

Avaliação *in vitro* de apresentações comerciais de carrapaticidas sobre fêmeas parcialmente ingurgitadas de *Rhipicephalus microplus*

In vitro* assessment of carrapaticides trade on females partly full of *Rhipicephalus microplus

⁽¹⁾ Arianne Ferreira Dias; ariannefd@gmail.com

⁽¹⁾ Michel Ruan dos Santos Nogueira; michelnogueira2012@hotmail.com

⁽¹⁾ Centro Universitário de Itajubá – FEPI, Av. Dr. Antônio Braga Filho, nº 687, Porto Velho, Itajubá – Minas Gerais.

Recebido: 20 de fevereiro de 2019; Revisado: 22 de maio de 2019

Resumo

O carrapato *Rhipicephalus microplus* é um ectoparasita, originário da Ásia, disseminando-se para outros continentes por meio da importação de bovinos, causando prejuízos à produtividade dos rebanhos. O mesmo possui duas fases em seu ciclo biológico, denominadas parasitária e não parasitária. A fase não parasitária é quando o artrópode está no ambiente (maior período do ciclo evolutivo), no qual necessita de umidade e temperatura específicas para sua manutenção e a fase parasitária é aquela onde os artrópodes são encontrados no hospedeiro e, na qual ocorrem as maiores aplicações de carrapaticidas. O estudo possuiu o objetivo de avaliar a ação *in vitro* de bases químicas/comerciais no controle dos carrapatos dos bovinos. A metodologia permitiu a avaliação do percentual de postura, por meio de ensaios biológicos. A realização do teste de sensibilidade aconteceu em rebanhos leiteiros provenientes de propriedades atendidas pelo Setor de Estágio de Produção Animal do Centro Veterinário do Centro Universitário de Itajubá - FEPI. Com os resultados, foi possível identificar diferenças na oviposição das fêmeas em relação aos princípios ativos entre as propriedades estudadas. Sendo assim, o projeto destaca a importância da realização de testes de sensibilidade em cada propriedade de forma individualizada, e assim, ocorrendo a escolha adequada a ser usada em cada rebanho.

Palavras-chave: carrapaticida, carrapato, controle, resistência, sensibilidade.

Abstract

The *Rhipicephalus microplus* tick is an ectoparasite, originated in Asia, scatter out to other continents by means of imports of bovine animals, causing damages to the productivity of the herds. It has two phases in its biological cycle, termed parasitic and non-parasitic. The non-parasitic phase is when the arthropod is in the environment (largest period of the evolutionary cycle), in which it needs specific humidity and temperature for its maintenance and the parasitic phase is the one where arthropods are found in the host and in which the largest applications of carrapaticides occur. The objective of the study was to evaluate *in vitro* bases/commercial in the control of bovine ticks. The methodology allowed the evaluation of the posture percentage, through biological tests. The sensitivity test was carried out in dairy herds from properties serviced by the Animal Production Training Section of the Centro Veterinário at Centro Universitário de Itajubá - FEPI. With the results, it was possible to identify difference in females' oviposition in relation to the active principles among the studied properties. Therefore, the project highlights the importance of performing sensitivity test on each property in an individualized way, and thus, the appropriate choice to be used in each herd occurs.

Key Words: carrapaticides, ticks, control, resistance, sensitivity.

Introdução

De acordo com o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), o Brasil em 2016 foi o 2º maior produtor de bovinos no cenário global (representando 22,2%) (FIORE, AGUIAR, 2017). O rebanho bovino brasileiro no mesmo ano apresentou 218,23 milhões de bovinos, no *ranking* mundial a produção de carne bovina totalizou 15,4% e também o 2º lugar como maior produtor, na pecuária leiteira obteve-se 33,62 bilhões de litros, sendo 5º maior produtor de leite mundial (FIORE, AGUIAR, 2017).

