

NEMATOIDES ENTOMOPATOGÊNICOS ASSOCIADOS COM CARRAPATICIDAS OU ÓLEO ESSENCIAL PARA CONTROLE DE *Rhipicephalus microplus*

MONTEIRO, C.O.M.; LAGE, T.C.A.; BRITO, L.C.; DE PAULA, L.G.F.; FERNANDES, S.A.; BITTENCOURT, V.R.E.P.; FURLONG, J.; PRATA, M.C.A.

Universidade Federal de Goiás; Universidade Federal de Viçosa; Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; Embrapa Gado de Leite.

E-mail do orientador: caiosat@gmail.com

O objetivo do estudo foi avaliar o efeito da associação do nematoides entomopatogênico (NEP) *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 com diferentes carrapaticidas e com o óleo essencial de *Lippia triplinervis* sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*. Foram utilizados carrapatos obtidos através de infestações artificiais em bovinos na Embrapa Gado de Leite; carrapaticidas compostos pelos princípios ativos deltametrina, amitraz e clorfenvinfós; o óleo essencial de *Lippia triplinervis* obtido de folhas coletadas no Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, Minas Gerais, Brasil. A extração do óleo foi feita por hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger e a quantificação e composição química foi analisada por cromatógrafo gás-líquido acoplado à espectrômetro de massa. Fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* foram divididas em grupos com dez carrapatos, com o peso homogeneizado. No grupo tratado com NEP, cada fêmea foi colocada em uma placa de Petri (6x6 cm) com duas folhas de papel de filtro e na sequência foi feita a aplicação de 1,0 mL com a concentração de 150 Juvenis infectantes/fêmea. No grupo tratado com os carrapaticidas, as fêmeas foram imersas por cinco minutos em soluções com a dose comercial dos carrapaticidas (deltametrina, amitraz e clorfenvinfós), e posteriormente acondicionadas individualmente em placas de Petri. No grupo tratado com o óleo, as fêmeas foram imersas por cinco minutos em solução do óleo a 4% (40 mg/mL - v/v) e posteriormente acondicionadas em placa de Petri. Nos grupos tratados com a associação HP88 + carrapaticidas ou HP88 + óleo, as fêmeas foram imersas em solução e na sequência, transferidas para as placas de Petri para adição dos NEP. Foram formados dois grupos controle, com fêmeas imersas em Tween 80 (30 µL/mL / solvente utilizado no óleo) ou em água destilada, e em seguida, transferidas para placa de Petri. A partir do peso da fêmea antes da postura, peso da massa de ovos e percentual de eclosão de larvas, foi feito o cálculo de percentual de controle. Com relação a composição química do óleo, foram identificados 26 substâncias, sendo o carvacrol (31,9) e timol (30,6) os componentes majoritários. Os percentuais de controle com *H. bacteriophora* HP88 e óleo essencial foram de 90,1 e 73,3, enquanto para os carrapaticidas deltametrina, amitraz e clorfenvinfós foram de 3,4; 46,0 e 50,9, respectivamente. Já para as associações HP88 + óleo de *L. triplinervis*, HP88 + deltametrina, HP88 + amitraz e HP88 + clorfenvinfós, os percentuais de controle foram 97,8; 84,4; 99,1 e 97,2. Os isolados de NEP foram compatíveis com o óleo de *L. triplinervis* e com os carrapaticidas; com exceção da associação HP88 + deltametrina, todas as outras apresentaram efeito positivo, com aumento da eficácia.

Palavras-chave: Carrapato do boi; Controle biológico; Óleo essencial.

NEW LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION (LAMP) METHOD FOR THE RAPID IDENTIFICATION OF *Anaplasma marginale*

GIGLIOTTI, R.; OKINO, C.H.; BASSETTO, C.C.; SILVA, P.C.; OLIVEIRA, H.N.; OLIVEIRA, M.C.S.

Departamento de Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - UNESP; EMBRAPA Pecuária Sudeste.

E-mail do orientador: marcia.sena-oliveira@embrapa.br

Bovine anaplasmosis is an important tick-borne disease, which leads to significant economic losses in tropical and subtropical world areas. In this study, sets of the primers targeting the major surface protein 1 (*msp1b*) gene of *Anaplasma marginale* were designed and optimized for LAMP method. A qPCR assay based on the same gene sequence was performed to compare sensitivity between those methods. Eight samples of DNA isolated from animals suspected for *A. marginale* were tested, wherein one was submitted to 5 fold serial dilutions. gBlock synthetic DNA identical to *msp1b* gene was also submitted to 10 fold serial dilutions. Both methods detected seven of eight positive samples tested. Although, qPCR presented higher sensitivity compared to LAMP method, as we observed limits of detection estimated at 30 and 300 copies in positive animal samples and using synthetic DNA (gBlocks) for qPCR and LAMP, respectively. Despite, higher sensitivity was observed for qPCR compared to LAMP method, the last method has some advantages, as thermocycler or expensive equipment are not required, and the results readings can be performed at naked eye. Finally, in view of worldwide distribution of *A. marginale* infection, including countries in development, where limited laboratory facilities are prevalent, the LAMP method here developed may constitute an excellent alternative for the diagnostic.

Palavras-chave: Tick-borne disease; Anaplasmosis; Diagnostic.