

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ALTERNATIVO PARA DIAGNÓSTICO DE RESISTÊNCIA E SENSIBILIDADE DE *Rhipicephalus microplus* À ACARICIDAS INJETÁVEIS

Mhanuel Carlos Arijama¹; Sthéphani Alves Branco Camargo²; José Weslly Silva³; Cristencio.A.A.Mucipo⁴; Natália Machado Rahal⁵; Rodrigo Casquero Cunha⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – arjamamc@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – sthephanicamargo@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – silvajoseweslly@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – kresalmeidamucipo17@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – rahal.natalia@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas – rodrigo.cunha@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Os carrapatos são ectoparasitas de vertebrados que dependem do sangue dos hospedeiros para sobreviver. Além de transmitirem bactérias, vírus e protozoários, causam doenças como anaplasmose, babesiose, riquetsiose e theileriose. Estão amplamente distribuídos em regiões tropicais e subtropicais, como Ásia, África, Américas e Caribe, onde o clima quente e úmido favorece sua proliferação (HEYLEN et al., 2024; SMIT, 2023; HURTADO & GIRALDO-RÍOS, 2019).

O *Rhipicephalus microplus* é um carrapato de extrema importância para a pecuária brasileira, responsável por perdas econômicas significativas, estimadas em até 3,24 bilhões de dólares anuais. Este carrapato não apenas compromete a saúde dos bovinos, causando anemia e redução na produção de leite e carne, mas também é vetor de doenças como a Tristeza Parasitária Bovina, impactando diretamente a produtividade do setor (GRISI et al., 2014).

As estratégias de controle de carrapatos envolvem o uso de acaricidas, cujas técnicas de aplicação variam conforme o mecanismo de ação. Os acaricidas de contato são administrados por imersão ou aspersão, enquanto os sistêmicos podem ser aplicados por injeções, pour-on, ou de forma oral (ANDREOTTI et al., 2019). No entanto, o uso indiscriminado e inadequado desses produtos químicos levou ao desenvolvimento de resistência nas populações de carrapatos, além de resíduos em produtos de origem animal e perda de confiança dos produtores na eficácia dos programas de controle (VERÍSSIMO, 2015).

A detecção precoce de resistência por biocarrapaticidograma é fundamental para garantir o uso eficaz dos acaricidas disponíveis. A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura recomenda métodos como o Teste de Imersão de Adultos (TIA) e o Teste de Pacote Larval (PLT) para o diagnóstico da resistência, mesmo quando se avalia lactonas macrocíclicas injetáveis (FAO et al., 2004).

Neste estudo, objetivou-se testar um método alternativo *in vitro* para diagnóstico de resistência a acaricidas injetáveis em carrapatos da espécie *R. microplus*.

2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado de junho a julho de 2024 no Laboratório de Diagnóstico de Parasitárias (LadoPar) e no Laboratório de Biologia Molecular Veterinária (LaBMol-Vet), na Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). Sessenta fêmeas ingurgitadas (teleóginas) de *R. microplus* foram

coletadas de bovinos da Fazenda Experimental da Palma (CEUA n° 032636/2022-92). As teleóginas foram higienizadas com água destilada, secas em papel toalha, pesadas em balança analítica (ATY224, Shimadzu, São Paulo, Brasil) e distribuídas em conjuntos de 10 carrapatos para que a média de peso fosse homogênea entre estes. Os conjuntos foram colocados em placas de Petri plásticas, sendo designados aleatoriamente para inoculação com lactonas macrocíclicas, ou grupos controle, em um dos grupos experimentais: Placa 1 – abamectina; Placa 2 – ivermectina; Placa 3 – doramectina; Placa 4 – moxidectina; Placa 5 – tampão PBS estéril; e, Placa 6 – sem inoculação.

As formulações comerciais de lactonas macrocíclicas (1%) foram diluídas em solução composta de tampão PBS estéril e surfactante (Tween 20), para que a concentração final fosse de 0,684 µg/µl. A determinação da concentração final para administração nas teleóginas levou em consideração a biodisponibilidade média dos compostos e a quantidade de sangue ingerida nesta fase da vida do parasita. Em cada carrapato foram aplicados 5 µl da diluição com produto respectivo a cada grupo e para a inoculação utilizou-se micropipeta com volume máximo de 10 µl e um escalpe tamanho 27G acoplado à ponteira (Figura 1). Para um dos grupos controle (Placa 5), foram aplicados 5 µl de tampão PBS estéril, enquanto para o grupo controle da Placa 6 não foi realizado nenhum procedimento de inoculação.



Figura 1. Método de aplicação de lactonas macrocíclicas injetáveis em teleóginas de *Rhipicephalus microplus* para teste de biocarrapaticidograma

Após as manipulações segundo cada grupo experimental, as fêmeas foram fixadas dorsalmente em fita adesiva de dupla face, dispostas nas placas de Petri plásticas e incubadas em uma estufa B.O.D. climatizada a 27/28°C e 80% de umidade relativa, por um período de 14 a 21 dias para a postura de ovos.