Dentre os prejuízos relacionados com a diminuição da produtividade dos bovinos, destaca-se a infestação por *Rhipicephalus microplus*, responsável por afetar o bem-estar animal, reduzindo a produção de leite e carne. Segundo Grisi *et al.*, (2014), este parasita causa perdas anuais superiores a \$3,24 bilhões de dólares. O clima brasileiro colabora para a ocorrência de infestação, acelerando as fases do seu ciclo, sendo assim, importante evidenciar as medidas de controle (SANTOS *et al.*, 2009).

O biocarrapaticidograma, é um teste *in vitro* utilizado para determinar se há ocorrência de resistência e/ou sensibilidade dos carrapatos aos princípios ativos de cada produto. Possibilitando a recomendação para o pecuarista de qual produto mais

adequado para os animais de sua propriedade, evitando tratamentos ineficazes e o não desenvolvimento de resistência, quando realizado anualmente (JUNIOR, 2015).

O presente trabalho possuiu como propósito, avaliar a porcentagem de postura *in vitro* de princípios ativos de carrapaticidas químicos sobre fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. microplus*, por meio de ensaios biológicos.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Parasitologia localizado no Centro Veterinário do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Itajubá – FEPI e no Laboratório de Microbiologia situado no Centro Universitário de Itajubá – FEPI.

Primeiramente, aplicou-se um questionário para os proprietários em relação a percepção frente ao carrapato bovino. Os tópicos interrogados foram:

- Aptidão dos animais;
- Qual sistema de criação;
- Origem da raça de bovinos predominante;
- Número médio de animais na propriedade;
- Conhece o ciclo biológico do carrapato;

- Dificuldade no controle do carrapato;
- Critério para aplicação do carrapaticida;
- Número de aplicações de carrapaticidas por ano;
- Época (s) de aplicação;
- Modo de aplicação utilizado;
- Como decide qual carrapaticida utilizar,
- Os três últimos carrapaticidas utilizados.

Foi realizado a coleta em cinco propriedades, com foco principalmente na produção de leite e as mesmas não realizam o biocarrapaticidograma.

O Sítio Nossa Senhora da Piedade (Propriedade A), localizada em Itajubá/MG, apresenta entre 21 a 40 animais. O princípio ativo utilizado no rebanho atualmente é o Triclorfone, mas já foram utilizados Ivermectina 4,00% + Vitamina A.D.E e também Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal.

No Sítio São Joaquim (Propriedade B), localizado em Piranguinho/MG e possuindo de 21 a 40 animais. É usado como princípio ativo a Eprinomectina, mas possui histórico com a utilização do Fipronil, Deltametrina, Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal, Cipermetrina e Cipermetrina + Clorpirifós + Butóxido de Piperonila + Citronelal.

O Sítio Santana (Propriedade C) se situa em Wenceslau Braz/MG e a propriedade possui de 41 a 80 animais. É utilizado no rebanho o Amitraz, mas também já foram usados Fipronil 1% e Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal.

A Granja Capituba (Propriedade D) localiza em Itajubá/MG, possui um rebanho de 81 a 120 animais e onde foi feita a quarta coleta. Na propriedade utiliza o princípio ativo Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal e também usa o sal homeopático.

O Sítio Recanto Feliz (Propriedade E) em Itajubá/MG e possui de 41 a 80 animais. É utilizado como carrapaticida os princípios ativos Cipermetrina 5% e Doramectina.

Os testes seguiram metodologia proposta por Drummond *et al.*, (1973). Primeiramente as fêmeas pré-ingurgitadas foram coletadas manualmente direto do animal (Figura 1). Foi respeitado um período de no mínimo 30 dias sem tratamento e/ou sem contato com carrapaticida, para a execução das coletas. Em cada propriedade foi coletado um número mínimo de 100 exemplares de *R. microplus*, transportados ao laboratório em um recipiente de plástico.



Figura 1-. Animal com grande quantidade de *R. microplus* no momento da coleta em uma propriedade.

