

AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DE *Rhipicephalus microplus* SUBMETIDO A DIFERENTES MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

STHÉPHANI ALVES BRANCO CAMARGO¹; NATALIA MACHADO RAHAL²;
DIULIANI FONSECA MORALES³; MHANUEL CARLOS ARIJAMA⁴; PEDRO
GABRIEL DE OLIVEIRA⁵; RODRIGO CASQUERO CUNHA⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – sthephanicamargo@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – rahal.natalia@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – diulimoralesfonseca@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – arijamamc@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas – pedrogaoliveira@gmail.com

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

1. INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus microplus* (CANESTRINI, 1888) tem como hospedeiro principal os bovinos, possui ciclo monoxeno e está amplamente distribuído em todo o território nacional. É de grande importância na pecuária no Brasil, sendo responsável por um prejuízo estimado de 3,24 bilhões de dólares ao ano (GRISI et al., 2014), também atuando como vetor dos agentes infecciosos que causam a tristeza parasitária bovina (TPB) (GUGLIELMONE, 1995).

A forma mais comum de controle de carrapatos é o uso de acaricidas pertencentes às classes de organofosforados, formamidinas, piretróides, lactonas macrocíclicas, fenilpirazoles, benzoilfeniluréias (fluazuron) e, para todos eles, há relatos de resistência nos carrapatos (ANDREOTTI, 2025). A avaliação da resistência dos carrapatos a estes compostos é realizada por meio de bioensaios como: teste de imersão de adultos (TIA) (Drummond et al., 1973); teste de pacotes de larvas (TPL) (FAO, 2004); e teste de imersão de larvas (TIL) (SHAW, 1966).

Ao selecionar um teste laboratorial para o diagnóstico de resistência a acaricidas, alguns critérios fundamentais devem ser observados. De acordo com as recomendações da FAO (2004), o método deve apresentar sensibilidade suficiente para detectar precocemente o surgimento da resistência, contemplar toda a gama de grupos químicos em uso, incluindo ingredientes ativos mais recentes, além de ser de baixo custo e capaz de fornecer resultados rápidos e confiáveis. Ademais, deve permitir a padronização entre diferentes laboratórios, possibilitando comparações consistentes em âmbito nacional e internacional.

Os testes *in vitro* mais amplamente utilizados não atendem a todos os requisitos prescritos pela FAO (2004). Além disso, os bioensaios disponíveis foram criados para testes com acaricidas de contato e aplicação via *pour on*, não existindo ainda um teste para avaliação da eficácia de produtos injetáveis, apenas protocolos adaptados. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade de teleóginas de *R. microplus* submetidas à diferentes métodos de injeção *in vitro*.

2. METODOLOGIA

Foram utilizadas 130 teleóginas de *R. microplus* de cepa sensível (POA), reconhecida por sua sensibilidade natural a acaricidas, provenientes do CRO Animal Science, localizado em Turuçu, RS. Os carrapatos foram higienizados com água destilada, secos em papel toalha, pesados individualmente em balança analítica e acondicionados em tubos de ensaio devidamente identificados.

A viabilidade e a mortalidade dos carrapatos foram avaliadas por meio da inoculação de diferentes volumes de solução tampão fosfato salina (PBS, pH 7,2) em distintas regiões anatômicas das teleóginas, formando-se assim os grupos experimentais.

Foram constituídos 13 grupos experimentais, definidos pela combinação entre a região anatômica de inoculação (ventre, dorso, escudo e quadrante inferior direito) e os volumes de PBS administrados (1, 3 e 5 µL), totalizando 12 grupos com 10 teleóginas cada. Adicionalmente, estabeleceu-se um grupo controle, composto por 10 teleóginas, que não foram submetidas à inoculação, sendo apenas higienizadas, secas e pesadas. Dessa forma, o delineamento experimental contemplou a avaliação independente e combinada dos fatores região anatômica e volume inoculado, permitindo a análise dos seus efeitos sobre a viabilidade e mortalidade das teleóginas.

A inoculação foi realizada com um scalp 27G, acoplado a ponteira e micropipetadora de volume máximo de 10 µL. Após a aplicação, as teleóginas foram acondicionadas individualmente em tubos de ensaio e incubadas em estufa tipo B.O.D. a 27–28 °C e 80% de umidade relativa por 15 dias, período destinado à postura dos ovos. A viabilidade das teleóginas foi avaliada com base na ocorrência de oviposição, sendo classificadas como viáveis aquelas que realizaram postura de ovos.