Para avaliar eficácia dos produtos, as massas de ovos de cada grupo foram pesadas e acondicionadas em tubos de coleta de 10 ml, identificados com a data da pesagem dos ovos e o nome do produto testado ou grupo controle. A taxa de inibição de postura de ovos foi determinada segundo FAO (2004):

$$\left(\frac{\text{massa de teleoginas tratadas}}{\text{massa de teleoginas controle}} - \frac{\text{peso de ovos tratados}}{\text{pesos de ovos controle}} \right) \times 100.$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O menor percentual de inibição de postura foi da Placa 1 (67,8%), inoculação com Abamectina, e o maior da Placa 4 (84,6%), inoculação com Moxidectina (Tabela 1). Na placa 5, controle com inoculação de PBS, notou-se uma taxa de inibição de 14,6%, indicando que o fato de realizar o procedimento invasivo, mesmo sem composto acaricida, possivelmente inibiu a postura dos ovos e maior mortalidade entre os grupos controle. No entanto, é possível verificar que o método aqui desenvolvido e proposto é eficaz para determinar a seleção de lactonas macrocíclicas injetáveis, visto que houve diferença numérica com relação à massa de ovos e à inibição da postura.

Tabela 1. Peso de teleóginas, número de indivíduos mortos e vivos, e taxa de inibição de postura de ovos de grupos de carrapatos submetidos à teste de inoculação de acaricidas injetáveis

Grupos	Produtos	Peso teleóginas (g)	Carrapatos vivos (n)	Carrapatos mortos (n)	Massa de ovos (g)	Inibição de postura (%)
Placa 1	Abamectina	2,892	6	4	0,5079	67,8
Placa 2	Ivermectina	2,917	4	6	0,412	74,7
Placa 3	Doramectina	2,983	6	4	0,341	81,5
Placa 4	Moxidectina	2,982	6	4	0,291	84,6
Placa 5	Controle PBS	2,982	8	2	1,394	14,6
Placa 6	Controle sem inoculação	2,891	9	1	1,576	*

*Grupo utilizado como referência para o cálculo da taxa de inibição de postura

Os critérios de seleção das fêmeas que serão submetidos aos testes devem ser rigorosos para se garantir a validação dos resultados obtidos. Para resultados mais confiáveis em testes de biocarrapaticidograma, é preconizado que a taxa de mortalidade de indivíduos de grupos controle sejam iguais ou menores que 10% (HEYLEN et al., 2024), como o encontrado no nosso teste com o grupo controle sem inoculação.



Os testes para determinação da eficácia das lactonas macrocíclicas injetáveis utilizam métodos adaptados de imersão de adultos e/ou de larvas (FAO,

2004). Dessa forma, o presente projeto apresenta potencial de desenvolvimento de uma nova alternativa para teste de biocarrapaticidograma que pode ser implementado na rotina de laboratórios de parasitologia veterinária, simulando de forma mais real a forma de contato do parasita com acaricidas injetáveis.

4. CONCLUSÕES

Os resultados parciais aqui obtidos demonstram o método alternativo testado para avaliar estes produtos tem potencial para avaliar a sensibilidade e resistência das teleóginas. Para os próximos passos, serão realizadas validações comparando o teste de imersão de adultos com o método alternativo aqui proposto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREOTTI, R., GARCIA, M. V., KOLLER, W. W., & RENATO ANDREOTTI E SILVA, C. M. V. G. (2019). *Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos*. Brasília, DF: Embrapa, 2019. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/1107092>
- BARROS, J. C., GARCIA, M. V., CALVANO, M. P. C. A., & ANDREOTTI, R. (2024). Impacto econômico do carrapato-do-boi na pecuária em transformação no Brasil. *Revista Contemporânea*, 4(1), 3266–3287. <https://doi.org/10.56083/RCV4N1-184>
- FAO - Food and Agricultural Organization of the United Nations. (2004). Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants. Disponível em: <<https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/8efa816b-a7d5-4667-8c33-777fd35bc13b/content>>, acesso em 09 Out. 2024.
- GRISI, L., LEITE, R. C., MARTINS, J. R. D. S., BARROS, A. T. M. D., ANDREOTTI, R., CANÇADO, P. H. D., ... & VILLELA, H. S. (2014). Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(2), 150-156. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014042>
- HEYLEN, D. J. A., LABUSCHAGNE, M., MEIRING, C., VAN DER MESCHT, L., KLAFKE, G., COSTA JUNIOR, L. M., STRYDOM, T., WENTZEL, J., SHACKLOCK, C., HALOS, L., MAREE, F., FOURIE, J., MADDER, M., & EVANS, A. (2024). Phenotypic and genotypic characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus microplus* field isolates from South Africa and Brazil. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 24, 100519. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2023.100519>
- HURTADO, J. O. B., & GIRALDO-RÍOS, C. (2019). Economic and Health Impact of the Ticks in Production Animals. Em M. Abubakar & P. K. Perera (Orgs.), *Ticks and Tick-Borne Pathogens*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.81167>
- SMIT, A. (2023). *Sympatry of Amblyomma eburneum and Amblyomma variegatum on African buffaloes and prevalence of pathogens in ticks*.
- VERÍSSIMO, C. J. (2015). *Resistência e controle do carrapato-do-boi*. Iz - Instituto De Zootecnia.