No laboratório, as fêmeas parcialmente ingurgitadas foram higienizadas com água destilada e secas com papel toalha. Na sequência, foram pesadas e separadas em seis grupos com dez repetições cada. Sendo cinco grupos destinados aos carrapaticidas comerciais e um grupo Controle, onde o Grupo 1 (controle, água destilada), Grupo 2 (Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal), Grupo 3 (Cipermetrina + Clorpirifós + Fenthion), Grupo 4 (Amitraz), Grupo 5 (Cipermetrina + Clorpirifós) e Grupo 6 (Triclorfone + Coumafós + Ciflutrina).

Tabela 1. Apresentação dos grupos de acordo com a constituição para imersão e a concentração de cada princípio ativo para diluição.

Número do grupo	Constituição	Concentração
1	Água	-

2	Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal	1%
3	Cipermetrina + Clorpirifós + Fenthion	0,25%
4	Amitraz	1%
5	Cipermetrina + Clorpirifós	0,2%
6	Triclorfone + Coumafós + Ciflutrina	1%

Após a separação dos grupos, ocorreu a imersão grupo a grupo durante 3 minutos em cada solução comercial e controle em copos tipo Béquer de 200 ml, depois foram secas em papel toalha, fixadas com fita dupla face em decúbito dorsal nas placas de Petri. Posteriormente, foi realizado a identificação (de propriedade, grupo e fêmea) (Figura 2) e encaminhadas à câmara climatizada (com temperatura a 27°C) (Figura 3), sendo que não foi possível monitorar/controlar a umidade do ambiente devido ao modelo do equipamento e por isso foi avaliado a porcentagem de postura após o tratamento.

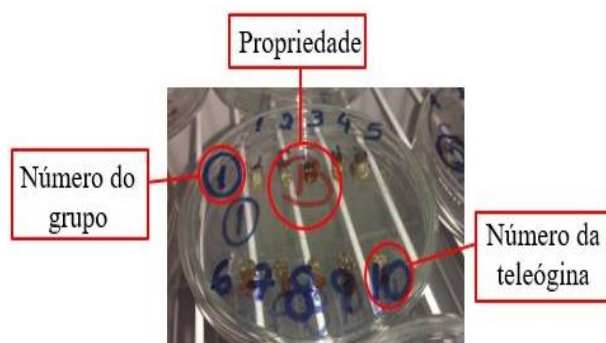


Figura 2- Identificação das placas de Petri foram: letra B em vermelho representa a propriedade, o número 1 circunscrito em azul indica qual grupo pertence e o número 10 em azul simboliza o número da fêmea do grupo.



Figura 3 - Armazenamento no interior da câmara climatizada.

A anotação referente ao dia e a qual fêmea realizou oviposição foi realizada ao início da postura (Figura 4), sendo as massas de ovos armazenadas individualmente em tubos de ensaio, tendo todas a identificação na mesma ordem que a placa de Petri.



Figura 4 - Teleóginas de *Rhipicephalus microplus* realizando postura da massa de ovos.

Resultados

O teste realizado com as cepas da propriedade A, apresentou-se maior resistência o Amitraz e os que apresentaram sensibilidade foram Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal, Cipermetrina + Clorpirifós + Fenthion, Cipermetrina + Clorpirifós e Triclorfone + Coumafós + Ciflutrina. O Amitraz possui 60 % de postura e os outros apresentaram 0% de postura (Figura 5).

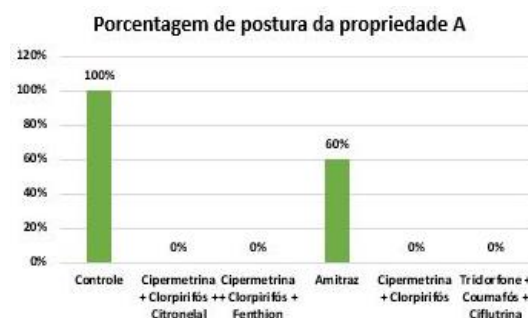


Figura 5 -. Porcentagem de fêmeas de *R. microplus* que realizaram postura da propriedade A.

