

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

Avaliação da eficácia carrapaticida e preventiva do produto a base de eprinomectina 2% contra o carrapato *Rhipicephalus microplus* em bovinos naturalmente (teste de campo) e experimentalmente infestados (teste de estábulo)

BRUNO DE TOLEDO GOMES

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

Avaliação da eficácia carrapaticida e preventiva do produto a base de eprinomectina 2% contra o carrapato *Rhipicephalus microplus* em bovinos naturalmente (teste de campo) e experimentalmente infestados (teste de estábulo)

BRUNO DE TOLEDO GOMES

Sob a Orientação do Professor

Fábio Barbour Scott

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ

Março, 2022



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA Nº 3255/2022 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.047261/2022-30

Seropédica-RJ, 02 de agosto de 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

BRUNO DE TOLEDO GOME

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 21/01/2022

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese/dissertação.

(Assinado digitalmente em 05/08/2022 16:55)

FABIO BARBOUR SCOTT
COORDENADOR CURS/POS-GRADUACAO - TITULAR
PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)
Matrícula: ###736#0

(Assinado digitalmente em 03/08/2022 08:18)

GABRIELA FERREIRA DE OLIVEIRA
TEC EM ANATOMIA E NECROPSIA
DESP (12.28.01.00.00.00.52)
Matrícula: ###619#9

(Assinado digitalmente em 19/10/2022 10:43)

BRUNO GOMES DE CASTRO
ASSINANTE EXTERNO
CPF: ###.###.817-##

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G633a GOMES, Bruno de toledo, 1989-
Avaliação da eficácia carrapaticida e preventiva do
produto a base de eprinomectina 2% contra o carrapato
Rhipicephalus microplus em bovinos naturalmente
(teste de campo) e experimentalmente infestados
(teste de estábulo / Bruno de toledo GOMES. - Juiz
de fora , 2022.
51 f.: il.

Orientador: Fabio Barbou scott .
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Programa de pos graduação em
ciências veterinárias, 2022.

1. Eprinomectina. 2. Teste de campo. 3. Teste de
estábulo . I. Barbou scott , Fabio, 1966-, orient. II
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
Programa de pos graduação em ciências veterinárias
III. Título.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os envolvidos direta e indiretamente com este trabalho. E durante minha trajetória , agradeço em especial a meu orientador Profº. Drº. Fábio Barbour Scott, Drª Gabriela Ferreira de Oliveira e Monique Taveira Medeiros.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

BIOGRAFIA

Bruno de Toledo Gomes nasceu na cidade de Juiz de Fora, MG, no dia 10 de Julho de 1989, filho de Adelair de Toledo Mageste e Ivair Carlos Gomes. Em 2009 ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Severino Sombra - Vassouras, RJ, onde cursou até o quinto período até o ano de 2009. Em 2010, participou de processo seletivo de transferência externa e ingressou no curso de Medicina Veterinária na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Durante a graduação, estagiou no hospital veterinário de grandes animais da UFRRJ (HVGA) de 2011 a 2013. No mesmo ano ingressa no Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia veterinária (LQEPV) como estagiário da área de campo e permanece até 2014. Graduiu-se em Medicina Veterinária em novembro de 2014. Em março de 2015 ingressou no Curso de Pós-Graduação – Residência em Área Profissional da Saúde, Programa de Residência em Medicina Veterinária – Área de Concentração Clínica e Cirurgia de Grandes Animais. Em abril de 2016 é aprovado em processo seletivo para o cargo de auxiliar de médico veterinário e zootecnista na UFRRJ e atualmente é servidor público federal, lotado na UFRRJ-IV-LQEPV. Em 2018 aprovado em processo seletivo para o curso de Pós-Graduação em ciências veterinárias da UFRRJ

