

**ESTUDO "IN VITRO" DA
EFICIENCIA DE CARRAPATICIDAS
EM LINHAGEM DE *BOOPHILUS
MICROPLUS* (CANESTRINI, 1887)
PROVENIENTE DE JACAREI,
ESTADO DE SÃO PAULO, BRASIL**

MARCELO DE CAMPOS PEREIRA
Professor Assistente Doutor
Instituto de Ciências Biomédicas da USP

RICARDO LUCAS
Bolsista da FAPESP Acadêmico
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

PEREIRA, M.C. & LUCAS, R. Estudos in vitro da eficiência de carrapaticidas em linhagem de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) proveniente de Jacarei, estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 24(1):7-11, 1987.

RESUMO: Através dos testes in vitro por imersão de fêmeas ingurgitadas de carrapatos (Teste de Drummond), utilizados para estimativa da eficiência de drogas carrapaticidas, objetivou-se avaliar o grau de sensibilidade de linhagem de *Boophilus microplus* proveniente de Jacarei, estado de São Paulo, Brasil, quando submetida à ação de substâncias carrapaticidas usualmente utilizadas na região, tais como: 1) triclorfon + coumafós; 2) amitraz; 3) fenvalerato; 4) decametrina; 5) cipermetrina "high cis" + diclorvos; 6) cipermetrina "high cis". Das carrapaticidas empregadas, cipermetrina "high cis" + diclorvos foi aquela que apresentou melhor percentual de controle, evidenciando sua alta eficiência ovarioestática e anti-embriogênica, bem como sugerindo que pode ser um dos mais efetivos no controle de *B. microplus* na região.

UNITERMOS: *Boophilus microplus*; Pesticidas

INTRODUÇÃO

Por mais que os carrapatos tivessem sido conhecidos como parasitos do homem e dos animais, desde remota antiguidade, o fato histórico que realmente os trouxe para o foco da investigação científica foi a descoberta de SMITH & KILBORNE, 6 (1983) de que a "Febre do Texas" é transmitida por *Boophilus annulatus* (Say, 1821). Tal descoberta foi para a humanidade, na feliz expressão de KRUIF, 3 (1950), uma "esquina virada" na luta contra a morte: o método científico de Smith e de Kilborne difundiu-se com grande rapidez, levando ao esclarecimento sucessivo de aspectos da epidemiologia de muitas outras doenças transmitidas por artrópodes e por vários tipos de vetores.

O carrapato comum dos bovinos, *B. microplus* é, sem dúvida, um dos parasitos mais importantes nas regiões do mundo onde ocorre. Estimativas a respeito de sua importância econômica têm sido baseadas principalmente em inquéritos realizados com criadores e com veterinários e em dados de produtividade, comparativos entre zonas índenes e infestadas.

Devido a estes fatos, os parasitologistas veterinários em todo o mundo vêm se preocupando em descrever, com clareza, a atual situação das regiões com carrapatos resistentes, pois uma vez surgido este problema, a amplitude de sua distribuição tende a aumentar, seja pela disseminação de linhagens resistentes originais, seja pela contínua pressão dos compostos químicos que originaram os primeiros focos (BARNETT, 1, 1963).

No presente trabalho, através de testes "in vitro" por imersão de fêmeas ingurgitadas (DRUMMOND et alii, 2, 1973), objetivamos avaliar o grau de sensibilidade de linhagem de *B. microplus*, proveniente de Jacarei, SP., frente a alguns dos carrapaticidas mais comumente utilizados na região.

MATERIAL E METODOS

Foram utilizadas 240 fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*, colhidas em propriedade rural de Jacarei, SP., de bovinos de raça Holandesa, que não haviam recebido tratamento carrapaticida durante pelo menos 30 dias. Segundo informações de médico-veterinário local, nessa região estavam ocorrendo problemas supostamente relacionados com resistência de carrapatos a algumas drogas comumente utilizadas na propriedade.

Em laboratório, as fêmeas foram individualmente pesadas e ordenadas por peso, a intervalo de 10mg; os carrapatos de cada categoria de peso foram distribuídos ao acaso em 24 grupos experimentais, com 10 fêmeas em cada grupo.

REFERÊNCIA

Após a pesagem, os grupos foram colocados em placas de Petri, previamente identificadas com o peso total dos 10 instares, com a data do início do teste e com o nome da droga a ser utilizada, bem como a sua respectiva diluição comercial. As diluições das emulsões foram procedidas no dia em que se realizou a imersão das fêmeas.

Foram utilizados 6 carrapaticidas: 1. triclorfon + coumafós*; 2. amitraz**; 3. fenvalerato***; 4. decametrina****; 5. cipermetrina "high cis" + diclorvos*****; 6. cipermetrina "high cis"*****.