Na propriedade B, único indicado para utilização é Cipermetrina + Clorpirifós + Fenthion, os demais se mostraram resistentes (Figura 6) e pode ser

considerado importante o histórico de carrapaticidas que já foram utilizados no rebanho.

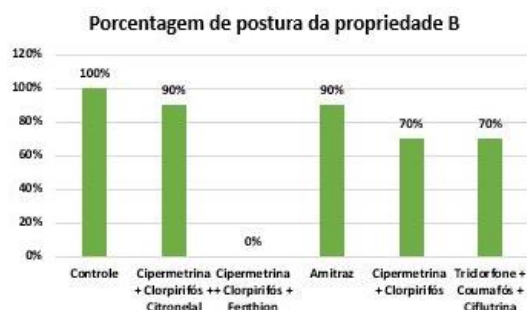


Figura 5.- Porcentagem de fêmeas de *R. microplus* que realizaram postura da propriedade B.

Nas propriedades C (Figura 7), D (Figura 8) e E (Figura 9) possuíram os mesmos resultados entre sensíveis Cipermetrina + Clorpirifós + Fenthion e Cipermetrina + Clorpirifós e os resistentes Triclorfone + Coumafós + Ciflutrina, Amitraz e Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal.

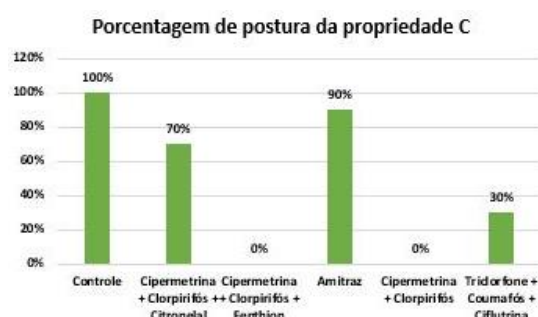


Figura 6. Porcentagem de fêmeas de *R. microplus* que realizaram postura da propriedade C.

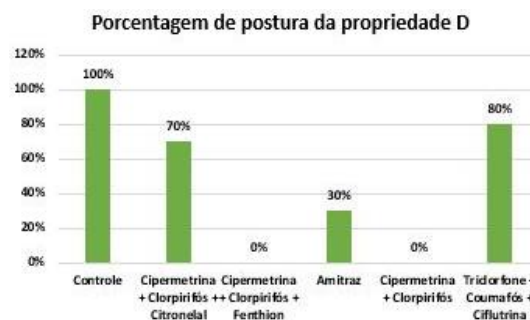


Figura 7.- Porcentagem de fêmeas de *R. microplus* que realizaram postura da propriedade D.

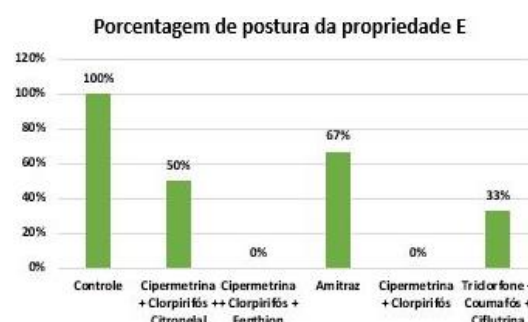


Figura 8 -. Porcentagem de fêmeas de *R. microplus* que realizaram postura da propriedade E.

Na avaliação das respostas referente ao questionário, pode-se observar que todas as propriedades possuem principalmente animais cruzados com zebu (*Bos indicus* x *Bos taurus*).

Nas propriedades utilizadas no estudo pode ser comprovado um desconhecimento do ciclo do carrapato e os métodos de controle, sendo o ciclo conhecido por apenas um colaborador. Em todas as propriedades o critério para aplicação do carrapaticida foi a presença de carrapatos visíveis, porém duas delas possuíram dificuldade no controle da população do mesmo ectoparasita.

Já a quantidade de aplicações de carrapaticidas entre as propriedades variou

de 4 a 20 tratamentos anuais (Figura 10) e quanto maior o número de tratamentos ao ano mais contribui para a ocorrência de resistência.

