, 2.0mg / kg of the active. For evaluation of the pharmacokinetic profile, blood samples were obtained on days 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126 and 140 post-treatment. No concentrations of the molecule were identified at pre-treatment times, nor were systemic or local reaction observed in the animals submitted to the study after arylpyrazole administration. According to the pharmacokinetic results, sisapronil reached a maximum concentration of 74.8 ng/mL (Cmax), detected at 15.8 days (Tmax), and elimination half-life of 23.0 days. A study to evaluate the acarpyrazole activity of arylpyrazole against *R. (B.) microplus* was carried out on naturally infested cattle. For such, 20 animals were randomized into two groups (T01: control and T02: arylpyrazole), according to the pre-treatment tick counts. Efficacy percentages were calculated on the 3rd and 7th day post-treatment (DPT), and thereafter, weekly up to 91st DPT. The sisapronil treated group achieved efficacy percentages greater than 90.00% between 7th and 63rd DPT. Another study conducted to evaluate the efficacy against *H. irritans* (horn fly), 30 naturally infested cattle were randomized into two groups according to the arithmetic mean obtained from pre-treatment flies counts (D-2 and D-1). Efficacy percentages were calculated on days 3, 7, 14, 21, 28 and 35 post-treatment, and the maximum efficacy observed was 89.73% in the 3rd DPT. To evaluate the efficacy against larvae of *D. hominis*, two groups of 10 naturally infected animals were used. Sisapronil achieved 100.00% efficacy between the 14th and 28th DPT and remained above 90.00% up to 63rd DPT. In the study to evaluate the efficacy against *C. hominivorax* larvae, 30 orchiectomized cattle were distributed into two groups with 15 animals each. Considering the presence of active myiasis evaluated between the 1st and 15th DPT, sisapronil reached 100.00% efficacy after the 10th DPT. Cattle treated with arylpyrazole showed statistically lower ectoparasite ($p \leq 0.05$) quantifications than the control group in all the studies conducted. In summary, arylpyrazole (sisapronil), at the dose and via employed, is a promising alternative for the control and treatment of the main ectoparasites that affect cattle.

Keywords: Phenylpyrazole, Sisapronil, Cattle Tick, Grub, Fly.

1. INTRODUÇÃO

Os ectoparasitos representam um dos problemas sanitários mais importantes na criação de bovinos em todo o mundo (Lopes et al., 2014). Estima-se, no Brasil, uma perda anual de 6,52 bilhões de dólares, causada pelos principais ectoparasitos: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* - \$3,24; *Haematobia irritans* - \$2,56; *Dermatobia hominis* - \$0,38 e *Cochliomyia hominivorax* - \$0,34. Responsáveis por transmitir diversos patógenos, provocar desvalorização do couro, redução da produção de leite e de peso dos animais (Grisi, et al., 2014).

Em síntese, é de grande importância o controle dos ectoparasitos como fator primordial para tornar a bovinocultura mais lucrativa e economicamente competitiva (Perez et al., 2006).

Há no mercado vários quimioterápicos destinados ao controle destes parasitos, porém, muitas das vezes, à utilização sem qualquer parâmetro técnico e/ou epidemiológico e a repetitividade de uso, induzem o aparecimento de resistência (Rangel et al., 2005).

Devido ao aumento de resistência dos parasitos, aos diferentes princípios ativos, em várias partes do mundo, a indústria farmacêutica e os pecuaristas têm tido cada vez menos alternativas para o controle eficaz das parasitoses em bovinos (FAO, 2004). Mesmo diante do aparecimento de estirpes de parasitos resistentes, os quimioterápicos, até então utilizados, ainda constituem uma arma eficaz no tratamento destas enfermidades, uma vez que outros métodos, como o controle biológico, homeopatia, fitoterapia e o uso de vacinas, ainda não apresentam resultados de eficácia convincentes (Costa et al., 2004). Por esta razão, torna-se primordial por parte dos pesquisadores e da indústria, o desenvolvimento de novos ectoparasiticidas, sobretudo de novos princípios ativos eficazes (Perez et al., 2006).

O Arilpirazol (nome comum Sisapronil), composto inédito, pertencente à família dos Fenilpirazóis, pode constituir uma possível e nova alternativa para o controle antiparasitário em bovinos. Sem nenhum estudo publicado sobre a sua utilização, até então, na literatura consultada, os seis estudos conduzidos, descritos nesta tese são pioneiros e objetivaram avaliar a eficácia desta nova molécula em bovinos. Foram realizados estudos contra *Rhipicephalus (B.) microplus*, *Haematobia*

irritans, larvas de *Dermatobia hominis* e de *Cochliomyia hominivorax*, além da mensuração do perfil farmacocinético do referido composto.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887)

Dentre os ectoparasitos de bovinos no Brasil, destaca-se o *R. (B.) microplus*. Conhecido popularmente como carrapato do boi, oriundo da infestação em antílopes, cervos, bovinos e búfalos selvagens no sudeste Asiático, está distribuído entre os paralelos 32°S e 32°N, exceto nas áreas de elevadas altitudes ou muito áridas, nos Estados Unidos e Porto Rico, onde foi erradicado em 1943 e 1952, respectivamente (Warton, 1974; Hourrigan, 1977; Hoogstraal, 1979; Nuñez et al., 1985; Willadsen e Jongejan, 1999; Cordovés, 1997).

Este ácaro, monoxeno, possui seu ciclo de vida dividido em duas fases de vida: livre e parasitária, sendo esta preferencialmente em bovinos. Em elevadas infestações, também, pode ocorrer em outros animais domésticos e silvestres (Nuñez et al., 1982; Gonzáles, 1993; Gonzáles, 1995; Furlong, 2005). A fase de vida livre corresponde ao período em que o carrapato permanece no solo para efetuar a ovipostura e posterior eclosão das larvas. Ao desprender do animal, a teleógina (fêmea ingurgitada) busca um abrigo úmido e protegido da luz solar direta e inicia a postura, com potencial para produzir de 2000 a 3000 ovos, durante aproximadamente 15 a 18 dias (Gonzáles, 1993).

As condições ambientais consideradas ideais para sua postura são: temperatura em torno de 27°C e umidade relativa do ar superior a 75%. Altas temperaturas podem causar a dissecação dos carrapatos no ambiente, enquanto que abaixo dos 15°C, retarda o desenvolvimento dos ovos (Nuñez et al., 1982; Gonzáles, 1993; Furlong, 2005).

Após o final da postura, inicia-se a eclosão das larvas que se completa dentro de 4 a 6 dias (Oliveira et al., 1974). As larvas infestantes sobem nas pastagens por geotropismo negativo e se fixa no hospedeiro, atraídas pelo odor, sombreamento, vibrações, pelo estímulo visual e pela concentração de gás carbônico do animal

(Nuñez et al., 1982; Sonenshine, 1991; Gonzáles, 1993; Furlong, 2005). A fase de vida livre do *R. (B.) microplus*, em condições ambientais ideais, dura em torno de 32 dias, entretanto, pode englobar um período médio de até 120 dias, desde a queda da teleógina ao pasto, da postura dos ovos, eclosão das larvas e a viabilidade destas no ambiente (Gonzáles, 1995; Farias, 1995). Tais larvas sobrevivem exclusivamente de suas reservas, abrigadas entre a vegetação e nas fendas no solo. O principal fator que explica sua habilidade em sobreviver por longos períodos sem alimentação é a sua capacidade de manter a quantidade de líquido em seu corpo e de absorvê-lo do ar insaturado (Rudolph e Knulle, 1974; McMullen et al., 1976; Needham e Teel, 1991).

A fase de vida parasitária possui um período médio de 21 dias e inicia após a fixação da larva no hospedeiro, em regiões tais como: pescoço, peito, axilas, pavilhão auricular, virilhas, períneo e base da cauda; áreas que favorecem seu desenvolvimento, protegidas da incidência solar e também dos mecanismos de autodefesa dos animais, como lambedura e movimentos da cauda (Nuñez et al., 1982; Gonzáles, 1993; Furlong, 2005). Nesta fase, as larvas iniciam o período de repasto sanguíneo, alimentando-se de restos teciduais e sangue, preferencialmente de plasma. Somente nos momentos que precedem o rápido ingurgitamento das fêmeas é que o sangue se torna o principal constituinte alimentar (Bennett, 1975). Após a larva trocar de cutícula (metalarva), ela dá origem a ninfa por volta de oito a 10 dias, sofre uma muda (metaninfa) e em torno do 15º dia se transforma em neandro (macho) ou neógina (fêmea) (Athanasoff, 1953). Os machos se alimentam pouco, não se ingurgitam de sangue, amadurecem antes das fêmeas e perambulam pelo corpo do hospedeiro por mais de dois meses, acasalando com as fêmeas, com ajuda de órgãos sensitivos localizados nas extremidades das patas, que detectam feromônios produzidos pelas mesmas (Athanasoff, 1953; Gonzáles, 2002). As fêmeas semi-ingurgitadas, denominadas partenóginas, surgem entre o 17º e o 35º dia após a infestação. Estas se alimentam por dois a três dias e evoluem para teleóginas, quando caem no solo, possuindo até 200 vezes o seu peso inicial, e procuram um local úmido e escuro, favorável à embriogênese, para proteger os ovos, que darão início ao novo ciclo de vida livre, da baixa umidade e das altas temperaturas (Gonzáles, 1995).

O *R. (B.) microplus* constitui um dos problemas sanitários mais importantes para a bovinocultura (Cordovés, 1997). A produtividade e o bem-estar dos animais estão diretamente ligados ao grau de infestação dos animais pelo carrapato, que pode ser influenciada por diversos fatores como: idade, raça, estado físico, nutrição, características imunológicas individuais e tipo de manejo da propriedade (Nuñez et al., 1982; Sutherst et al., 1983; Santos Junior et al., 2000).

Além de causar grandes perdas de sangue nos hospedeiros com sua ação hematófaga (Belavsky, 1965), o *R. (B.) microplus* pode transmitir agentes do complexo tristeza parasitária bovina (TPB), responsáveis por obrigar os produtores a arcarem com o custo elevado de tratamento e, frequentemente, com o óbito dos animais. A ação direta do carrapato no animal causa inflamação no local de picada, irritação e miíases secundárias (Kaufman, 1989; Labruna e Pereira, 2001; Guglielmone et al., 2006).

Em 2014, Grisi et al. estimaram os prejuízos econômicos causados pelo carrapato bovino, no Brasil, em 3,24 bilhões de dólares anuais.

Os prejuízos nos sistemas produtivos, que dizem respeito ao controle parasitário, estão ligados ao uso indevido de quimioterápicos, em épocas não apropriadas, aos gastos decorrentes das instalações, dos equipamentos utilizados para aplicação dos produtos, a manipulação dos animais e ao desvio da mão-de-obra de sua rotina para os constantes tratamentos (Domingues et al., 2008).

De acordo com Jonsson et al. (1988) cada fêmea de *R. (B.) microplus* é responsável pela perda de 1g de peso corpóreo e redução na produção de leite de 8,9 mL. Grisi et al. (2002), verificaram que essa redução pode causar um déficit na produção de leite de 10 a 20% e queda na produção de carne de 15 a 20%, além do prejuízo relacionado à desvalorização do couro, causado pela reentrância da fêmea ingurgitada (Oliveira, 1983).

2.2. *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758)

Originária da Europa, onde foi identificada em 1758, a “mosca-dos-chifres”, (*Haematobia irritans*), pertencente à família Muscidae, chegou aos Estados Unidos em 1886, por bovinos importados e difundiu-se por todo continente americano. No

Brasil, sua presença foi inicialmente relatada em Roraima, entre 1976 e 1977, oriunda da Guiana e não da Venezuela como se acreditava (Valério e Guimarães, 1983).

A “mosca-dos-chifres” tem como hospedeiro preferencial os bovinos (Franks et al., 1964). Entretanto, pode ser encontrada realizando repasto sanguíneo em outras espécies como equinos, ovinos e caninos (Bruce, 1964). Ambos os sexos são hematófagos obrigatórios. Normalmente, encontra-se um número maior de *H. irritans* em machos adultos do que em fêmeas e animais jovens. Este comportamento tem sido associado a fatores hormonais, como a concentração de testosterona e também a menor mobilidade e sensibilidade por parte dos bovinos adultos (Bruce, 1964).

Seu ciclo de vida é influenciado pela temperatura, umidade e composição da massa fecal, a época chuvosa (quente e úmido) apresenta as condições mais propícias para o seu desenvolvimento (Valério e Guimarães, 1983). Possui um período de vida de até 40 dias e uma fêmea é capaz de produzir entre 80 a 300 ovos, dependendo das condições locais (Honer et al., 1993).

Avaliando experimentalmente o desenvolvimento de *H. irritans*, em temperatura entre 27,3 e 30,2°C, em massas fecais de bovinos, coletadas e mantidas em laboratório, Barros (2002) observou que o período mínimo para desenvolvimento do inseto nas fezes, até o início da emergência, é de nove dias. Seus resultados foram semelhantes aos de Palmer et al. (1981), ao verificarem um período de desenvolvimento de 9,6 dias em temperatura de 27 °C. Durante o inverno (frio e seco), há uma tendência de que o ciclo se prolongue, ou até mesmo se interrompa, o que denomina-se diapausa (Mendes e Linhares, 1999). A uma temperatura ambiente máxima de 19,4°C, o período máximo para início da emergência pode ser de 17 dias no inverno (julho) (Barros, 2002).

A *H. irritans* possui aparelho bucal (probóscide) do tipo picador e projetado entre os longos palpos, a mosca adulta, de ambos os sexos, se alimenta e permanece no animal dia e noite (Valério et al., 1983). O acasalamento é único e ocorre principalmente nas partes mais altas do animal (cupim e dorso) ou na vegetação ao redor do hospedeiro. Após a fecundação, as fêmeas se deslocam para partes mais baixas (virilha, barriga e pernas) e esperam o hospedeiro ou outro animal próximo defecar. Quando isso acontece, as moscas depositam seus ovos

rapidamente, em grupos de 10 a 20, na borda do bolo fecal e em poucos minutos retornam ao hospedeiro (Honer et al., 1993). Durante sua vida, que dura em média três semanas, cada fêmea pode realizar cerca de 15 posturas (Bordin, 1992; Krafur e Ernest, 1983; Wislow, 1992). As larvas eclodidas penetram no bolo fecal até a região de maior conforto térmico, para o desenvolvimento larval com três instares (Valério e Guimarães, 1983; Barros, 2002).