A seguir, aleatoriamente, os grupos experimentais foram distribuídos entre os compostos químicos a serem testados. Foram realizadas 3 repetições por carrapaticida a ser avaliado, num total de 18 grupos experimentais. Para cada produto, utilizou-se um grupo testemunho, tratado com água destilada.

Os grupos de fêmeas ingurgitadas foram banhados durante 3 minutos nas emulsões a que foram destinados, seguindo-se a retirada do excesso de líquido em papel filtro e reposição nas placas de origem.

As placas de Petri, logo após receberem as respectivas fêmeas, foram colocadas em estufa B.O.D., regulada para a temperatura de 27°C e para umidade do ar a nível entre 80% a 95% de saturação e aí mantidas por 2 semanas. O controle da umidade relativa foi feito através da introdução de recipientes com água na estufa. As placas foram examinadas diariamente, a fim de se constatar a eventual morte das fêmeas tratadas, bem como para o registro da duração da fase de pré-postura e do início da fase de postura.

Após 2 semanas, removeram-se as posturas de cada placa, que foram pesadas e transferidas para frascos de vidro cilíndrico devidamente rotulados, tendo cada um capacidade aproximada de 15 ml e 2,2 cm de diâmetro interno.

Tais frascos, logo após receberem os respectivos ovos, tiveram a abertura coberta por tecido de cambraia de algodão, fixado com tampa plástica de pressão, cujo fundo plano fora parcialmente removido, de modo a permitir trocas gasosas com a atmosfera ambiental e a oferecer proteção contra ataque de insetos e/ou de ácaros predadores. Os ovos, nos seus respectivos frascos, foram colocados a incubar na mesma estufa.

Anotou-se o início da eclosão para cada frasco e, após o fim da mesma, com seringa e agulha, injetou-se solução de Hexana através da tampa de cambraia dos

frascos, desfazendo-se deste modo os grupos de ovos, cascas vazias e/ou de larvas aglutinadas. Ovos e larvas foram contados com auxílio de estereoscópio Carl Zeiss; de um aparelho de contagem ("cell counter") Clay Adams e de placa de Petri de fundo bem plano, riscado em faixas paralelas de aproximadamente 0,5 cm.

Deve-se ressaltar que as massas de ovos dos grupos testemunho, bem como de dois dos tratados (fenvalerato e decametrina), foram de tal monta que, posteriormente, o método de contagem de ovos e de larvas, além de tomar tempo, tornar-se-ia fastidioso. Portanto, neste caso, o uso de técnica por amostragem tornou-se mais conveniente para tal finalidade. Desta maneira, pesou-se a massa total de ovos de cada grupo experimental no final do período de postura, sendo realizado, em seguida, cuidadoso "pool" desse total de ovos para cada placa. De cada "pool" foram obtidas 3 alíquotas, retiradas de pontos distintos da massa de ovos, adotando-se a seguir a metodologia anteriormente descrita.

A eficiência do tratamento foi calculada segundo DRUMMOND et alii, 2 (1973):

a) Estimativa de Reprodução

$$ER = \frac{\text{peso de ovos}}{\text{peso de fêmeas}} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000$$

b) Percentagem de Controle

$$\frac{ER(\text{testemunho}) - ER(\text{tratado})}{ER(\text{testemunho})} \times 100$$

* Na fórmula, 20.000 é uma "constante" e corresponde a estimativa do número de larvas em um grama de ovos.

** Determinou-se apenas um valor para ER(testemunho), obtido a partir do peso total dos ovos e das fêmeas e da média das percentagens de eclosão dos 6 grupos testemunho.

RESULTADOS

Na Tab. 1 estão registrados os resultados do estudo de 6 carrapaticidas sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.

* Neguvon + Assuntol - BAYER DO BRASIL S/A

** Triatox - COOPERS BRASIL S/A

*** Sumitik - SUMITOMO CORPORATION NO BRASIL

**** Butox - QUIMIO S/A

***** Ectoplus - CIBA-GEIGY QUIMICA S/A

***** Ectomin - CIBA-GEIGY QUIMICA S/A

TABELA 1 — Atividade carrapaticida de 6 substâncias químicas sobre fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* provenientes de Jacareí, SP, 1986.