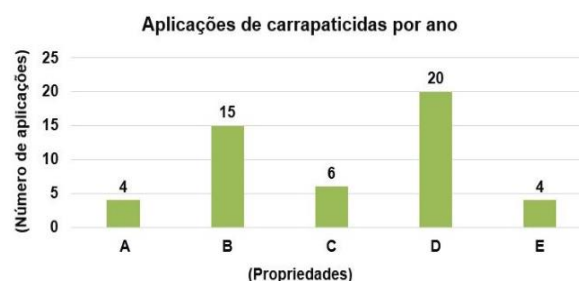


Figura 9 - Comparação do número de aplicações de carrapaticidas nos bovinos por propriedade.

Quando questionados sobre os modos de aplicação de carrapaticidas (Figura 11), pode observar que o mais utilizado é a pulverização e os 20% respondidos como “Outro” é na forma de homeopatia.

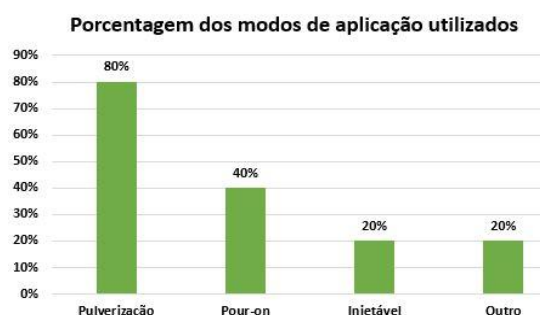


Figura 10. Porcentagem dos principais modos de aplicação de carrapaticidas utilizados entre as propriedades.

Os proprietários quando interrogados em relação de como decidem qual carrapaticida comprar (Figura 12), 80% responderam como “Outro”, é porque eles

conhecem e utilizam, acreditando que é eficiente.

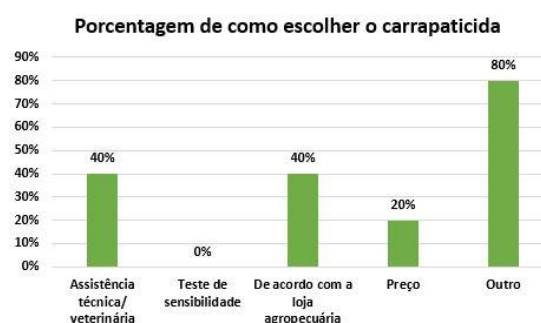


Figura 11 - Porcentagem de como os proprietários decidem qual carrapaticida utilizar no rebanho.

Discussão

Os colaboradores relatam a ineficiência dos carrapaticidas, que na maioria das vezes são escolhidos sem algum critério e também fazem o uso frequente do produto pelos animais apresentarem carrapatos visíveis (BERTOLUCCI, 2011).

Como os animais nas propriedades são principalmente cruzados com zebu (*Bos indicus*), isso favorece com a redução da infestação, pois são menos sensíveis ao parasitismo pelo *R. microplus* em comparação aos de raça europeia (*Bos taurus*) (SANTOS *et al.*, 2009).

Vivas *et al.* (2006 apud SANTOS *et al.*, 2009) relatam, que se o número de tratamentos ao ano for maior ou igual a seis, contribuirá para a ocorrência de resistência na população de *R. microplus*. No entanto, das cinco propriedades avaliadas, três ultrapassaram o limite recomendado, sendo que duas delas apresentam um número

excessivo de aplicação anual de carrapaticida.

O principal modo de aplicação do carrapaticida de acordo com o questionário é a pulverização, onde este método é feito de forma indiscriminada, com subdosagens, erro na diluição da cauda a ser aplicada e assim contribuindo com a resistência (PEREIRA *et al.*, 2010).