As larvas de primeiro instar penetram no esterco, protegendo-se dos raios solares e permanecem neste estágio por aproximadamente 10 horas, passando para o segundo instar, e, em média, depois de 18 horas, alcançam o terceiro instar larval. Sob condições ótimas de umidade e temperatura, em aproximadamente 64 horas após a eclosão dos ovos, já se encontram pupas nas fezes. No caso de fezes mais secas que o solo, as pupas são encontradas enterradas no solo, até a emergência dos adultos (Bruce, 1964). As fêmeas colocam seus ovos até 10 a 15 minutos após o animal ter defecado, atraídas pela disponibilidade de alimento e abrigo. Decorrido esse tempo, as fezes perdem a atratividade para o parasito (Bianchin e Alves, 2002).

Segundo Bianchin e Alves (1997), a infestação por “mosca-dos-chifres” é maior quanto menor o volume acumulado de chuva, que antecede a avaliação de infestação dos animais. De acordo com esses autores, uma grande quantidade de chuva em um período curto, faz com que ocorra a destruição das massas fecais no solo, o que acaba por provocar a interrupção do ciclo evolutivo da mosca.

O epíteto da espécie em latim, “*irritans*”, é explicado pelo efeito de irritação que este díptero proporciona no animal infestado, deixando-o extremamente inquieto. Acredita-se, portanto, que os maiores prejuízos estejam ligados ao estresse provocado pela ação irritante das moscas, que interfere no repouso, na alimentação e na produtividade e não apenas pela atividade hematófaga (McLintock e Depner 1954; Harris et al., 1974). Este díptero, indubitavelmente, constitui um entrave ao desenvolvimento da pecuária nacional, sendo responsável por perdas anuais equivalentes a US\$ 2,56 bilhões de dólares (Grisi et al., 2014). Destes prejuízo, ressalta-se a depreciação que esta mosca desencadeia à qualidade do couro dos animais altamente infestados. O grande número de picadas acarreta uma reação local, podendo tornar a pele mais grossa e inflexível e, portanto, de menor qualidade (Guglielmone et al., 1999).

As lesões causadas pelas picadas das moscas ainda podem tornar-se porta de entrada para outras enfermidades, por serem potenciais transmissoras dos patógenos causadores do Carbúnculo hemático, Anaplasmoze, Leucose e da Estefanofilariose, além de facilitar a ocorrência de miíases provocadas por larvas *C. hominivorax* e de *D. hominis*, por suas formas adultas atuarem como forético da *D. hominis* (Honer e Gomes, 1990).

2.3. *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781)

Presente em toda América Latina, com exceção do Chile, a mosca *Dermatobia hominis* tem grande importância na sanidade do rebanho, visto que a sua larva é responsável por uma miíase, do tipo furuncular, em animais domésticos, selvagens e inclusive no homem (Souza et al., 2007).

Trata-se de uma espécie endêmica em vários estados do Brasil, nos meses mais quentes e chuvosos do ano, com focos de altas infestações em propriedades pecuárias, junto à mata atlântica, nos estados da Bahia, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina, além de outros focos em algumas regiões do centro-oeste (Moya-Borja, 2004; Souza et al., 2007).

Com três gerações no ano, o seu hábito de oviposição tem destaque no seu ciclo de vida. Os ovos deste parasito são depositados e transportados por dípteros vetores (são relatados mais de 49 espécies), capturados pela fêmea adulta, que devem ter hábitos diurnos e zoófilos, ter tamanho igual ou menor que o da mosca adulta e ser moderadamente ativos (Magalhães e Lima, 1988).

Na fase de vida livre (pupa no solo e adultos no ambiente), as fêmeas fecundadas capturam insetos para transportarem seus ovos, até os animais, sendo denominados foréticos. A fase seguinte corresponde à parasitária, a larva de primeiro estágio, dentro do ovo, rompe o opérculo e penetra na pele do animal até chegar ao tecido subcutâneo, onde cresce, mantendo comunicação com o meio ambiente para sua respiração, através dos espiráculos, evoluindo de L₁ a L₃, fase em que abandona o tecido do animal. Penetra no solo para a pupação. O sucesso biológico da fase de vida livre depende das características do solo e das condições de temperatura e umidade do ambiente. O percentual de emergência de pupas em

solo seco varia de 1 a 3%, enquanto que no úmido, pode atingir 40 a 50% (Andersen, 1962).

O calor e o dióxido de carbono emitido pelo animal estimulam sua transferência do vetor para o hospedeiro. A larva demora sete dias para eclodir e pode sobreviver dentro do ovo por aproximadamente 20 dias (Magalhães e Lima, 1988).

O período parasitário varia de acordo com a espécie hospedeira, idade, sexo, região do animal afetada e com a estação do ano. De modo geral, a larva permanece nos animais por 40 a 50 dias, podendo atingir o período máximo de 120 dias (Magalhães e Lima, 1988). O abandono geralmente ocorre durante as horas sem luz, para evitar o ataque de predadores (Catts, 1982). O período pupal dura, em média, de 30 a 32 dias, nos machos e nas fêmeas, respectivamente, a 25°C e umidade relativa entre 60 e 80%. Os adultos após emergirem (nas primeiras horas da manhã), têm uma longevidade média de três dias, podendo copular até quatro vezes (Magalhães e Lima, 1988).

A incidência de larvas de *D. hominis*, em bovinos, tem sido estudada por vários autores. Dentre os achados mais frequentes, o que se constata é uma predisposição significativa de infestação em animais de raça europeia, de pelagem escura, sendo as costelas, escápulas, membros anteriores e pescoço as regiões de maior frequência de larvas (Maia e Guimarães, 1985; Bellato et al., 1986; Magalhães e Lima, 1988; Sancho et al., 1996; Pinto et al., 2002). Os bovinos de pele escura sofrem maior infestação, devido ao fato de que estes animais absorvem com maior intensidade os raios solares, irradiam mais calor e, conseqüentemente, nas horas mais quentes do dia ao procurarem abrigo na sombra das árvores são atacados pelos insetos vetores (Magalhães e Lima, 1988).

Também é notória a maior incidência no lado esquerdo dos animais, devido a preferência do decúbito direito no momento de descanso (Oliveira, 1991).

Estima-se que os prejuízos causados pelo berne no Brasil cheguem a US\$ 0,38 bilhões de dólares por ano (Grisi et al., 2014).

A movimentação da larva, que é rodeada por espinhos, no tecido subcutâneo dos animais, provocam irritabilidade (estresse), redução nas produções de leite e carne, e desvalorização do couro (Souza et al., 2007). As larvas normalmente são

encontradas nas regiões do couro com maior valor comercial, podendo inutilizar, de 5 a 75% das peles dos bovinos (Oliveira, 1991).

2.4. *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858)

A *Cochliomyia hominivorax*, pertencente à família Calliphoridae, que significa segundo Zumpt (1965), “infestação de seres humanos e outros vertebrados vivos, por meio das larvas, que pelo menos durante um período, se alimentam de tecidos e líquidos do hospedeiro”, é o principal agente causador de miíases no mundo.

O gênero *Cochliomyia* é constituído por quatro espécies distintas: *C. hominivorax* (Coquerel), *C. macellaria* (Fabricius), *C. aldrichi* e *C. minima* (Whitworth, 2006). As duas primeiras estão relacionadas aos casos de miíases. Entretanto, a de maior importância é a *C. hominivorax* (FAO, 1993), cujo nome científico apresenta várias denominações populares, como “mosca da bicheira” ou “mosca varejeira” (Guimarães et al, 1983).

O parasitismo por *C. hominivorax* é de caráter obrigatório no período larval. Infesta os tecidos secos ao redor das lesões, nos animais domésticos, silvestres e nos seres humanos (Muniz et al., 1995). Seu aparecimento está condicionado a ferimentos recentes, áreas abertas por intervenções cirúrgicas, de ocorrência natural (umbigo de neonatos) ou por outros parasitos, sendo estes casos denominados de miíases primárias. Quando as larvas invadem aberturas naturais do corpo (nasal, oral auricular, vaginal e anal, etc), denomina-se miíase cavitária. Há, ainda, a possibilidade da miíase primária se transformar em cavitária, devido ao grande número de larvas. E, em casos extremos, as larvas podem penetrar ativamente a pele íntegra e produzir miíases furunculosas (Freitas et al., 1982). Infestações maciças por *R. (B.) microplus* também aumentam a susceptibilidade a este agente, devido às feridas que normalmente aparecem neste parasitismo (Grisi et al., 2002).

Como já descrito por diversos autores (Muniz et al., 1995; Moya-Borja e Salani, 1997; Anziani et al., 1998), as condições climáticas, na maior parte do Brasil, em grande parte do ano, são bastante favoráveis às infestações por *C. hominivorax*.

Após a eclosão dos ovos depositados pela *C. hominivorax*, as larvas penetram na pele dos animais, mantendo a região posterior voltada para o meio

exterior, para permitir a respiração por meio dos espiráculos, consumindo tecido muscular, vasos, nervos e tecido conectivo (James, 1947). O desenvolvimento completo das larvas nas feridas varia de cinco a nove dias, quando então saem para desenvolver a fase de pupa no solo (Oliveira, 1978). O estágio de pupa se estende por seis a oito dias à 26,6°C e com umidade relativa variando entre 70 e 80% (Smith, 1960), podendo aumentar em condições de temperatura e umidade relativa do ar mais baixas (Oliveira, 1978). Três a quatro dias após a emergência copulam e no sétimo dia de vida podem realizar a primeira postura (Laake et al, 1936 *apud* Crystal, 1967).

Machos e fêmeas adultos têm hábito diurno e podem voar mais de quarenta quilômetros de distância na busca por hospedeiro, e sobreviver, em média, quatro semanas, sob temperatura de 25°C e 70,00% de umidade relativa do ar (Leite, 2004).

O ciclo completo dura aproximadamente 24 dias à temperatura de 22°C (Laack et al., 1936 *apud* Hall,1991) e de 18 dias a 29°C (Thomas e Mangan, 1989).

Realizando estudo em laboratório, Oliveira (1980) obteve as seguintes conclusões sobre a biologia da *C. hominivorax*: as posturas iniciaram do 7º a 8º dia de vida, variando de 88 a 330 ovos e com média de 191,1 ovos. O período de incubação dos ovos variou de 14 a 18 horas a 27°C e 80 a 90% de umidade relativa, sendo a média de eclosão de 99,6%. O período larval (correspondente à fase parasitária) variou de 3 a 5 dias e o período pré-pupa entre 12 a 36 horas, com média de 24 horas; a emergência dos adultos ocorreu entre 6 a 10 dias, com média de 7,3 dias, e a razão sexual foi de 1:1 entre machos e fêmeas.

Os prejuízos causados por este parasito, no Brasil, assumem grande importância econômica, pois não somente afeta a pele, mas também a musculatura esquelética, produzindo lesões crateriformes (Mucciolo, 1948). Ocasiona um quadro clínico responsável por irritação (estresse), emagrecimento e desvalorização do couro, mesmo com as lesões curadas, uma vez que o tecido fibroso resultante da cicatrização apresenta menor resistência (Toledo, 1950).

Grisi et al. (2014), avaliando o impacto econômico dos principais ectoparasitos em bovinos no Brasil, chegou a uma estimativa de perdas da ordem de US\$ 0,34 bilhões de dólares, ao ano, causadas pela *C. hominivorax*.

O parasitismo por *C. hominivorax* também é responsável por provocar alterações clínicas (Morais et al, 2003), hematológicas e bioquímicas em bovinos (Oliveira, 1980; Sanavria, 1993), imunodeprimindo o hospedeiro e facilitando a ocorrência de diversas patologias.

2.5. Controle ectoparasitário

O uso de quimioterápicos continua sendo o principal instrumento utilizado no controle antiparasitário uma vez que métodos como homeopatia e fitoterapia ainda não apresentam resultados satisfatórios (Costa, 2004), tanto quanto novos métodos de controle alternativo que vem sendo estudado e estimulado, incluindo: rotação de pastagens (Elder et al. 1980), cultivo de pastagens que dificultam a proliferação das larvas (Sutherst et al. 1982), seleção de raças resistentes, uso de patógenos como a bactéria *Cedecea lapagei* (Brum, 1988), uso do besouro coprófago *Digitonthophagus gazela* (Galbiati et al., 1995; Bianchin et al., 1997), fungos (Cordovés, 1997), utilização de predadores naturais, como a garça-vaqueira, *Egretta ibis*, (Alves-Branco et al., 1983) formigas (Gonzáles, 1995), vacinas (Parizi et al, 2012), entre outros.

Ademais, métodos alternativos como estes e outros descritos na literatura, ainda não têm comercialização em massa e por este e outros motivos, os produtores ainda são extremamente dependentes dos inseticidas (Barros, 2005).

Os compostos de importância veterinária utilizados no controle antiparasitário, durante sua fase de vida no hospedeiro, agem tanto de forma sistêmica a partir do local de aplicação ou pelo contato direto com o parasito. Para que um composto atinja a circulação sanguínea e tenha ação sistêmica, ele pode ser administrado via parenteral (injeção subcutânea ou intramuscular), via tópica (aplicado sobre a pele, por meio de pulverização, imersão, aspersão, “pour on” e brincos impregnados) ou via oral (Taylor, 2001).

Da mesma forma que a dosagem e a frequência são fatores que garantem a atividade antiparasitária, estes também são os principais mecanismos que desencadeiam a seleção de parasitos resistentes, os quais reduzem o período de

proteção e aumentam o custo de tratamento (Barnes et al., 1995; Borges et al., 2003; Rangel et al., 2005).

Mesmo diante do aparecimento de linhagens de parasitos resistentes, os quimioterápicos ainda constituem o principal método de controle ectoparasitário. Destacam-se pelo maior volume de comercialização, as lactonas macrocíclicas, os organofosforados, os piretróides, as benzoiluréias, os fenilpirazóis, as benzoilfeniluréias e as arilformamidinas (Generuti e Spinosa, 1997; Silvers e Fuentealba, 2003).

De maneira geral, os ectoparasiticidas são neurotóxicos exercendo efeitos sobre o sistema nervoso central do parasito, os quais são constituídos por uma série de células interconectadas, chamadas neurons, pelas quais são transmitidas cargas elétricas chamadas impulsos, que são carregados até o final de uma célula nervosa através da sinapse, por intermédio de neurotransmissores (Scharf e Suiter, 2011).

Os primeiros compostos utilizados como carrapaticidas foram os derivados arsênicos na década de 40, aplicados na forma de banhos de imersão. O aparecimento de resistência a essa classe, e as preocupações em relação ao acúmulo de resíduos nos animais desencadearam à busca por novos compostos, sobretudo por inseticidas orgânicos (Graham e Hourrigan, 1977 *apud* George et al., 2004). Daí surgiram os organoclorados, Dicloro-difenil-tricloroetano (DDT) e hexaclorobenzeno (BHC), os primeiros inseticidas orgânicos sintéticos a serem produzidos para o controle do carrapato bovino. Hexacloreto de benzeno, chlordane, toxaphene, metoxichlor, lindane e carbaril, também concomitantemente, utilizados contra *H. irritans* (Cobbett, 1947; Maounder, 1949; Whitnall et al., 1951 *apud* George et al., 2004).