A análise estatística foi realizada no software Python, utilizando as bibliotecas SciPy e Statsmodels. Para comparar a mortalidade entre os grupos, aplicou-se o teste do qui-quadrado de independência. Em casos de frequências baixas, foram conduzidos testes exatos de Fisher pareados, com correção de Bonferroni para comparações múltiplas. Adicionalmente, utilizou-se regressão logística considerando simultaneamente os fatores “local” e “volume”. O nível de significância adotado foi de 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, o grupo controle apresentou mortalidade de 20% (Tabelas 1 e 2). Entre os grupos experimentais, a menor taxa de mortalidade foi observada quando o PBS foi aplicado no dorso das teleóginas (3%), enquanto a maior, ocorreu na aplicação na região ventral (17%). As aplicações no escudo e na região do quadrante inferior direito (QID) apresentaram mortalidade de 13% cada.

Tabela 1: Viabilidade de teleóginas de *Rhipicephalus microplus* após injeção de PBS em diferentes regiões anatômicas, inoculado utilizando scalp 27G, ponteira e micropipeta de volume máximo de 10 µL.

Local	Vivo	Morto	Total	Mortalidade %
Controle	8	2	10	20%
Ventre	25	5	30	17%
Dorso	29	1	30	3%
Escudo	26	4	30	13%
QID ¹	26	4	30	13%
Total	114	16	130	-

¹QID: quadrante inferior direito

Entre os volumes testados, 3 μ L resultou na menor mortalidade (8%), seguido de 1 μ L (13%) e 5 μ L (15%). De modo geral, as taxas de mortalidade observadas nos grupos experimentais foram inferiores ou semelhantes às do controle, não indicando efeito letal relevante do PBS nos diferentes volumes e locais de aplicação.

Tabela 2: Viabilidade de teleóginas de *Rhipicephalus microplus* após aplicação de PBS 1× em diferentes volumes, inoculados utilizando scalp 27G, ponteira e micropipeta de volume máximo de 10 μ L.

Volume	Vivo	Morto	Total	Mortalidade %
Controle	8	2	10	20%
1 ul	35	5	40	13%
3 ul	37	3	40	8%
5 ul	34	6	40	15%
Total	114	16	130	-

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os locais de aplicação ($\chi^2 = 3,37$; $p = 0,497$) ou entre os volumes testados ($\chi^2 = 1,67$; $p = 0,643$). Os testes exatos de Fisher pareados, com correção de Bonferroni, confirmaram a ausência de diferenças significativas entre os grupos. A regressão logística, considerando simultaneamente “local” e “volume”, também não indicou efeito significativo ($p = 0,399$). O poder estatístico estimado foi baixo (~5%), evidenciando limitação do número amostral para detecção de diferenças sutis.

A mortalidade no grupo controle superou o parâmetro de 10% estabelecido pela FAO (2004), possivelmente em decorrência do baixo número de indivíduos neste grupo ($n=10$), o que amplifica a variação e o erro experimental. Portanto, futuros ensaios, priorizando um maior poder amostral para o grupo controle e um protocolo otimizado de seleção, manuseio e incubação dos espécimes, são essenciais para confirmar os achados aqui observados.

Ressalta-se que este estudo configura-se como um teste preliminar, cujo objetivo principal é fornecer subsídios para a definição dos próximos passos, direcionados ao desenvolvimento e validação de um método padronizado para avaliação da resistência a acaricidas administrados por via injetável.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que o não houve diferença estatisticamente significativa na mortalidade das teleóginas em função do local de aplicação ou volume de PBS inoculado. Estudos adicionais são necessários para validar a utilização deste método como alternativa para o diagnóstico da eficácia de acaricidas injetáveis.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREOTTI, R et al. **Carrapatos: Bioma Cerrado**. Brasília, DF: Embrapa, 2025.

DRUMMOND, R. E. A. et al. Boophilus annulatus and B. microplus: Laboratory Tests of Insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v.66, p. 130–133, 1973.

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>

GRISI, L, LEITE, R. C, MARTINS, J. R. S, BARROS, A. T, ANDREOTTI, R, CANÇADO, P. H, et al. Reassessment of the potential economic impact of the cattle parasites in Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet** 2014; 23(2): 150-156.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014042>. PMID:25054492.

GUGLIELMONE, A. A. Epidemiology of babesiosis and anaplasmosis in South and Central America. **Veterinary Parasitology**, v. 57, p. 109-119, 1995.

SHAW, R. D. Culture of an Organophosphorus-Resistant Strain of Boophilus microplus (Can.) and an Assessment of its Resistance Spectrum. **Bulletin Entomology Research**, v.56, p.389–405, 1966.