Com a realização do trabalho pode-se observar que o fator que mais influenciou a eclosão das larvas foi o baixo índice de umidade. Por consequência, isso afetou a realização de algumas análises para avaliar eficiência reprodutiva e eficiência aceitável pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

Isso pode ser explicado pois em baixos índices de umidade ocorre um atraso no desenvolvimento e eclosão das larvas, proporcionando assim um ressecamento e consequentemente a baixa fertilidade, que em condições naturais acontece no outono e no inverno (NICARETTA, 2018).

O desenvolvimento embrionário e também a viabilidade das larvas de *Rhipicephalus microplus* ocorre em presença de alta umidade. Sendo assim, as maiores infestações de carrapatos ocorrem na primavera e principalmente no verão, devido a temperatura e umidade relativa do

ar serem mais elevadas (NICARETTA, 2018).

Segundo Klafke (2008 apud VEIGA *et al.*, 2012), a definição de resistência é a mudança na frequência gênica em uma determinada população. Um dos fatores para essa mudança é o aumento da quantidade de indivíduos, sendo que a dose letal precisa ser maior do que a da maioria dos indivíduos da mesma espécie.

O grupo químico dos piretróides sintéticos, no qual a cipermetrina e ciflutrina fazem parte, são utilizados no Brasil desde de 1980 (LEAL *et al.*, 2003 apud MENDES *et al.*, 2011). Furlong (1999 apud MENDES *et al.*, 2011), por meio da realização de testes de imersão de adultos, relatou que houve redução da eficiência de carrapaticidas no início da década de 1990, no estado de Minas Gerais. Já no estado de São Paulo, em 2001, a eficácia dos piretróides sintéticos apresentou variação de regiões entre 20,5% a 42,1% (MENDES *et al.*, 2001 apud MENDES *et al.*, 2011).

Outro grupo químico é dos organofosforados, no mercado brasileiro foi introduzido na década de 1950 e a resistência foi observada em 1972 (ARTECHE, 1972 apud KLAFKE *et al.*, 2017), pode ser encontrado em um composto único ou também em associação ao piretróides sintéticos. Os produtos

pertencentes a essa classe são por exemplo: clorpirifós, coumafós, fenthion e triclorfone (KLAFKE *et al.*, 2017). A resistência de organofosforados, é menos percebido do que outros grupos como piretróides sintéticos e amidinas, por serem mais complexa, e assim, apresentando níveis reduzidos de resistência (KLAFKE *et al.*, 2017).

Em 2001 no estado de São Paulo, foi realizado um estudo que indicou a associação de cipermetrina e clorpirifós obtendo eficácia de 66,3% a 94,4%, sendo ruim contra *R. microplus* (MENDES *et al.*, 2001; MENDES *et al.*, 2011).

Dentre os princípios ativos utilizados no tratamento para o teste, quatro deles possuem a associação de piretróides sintéticos com organofosforados e a média de postura em relação as propriedades foram: Cipermetrina + Clorpirifós + Citronelal com 56%, Cipermetrina + Clorpirifós 14% e Triclorfone + Coumafós + Ciflutrina com 42,6%.

Um estudo feito por Rodrigues *et al.*, (2018), comparou a eficácia de dois produtos carrapaticidas a base de cipermetrina e clorpirifós em animais naturalmente infestados (Brangus x Nelore) e também por testes *in vitro*. O resultado dos bioensaios laboratoriais do produto 1 (cipermetrina + clorpirifós + citronelal)

com eficácia de 100% e em campo foi inferior entre 35,1% e 51%. Portanto o produto 2 (cipermetrina + clorpirifós + fenthion) indicou eficácia média acima de 95% tanto *in vitro* e também à campo.

Possui também o grupo das amidinas, sendo o principal o amitraz, conforme Jonsson e Hope (2007 apud CAMILLO *et al.*, 2008), é considerado um dos acaricidas mais utilizados na Austrália, América Latina e também na África do Sul, mas no Brasil existe populações resistente desde 1994. No estado do Rio Grande do Sul, o amitraz apresentou uma variância na sua eficácia, de 42 propriedades colaboradoras somente 6 delas apresentaram sensibilidade acima de 95%. E pode ser observado a resistência do amitraz nas cinco propriedades colaboradoras do estudo, que apresentou uma média de 67,4% de postura.