O DDT foi muito utilizado durante as décadas de 1940 e 1950 por ser uma droga muito persistente e por possuir amplo espectro, controlando também outros ectoparasitos (Williams, 1991). Os organoclorados causam uma hiperexcitabilidade neuromuscular, que provoca a morte do inseto (Drummond et al., 1988). Porém, a toxicidade aos animais e ao homem, associado ao aparecimento de resistência, somados ainda ao longo período de resíduo da droga nos produtos de origem animal (carne e leite) e no ambiente, fizeram com que, aos poucos, os

organoclorados fossem tendo restrições de uso até serem proibidos (Drumond et al., 1988; Amaral et al., 1991).

Assim, surgiram na década de 50 os organofosforados, alguns com efeito sistêmico e que foram também utilizados com grande eficiência no controle dos ectoparasitos, principalmente nas infestações por larvas de *C. hominivorax*, sendo a classe mais usada contra este parasito até hoje. Entre eles destacam-se, o dioxathion, coumafós, ronnel, diazinon, fenthion, crotoxifos, diclorfos, tetraclorviphos, clorpirifós, e clorfenvinfós. Os carbamatos, como o carbaril, que possuem o mesmo mecanismo de ação dos organofosforados, também foram utilizados (Bruce, 1964; Williams, 1991).

Os organofosforados inibem algumas enzimas, principalmente a acetilcolinesterase, o que acarreta o bloqueio da transmissão colinérgica do parasito, levando-o a uma paralisia espástica (Fraser e Rushen, 1987).

A resistência aos organofosfatados e carbamatos minimizou sua utilidade (George et al., 2004). Com o passar dos anos, a resistência aos organofosforados levou ao desenvolvimento das formamidinas, como clorometiuron e amitraz, que demonstraram alta eficácia contra o *R. (B.) microplus* (George et al., 1998). Entretanto, logo surgiram relatos de resistência às formamidinas.

Entre os anos de 1970 e 1980 foram desenvolvidos inicialmente na Inglaterra, os compostos piretróides, usados até hoje em todo o mundo. Dentre os diversos piretróides sintetizados, os mais estáveis e de maior sucesso estar a cipermetrina, deltametrina, fenvalerato, permetrina, flumetrina, cialotrina e ciflutrina (Oba e Dell Porto, 1984). Os piretróides apresentam como características a baixa toxicidade, tanto ao homem como aos animais, a facilidade de degradação ambiental e uma alta eficácia no controle antiparasitário (Williams, 1991).

No final da década de 90, começaram a aparecer associações de acaricidas no intuito de inibir e retardar a resistência aos compostos existentes. Combinações entre cipermetrina, clorfenvinfós, diclorvos, deltametrina, etion e outras classes foram formuladas (Jonsson e Matschoss, 1998) e estão presentes até hoje no mercado brasileiro.

Com o aparecimento de resistência cruzada entre os piretróides e os DDTs retomou-se o uso das amidinas. Que logo estimularam o desenvolvimento de novos

ativos como as lactonas macrocíclicas, as benzoilfenilureas, as spinosinas e os fenilpirazóis (Corgozinho, 2008).

As lactonas macrocíclicas, constituem, uma moderna classe que têm demonstrado atividades nematocida, acaricida e inseticida. Inicialmente isolada no Japão, em uma amostra de solo da cidade de Kawana, em 1976, produzidas a partir de secreções naturais de um actinomiceto, o *Streptomyces avermetillis*. Esta classe tem fortalecido o arsenal químico utilizado no controle de artrópodes, tanto na agricultura como na pecuária (Lasota e Dibas, 1991). A ação das avermectinas consiste em produzir uma paralisia flácida, provocada pelo bloqueio da transmissão neuro-muscular induzida pelo ácido gama-aminobutírico (GABA) (Campbell, 1981), via inibição do fluxo dos íons Cl^- para o interior da célula nervosa (Postal et al., 1995; Bobe et al., 1998; Gant et al., 1998; Aajoud et al., 2003).

Na classe das Benzoilfenilureas, o fluazuron apresenta atividade seletiva contra carrapatos (Taylor, 2001). É altamente lipofílico, liga-se a gordura, e é excretado no leite. Apresenta um tempo maior de espera para o abate e para o consumo humano, após a sua utilização (Bull et al., 1996).

As Spinosinas, representadas pelo spinosad, apresenta modo de ação único que envolve rompimento da ligação da acetilcolina aos receptores nicotínicos na célula pós-sináptica (Ware, 2000). Possui maior eficácia sobre as ninfas e as larvas em comparação com formas adultas, e proteção contra reinfestações por *R. (B.) microplus* (Davey et al., 2001).

Atualmente, no Brasil, existem populações resistentes de *R. (B.) microplus* aos organofosforados, piretróides, amidinas, lactonas macrocíclicas e, em menor grau, aos fenilpirazóis (Cid, 2012) e as benzofenilureas (Reck et al, 2014).

Sobre a classe dos Fenilpirazóis, o fipronil, seu único representante disponível até o momento, existem recentes relatos de resistência (Cuore et al., 2007; Castro-Janer et al., 2010a,b; Miller et al., 2013).

É possível verificar que a busca por novas moléculas com ação antiparasitária, na maioria das vezes, é impulsionada pelo desenvolvimento de resistência aos compostos químicos, redução da toxicidade, redução do efeito residual no ambiente, maior segurança, e menores períodos de carência para abate dos animais (Corgozinho, 2008).

Apesar do grande número de produtos disponíveis no mercado, estes não representam mais que sete classes com ação antiparasitária. Portanto, ao contrário do que se pensa, esta grande quantidade de produtos não se traduz em uma ampla variedade de opções. Com raras exceções, o mercado apresenta muitos produtos com os mesmos princípios ativos, distribuídos em poucas classes efetivamente distintas (Barros, 2005). Assim, pesquisas por novos fármacos levaram a descoberta de uma nova molécula, o Arilpirazol, que surge como uma alternativa promissora para o controle de ectoparasitos em bovinos.

2.6. Arilpirazol

De nome comum Sisapronil, pertencente a classe dos Fenilpirazóis, possui fórmula molecular $C_{15}H_6Cl_2F_8N_4$ e peso molecular 465,13 g/mol (Arilpirazol - Zoetis, Brasil).

Por ser um inseticida de “nova geração”, da mesma classe do Fipronil, acredita-se que o mecanismo de ação do Arilpirazol, também, esteja envolvido com o bloqueio da transmissão de sinal pela inibição do neurotransmissor ácido γ -aminobutírico (GABA) presente no inseto (Rough, et al., 1990). Através da ligação aos canais de cloreto, inibe o fluxo dos íons Cl^- para o interior da célula nervosa, resultando na excitação excessiva do sistema nervoso, paralisia e morte do artrópode (Postal, et al., 1995; Bobe, 1998; Gant et al., 1998; Aajoud et al., 2003).

De uso injetável, pela via subcutânea, espera-se que o Arilpirazol não sofra redução de sua persistência contra reinfestação por parasitos, devido a degradação causada pela exposição à luz solar, assim como o Fipronil (Davey et al., 1999), presente hoje no mercado somente em apresentações de uso externo. Além disso, produtos de uso tópico, são menos preferidos pelos proprietários e/ou veterinários. Tais produtos são mais expostos à ação ambiental, à remoção mecânica pela chuva, à fotólise que promove degradação e fotossensibilização na pele dos animais. Sem contar com a exposição crônica do homem aos resíduos do fármaco, nocivos ao organismo.

3. OBJETIVOS

Os experimentos aqui relatados objetivaram estudar o perfil farmacocinético em plasma bovino de uma formulação inédita contendo Arilpirazol (2,0 mg/Kg) e seus efeitos terapêutico e preventivo contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Haematobia irritans*, larvas de *Dermatobia hominis* e larvas de *Cochliomyia hominivorax*.

Como objetivos subsidiários, avaliou-se, ainda, eventuais efeitos colaterais de intoxicação sistêmica e reações adversas no local de aplicação do Arilpirazol.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em conformidade com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), respeitando as boas práticas clínicas (VICH guideline GL9, EMEA, 2000), sendo aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, FCAV/UNESP (Protocolo nº 008238/17).

Foram realizados cinco estudos clínicos para avaliar os parâmetros farmacocinéticos e as eficácias terapêutica e residual do Arilpirazol, formulação ainda não comercializada no mundo, fornecida pela Zoetis, Brasil, Saúde Animal, na dose de 1mL/50Kg (2,0 mg/kg), contra infestações naturais de *Rhipicephalus (B.) microplus*, *Haematobia irritans*, larvas de *Dermatobia hominis* e de *Cochliomyia hominivorax* (Tabela 1). Os bovinos do grupo controle foram tratados com o veículo da formulação, na dose de 1mL/50kg.

Foram incluídos apenas animais com bom estado nutricional e que não receberam qualquer tratamento ectoparasiticida e/ou endectocida nos 120 dias anteriores ao início dos estudos.

Todos foram examinados fisicamente, por um veterinário com a devida experiência, incluindo, entre outros, avaliação do local de aplicação do fármaco (região cervical).

Os bovinos foram identificados com brincos numerados, afixados à orelha esquerda e previamente vacinados contra importantes enfermidades (Febre Aftosa, Raiva e Clostridioses).

Os animais foram medicados via subcutânea, na linha média lateral do lado esquerdo do pescoço, utilizando-se técnicas de assepsia, agulha 30x12 e seringas apropriadas (3, 5 ou 10mL), de acordo com o peso corpóreo aferido, antes do tratamento (dia -1), em balança calibrada, em cada estudo.

Observações clínicas de sinais de intoxicação sistêmica e do local de aplicação foram realizadas previamente e decorridas 2, 6 e 24 horas após o tratamento, em todos os bovinos. Após esse período, foram realizadas avaliações diárias de saúde que incluíram: aspecto físico geral, comportamento e aparência da urina e das fezes, até o término dos estudos. Caso fosse constatada alguma anormalidade, o animal passaria por uma avaliação minuciosa, com coleta de material necessário para exame laboratorial (p. ex. sangue), a fim de elucidar o possível quadro clínico.

Tabela 1. Descrição dos estudos para avaliação do perfil farmacocinético da nova formulação Arilpirazol e de sua atividade contra ectoparasitos.

Número	Tipo de estudo	Parasito alvo	Número total de bovinos
I	Perfil farmacocinético	-----	08
II	Carrapaticida	<i>Rhipicephalus</i> (<i>Boophilus</i>) <i>microplus</i>	20
III	Mosquicida	<i>Haematobia irritans</i>	30
IV	Bernicida	<i>Dermatobia hominis</i> (Larvas)	20
V	Miíases escrotaais (Preventivo)	<i>Cochliomyia</i> <i>hominivorax</i> (Larvas)	30

4.1. Perfil farmacocinético - Estudo I

Para determinação do Arilpirazol em amostras de plasma sanguíneo, foram utilizados oito bovinos mestiços de 16 a 24 meses de idade (quatro machos e quatro fêmeas), pertencentes a uma propriedade situada no município de Formiga, Minas Gerais.

Amostras de sangue (10 mL em tubo contendo heparina) foram coletadas de cada animal, pela veia jugular, nos dias -14 (para confirmação de isenção do princípio ativo e seleção dos bovinos), 0 (antes do tratamento com Arilpirazol), 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70, 84, 98, 112, 126 e 140 pós-tratamento. Decorridos no máximo duas horas após as coletas, as amostras eram centrifugadas por 15 minutos a 1.200g. O plasma obtido de cada amostra foi subdividido e transferido para quatro tubos plásticos (tipo “*eppendorf*”) de 1,5mL (duplicata). Em seguida, foram acondicionadas em freezer à temperatura inferior a -20°C, até o envio para extração do ativo no laboratório TASQA Serviços Analíticos Ltda., localizado em Paulínia, São Paulo.

As amostras foram extraídas via precipitação proteica, seguida de partição líquido-líquido e purificação via ultracentrifugação e filtração. A etapa cromatográfica foi realizada via UPLC-MS/MS, utilizando cromatógrafo líquido de ultra eficiência – UPLC (Waters), espectrômetro de massas – TQD MS/MS (Waters) – LC-10 e software de gerenciamento de massas MassLynx, para detecção e quantificação de analitos. A fase móvel empregada foi água + 0,1% Ácido Fórmico e Acetonitrila + 0,1% Ácido Fórmico em um programa gradiente. Utilizou-se como faixa de linearidade obtida na etapa de validação: 1,0 a 1000,0 ng/mL⁻¹ de Arilpirazol.

Para efeito de controle de qualidade, foram analisadas amostras antes de cada conjunto, objetivando garantir as mesmas condições analíticas da etapa de validação para todas as amostras de plasma coletadas. Foram avaliados controles de qualidade nas concentrações 3,0 e 300 ng/mL⁻¹, cujo critério de aceitação foi de 85 a 115%. Para estas análises, utilizou-se o Fipronil como parâmetro interno.

Os parâmetros farmacocinéticos foram estimados utilizando técnicas não compartimentais com o software WinNonlin™ Enterprise (Modelo 200 (dosagem

extravascular, método trapezoidal linear, ponderação uniforme), Versão 5.2, Build 200701231637 (Pharsight Corporation)).

Os seguintes parâmetros foram determinados: área sob a curva de concentração plasmática versus tempo (AUC), concentração máxima alcançada pelo ativo (C_{max}), tempo para obtenção da concentração máxima (T_{max}), tempo médio de meia vida terminal ($T_{1/2}$), e o tempo que o medicamento, em média, permanece inalterado no organismo (MRT_{0-t}).

4.2. Eficácia contra *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* - Estudo II

Vinte bovinos, machos, da raça Canchim, pertencentes a uma propriedade rural do município de São João da Boa Vista, São Paulo, Brasil, com idade entre 12 e 24 meses, naturalmente infestados por *R. (B.) microplus*, foram randomizados em dois grupos (Controle/veículo e Arilpirazol), com base na média de três contagens consecutivas (dias -3, -2 e -1) de fêmeas de *R. (B.) microplus*, entre 4,5 e 8,0 mm de comprimento, presentes no lado esquerdo de cada animal (Wharton e Utech, 1970).

Os animais permaneceram juntos em pastagem de *Urochloa decumbens* durante todo o experimento. Os efeitos terapêutico e residual do composto Arilpirazol, contra *R. (B.) microplus* foram avaliados utilizando-se o mesmo critério de quantificação de partenóginas, nos dias 3, 7 e semanalmente até o 91º dia pós-tratamento (DPT).

Médias aritméticas foram utilizadas para calcular os percentuais de eficácia da formulação Arilpirazol, em cada data de contagem de carrapatos, segundo Gonzales et al., (1993):

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

Em que:

Ta = número médio de partenóginas contadas nos animais tratados após a medicação;

Tb = número médio de partenóginas contadas nos animais tratados nos três dias anteriores ao tratamento;

Ca = número médio de partenóginas contadas nos animais controle no período após início do experimento;

Cb = número médio de partenóginas contadas nos animais controle nos três dias anteriores ao tratamento.