RESUMO

GOMES, Bruno de Toledo. **Avaliação da eficácia carrapaticida e preventiva do produto a base de eprinomectina 2% contra o carrapato *rhhipicephalus microplus* em bovinos experimentalmente infestados (teste de estábulo) e avaliação da eficácia em bovinos naturalmente infestados (teste de campo).** Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia *in vivo* do produto a base de eprinomectina 2%, administrado por via injetável, na dose recomendada para o seu uso em bovinos experimentalmente infestados com carrapatos (*Rhipicephalus microplus*) mantidos em baias individuais, e a capacidade carrapaticida em animais naturalmente infestados (teste de campo). Os efeitos terapêutico e residual contra *R. microplus* foram avaliados por meio de contagens de todas as fêmeas de carrapato, desprendidas de cada bovino, do dia D+1 ao dia D+23 com base na média de três contagens consecutivas (dias D-3, D-2 e D-1) e nos dias D+1 ao D+45, respectivamente. Também foram avaliados o índice reprodutivo e viabilidade das teleógenas do dia D+1 ao D+45. Diferenças significativas foram observadas do D+1 ao D+23; do D+5 ao D+23. Contudo, o produto não obteve eficácia para ação residual. Os resultados demonstraram que dentro da categoria animal estudada e sob as condições experimentais descritas, que o produto a base de eprinomectina 2%, administrado pela via injetável foi efetivo para o tratamento de bovinos experimentalmente infestados com carrapatos, apresentando níveis de eficácia carrapaticida acima de 95%, por 23 dias.

Palavras-chave: eprinomectina; teste de campo, teste de estábulo.

ABSTRACT

GOMES, Bruno de Toledo. **Evaluation of the acaricide and preventive efficacy of the product based on eprinomectin 2% against the tick *Rhipicephalus microplus* in experimentally infested cattle (stable test) and evaluation of the efficacy in naturally infested cattle (field test).**2022. Dissertation (Master in Veterinary Sciences). Institute of Veterinary Medicine, Department of Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

The objective of this study was to evaluate the in vivo efficacy of the product based on eprinomectin 2%, administered by injection, at the recommended dose for its use in cattle experimentally infested with ticks (*Rhipicephalus microplus*) kept in individual pens, and the ability to tick in naturally infested animals (field test). The therapeutic and residual effects against *R. microplus* were evaluated by counting all female ticks shed from each bovine from day D+1 to day D+23 based on the average of three consecutive counts (days D-3, D-2 and D-1) and on days D+1 to D+45, respectively. The reproductive index and viability of teleogens from day D+1 to D+45 were also evaluated. Significant differences were observed from D+1 to D+23; from D+5 to D+23. However, the product was not effective for residual action. The results showed that within the animal category studied and under the experimental conditions described, that the product based on eprinomectin 2%, administered by the injectable route, was effective for the treatment of cattle experimentally infested with ticks, presenting levels of acaricide efficacy above 95 %, for 23 days.

Keywords: eprinomectin; field test; stable test.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Bovino no tronco de contenção para contagem de carrapatos. Fonte: arquivo pessoal, 2017.	11
Figura 2 Cerca de 2500 larvas não alimentadas de <i>R. Microplus</i> por seringa, com idade de aproximadamente 14 dias, oriundas da colônia mantida no LQEPV.	16
Figura 3. aplicação injetável via subcutânea. fonte: arquivo pessoal.	18
Figura 4 Teleóginas incubadas em B.O.D. a uma temperatura de 27°C, com 70-80% de umidade por um período de 21 dias. Fonte: arquivo pessoal, 2017.	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Médias aritméticas e desvios padrão das contagens de teleóginas de <i>Rhipicephalus microplus</i> desprendidas dos bovinos dos grupos Controle (GC) e Tratado (GT), percentuais de eficácia do grupo tratado (GT) dos dias D+1 ao D+23 e eficácias médias.	25
Tabela 2. Médias aritméticas, desvio padrão e eficácia carrapaticida preventiva de teleóginas desprendidas dos animais pertencentes aos grupos controle (GC) e tratado (GT) para os desafios dos dias: D+7, D+14 e D+21.....	26
Tabela 3. Valores referentes ao número de teleóginas incubadas, pesos das teleóginas incubadas, peso das posturas das teleóginas incubadas e percentual de eclosão de larvas, dos grupos controle e grupo tratado durante os 23 dias.	30
Tabela 4 Valores médios referentes ao número de teleóginas incubadas, pesos das teleóginas incubadas, peso das posturas das teleóginas incubadas e percentual de eclosão de larvas, dos grupos controle (GC) e grupo tratado (GT) durante os desafios.	30
Tabela 5 Valores médios referentes ao número de teleóginas incubadas, pesos das teleóginas incubadas, peso das posturas das teleóginas incubadas e percentual de eclosão de larvas, dos grupos controle (GC) e grupo tratado (GT) durante os desafios.	31
 Tabela 1 Contagens de teleóginas detalhadas por animal, assim como as médias de teleóginas desprendidas dos grupos tratado e controle nos três dias que antecederam ao estudo e durante os 28 dias que se sucederam (D + 1, D + 3, D + 7, D + 14, D +21, D + 28).	23
Tabela 2. Médias aritméticas e desvios padrão das contagens de teleóginas de <i>rhipicephalus microplus</i> desprendidas dos bovinos dos grupos controle (gc) e tratado (gt), percentuais de eficácia do grupo tratado (gt) dos dias d+1 ao d+23 e eficácias médias.	25
Tabela 3. Médias aritméticas, desvio padrão e eficácia carrapaticida preventiva de teleóginas desprendidas dos animais pertencentes aos grupos controle (GC) e tratado (GT) para os desafios dos dias: D+7, D+14 e D+21. ..	26
Tabela 4. Valores referentes ao número de teleóginas incubadas, pesos das teleóginas incubadas, peso das posturas das teleóginas incubadas e percentual de eclosão de larvas, dos grupos controle e grupo tratado durante os 23 dias.	30
Tabela 5 Valores médios referentes ao número de teleóginas incubadas, pesos das teleóginas incubadas, peso das posturas das teleóginas incubadas e percentual de eclosão de larvas, dos grupos controle (GC) e grupo tratado (GT) durante os desafios.	30
Tabela 6 Valores médios referentes ao número de teleóginas incubadas, pesos das teleóginas incubadas, peso das posturas das teleóginas incubadas e percentual de eclosão de larvas, dos grupos controle (GC) e grupo tratado (GT) durante os desafios.	31