Substância Química	Diluição Comercial	Período de Pré-Postura (dias)	Grupos Experimentais	Peso de 10 fêmeas ingurgitadas (g)	Peso total dos ovos (g)	Número de ovos	Número de larvas	Total de ovos + larvas	Percentual de eclosão	Estimativa de Reprodução (ER)	Percentual de Eficiência
cipermetrina "high cis" + diclorvos	1:400	10	A	1,087	0,038	924	3	927	0,32	77,953	99,99
			B	3,220	-	-	-	-	-	-	100,00
			C	2,913	-	-	-	-	-	-	100,00
amitraz	1:500	5	A	2,724	0,053	2,145	-	2,145	-	-	100,00
			B	3,328	0,092	2,764	149	2,913	5,11	16,908	99,99
			C	3,385	0,102	3,592	1	3,593	0,028	2,816,028	99,68
cipermetrina "high cis"	1:1000	6	A	3,154	0,149	2,805	548	3,353	16,34	15,490,361	98,20
			B	3,072	0,322	6,677	1,902	8,579	22,17	46,505,039	94,77
			C	3,120	0,159	2,753	890	3,643	24,43	24,978,109	97,18
triclorfon + coumáfós	1:200	4	A	3,065	0,191	3,035	1,890	4,925	38,38	47,758,995	94,63
			B	3,070	0,052	1,748	6	1,754	0,34	116,065	99,99
			C	3,088	0,193	2,923	1,357	4,280	31,71	39,637,500	95,54
decametrina	1:2000	4	A	3,005	0,955	234	873	1,107	78,86	501,239,933	43,60
			B	3,072	0,923	388	1,192	1,508	75,44	453,425,833	48,98
			C	3,290	1,159	296	685	981	69,83	492,036,188	44,64
fenvalerato	1:400	3	A	3,015	1,653	94	1,247	1,341	92,99	1,019,713,227	zero
			B	3,093	1,789	43	1,218	1,261	96,59	1,117,358,616	zero
			C	3,169	1,759	311	1,042	1,353	77,01	854,959,236	3,81
Testemunho		3	A	3,253	1,529	148	920	1,068	86,14		
			B	3,418	1,873	119	1,331	1,450	91,79		
			C	3,260	1,735	125	1,275	1,400	91,07		
			D	3,074	1,533	285	1,121	1,406	79,73		
			E	3,360	1,467	236	1,323	1,559	84,86		
			F	3,190	1,716	67	1,447	1,514	95,57		

* Resultado obtido por amostragem de "pool" de ovos

Os dados da Tab. 1 indicam que as fêmeas ingurgitadas, tratadas com cipermetrina "high cis" + diclorvos, amitraz, cipermetrina "high cis" e triclorfon + coumafós, tiveram inibição de reprodução entre 94,63% e 100%.

A simples observação dos resultados obtidos para cipermetrina "high cis" + diclorvos evidenciam sua alta eficiência ovarioestática e anti-embriogênica sobre a linhagem de *B. microplus* em estudo.

No que tange ao produto químico amitraz, embora não tenha demonstrado ação ovarioestática, sua atividade anti-embriogênica não permitiu negar o alto percentual de controle obtido sobre a linhagem em questão.

A análise obtida para cipermetrina "high cis" e para triclorfon + coumafós mostra redução, quer para a quantidade de ovos expressa em peso, quer para o percentual de eclosão, quando comparada com os dados advindos do grupo testemunho, permitindo percentual de controle entre 94,63% e 99,99%.

O resultado do estudo individual da atividade carrapaticida do composto químico decametrina evidencia percentual de eclosão dos ovos entre 69,83% e 78,86%, conduzindo à inibição de postura entre 43,60% e 48,98%.

Com relação ao fenvalerato, foi o que apresentou menor ação anti-embriogênica, resultando em percentual de controle entre zero e 3,81%.

DISCUSSÃO

A maneira pela qual determinada substância acaricida atua sobre uma fêmea ingurgitada de ixodídeo serve como medida de sua eficiência. Sua maior ou menor atuação é que vai determinar a sobrevivência do carrapato como população, que em outras condições é assegurada pela produção de ovos. Se tal capacidade é ou não destruída, total ou parcialmente, se ocorre inibição de postura ou se a fêmea morre antes de ovipor, por ação da droga - seu modo de ação sobre as fêmeas ingurgitadas assume importância extraordinária do ponto de vista de controle populacional de carrapato. Recorde-se que uma droga carrapaticida pode agir sobre os carrapatos em uma de três maneiras: 1) atuando por ação ixodocida direta, - com conseqüente diminuição do número de carrapatos, incluindo não somente as fêmeas ingurgitadas mas, quando for o caso, também os machos, bem como as larvas e as ninfas que poderiam atingir a maturidade se não fossem eliminadas pela droga; 2) atuando por ação ovarioestática, com diminuição do número de fêmeas ingurgitadas que, sobrevivendo à ação da droga, apresentariam inibição da produção de ovos; 3) atuando por ação anti-embriogênica, com diminuição da capacidade

média de eclosão de larvas.

Entretanto, viu-se desde logo que, com exceção de cipermetrina "high cis" + diclorvos e de amitraz, para os demais compostos químicos utilizados nenhum desses 3 tipos de efeitos teve a expressão de 100%, mostrando-se, assim, todos eles, capazes de poderem eventualmente funcionar como 3 veredas para a seleção genética de resistência do carrapato ao carrapaticida.