4.3. Eficácia contra *Haematobia irritans* - Estudo III

O estudo foi conduzido no município de Araçatuba, São Paulo, Brasil. Para tal, foram selecionados 30 bovinos mestiços, machos, com idade entre 14 e 24 meses, infestados naturalmente por *H. irritans* (“mosca-dos-chifres”).

Os animais foram randomizados em dois grupos (Controle/veículo e Arilpirazol), com base na média de duas contagens consecutivas (dias -2 e -1) de moscas presentes em toda a superfície corpórea de cada animal. Os bovinos, ordenados em ordem decrescente, de acordo com as quantificações de moscas, foram distribuídos em 15 blocos de dois animais cada, e dentro de cada bloco, aleatoriamente alocados aos grupos experimentais. Após tratamento (dia zero), tais grupos, permaneceram durante todo estudo, em piquetes cultivados por *U. decumbens*, separados por uma distância de 5km.

Para avaliar os índices de eficácias terapêutica e residual da nova molécula (Arilpirazol), contagens de *H. irritans* foram realizadas nos dias 3, 7, 14, 21, 28 e 35 pós-tratamento. Tais contagens foram efetuadas, por duas pessoas situadas uma de cada lado do animal, sempre entre 7 e 10 horas da manhã, conforme recomendado por Maciel et al., (2015).

Para o cálculo dos percentuais de eficácia, em cada data de contagem, foi utilizada a fórmula descrita por Amaral (1993), adaptada de Roulston et al., (1968):

$$\text{Percentual de Eficácia} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

Em que:

a: número médio de *H. irritans* no grupo controle.

b: número médio de *H. irritans* no grupo tratado.

4.4. Eficácia contra larvas de *Dermatobia hominis* - Estudo IV

Foram utilizados 20 bovinos mestiços, machos, com idade entre 12 e 24 meses, pertencentes a uma propriedade localizada no município de Formiga, Minas Gerais, Brasil. Os animais permaneceram juntos no mesmo piquete, formado por *U. decumbens*, durante todo o estudo.

Nos dias -2 e -1 foram realizadas contagens de nódulo contendo larvas vivas de *D. hominis* (berne) presentes em todo o corpo de cada animal, mediante leve compressão dos mesmos (inspeção táctil-visual). No dia zero, anterior à medicação, os 20 animais selecionados foram randomicamente distribuídos nos grupos de tratamentos (controle/veículo e Arilpirazol), de acordo com as médias das contagens de larvas vivas de *D. hominis*.

Para avaliar a eficácia terapêutica, como a residual, da formulação, foram realizadas quantificações de larvas vivas de *D. hominis*, nos dias 3, 7, 14 e a cada sete dias, até o 84º dia pós-tratamento.

Os resultados (médias) das contagens foram utilizados para o cálculo dos percentuais de eficácia do Arilpirazol, em cada data de contagem, utilizando-se a fórmula descrita por Amaral (1993), adaptada de Roulston et al., (1968):

$$\text{Percentual de Eficácia} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

Em que:

a: número médio de larvas vivas de *D. hominis* no grupo controle.

b: número médio de larvas vivas de *D. hominis* no grupo tratado.

4.5. Eficácia preventiva contra larvas de *Cochliomyia hominivorax* - Estudo V

A eficácia preventiva do Arilpirazol foi avaliada contra larvas de *Cochliomyia hominivorax* (miíases) em bolsas escrotais de bovinos orquiectomizados, mantidos em uma propriedade situada no município de Formiga, Minas Gerais.

Trinta animais adultos foram selecionados e randomizados, com base no peso corporal, em dois grupos de 15 bovinos cada (Controle/veículo e Arilpirazol).

Todos foram orquiectomizados após leve sedação com Cloridrato de Xilazina 2% (1mL/100kg), seguido da aplicação de 5mL de Xylocaína 2%, como anestésico local, na região percutânea do cordão espermático e na base distal da bolsa escrotal (“tampa”). Após incisão da bolsa, realizou-se o processo de orquiectomia dos 30 animais pelo método cruento (Hendrickson, 2010). O tratamento foi realizado imediatamente após o procedimento.

As lesões escrotais foram cuidadosamente examinadas, diariamente, do 1º até o 15º dia pós-castração, quanto à presença/ausência de massas de ovos e/ou de larvas de *C. hominivorax* (miíases) para verificar a ação preventiva do Arilpirazol.

Os percentuais de eficácia em cada data de avaliação, foram calculados utilizando a fórmula descrita por Amaral (1993), adaptada de Roulston et al., (1968):

$$\text{Eficácia} = \frac{\text{miíases ativas no grupo controle} - \text{miíases ativas no grupo tratado}}{\text{miíases ativas no grupo controle}} \times 100$$

Após o término do estudo, todos os animais do grupo controle foram medicados e acompanhados diariamente, até o 23º dia pós-orquiectomia/tratamento, quando ocorreu a completa cicatrização das lesões escrotais.

4.6. Análise estatística

Os parâmetros farmacocinéticos (Estudo I) foram determinados com base nas curvas de concentração plasmática do Arilpirazol *versus* tempo (140 dias) obtidas por UPLC-MS/MS, empregando o programa WinNonlin (versão 5.2, Pharsight Corporation), método não-compartmental.

Os resultados das quantificações dos parasitos; *R. (B.) microplus*, *H. irritans*, larvas de *D. hominis* e de *C. hominivorax* (Estudos II a V), foram analisados utilizando-se a metodologia proposta por Little e Hills (1978), ou seja, os dados de cada estudo foram transformados em log (x+1) e analisados por um modelo linear misto para medidas repetidas. Tal modelo incluiu os efeitos fixados para os tratamentos, dia do estudo e suas interações (SAS V9.1). Os efeitos da randomização incluíram o bloco, interações entre estes e o tratamento. Diferenças entre os tratamentos foram avaliadas ao nível de significância de 5% ($P \leq 0,05$).

5. RESULTADOS

Nenhum sinal clínico de intoxicação sistêmica ou de reação no local de aplicação foi observado nos animais antes e/ou após a administração dos tratamentos.

Na Tabela 2 estão registrados os valores individuais, em duplicata, da concentração plasmática de Arilpirazol. Pode-se observar que todas as amostras pré-doses apresentaram resultados inferiores ao limite de detecção ($LD = 0,3$ ng/mL). Na última data de coleta (D140), sete animais ainda apresentavam concentrações mensuráveis de Arilpirazol maiores que o limite mínimo de quantificação ($LQ = 1,0$ ng/mL).

Arilpirazol atingiu a circulação rapidamente um dia após o tratamento, em sete dos oito bovinos, apresentou seus maiores níveis de concentração plasmática entre o 12° e o 16° DPT e foi lentamente eliminado até o 140° DPT (Figura 1).

Na Tabela 3 temos a síntese dos valores médios encontrados para os parâmetros farmacocinéticos avaliados, foram necessários 15,8 dias (T_{max}) para que o fármaco atingisse o pico de concentração plasmática de 74,8 ng/mL (C_{max}). Ainda, observa-se que o tempo de meia vida terminal ($T_{1/2}$) foi de 23,0 dias, o MRT_{0-t} alcançou 48,3 dias, e a área sob a curva de concentração plasmática pelo tempo foi de 3950,0 ng.d/mL (AUC).

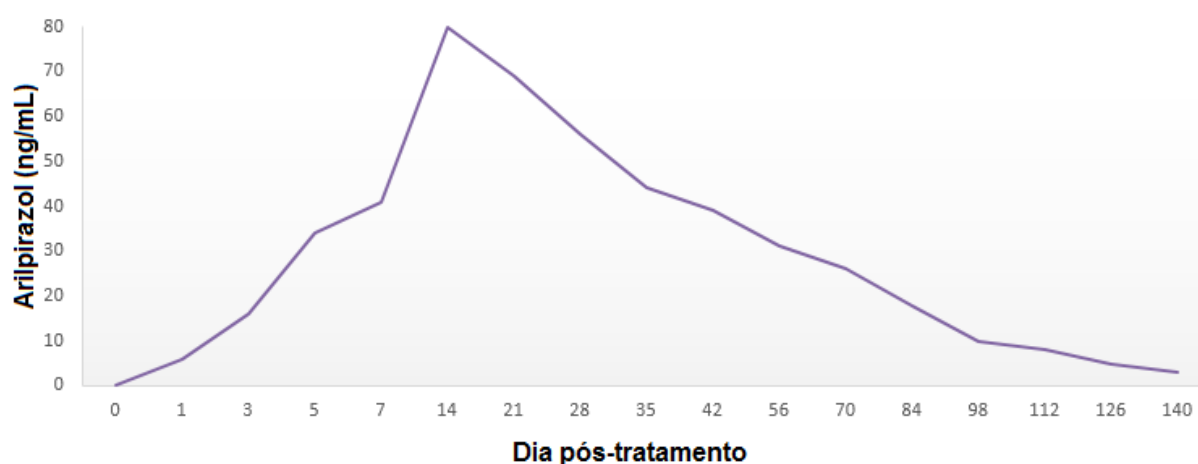


Figura 1. Curva de concentração média plasmática (n=8) do Arilpirazol (2,0 mg/kg), administrado via subcutânea em bovinos (Estudo I).

Tabela 3. Parâmetros farmacocinéticos do Arilpirazol, em bovinos, após administração subcutânea de 2mg/kg de peso corporal.

Parâmetro	Valor médio
AUC (ng.d/mL)	3950,0
C _{max} (ng/mL)	74,8
T _{max} (d)	15,8
T _{1/2} (d)	23,0
MRT _{0-t} (d)	48,3

Tabela 2. Valores individuais em duplicata, da concentração plasmática de Arilpirazol (ng/mL) em bovinos mestiços (Estudo I).

Animal	Dia pós-tratamento / Concentração plasmática de Arilpirazol (ng/mL)																
	0	1	3	5	7	14	21	28	35	42	56	70	84	98	112	126	140
01	<LD	3,61	9,07	19,04	28,51	61,15	58,83	50,44	42,16	34,17	26,60	30,00	17,80	12,40	13,81	9,27	5,77
01	<LD	4,35	7,09	18,42	25,66	53,81	56,18	47,32	42,98	33,45	34,30	33,10	22,30	10,80	13,86	8,16	6,77
02	<LD	3,94	12,44	28,49	33,60	38,34	40,96	36,29	33,48	28,01	33,90	26,80	16,80	11,50	9,74	6,44	3,98
02	<LD	3,07	10,84	24,85	31,49	37,05	41,28	34,23	34,29	27,94	30,90	27,50	18,60	12,10	8,94	6,29	3,84
03	<LD	12,84	35,58	43,51	46,94	73,19	66,69	63,50	45,28	38,91	35,60	30,60	18,10	9,90	7,56	3,67	2,31
03	<LD	13,42	36,33	36,83	47,54	68,94	63,69	65,92	47,68	36,77	33,30	25,00	15,70	9,00	6,70	3,68	1,99
04	<LD	6,46	24,73	53,94	65,21	122,99	97,15	78,59	58,43	47,25	31,40	19,80	13,00	6,70	5,52	2,50	1,96
04	<LD	6,21	24,97	50,83	61,36	117,86	93,53	75,43	59,69	51,75	29,90	19,10	12,30	6,20	5,13	2,93	2,15
05	<LD	11,06	30,50	41,61	52,40	70,89	63,59	52,34	44,20	41,09	32,90	27,60	23,20	16,00	9,88	6,01	2,72
05	<LD	10,03	28,10	38,47	48,93	67,88	60,45	52,65	43,17	41,16	35,70	30,30	26,40	13,30	9,32	5,82	3,65
06	<LD	6,99	13,66	23,40	32,17	64,33	48,03	52,19	37,35	44,66	31,30	31,40	23,80	13,10	9,12	6,11	3,58
06	<LD	6,85	14,86	26,00	31,96	64,78	48,60	48,21	38,35	41,42	32,50	32,30	23,90	13,00	7,54	6,96	3,37
07	<LD	3,08	7,58	18,19	23,98	82,45	76,46	58,70	42,69	40,50	31,10	32,40	18,90	10,00	8,76	5,41	3,90
07	<LD	2,85	8,19	18,83	22,55	74,11	78,83	61,02	45,61	40,93	31,30	28,50	21,90	11,70	8,82	5,37	5,02
08	<LD	<LD	12,10	50,06	54,12	140,26	101,48	57,86	42,85	35,27	19,60	15,10	7,50	5,00	3,85	1,35	<LQ
08	<LD	<LD	12,33	47,30	52,01	136,32	105,98	60,17	41,93	35,11	20,60	15,10	7,50	5,50	2,93	1,17	<LQ

LD = 0,3 ng/mL

LQ = 1,0 ng/mL

No momento (D14) das avaliações das infestações pelos ectoparasitos, acerca da concentração máxima média plasmática de Arilpirazol ($C_{\max} = 74,8$ ng/mL) com 15,8 dias ($T_{\max}$), foram registrados os menores índices de parasitismo, exceto para *H. irritans* (Figura 2).

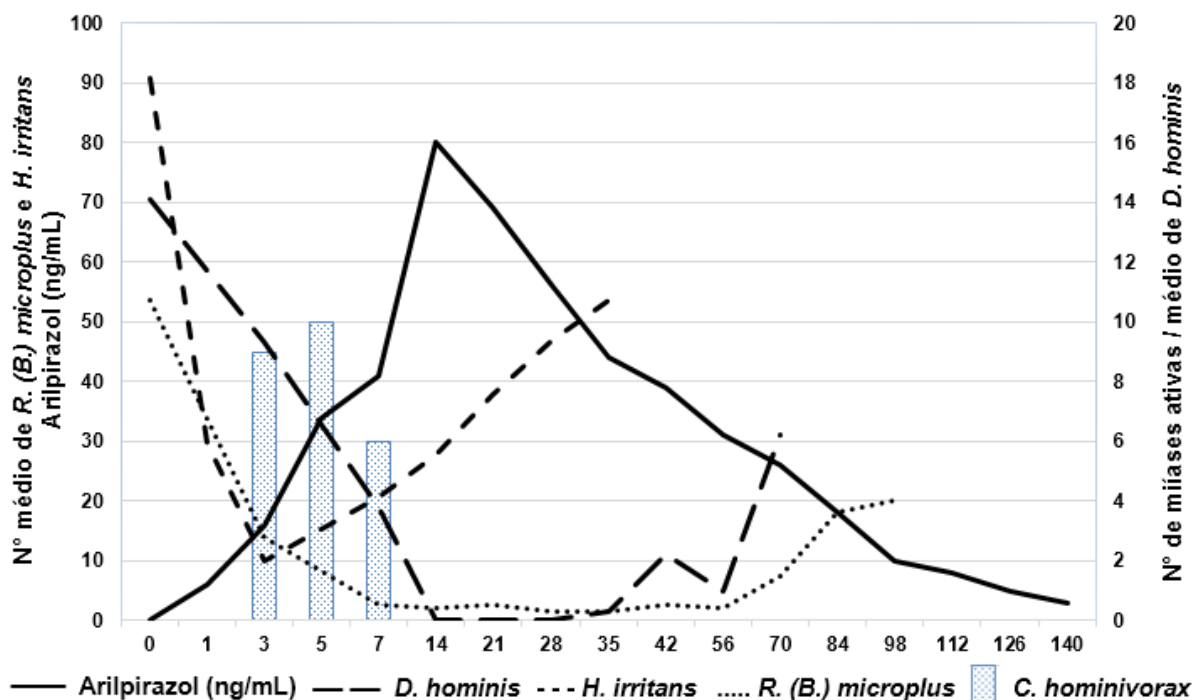


Figura 2. Comparação entre a curva de concentração plasmática de Arilpirazol e os números médios de *R. (B.) microplus*, *H. irritans*, *D. hominis* e de míases ativas de *C. hominivorax*, nos bovinos medicados, via subcutânea, com 2,0 mg/kg.