LISTA DE ABREVIACÕES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

LQEPV – Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária

UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

MG – Minas Gerais

RJ - Rio de Janeiro

GC – Grupo controle

GT – Grupo tratado

EPM – Eprinomectina

Nenhuma entrada de índice de ilustrações foi encontrada.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	2
2.1 O Carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	2
2.2 Distribuição geográfica.....	2
2.3 Importância econômica	3
2.3.1 Prejuízos indiretos.....	4
2.4 Ciclo de vida	5
2.6 Controle	6
2.7 Lactonas macrocíclicas.....	7
2.8 Eprinomectina	8
3 METODOLOGIA.....	9
3.1 Teste de campo	9
3.1.1 Período de realização do estudo	9
3.1.2 Aprovação na Comissão de Ética no uso de animais (CEUA)	9
3.1.3 Animais	9
3.1.4 Identificação dos animais	9
3.1.5 Critérios de seleção	9
3.1.6 Instalações	9
3.1.7 Alimentação	10
3.1.8 Manejo dos animais.....	10
3.1.9 Observação geral de saúde dos animais durante o estudo.....	10
3.1.10 Contagens de carrapato <i>R. microplus</i> sobre o corpo do animal	10
3.1.11 Randomização	11
3.1.12 Pesagem dos animais.....	11
3.1.13 Tratamento	12
3.1.14 Avaliação da eficácia carrapaticida.....	12
3.1.15 Análise estatística.....	13
3.2 Teste de estábulo	13
3.2.1 Período de realização do estudo	13
3.2.2 Aprovação na Comissão de Ética no uso de animais (CEUA)	13

3.2.3 Animais	13
3.2.4 Identificação dos animais	14
3.2.5 Critérios de seleção	14
3.2.6 Instalações	14
3.2.7 Alimentação	14
3.2.8 Manejo dos animais.....	14
3.2.9 Observação geral de saúde dos animais durante o estudo.....	14
3.2.10 Aclimação para o estudo	15
3.2.11 Infestação artificial dos animais	15
3.2.12 Recuperação e contagens de teleóginas	16
3.2.1.3. Randomização	16
3.2.1.4 Pesagem dos animais.....	17
3.2.14 Tratamento	17
3.2.15 Avaliação da eficácia carrapaticida.....	18
3.2.16 Avaliações da eficácia residual de proteção contra reinfestações.....	19
3.2.17 Índice de reprodução e viabilidade das teleóginas	19
3.2.18 Análise estatística.....	21
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
4.1 Teste de campo	21
4.2. Teste de estábulo.....	23
4.2.1 Eficácia carrapaticida sobre as formas evolutivas já instaladas sobre o animal - ação curativa.....	23
4.2.2 avaliação do efeito residual da formulação em teste na proteção contra a reinfestação - efeito profilático.	25
4.2.3 Índice de reprodução e viabilidade das teleóginas	26
5 CONCLUSÕES.....	32
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1 INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) é considerado um dos ectoparasitas mais prejudiciais a animais domésticos e selvagens. É o principal carrapato dos bovinos (Esser et al., 2016) e a espécie mais amplamente distribuída (Murrell et al., 2001), ocorrendo em regiões tropicais e subtropicais (Labruna et al., 2009), sendo responsável por perdas diretas e indiretas na pecuária bovina, o que limita a produtividade (Lopes et al., 2013).