Conclusão

Com a realização do presente estudo, pode-se observar que os pecuaristas e colaboradores possuem dificuldades no controle do carrapato bovino e também a falta de informação do ciclo biológico e nos métodos de controle.

Sugere-se que há uma interação entre a porcentagem de oviposição e a eficácia do carrapaticida, sendo que o grupo com maior

postura estaria associado a um grau de resistência. Como foi o caso do Amitraz que apresentou alta porcentagem de postura ao contrário da Cipermetrina + Clorpirifós + Fenthion que não possuiu postura em nenhuma das propriedades.

Por este motivo é de extrema importância que realizem estudos voltados na área de parasitologia, principalmente em relação ao *Rhipicephalus microplus* que causa grande prejuízos e principalmente em pequenas propriedades onde a falta de informação é maior.

Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPEMIG, ao Centro Universitário de Itajubá – FEPI, às propriedades rurais colaboradoras e todos que auxiliaram para a realização do trabalho.

Referências

BERTOLUCCI, A.V. **Percepção dos produtores do sul de Minas Gerais sobre a importância e formas de controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887)**. 2011. 63f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2010.

CAMILLO, G. *et al.* Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2008nahead/a82cr262.pdf>>. Acesso em: 10 maio 2018.

DRUMMOND, R. O. *et al.* *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. **Journal of Economic Entomology**, 1 fev. 1973.

Disponível em: <<https://academic.oup.com/jee/article-abstract/66/1/130/2211260>>. Acesso em: 18 jun. 2018.

FIORE, M. B.; AGUIAR, R. J. Periódico eletrônico: Produção da pecuária municipal. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística/IBGE**, Rio de Janeiro, RJ, v. 44, 2017. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2016_v44_br.pdf>. Acesso em: 07 jun. 2018.

GRISI, L. *et al.* Reassment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. 2014. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, abr. – jun. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1984-29612014000200150&script=sci_arttext>. Acesso em: 26 maio 2018.

JUNIOR, I. K. **Por que o seu tratamento contra o carrapato pode estar falhando!** [2015]. Disponível em: <<http://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/02101305-inftec-62-controle-do-carrapato-no-rs-e-biocarrapaticidograma.pdf>>. Acesso em: 28 maio 2018.

KLAFKE, G. *et al.* Multiple resistance to acaricides in field populations of *Rhipicephalus microplus* from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Eldorado do Sul, jan. 2017. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877959X1630173X>>. Acesso em: 11 maio 2018.

MENDES, M. C. *et al.* Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, São Paulo, jun. 2011.

Disponível em: <
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401711000392>>. Acesso em: 11 maio 2018.

NICARETTA, J. E. **Dinâmica populacional de *Rhipicephalus microplus* em uma região de clima tropical semiúmido.** 2018. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2018.

PEREIRA, C. D. *et al.* Carrapato dos bovinos: métodos de controle e mecanismos de resistência a acaricidas. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**, Planaltina, jan. 2010. Disponível em: <
<https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/881513/1/doc278.pdf>>. Acesso em: 10 de maio 2019.

RODRIGUES, V. S. *et al.* Efficacy profile of Cypermethrin and Chlorpyrifos based acaricides on *Rhipicephalus microplus* control on cattle in the rearing phase, naturally infested and exposed to tick fever agentes in central Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, Campo Grande, maio 2018. Disponível em: <
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405939017300734>>. Acesso em: 11 maio 2018.

SANTOS, T. R. B. *et al.* Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Pelotas, jan. 2009. Disponível em <
<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n1/a10v29n1>>. Acesso em: 15 de jan. 2019.

VEIGA, L. P. H. *et al.* Resistance to cypermethrin and amitraz in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* on the Santa Catarina Plateau, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, abr. – jun. 2012. Disponível em: <
<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S198>

4-
29612012000200011&script=sci_arttext&tlng=pt>. Acesso em: 13 maio 2018.