Durante as observações gerais de saúde dos animais pós-tratamento, verificou-se no estudo de eficácia contra *R. (B.) microplus*, em alguns animais do grupo controle, a presença de elevado parasitismo por *R. (B.) microplus*, o qual foi motivo para remoção e tratamento de um animal (03) no 84ºDPT com produto carrapaticida de conhecida eficácia, conforme pode ser observado na Tabela 4, que registra as quantificações de partenóginas. Este elevado parasitismo favoreceu a ocorrência de larvas de *Cocliomyia hominivorax* (“míases”). Cada vez que isto acontecia, os animais recebiam tratamento local que constituiu na remoção das larvas e aplicação tópica de iodo 5%. Por outro lado, nos bovinos medicados com Arilpirazol, ocorreu uma redução significativa ($P \leq 0,05$) das contagens médias de

fêmeas de *R. (B.) microplus*, em todas as datas de contagens pós-tratamento (3º ao 91º DPT). Os níveis de eficácia anti-ixodídica foram superiores a 95,00% do 7º ao 56º DPT, mantiveram-se acima de 90% até o 63ºDPT e, em seguida, reduziram até o 91º DPT (43,93%), conforme pode ser observado na Tabela 5. Na Figura 3 estão ilustradas as análises estatísticas.

Tabela 4. Contagens de fêmeas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (entre 4,5 e 8,0 mm de comprimento) presentes no lado esquerdo de bovinos dos grupos controle e tratado com Arilpirazol. Médias aritméticas (Estudo II).

Número do bovino	Grupo	Número de fêmeas de <i>R. (B.) microplus</i> / Dias pós-tratamento (DPT)														
		0*	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70	77	84	91
01	Controle	24,7	44	56	51	43	37	39	23	17	23	20	25	29	18	13
02		54,0	82	112	89	98	77	61	39	25	45	49	63	71	40	32
03		67,0	88	81	96	129	101	99	123	181	123	190	215	175	223	NR
04		38,3	53	102	78	71	61	65	39	21	18	34	30	31	45	42
05		64,0	84	108	99	88	90	69	69	56	51	68	102	90	64	51
06		44,0	27	35	31	38	30	34	31	32	28	30	36	39	39	29
07		73,3	92	104	97	85	65	71	67	34	43	40	44	51	49	52
08		93,0	101	98	116	89	88	91	69	55	61	61	76	81	42	43
09		48,0	46	44	41	37	33	35	15	15	19	27	39	29	15	16
10		34,3	50	67	82	79	70	79	60	68	58	65	62	70	41	45
	Total	541	667	807	780	757	652	643	535	504	469	584	692	666	576	323
	Média	54,0	66,7	80,7	78,0	75,7	65,2	64,3	53,5	50,4	46,9	58,4	69,2	66,6	57,6	35,8
01	Arilpirazol	46,7	38	4	4	0	0	2	2	0	0	0	0	1	5	8
02		46,0	17	3	6	1	1	0	3	0	0	0	0	0	3	5
03		37,0	9	4	2	2	1	1	3	5	2	0	0	0	9	13
04		66,3	23	1	0	0	0	2	1	0	1	0	0	7	2	7
05		77,0	21	2	0	2	1	3	0	3	2	1	0	0	0	3
06		86,0	16	5	3	6	2	2	7	8	8	23	43	67	78	67
07		64,0	6	0	1	0	0	1	1	0	0	0	9	17	29	28
08		53,0	4	2	0	6	2	0	0	0	1	0	9	12	24	27
09		33,3	3	3	4	5	4	1	5	6	5	3	10	38	25	35
10		28,0	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3	2	13	5	7
	Total	537	139	26	22	25	14	15	25	25	22	30	73	155	180	200
	Média	53,7	13,9	2,6	2,2	2,5	1,4	1,5	2,5	2,5	2,2	3,0	7,3	15,5	18,0	20,0

*0 = média das contagens nos dias -3, -2 e -1.

NR = Não realizado

Tabela 5. Resultados estatísticos das contagens de fêmeas de *R. (B.) microplus* presentes em bovinos naturalmente infestados, pertencentes aos grupos controle e tratado; percentuais de eficácia (Estudo II).

Dia pós-tratamento	Grupos Experimentais / Média** = $[\sum \log(x+1)]/n$		Eficácia (%)
	GI: Controle (Veículo)	GII: Arilpirazol	
0*	3,94337 A	3,94510 A	-
3	4,14175 A	2,39991 B	79,03
7	4,33620 A	1,17722 B	96,76
14	4,29698 A	0,94415 B	97,16
21	4,26495 A	0,99602 B	96,68
28	4,11586 A	0,72724 B	97,84
35	4,11787 A	0,81479 B	97,65
42	3,84418 A	1,05150 B	95,30
49	3,65705 A	0,87075 B	95,01
56	3,70745 A	0,89588 B	95,28
63	3,87948 A	0,66438 B	94,83
70	4,04544 A	1,18859 B	89,39
77	4,05357 A	1,87500 B	76,58
84	3,79450 A	2,26186 B	68,56
91	3,51839 A	2,66757 B	43,93

* Médias das contagens entre os dias -3, -2 e -1.

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

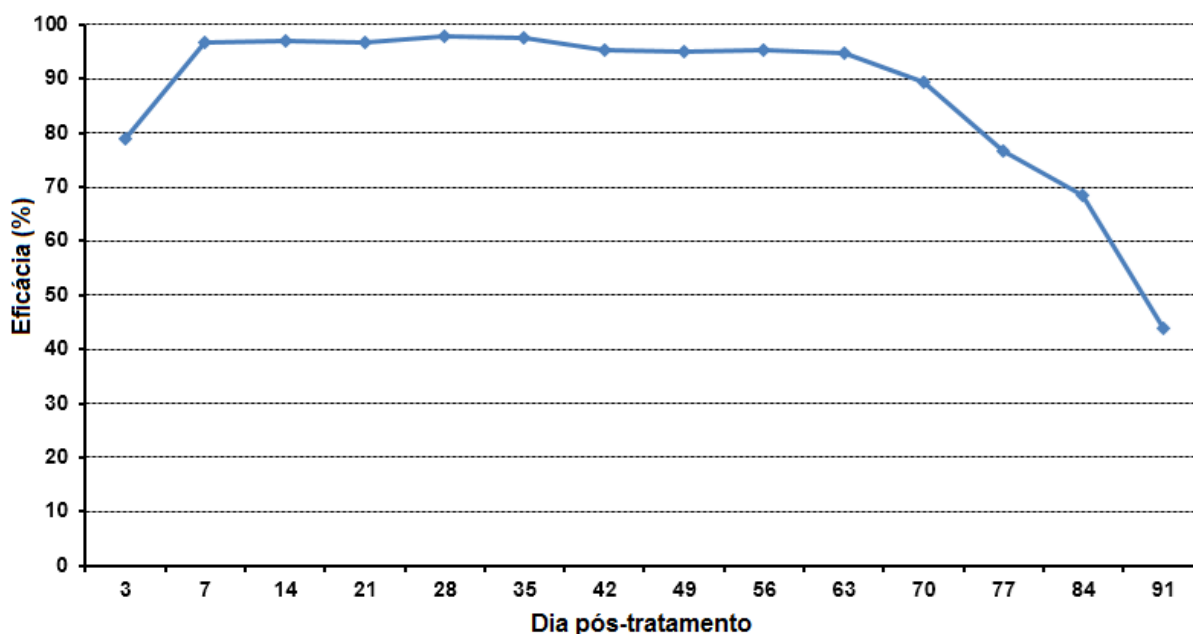


Figura 3. Percentuais de eficácia do Arilpirazol contra *R. (B.) microplus*, parasitando bovinos naturalmente infestados. Médias aritméticas (Estudo II).

Com base nos resultados estatísticos, expressos na Tabela 6 e ilustrados na Figura 4, pode-se inferir que a formulação contendo Arilpirazol reduziu significativamente ($P \leq 0,05$) as contagens de *H. irritans*, em relação ao grupo controle, do 1º ao 35º DPT, alcançando eficácia mosquicida máxima de 89,73% no 3º DPT. No 7º e 14º DPT os índices de eficácia contra *H. irritans* alcançados pela nova formulação foram de 83,18% e 78,97%, respectivamente. Posteriormente, os valores de eficácia decresceram, atingindo 70,69%, 61,38% e 56,52% no 21º, 28º e 35º DPT, respectivamente.

Na avaliação contra larvas de *D. hominis* (Tabela 7), os bovinos medicados com Arilpirazol apresentaram contagens de nódulos larvados estatisticamente inferiores ($P \leq 0,05$) às do grupo controle em todas as datas experimentais pós-tratamento (3º ao 84º DPT). Com base nos registros referentes aos percentuais de eficácia do composto avaliado (Figura 5), observa-se que o Arilpirazol foi capaz de superar em oito datas experimentais (14º ao 63º DPT), o índice de 90,00%, alcançando eficácia máxima bernicida (100,00%) em três datas experimentais (14º, 21º e 28º DPT).

Tabela 6. Resultados estatísticos das quantificações de *H. irritans* presentes em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado (Arilpirazol); índices de eficácia (Estudo III).

Dia pós-tratamento	Grupos Experimentais / Média** = $[\sum \log(x+1)]/n$		Eficácia (%)
	GI: Controle (Veículo)	GII: Arilpirazol	
0*	4,477282638 A	4,471093255 A	-
1	4,524710714 A	3,366700213 B	68,58
3	4,54676475 A	2,222344961 B	89,73
7	4,733707009 A	3,003395692 B	83,18
14	4,803158551 A	3,30397036 B	78,97
21	4,806363074 A	3,628144058 B	70,69
28	4,759313609 A	3,847332809 B	61,38
35	4,7727955 A	3,977990836 B	56,52

* Médias das contagens entre os dias -2 e -1;

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

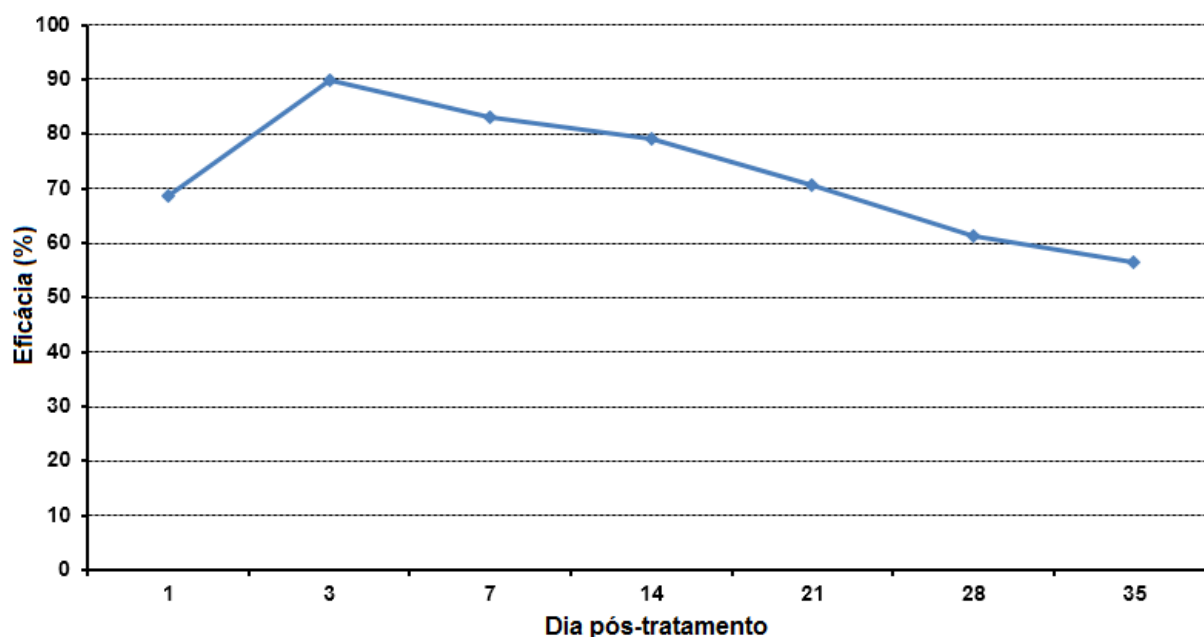


Figura 4. Percentuais de eficácia do Arilpirazol contra *H. irritans* em bovinos naturalmente infestados, médias aritméticas (Estudo III).

Tabela 7. Estatística das contagens de larvas vivas de *D. hominis* presentes em bovinos pertencentes aos grupos controle e tratado (Arilpirazol); percentuais de eficácia (Estudo IV).