O seu controle tornou-se um dos principais focos da indústria farmacêutica veterinária e é baseado principalmente no uso de produtos químicos acaricidas, o que resulta em impacto ambiental, além de contribuir para o surgimento de resistência.

A eprinomectina, molécula pertencente ao grupo das avermectinas e que será objeto desse estudo, é eficaz para o controle de endo e ectoparasitas, e quando comparada a outras avermectinas como, abamectina e ivermectina, possui características mais hidrofílica.

Com objetivo de avaliar a eficácia carrapaticida *in vivo* do produto a base de eprinomectina a 2%, na dose única de 200 mg/kg, foi realizado o estudo em bovinos experimentalmente infestados e em bovinos naturalmente infestados com carrapatos (*Rhipicephalus microplus*).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Carrapato *Rhipicephalus microplus*

Após estudos e análises filogenéticas, o carrapato antes denominado *Boophilus microplus*, foi reclassificado no gênero *Rhipicephalus* passando a ser denominado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Murrel, 2003). O gênero *Boophilus* nesta espécie foi mantido como subgênero facilitando a recuperação de publicações em que aparece com o antigo nome (GARCIA; KOLLER, 2019).

Em 2009, Labruna *et al.* utilizaram a avaliação da performance reprodutiva e técnicas moleculares para caracterizar grupos do carrapato bovino da Austrália, Ásia, África e Américas. Seus resultados indicaram a existência de ao menos duas espécies distintas compartilhando o nome *R. microplus*. Pesquisas foram conduzidas baseando-se em evidências taxonômicas, reclassificando os carrapatos da Austrália, Indonésia, Nova Caledônia, Bornéu, Sumatra, Java, Nova Guiné, Camboja e Taiti como *Rhipicephalus (Boophilus) australis*, diferenciando definitivamente esta espécie, redescrevendo estágios adultos e larvais (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012). Portanto, atualmente é taxonomicamente correto chamá-lo de *Rhipicephalus microplus* (CRUZ, 2017).

2.2 Distribuição geográfica

Acredita-se que a espécie *R. microplus* teve origem na Índia e na Ilha de Java, na Ásia. Essa disseminação ocorreu como consequência das expedições exploradoras no século XVI que favoreceram a dispersão dos carrapatos a outros locais, juntamente com o transporte de animais infestados, o que acarretou, consequentemente, na introdução desse parasito nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, onde originalmente não existiam (GARCIA; KOLLER, 2019).

Já a introdução no Brasil provavelmente ocorreu no início do século XVIII, atualmente amplamente distribuído em todo o território, com diferenças, principalmente no ciclo de vida,

entre as regiões do Brasil por conta das variações e condições climáticas de cada local, assim como pelas raças bovinas predominantemente criadas (GONZALEZ, 1995).

Importante ressaltar que os fatores climáticos influenciam diretamente, de forma diferente em cada região, nas gerações anuais desse ácaro. Em regiões mais quentes e úmidas como as regiões Sudeste e Centro-Oeste, pode-se observar de quatro a cinco gerações (CAMPOS PEREIRA et al., 2008; CRUZ, 2017; já na região Sul do país, onde a temperatura e umidade são mais baixas, podem ser observadas três gerações ao longo do ano. Em contrapartida, o período de seca na Caatinga não favorece a sobrevivência e desenvolvimento do parasito, sugerindo que as gerações sejam diretamente influenciadas pelas chuvas (Barros et al., 2017).

As fêmeas ingurgitadas sofrem influência de variáveis ambientais (macro e microclimáticas), não apresentam capacidade de absorver água do ambiente e se deslocam desde o momento que caem ao solo até o momento da ovipostura à procura de um local mais protegido no substrato e fuga dos inimigos naturais (PINHEIRO et al, 2014).

As severas e constantes mudanças climáticas decorrentes do aquecimento global têm impacto direto em diversos ecossistemas, reforçando a relevância e importância do conhecimento da biologia e ecologia deste parasito diante desse novo cenário. Muitos estudos têm buscado o desenvolvimento de modelos para prever como as futuras mudanças ambientais e climáticas vão afetar fatores críticos das relações entre carrapatos, seus hospedeiros e os patógenos que transmitem (CARVALHO et al., 2017).