Com freqüência surgem alegações de que este ou aquele carrapaticida "não está funcionando"; entre nós não foi verificada ainda a resistência de *B. microplus* contra os piretróides, embora tal fato tenha sido comprovado "in vitro" na Austrália, em linhagens de *B. microplus* resistente ao DDT (NOLAN et alii, 4 1977; NOLAN et alii, 5 1979)

As razões dessas alegações de "não funcionamento" dos carrapaticidas serem tão freqüentes, entre outras, podem dever-se: a) o fazendeiro não tem critério para saber se havia realmente a necessidade de utilização do produto, se ele atuou, quantas vezes e quando devem-se tratar os animais; b) o fazendeiro utiliza o produto em sub-dose; c) às vezes os laboratórios fabricantes recomendam o uso de determinados produtos em doses abaixo daquelas consideradas eficazes pelos pesquisadores; d) já se verificou, em alguns casos, que o produto não continha os teores do princípio ativo que constavam da bula, não se sabe se por engano, ou de propósito, ou por deterioração do produto; e) desenvolvimento de resistência. E se as 5 ordens de diferentes possibilidades que podem acarretar o fracasso de um determinado carrapaticida forem na realidade a expressão da verdade, quizá uma das 3 últimas poderia explicar o baixo percentual de controle obtido para decametrina e para fenvalerato em Jacareí, SP.

CONCLUSOES

1. No teste de Drummond, a atividade das drogas empregadas concentrou-se na ação ovarioestática e anti-embriogênica, não sendo possível discernir o quanto dos resultados finais se deve a cada qual desses efeitos.
2. Dos compostos carrapaticidas empregados, cipermetrin "high cis" + diclorvos foi aquele que apresentou melhor percentual de controle, sugerindo que pode ser um dos mais efetivos no controle de *B. microplus* na região de Jacareí, SP.
3. Com os conhecimentos disoníveis, o máximo que se pode afirmar no momento

é que o baixo percentual de controle obtido para decametrina e para fenvalerato nos desautoriza a classificação da linhagem de *B. microplus* da região de Jacareí, SP como resistente às tais drogas.

4. O confronto das conclusões supra com os dados da literatura compulsada aponta a necessidade da realização de testes especialmente delineados e executados (teste de larvas) para determinação do fator resistência da linhagem de *B. microplus* em questão, frente aos mesmos carrapaticidas.

PEREIRA, M.C. & LUCAS, R. In vitro assays of some ixodicides against a cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) strain from Jacareí, São Paulo State, Brazil. Rev. Fac.Med.Vet.Zootec.Univ.S.Paulo, 24(1):7-11, 1987.

SUMMARY: By means of "in vitro" immersion tests for engorged female ticks (Drummond test), used for estimation of the efficacy of ixodicides, we purposed to measure the acaricide susceptibility of a *Boophilus microplus* strain from Jacareí, São Paulo State Brazil, including subject in the test some of the commonest ixodicides employed in the area, such as: 1) trichlorphon + coumaphos; 2) amitraz; 3) fenvalerate; 4) decametrin; 5) cypermethrin high cis + dichlorvos; 6) cypermethrin high cis. Of the six products, the highest activity in relation to the control percentage was performed by cypermethrin high cis + dichlorvos, becoming evident its high ovariostatic and antiembryogenic efficiency, as well as suggesting that it could be one of the most effective for the control of *B. microplus* in the area.

UNITERMS: *Boophilus microplus*; Pesticides

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - BARNETT, S.F. The control of ticks on livestock. F.A.O. Agric. Stud., 54:578, 1936.
- 2 - DRUMMOND, R.D.; ERNST, S.E.; TREVIND, J.L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAM, D.H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus* laboratory testes of inseticides. J. econ. Ent., 66:130-133, 1973.
- 3 - KRUIF, P. Microbe hunters. 12.ed. New York, 1950.
- 4 - NOLAN, J.; ROULSTON, W.J.; WHARTON, R.H. Resistance to synthetic pyrethroids in a DDT-resistant strain of *Boophilus microplus*. Pestic. Sci., 8:484-486, 1977.
- 5 - NOLAN, J.; ROULSTON, W.J.; SCHNITZERLING, H.J. The potential of some synthetic pyrethroids for control of the cattle tick (*Boophilus microplus*). Aust. vet. J., 55:463-466, 1979.
- 6 - SMITH, T. & KILBORNE, K.I. Investigacions into the nature, causation and prevention of Texas or southern cattle fever. Bull. Bur. Anim. Med. U.S. Dep. Agric. (1):1-103, 1893.

Recebido para publicação em 07/04/86
Aprovado para publicação em 26/11/86