Dias pós-tratamento	Grupos Experimentais /Média** = $[\sum \log(x+1)]/n$				Eficácia (%)
	GI: Controle (Veículo)		GII: Arilpirazol		
0*	2,688952091	A	2,679782281	A	-
3	2,646940399	A	2,242868281	B	35,78
7	2,612360209	A	1,427773412	B	74,91
14	2,425691195	A		0 B	100,00
21	2,570774483	A		0 B	100,00
28	2,557256454	A		0 B	100,00
35	2,558141882	A	0,207944154	B	98,06
42	3,171834333	A	1,114359941	B	91,04
49	3,787612218	A	0,566296048	B	98,23
56	3,846607993	A	0,606842559	B	98,18
63	3,802241467	A	1,440329722	B	92,64
70	3,829009692	A	1,962038718	B	86,42
77	3,809593221	A	2,338841188	B	78,77
84	3,670482823	A	2,704401654	B	63,56

* Médias das contagens entre os dias -2 e -1;

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

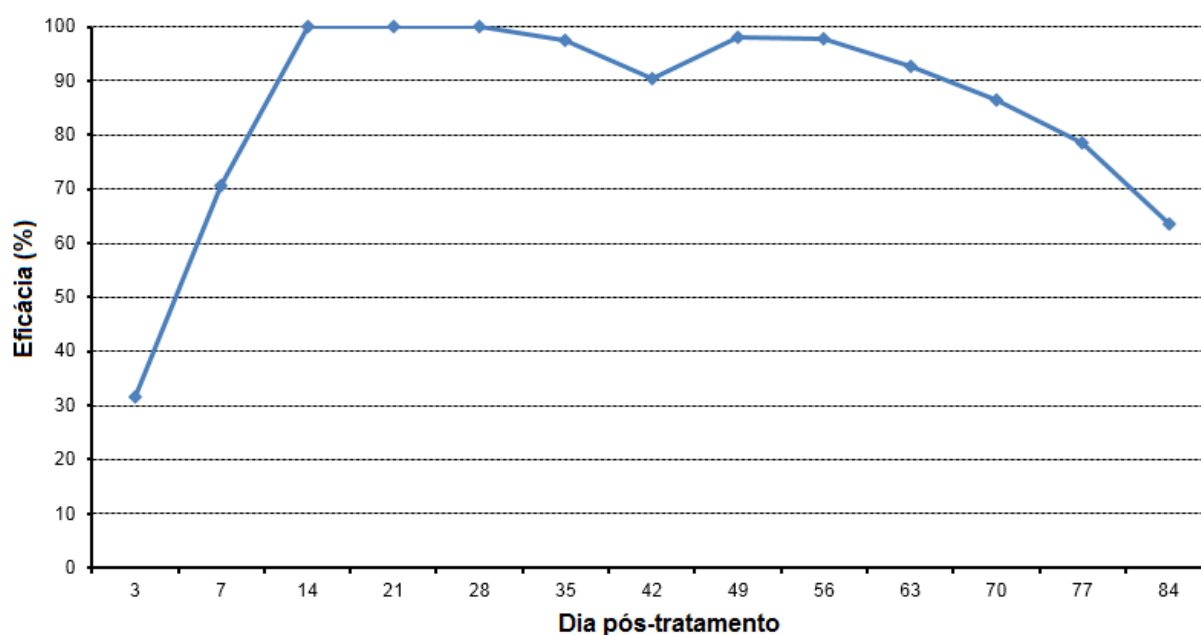


Figura 5. Percentuais de eficácia do Arilpirazol contra larvas de *D. hominis* em bovinos naturalmente infestados, médias aritméticas (Estudo IV).

O estudo clínico referente à atividade profilática contra larvas de *C. hominivorax* (Tabela 8) revelou que o Arilpirazol, na dose e via de administração utilizadas, não impediu a deposição de massas de ovos de califorídeos nas bordas das lesões escrotais. A presença de larvas ativas de *C. hominivorax* no grupo controle foi constatada do 2º ao 15º DPT. Por outro lado no grupo tratado, a presença de larvas foi diagnosticada somente até o 9º dia pós-tratamento. Os números totais de míases ativas no grupo medicado com Arilpirazol foram significativamente ($P \leq 0,05$) inferiores aos registrados no grupo controle do 5º ao 15º DPT. Os índices de eficácia mantiveram-se crescentes do 3º (25,00%) ao 10º DPT, data em que o Arilpirazol alcançou 100,00% de eficácia, ou seja, preveniu totalmente o aparecimento de míases nas bolsas escrotais orquiectomizadas (Figura 6).

Tabela 8. Análise estatística referente ao número de miíases ativas (larvas de *Cochliomua hominivorax*) presentes em bovinos orquiectomizados, pertencentes aos grupos controle e tratado (Arilpirazol); percentuais de eficácia (Estudo V).

Dias pós- tratamento	Grupos Experimentais / Total de miíases ativas*						Eficácia (%)
	GI: Controle (Veículo)			GII: Arilpirazol			
	Postura	Larvas		Postura	Larvas		
1	4	0	A	8	0	A	-
2	11	4	A	11	8	A	0,00
3	12	12	A	8	9	A	25,00
4	10	14	A	9	10	A	28,57
5	4	15	A	5	10	B	33,33
6	0	15	A	4	8	B	46,67
7	0	15	A	3	6	B	60,00
8	1	15	A	4	1	B	93,33
9	1	15	A	1	2	B	86,67
10	2	15	A	2	0	B	100,00
11	2	15	A	1	0	B	100,00
12	2	15	A	0	0	B	100,00
13	3	15	A	0	0	B	100,00
14	1	15	A	0	0	B	100,00
15	1	15	A	0	0	B	100,00

*Valores de larvas seguidos pela mesma letra na linha não diferem entre si ($P>0,05$).

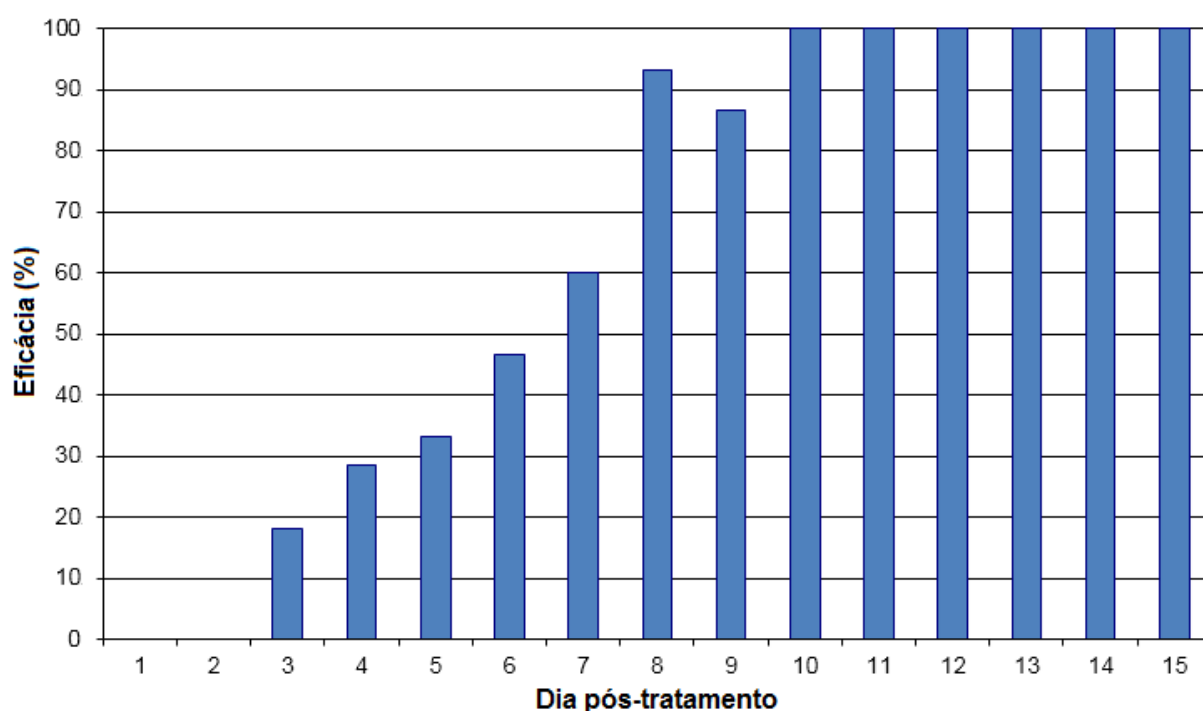


Figura 6. Percentuais de eficácia do Arilpirazol na prevenção de miíase em bolsa escrotais de bovinos orquiectomizados, expostos à infestação natural por larvas de *C. hominivorax*, médias aritméticas (Estudo V).

6. DISCUSSÃO

O inédito princípio ativo Arilpirazol, pertencente à família dos Fenilpirazóis, surge como uma nova alternativa para o controle dos ectoparasitos de bovinos, visto que há vários relatos de resistência de seu único representante utilizado na veterinária (Fipronil). Introduzido na bovinocultura em meados da década de 90 (Cole et al., 1993), após anos de uso como potente ectoparasiticida (Davey et al., 1998; Guglielmone et al., 2000; Alberti et al., 2001), os primeiros relatos de resistência do *R. (B.) microplus* ao Fipronil surgiram no Uruguai e no Sul do Brasil (Cuore et al., 2007; Castro-Janer et al., 2010a, b, 2011) e posteriormente no México (Miller et al., 2013).

Nos quatro estudos conduzidos, a nova formulação contendo Arilpirazol proporcionou contagens de ectoparasitos estatisticamente inferiores ($P \leq 0,05$) às dos grupos controles. O estudo farmacocinético realizado comprovou um longo período de distribuição plasmática do Arilpirazol, sem evidência de sinal clínico de intoxicação sistêmica ou de reação no local de aplicação.

O método utilizado para determinação dos parâmetros farmacocinéticos mostrou-se específico e seletivo para analisar o princípio ativo em questão. A partir dos resultados obtidos, pode-se inferir que o Arilpirazol, administrado pela via subcutânea, na dose de 2,0 mg/kg, atingiu a circulação sanguínea rapidamente com quantificação plasmática um dia após a sua administração, apresentando notável concentração média plasmática com 15,8 dias (T_{max}) de 74,8 ng/mL (C_{max}), sendo em seguida lentamente eliminado, demonstrando, portanto, longo tempo de ação com níveis plasmáticos quantificáveis até o 140° DPT. Tempo muito superior ao encontrado por Cid (2012), em estudo semelhante com Fipronil, aplicado pela via subcutânea, na dose de 1,0 mg/kg em bovinos, o qual detectou níveis plasmáticos quantificáveis no sangue por até 21 dias após o tratamento, com registro de pico plasmático (C_{max} = 378,06 ng/mL) superior ao Arilpirazol (2,0 mg/kg) 10 horas (T_{max}) após a administração e diminuição drástica a níveis aproximados de 50 ng/mL, decorridas 24 horas do tratamento.

Os níveis plasmáticos encontrados para o Arilpirazol são similares aos obtidos por Lopes et al. (2017) em estudo sobre a concentração plasmática de

Fipronil 1,25 mg/kg + Fluazuron 2,5 mg/kg, administrados via tópica (“pour-on”), os quais observaram uma concentração média plasmática máxima de 73,7 ng/mL (Cmax) para o Fipronil, 2,5 dias após a sua administração.

Os elevados níveis plasmáticos quantificados no sangue até o 140° DPT sinalizam que o Arilpirazol certamente não poderá ser empregado em vacas em lactação.

Por ser uma molécula inédita, a ausência de estudos na literatura com o princípio ativo em questão, impossibilitou uma discussão mais profunda dos resultados encontrados.

Contra infestações por *R. (B.) microplus*, os níveis médios de eficácia anti-ixodídica do Arilpirazol foram superiores a 90,00% do 7º ao 63º dia pós-tratamento. Os resultados encontrados neste estudo são superiores aos relatados por Davey et al. (1998), utilizando Fipronil 1,0 mg/kg, em bovinos artificialmente infestados por *R. (B.) microplus*. Estes autores diagnosticaram eficácia superior a 90% somente até 56 dias pós-tratamento, fato não observado utilizando concentrações de Fipronil inferiores a 1% no mesmo estudo. Utilizando a mesma metodologia em animais infestados artificialmente, Cuore et al. (2007) relataram percentuais de eficácias superiores a 90% para Fipronil, na dose de 1,0mg/kg, durante 21 dias pós-tratamento, tempo de ação inferior ao encontrado, utilizando Arilpirazol.

Estes resultados sugerem que em propriedades com problemas de *R. (B.) microplus* resistentes ao Fipronil, os intervalos de tratamento dos animais podem ser prolongados até 63 dias, quando da disponibilidade de Arilpirazol, possibilitando, assim, que um número menor de carrapatos complete o ciclo de vida. Entretanto, estudos comparativos com o Fipronil em uma mesma população de parasitos devem ser realizados.

O composto Arilpirazol também foi capaz de reduzir significativamente as infestações de *H. irritans*, alcançando eficácia mosquicida máxima de 89,73% no 3º DPT, decrescendo até atingir 56,52%, no 35º DPT. Estes resultados são compatíveis com outros observados na literatura. Entretanto, diferem substancialmente da elevada redução das infestações na primeira semana após o tratamento com Fipronil 1% “pour-on”, Bianchin et al., (1997) verificaram eficácia de 100,00% na primeira semana e uma redução para 62,00% no 35º DPT, assim como

Barros et al., (2014) observaram 98,80% de eficácia no 3° DPT e uma redução a partir da segunda semana (78,97%). Portanto, os resultados com o Arilpirazol foram inferiores aos obtidos pelos autores supracitados. Outros ensaios devem ser conduzidos para uma comprovação definitiva do Arilpirazol contra *H. irritans*, inclusive com determinação da concentração de Arilpirazol nas fezes, o que possivelmente favoreceria o controle das larvas de *H. irritans* no ponto crítico do seu desenvolvimento.

Contra larvas de *D. hominis*, o Arilpirazol demonstrou ser uma alternativa eficaz no controle deste ectoparasito, visto que superou em oito datas experimentais (14° ao 63° DPT), a eficácia mínima de 90,00%. Eficácia máxima (100,00%) foi detectada em três datas (14°, 21° e 28° DPT). Resultados semelhantes também foram encontrados por Moya-Borja e Salani (1997a), que avaliaram a eficácia do Fipronil 1,0 mg/kg “pour-on” no controle das infestações naturais das larvas de *D. hominis* em bovinos. Os autores observaram mortalidade de 98,7% das larvas no 1° DPT, e de 100% no 14° DPT.

No estudo contra larvas de *C. hominivorax*, foi verificado que, tanto nos animais tratados com Arilpirazol, como naqueles do grupo controle, ocorreram massas de ovos nas feridas escrotais. Entretanto, no grupo tratado, os ovos apresentaram-se inviáveis, à semelhança do estudo realizado por Barros e Vazquez (2004), utilizando Fipronil 1% “pour-on”, simultaneamente à castração. A inédita formulação apresentou taxa de eficácia larvicida crescente do 6° (46,67%) ao 10° DPT, data em que alcançou 100,00% de eficácia. Resultados semelhantes foram obtidos por Moya-Borja e Salani (1997b) com Fipronil 1% via tópica. No estudo foi observado eficácia máxima de 96,60% na prevenção de miíases escrotais em bovinos. Resultados similares também foram encontrados por Lima et al., (2004), com Fipronil 1% tópico, os quais verificaram 95,00% de eficácia e proteção parcial até o 21° (66,60%) e 28° DPT (50,00%). Barros e Vazquez (2004) obtiveram 95% de eficácia por cerca de 17 dias após a castração.

Apesar dos resultados promissores obtidos com a utilização do Arilpirazol, novos estudos devem ser conduzidos, sobretudo, quanto à toxicidade e ao período de carência (carne e leite).

7. CONCLUSÕES

Arilpirazol, administrado pela via subcutânea, na dose de 1mL/50kg (2,0 mg/kg), além de longo período plasmático, com pico médio de 74,8 ng/mL (C_{max}) com 15,8 dias (T_{max}), apresentou-se, ainda, como um fármaco eficaz contra *R. (B.) microplus*, *H. irritans*, *D. hominis* (larvas) e *C. hominivorax* (larvas). Constitui, portanto, uma alternativa terapêutica inédita e promissora, destinada ao controle de parasitos externos de bovinos.

8. REFERÊNCIAS

- AAJOUD, A.; RAVANEL, P.; TISSUT, M. Fipronil metabolism and dissipation in a simplified aquatic ecosystem. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 1347- 1352, 2003.
- ALBERTI, H.; ALBERTI, A. L. L.; RINALDI, P. L. F.; LAMBERTI, D. D. G. Avaliação da eficácia do fipronil e da deltametrina, formulação “pour-on”, no controle da *Haematobia irritans*, parasitando bovinos em regime de campo, na região oeste do estado de São Paulo. **A Hora Veterinária**, v. 221, p. 12–13, 2001.
- ALVES-BRANCO, F. P. J.; ECHEVARRIA, F. A. M.; SIQUEIRA, A. S. **Garça vaqueira (*Egretta íbis*) e o controle biológico do carrapato (*Boophilus microplus*)**. Bagé, (Comunicado Técnico, 1). EMBRAPA-UEPAE, 4p., 1983.
- AMARAL N. K. Guidelines for the evaluation of ixodidicides against the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 2, p. 144-151, 1993.
- AMARAL, N. K.; DELL PORTO, A.; BRESSAN, M. C. R. V. Anotações, observações e comentários sobre o Simpósio Internacional da Mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*). **A Hora Veterinária**, v. 63, p. 19-24, 1991.
- ANDERSEN, E. H. Control of *Dermatobia hominis* in Central America. **Veterinary Record**, v. 74, p. 784-787, 1962.
- ANZIANI, O. S.; GUGLIELMONE, A. A.; SCHMID, H. Efficacy of dicyclanil in the prevention of screwworm infestation (*Cochliomyia hominivorax*) in cattle castration wounds. **Veterinary Parasitology**, v. 76, p. 229–232, 1998.

ATHANASSOF, N. **Manual do Criador de Bovinos**. 5. ed. São Paulo: Melhoramentos, 1953.

BARNES, E. H.; DOBSON, R. J.; BARGER, I. A. Worm control and anthelmintic resistance: adventures with a model. **Parasitology Today**, v. 11, p. 56-63, 1995.

BARROS, A. T. M. Desenvolvimento de *Haematobia irritans* em massas fecais de bovinos mantidas em laboratório. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 2, p. 217- 221, 2002.

BARROS, A. T. M. **Aspectos do controle da mosca-dos-chifres e manejo de resistência**. Corumbá: Embrapa Pantanal, v.1, 23p., 2005.

BARROS, A. T. M.; GUGLIELMONE, A. A.; MARTINS, J. R. Mosca de los cuernos (*Haematobia irritans*): control sustentable y resistencia a los insecticidas. **Documento RedEctopar**, p.1-10, 2002.

BARROS, A. T. M.; RAVAGLIA, E.; VALLE, H.; AVELLAR, P. W. **Avaliação da estratégia de tratamento parcial do rebanho no controle da mosca-dos-chifres**. Comunicado Técnico, n.125, Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2014.

BARROS, A. T. M.; VAZQUEZ, S. A. S. **Recomendações para prevenção e controle de bicheiras em bezerros no Pantanal**. Comunicado Técnico, n.35, Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2004.

BAUMHOVER, A. H.; GRAHAM, A.J.; BIITTER, B. A; HOPKINS, D. E.; NEW, W. O.; DUDLEY, F. H.; BUSHLAND R. C. Screwworm control through release of sterilized flies. **Journal of Economic Entomology**, v. 48, n. 4, p. 462 - 466, 1955.

BELAVSKY, E. **O curtume no Brasil**. Porto Alegre, Globo, 421p., 1965.

BELLATO, V. et al. **Variação sazonal das larvas da mosca do berne em bovinos no Planalto Catarinense**. Comunicado Técnico EMPASC, [s. l.], v.101, p.1-7, 1986.

BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarida Ixodidae), influence of tick size on egg production. **Acarologia**, Paris, v. 16, n. 1, p. 52-61, 1975.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O. Mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*: comportamento e danos em vacas e bezerros Nelore antes da desmama. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 109-113, 2002.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O. **Mosca-dos-chifres: comportamento e danos em bovinos Nelore**. (Embrapa- CNPGC. Comunicado Técnico, 55). Campo Grande, Embrapa-CNPGC, 8p. 1997.

BIANCHIN, I.; ALVES, R. G. O.; KOLLER, W. W. Efeito de alguns carrapaticidas/inseticidas de aspersão sobre os adultos de *Onthophagus gazella* (Fabricius). **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v.22, p.116-119, 1997.

BOBE, A.; COOPER, J. F.; COSTE, C. M.; MULLER, M. A. Behavior of fipronil in soil under Sahelian plain field conditions. **Pesticide Science**, v. 52, p. 275-281, 1998.

BORDIN, E. L. *Haematobia irritans*: controle químico com ivermectina, formulação pour-on. **A Hora Veterinária**, v.11, n. 65, p. 20-21, 1992.

BRUCE, W. G. **The history and biology of the horn fly *Haematobia irritans* (Linnaeus), with comments on control**. Tech. Bull. 157. North. Carolina: Agric. Exp. Station., 33 p. 1964.

BRUM, J. G. W. **Infecção em teleóginas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) por *Cedecia lapagei* (Grimont et al. 1981): etiopatogenia e sazonalidade**. 1988. 95p. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1988.

BULL, M. S.; SWINDALE, S.; OVEREND, D.; HESS, E.A. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron – an acarine growth regulator. **Australian Veterinary Journal**, v. 74, p. 468–470, 1996.

BIANCHIN, I.; SALANI, E. C.; HENDERSON, D. Eficácia da formulação do Fipronil® a 1% “pour-on” sobre a mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) em bovinos nelore naturalmente infestados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, suplemento 1, p. 47, 1997.

CAMPBELL, W. C. An introduction to the avermectins. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 29, n. 10, p. 174-178, 1981.

CASTRO-JANER, E.; MARTINS J. R.; MENDES, M. C.; NAMINDOME A.; KLAFKE G. M.; SCHUMAKER, T. T. S. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*) using *in vitro* larval bioassays. **Veterinary Parasitology**, v. 173, p. 300-306, 2010a.

CASTRO-JANER, E.; RIFRAN, L.; GONZÁLEZ, P.; PIAGGIO, J.; GIL, A.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to fipronil in Uruguay evaluated by *in vitro* bioassays. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 172- 177, 2010b.

CASTRO-JANER, E.; RIFRAN, R.; GONZALEZ, P.; NIELL, C.; PIAGGIO, J.; GILL, A.; SCHUMAKER, T. T. Determination of the susceptibility of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Acari: Ixodidae) to ivermectin and fipronil by Larval Immersion Test (LIT) in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 178, p. 148–155, 2011.

CATTS, E. P. Biology of New World Bot Flies: Cuterebridae. **Annual Review of Entomology**, [s. l.], v. 27, p. 313-38, 1982.

CID Y. P. **Curva de concentração plasmática do Fipronil por via subcutânea em bovinos e eficácia contra o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, um importante ectoparasito na pecuária Brasileira e Argentina**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

COLE, L. M.; NICHOLSON, R. A.; CASIDA, J. E. Action of phelypyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channel. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 46, p. 47–54, 1993.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação**. 2 ed. Guaíba: Agropecuária, 176p, 1997.

CORGONZINHO, C. N. C., **Desenvolvimento de vacina baseada em sistema de liberação sustentada contendo proteína recombinante**. Dissertação de mestrado USP, Ribeirão - Preto, São Paulo, 2008.

COSTA, A. J.; OLIVEIRA, G. P.; ARANTES, T. P.; BORGES, F. A.; MENDONÇA, R. P.; SANTANA, L. F.; SAKAMOTO, C. A. M. Avaliação comparativa da ação anti-helmíntica e do efeito no desenvolvimento ponderal de bezerros tratados com diferentes avermectinas de longa ação. **A Hora Veterinária**, v. 24, n. 139, p. 31-34, 2004.

CRYSTAL, M. M. Reproductive behavior of laboratory-reared screw-worm flies (Díptera: Calliphoridae). **Journal of Medical Entomology**, v. 4, p. 443-450, 1967.

CUORE, U.; TRELLES, A.; SANCHÍS, J.; GAYO, V.; SOLARI, M. A. Primer diagnóstico de resistência al Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*, **Veterinária (Montevideo)**, v. 42, p. 35-41, 2007.

DAVEY, R. B.; AHRENS, E. H.; GEORGE, J. E.; HUNTER, J. S.; JEANNIN, P. Therapeutic and persistent efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 74, p. 261–276, 1998.

DAVEY, R. B.; GEORGE, J.E.; HUNTER J.S.; JEANNIN, P. Evaluation of a pour-on formulation of fipronil against *Boophilus annulatus* (Acari:Ixodidae) under natural South Texas field conditions. **Experimental and Applied Acarology**, v.23, p.351-364, 1999.

DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E.; SNYDER, D. E. Efficacy of a single whole-body spray treatment of spinosad, against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 99, p.41-52, 2001.

DOMINGUES, L. N.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P.; BASTIANETTO, E.; LEITE, R. C. Epidemiologia das principais parasitoses dos animais de produção: Parte I: Parasitoses dos grandes animais no Brasil Central: importância, aspectos epidemiológicos e de controle. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, v.18, n. 96, p. 36-43, 2008.

DRUMMOND, R. O.; GEORGE, J. E.; KUNZ, S. E. Effects of arthropod pests on livestock production. *In*: **Control of arthropod pests of livestock**: A review of technology. Boca Raton, Florida: CRC press, p. 1-27, 1988.

ELDER, J. K.; KEARNAN, J. F.; WATERS, K. S.; DUNWELL, G. H.; EMMERSON, F. R.; KNOTT, S. G.; MORRIS, R. S. A survey concerning cattle tick control in Queensland. 4. Use of resistance cattle and pasture spelling. **Australian Veterinary Journal**, v. 56, n. 5, p. 219-231, 1980.

EMA, **Guideline on Good Clinical Practices**. VICH Topic GL9, 2000.

FAO, **Manual for the control of the screwworm of the *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858)**, v. 2. 105p., 1993.

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

FARIAS N. A. R. **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina**. Guaíba: Agropecuária, 80p., 1995.

FRANKS, R. E.; BURNS, E. C.; ENGLAND, N. C. Color preference of the horn fly, *Haematobia irritans* (Linnaeus, 1758) on the beef cattle. **Journal Economic Entomology**, v. 57, p. 371-372, 1964.

FRASER, D.; RUSHEN, J. Aggressive behavior. *In*: Price, E. O. **The Veterinary of Clinics of North American: Food Animal Practice**. Philadelphia: Sanders Company, p. 285-305, 1987.

FREITAS, M. G.; COSTA, H. M. A.; COSTA, J. O.; IIDE, P, **Entomologia e acarologia médica e veterinária**, 3. ed. Belo Horizonte: Precisa, Ed. Gráfica, 253 p., 1982.

FURLONG, J. **Carrapato: problemas e soluções**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 65p., 2005.

GALBIATI, C.; BENSI, C.; CONCEIÇÃO, C. H. C.; FLORCOVSKI, J. F.; CALAFIORI, M. H. Estudo comparativo entre besouros do esterco *Dichotomius anaglypticus*

(Mann, 1829) e *Onthophagus gazella* (Fabricius), sobre as pastagens, em condições brasileiras. **Ecossistema**, Espírito Santo do Pinhal, v. 20, p. 109-118, 1995.

GANT, D. B.; CHALMERS, A. E.; WOLFF, M. A.; HOFFMAN, H. B.; BUSHEY, D. F. Fipronil: action at the GABA receptor. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 2, p. 147-156, 1998.

GENERUTTI, M.; SPINOSA, H. S. Avermectinas: revisão do uso e da ação sobre o SNC. **Biotemas**, v. 10, n. 2, 1997.

GEORGE, J. E.; DAVEY, R. B.; AHRENS, E. H.; POUND, J. M.; DRUMMOND, R. O. Efficacy of amitraz (Taktic® 12.5% EC) as a dip for the control of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) on cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 37, p. 55-67, 1998.

GEORGE, J. E.; POUND, J. M.; DAVEY, R. B. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. **Parasitology**, v. 129, p. 353-366, 2004.

GONZÁLES, J. C. O carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): revisão histórica e conceitual. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 21, n. 125, p. 23-28, 2002.

GONZÁLES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. Porto Alegre: Edição do Autor, 80p., 1993.

GONZÁLES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. 2. ed. Porto Alegre: Sulina, 235 p., 1995.

GONZÁLES, J. C.; MUNIZ, R. A.; FARIAS, A.; GONÇALVES, L. C. B.; REW, R. S. Therapeutic and persistent efficacy of doramectin against *Boophilus microplus* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 49, p. 107-119, 1993.

GRISI, L.; LEITE, R. C.; MARTINS, J. R.; BARROS, A. T.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P. H.; LEÓN, A. A.; PEREIRA, J. B.; VILLELA, H. S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23 n. 2 Jaboticabal, 2014.

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

GUGLIELMONE, A. A.; GIMENO, E.; IDIART, J.; FISHER, W. F.; VOLPOGNI, M. M.; QUAINO, O.; ANZIANI, O. S.; FLORES, S. G.; WARKEN, O. Skin lesions and cattle

hide damage from *Haematobia irritans* infestation. **Medical Veterinary Entomology**, v. 13, p. 324-329, 1999.

GUGLIELMONE, A. A., VOLPOGNI, M. M., MANGOLD, A. J., ANZIANI, O. S. Evaluacion de una formulacion comercial "pour on" con fipronil al 1% para el control de *Haematobia irritans* en vaquillonas Holando naturalmente infestadas. **Veterinária (Argentina)** v. 17, p. 108-113, 2000.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, n. 2, p. 83-100, 2006.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N.; PRADO, A. P. As miíases na região Neotropical (identificação, biologia, bibliografia). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, p. 239-416, 1983.

HALL, M. J. R. **Screwworm flies as agents of myiasis. World Animal Review, FAO – New World screw-worm response to emergency** - 1991. Disponível em: <http://www.fao.org/ag/aga/agap/FRG/FEEDback/War/u4220b/u4220b07.htm#screwworm%20flies%20as%20agents%20of%20wound%20myiasis> Acessado em: 15/08/2018

HARRIS, R. L.; CHAMBERLAIN, W. F.; FRAZAR, E. D. Horn flies and stable flies: free-choice feeding of methoprene mineral blocks to cattle for control. **Journal of Economic Entomology**, v. 67, n. 3, p. 384-386, 1974.

HENDRICKSON, D. A. **Técnicas Cirúrgicas em Grandes Animais**. 3º Ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 239-240, 2010.

HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES, A. **Mosca-dos-chifres: histórico biologia e controle**. (Documento, 45), Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 34p., 1993.

HONER, M. R.; GOMES, A. **O manejo integrado de mosca-dos-chifres, berne e carrapato em gado de corte**. (Circular Técnica, 22), Campo Grande: Embrapa-CNPGC, 60p., 1990.

HOOGSTRAAL, H. Review article: the epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. **Journal of Medical Entomology**, v. 15, p. 307-417, 1979.

HOURRIGAN, J. L. Babesiosis bovina. Control y erradicación de la garrapata de la fiebre del ganado em los Estados Unidos de America. **Rev Vet Venez**, v. 42, p. 66-76, 1977.

JAMES, M. T. The flies that cause myiasis in man. **Miscellaneous publication**. n. 631, p.175, Washington, USDA, 1947.

JONSSON, N. N.; MATSCHOSS, A. L. Attitudes and practices of Queensland dairy farmers to the control of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Australian Veterinary Journal**, v. 76, p. 746–751, 1998.

JONSSON, N. N.; MAYER, D. G.; MATSCHOSS, A. L.; GREEN, P. E.; ANSELL, J. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. **Veterinary Parasitology**, v. 78, p. 65-77, 1988.

KAUFMAN, W. R. Tick-host interaction: a synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, Oxford, v. 5, n. 1, p. 47-56, 1989.

KRAFSUR, E. S.; ERNEST, C. M. Physiological age composition and reproductive biology of horn flies populations, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), in Iowa, USA. **Journal of Medical Entomology**, v. 20, p. 664-669, 1983.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapatos em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 30, p. 24-32, 2001.

LASOTA, J. A.; DIBAS, R. A. Ivermectins, a novel class of compounds implications for use in arthropod pest control. **Annual Review Entomology**, v. 36, p. 96-117, 1991.

LEITE, A. C. R. **Biologia e controle de *Cochliomyia hominivorax* (Díptera: Calliphoridae)** In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e Simpósio Latino Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, MG, 2004.

LIMA, W. S.; MALACCO, M. A. F.; BORDIM, E. L.; OLIVEIRA, E. L. Evaluation of the prophylactic effect and curative efficacy of fipronil 1% pour-on (Topline®) on post-castration scrotal myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 125, p. 373-377, 2004.

LITTLE, T. M.; HILLS, F. J. **Agricultural experimentation designs and analysis**. Wiley, New York, 350p, 1978.

LOPES, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; MACIEL, W. G.; BUZULINI, C.; GOMES, L. V. C.; FAVERO, F.; SOARES, V. E.; BICHUETTE, M. A.; OLIVEIRA, G. P.; COSTA, A. J. Efficacy of fipronil (1.0 mg/kg) against *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* strains resistant to ivermectin (0.63 mg/kg). **Preventive Veterinary Medicine**, v. 115, p. 88-93, 2014.

MACIEL, W. G.; LOPEZ, W. D. Z.; CRUZ, B. C.; TEIXEIRA, W. F. P.; FELIPPELLI, G.; SAKAMOTO, C. A. M.; FAVERO, F.C.; BUZULINI, C.; SOARES, V. E.; GOMES,

L. V. C.; BICHUETTE, M. A.; COSTA, A. J. Effects of *Haematobia irritans* on weight gain of Nelore calves assessed with different antiparasitic treatment schemes. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 118, p. 182-186, 2015.

MAGALHÃES F. E. P.; LIMA J. D. Frequência de larvas de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) em bovinos de Pedro Leopoldo, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.40, p. 361-67, 1988.

MAIA, A. A. M.; GUIMARÃES, M. P. Berne: susceptibilidade de bovinos, distribuição no hospedeiro, associação com outras miíases e abscessos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.37, p.461-467, 1985.

MCLINTOCK, J.; DEPNER, K. P. A review of the life history and habits of the horn fly. *Siphona irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). **Canadian Entomologist**, v. 86, p. 20-33, 1954.

MCMULLEN, H. L.; SAUER, J. R.; BURTON, R. L. Possible role in uptake of water vapour by ixodid tick salivary glands. **Journal Insect Physiology**, v. 22, p.1281-1285, 1976.

MENDES, J.; LINHARES, A. X. Diapause, pupation sites and parasitism of the horn fly, *Haematobia irritans*, in south-eastern Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v.13, p.185-190, 1999.

MILLER J. R.; ALMAZÁN C.; ORTÍZ-ESTRADA M.; DAVEY R. B.; GEORGE J. E.; PERÉZ DE LEÓN A. First report of fipronil resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* of Mexico. **Veterinary Parasitology**, v. 191, p. 97-101, 2013.

MORAIS, C. M.; SANAVRIA, A.; BARBOSA, C. G.; SILVA, H. M. K. Alterações clínicas em bovinos infestados experimentalmente com larvas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 12, nº 4, p. 154-158, 2003.

MOYA-BORJA, G. E.; SALANI, E. C. Eficácia do Fipronil “pour-on” (Topline®) no controle das infestações naturais do berne, *Dermatobia hominis* em bovinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, (suplemento1), p. 59, 1997a.

MOYA-BORJA, G. E., SALANI, E. C. Eficácia do Fipronil “Pour-On” (Topline®) na prevenção da infestação da bicheira (*Cochliomya hominivorax*) em bovinos castrados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v. 6 (suplemento 2), p. 66, 1997b.

MOYA-BORJA, G. E. Controle biológico do berne, *Dermatobia hominis*, e de seus foréticos: crise e perspectiva. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v. 13, (suplemento 1), p. 111-113, 2004.

MUCCIOLO, P. **Produção e reparo de couros e peles**. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, 164p. (SAI nº 686), 1948.

MUNIZ, R. A.; CORONADO, A.; ANZIANI, O. S.; SANAVRIA, A.; MORENO, J.; EERRECALDE, J.; GONCALVES, L. C. B. Efficacy of injectable doramectin in the protection of castrated cattle against field infestations of *Cochliomyia hominivorax*. **Veterinary Parasitology**, v. 58, p. 327-333, 1995.

NEEDHAM, G. R.; TEEL, P. D. Off-host physiological ecology of ixodid ticks. **Annual Review Entomology**, v. 36, p. 659-681, 1991.

NUÑEZ, J. L.; MUÑOZ-COBENAS, M. E.; MOLTEDO, H. L. **Boophilus microplus the common cattle tick**. Berlin: Springer-Verlag, 204p, 1985.

NUÑEZ, J. L.; COBENAS, M. E. M.; MOLTEDO, H. L. **Boophilus microplus: la garrapata comum del ganado vacuno**. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 184p, 1982.

OBA, M. S. P.; DELL PORTO, A. Piretróides, a química moderna a serviço da produtividade agroquímica. **Agroquímica Ciba-Geigy**, n. 18, p. 20- 26, 1984.

OLIVEIRA, C. M. B. Influência da temperatura e da umidade relativa do ar na evolução das pupas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858). **Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRRJ**, v. 6, p. 35-38, 1978.

OLIVEIRA, C. M. B., Emprego do Dursban no tratamento de miíases causadas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858), **Arquivo da Faculdade de Veterinária, UFRGS**, v. 8, p. 7-12, 1980.

OLIVEIRA, G. P.; COSTA, R. P.; MELLO, R. P.; MENEGUELLI, C. A. Estudo ecológico da fase não parasitária do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina, Ixodidae) no Estado do Rio de Janeiro. **Arquivo da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro, v.4, n.1, p.1-10, 1974.

OLIVEIRA, G. P. Dinâmica parasitária de bernes em bovinos: incidência em relação ao decúbito. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 26, p. 467-471, 1991.

OLIVEIRA, G. P. Fatores que afetam economicamente a produção de couro de bovinos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, v. 26, n. 3, 1983.

PALMER, W. A.; BAY, D. E.; SHARPE, P. J. H. Influence of temperature on the development and survival of the immature stages of horn fly, *Haematobia irritans irritans* (L.). **Protection Ecology**, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 299-309, 1981.

PARIZI, L. F.; RECK Jr. J.; OLDIGES, D. P.; GUIZZO, M. G.; SEIXAS, A.; LOGULLO, C.; OLIVEIRA, P. L.; TERMIGNONI, C.; MARTINS, J. R.; VAZ Jr., I. S. Multi-antigenic vaccine against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: a field evaluation. **Vaccine**, v. 30, n. 48, p. 6912-6917, 2012.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P.; KLAFKE, G. M. ***Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Biologia, Controle e Resistência**. MedVet Livros, São Paulo, 169p., 2008.

PEREZ, R.; PALMA, C.; CABEZAS, I.; ARANEDA, M.; RUBILAR, L.; ALVINERIE, M. Effect of parasitism on the pharmacokinetics disposition of ivermectin in lambs. **Journal Veterinary Medical**, v. 53, p. 43-48, 2006.

PEREZ, L.; PALMA, C.; VILLEGAS, R.; VEGA, M.; PEREZ, R. Analytical methodology for the detection of ivermectin residues in milk samples from dairy farms in the province of Nuble, Chile. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v. 38, p. 143-150, 2006.

PINTO, S. B.; SOCCOL, V. T.; VENDRUSCOLO, E.; ROCHADELLI, R.; RIBEIRO, P. B.; FREITAG, A.; HENEMANN, C.; UEMURA, M. Bioecologia de *Dermatobia hominis* (Linnaeus Jr., 1781) em Palotina, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 32, p. 821-827, 2002.

POSTAL, J. M. R.; JEANNIN, P. C.; CONSALVI, P. J. Field efficacy of mechanical pump spray formulation containing 0,25% fipronil in the treatment and control of flea infestation and associated dermatological signs in dogs and cats, **Veterinary Dermatology**, v. 3 (3), p. 153-158, 1995.

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

RAUGH, J. J.; LUMMIS, S. C. R.; SATTELLE, D. B., Pharmacological and biochemical properties of insect GABA receptors. **Trends in Pharmacology Science**, v. 11, p. 325-329, 1990.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'ANGOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S.; MARTINS, J. R. S. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides, **Veterinary Parasitology**, v. 201, p. 128-136, 2014.

ROULSTON, W. J.; STONE, B. F.; WILSON, J. T.; WHITE, L. I. Chemical control of an organophosphorus and carbamate resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) from Queensland. **Bulletin of Entomological Research**, v. 58, p. 379-392, 1968.

RUDOLPH, D.; KUNLLE, W. Site the mechanism of water vapour uptake from the atmosphere in ixodid ticks. **Nature**, London, v. 249, p. 84-85, 1974.

SANAVRIA, A. **Alterações Clínicas hematológicas e seroproteicas provocadas por larvas de *Cochliomyia hominivorax* em bovinos**. VIII Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Londrina, Paraná, 1993.

SANCHO, E.; CABALLERO, M.; RUÍZ-MARTINEZ, I. The associated microflora to the larvae of human bot fly *Dermatobia hominis* L. Jr. (Diptera: Cuterebridae) and its furuncular lesions in cattle. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 3, p. 293-298, 1996.

SANTOS JÚNIOR, J. C. B.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Controle do carrapato *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE) em sistemas de produção de leite da Microrregião Fisiográfica Fluminense do Grande Rio – Rio de Janeiro. **Ciência Rural**. v. 30, n. 2, p. 305-311, 2000.

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

SCHARF, M. E.; SUITER, D. R. Insecticide mode of action. **Pest Control Technology**, Outubro, 2011. Disponível em www.caes.uga.edu/publications. Acessado em 13 de março de 2018.

SILVERS, G.; FUENTEALBA, C. Comparacion de la efectividad antihelmintica de seis productos comerciales que contienen lactonas macrociclicas frente a nematodos gastrointestinales del bovino. **Arquivo de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 81-88, 2003.

SMITH, C. L. Mass production of screwworm (*Callitroga hominivorax*) for eradication program in the southeastern states. **Journal Economic Entomology**. v 53, n 6, p 1110-1116, 1960.

SONENSHINE, D. E. **Biology of ticks**. New York: Oxford University Press, p.141-158, 1991.

SOUZA, F. S.; FONSECA, A. H.; PEREIRA, M. J. S.; SILVA, J. X; GOES, M. H. B. Geoprocessamento aplicado à observação da sazonalidade das larvas da mosca *Dermatobia hominis* no município de Seropédica – RJ. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 889-894, 2007.

SUTHERST, R. W.; JONES, R. J.; SCHNITZERLING H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. **Nature**, London, v. 295, p. 320-321, 1982.

SUTHERST, R. W.; KERR, J. D.; MAYWALD, G. F.; STEGEMAN, D. A. The effect of season and nutritions on the resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus*. **Journal Agricultural Research**., Washington, v. 34, p. 329-339, 1983.

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

THOMAS, D. B.; MANGAN, R. L. Oviposition and wound-visiting behaviour of the screwworm fly, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 82: p. 526-534, 1989.

TOLEDO, A. A. Controle do berne e das bicheiras com BHC. **O Biológico**, v. 16, p. 133-136, 1950.

VALÉRIO, J. R.; GUIMARÃES, J. H. Sobre a ocorrência de uma nova praga, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera, Muscidae), no Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, São Paulo, v. 1, n. 4, p. 417-418, 1983.

WARE, G. W. **The Pesticide Book**. 5th ed. Thomson Publications. Fresno, CA. 69p., 2000.

WHARTON, R. H.; UTECH, K. B. W. Relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* to assessment of tick number in cattle. **Australian Entomological Society**, v. 9, p. 171-182, 1970.

WARTON, R. H. Ticks with special emphasis on *Boophilus microplus*. In: PAL, R., WARTON, R. H. **Control of arthropods of medical and veterinary importance**. London: Plenum Press, p.134-177, 1974.

WHITWORTH, T. Keys to the Genera and Species of Blow Flies (Diptera: Calliphoridae) of America North of Mexico. **Proceedings of the Entomological Society of Washington**, v. 108 (3), p. 689-725, 2006.

WILLADESEN, P.; JONGEJAN, F. Immunology of the tick-host interaction and the control of tick-borne diseases. **Parasitology Today**, Oxford, v. 15, n. 7, p. 258-562, 1999.

WILLIAMS, R. E. **Controle químico, prejuízos econômicos e estratégias de controle**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MOSCA DOS CHIFRES (*Haematobia irritans*), 1. 1991. Anais. São Paulo: USP, 1991.

WISLOW, R. B. Reguladores de crescimento de insetos e controle da mosca dos chifres. **A Hora Veterinária.**, v. 11, n. 65, p. 38-40, 1992.

ZUMPT, F. **Myiasis in man and animals in the Old World.** London. Butterworths, 274p, 1965.