2.3 Importância econômica

O rebanho bovino do Brasil cresceu 1,5% em 2020, após dois anos seguidos de queda, chegando a 218,2 milhões de cabeça, maior efetivo desde 2016, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

A alta do preço do boi gordo, do bezerro e o crescimento nas exportações de carne contribuíram para o aumento das criações no Brasil, que possui o maior rebanho bovino comercial do mundo.

Segundo os cálculos, na década de 1980, com a arroba negociada a uma média de R\$ 407, o produtor obtinha um lucro líquido de R\$ 779 por hectare. Essa relação foi piorando ao longo

dos anos. Entre 2016 e 2020, a arroba esteve num patamar médio de R\$ 248 e as margens despencaram para R\$ 205. Os preços da arroba no Brasil atingiram recordes acima de R\$ 320 neste ano de 2022 e, atualmente, estão sendo negociados em torno de R\$ 295.

O IBGE disse ainda que em 2020 a produção nacional de leite chegou a 35,4 bilhões de litros, recorde da pesquisa, com alta de 1,5% ante 2019.

A rentabilidade da pecuária é significativamente prejudicada pelos efeitos dos parasitos que afetam o gado. As perdas econômicas causadas pelos parasitos dos bovinos, no Brasil, foram estimadas em uma base anual, considerando-se o número total de animais em risco e os efeitos negativos do parasitismo sobre a produtividade do gado. Estimativas em dólares baseiam-se em perdas de rendimento conhecidas em animais não tratados, e refletem alguns dos efeitos de doenças parasitárias.

Dentre os principais danos causados por *R. microplus* ao setor pecuário, estão: transmissão de patógenos, estresse e aumento da mortalidade, diminuição na produção de carne e leite, despesas para a inspeção dos animais, gastos com aplicação de tratamento preventivo ou curativo. (Barros; Vazquez, 2004; Fao, 2018).

Em 2014, GRISI et al. Fizeram um estudo onde, considerando todo o rebanho bovino brasileiro (cerca de 11% *b. taurus* e 89% *b. indicus* e mestiços), as perdas econômicas potenciais foram estimadas em Us\$ 2.313,99 milhões, concluindo que a perda econômica total atribuível ao *R. microplus* no rebanho bovino brasileiro aproximava-se de Us\$ 3.236,35 milhões (GRISI et al., 2014).

Em 2021, Calvano, M.P.A. et al., simulou as perdas econômicas relacionadas em diferentes sistemas de produção no cerrado. Os resultados demonstraram que o carrapato *R. microplus* foi responsável por perdas de até 92 kg por peso vivo por animal.

2.3.1 Prejuízos indiretos

As perdas indiretas estão relacionadas com a transmissão de hematozoários, como as espécies de protozoários do gênero *Babesia* e a bactéria do gênero *Anaplasma* (PATARROYO, 1994), com perdas também causadas pelo efeito imunossupressor provocado pelo parasito ao hospedeiro, facilitando a transmissão ou a gravidade nos casos de babesioses e anaplasmoses

(KASHINO et al., 2005). Tais agentes causam severas perdas econômicas aos produtores em consequência de elevados casos de mortalidade e morbidade que ocasionam nos animais infectados.

Ademais, devem ser consideradas as perdas econômicas relacionadas ao tratamento curativo e preventivo de alto custo com antibióticos, endoparasitocidas, e terapia de suporte indicada para cada indivíduo, com fluidoterapia, antiinflamatórios, suplementação vitamínica, alimentação de alta qualidade, e por vezes, transfusão sanguínea. Além de mão de obra qualificada para as medidas terapêuticas acima citadas.

2.4 Ciclo de vida

O conhecimento do ciclo do carrapato *R. microplus* é de extrema importância para que se possa estabelecer medidas de controle, otimizando assim a produtividade e a preservação do meio ambiente com o uso racional de antiparasitários.

O ciclo de vida do *R. microplus* pode ser dividido em duas etapas, a fase parasitária e a fase de vida livre (ou não parasitária).

A fase não parasitária inicia-se após a queda das teleóginas ingurgitadas com o período de pré-postura (maturação ovariana), que tem, em média, duração de dois a três dias, podendo se estender a mais de 90. Posteriormente, passa à fase de ovipostura, que dura em torno de 17 a mais de 90 dias e, em seguida, à fase de eclosão, para a qual são necessários de cinco a dez dias, podendo, no entanto, durar até mais de 100. Logo após a oviposição a fêmea morre, finalizando seu ciclo de vida e deixando ali sua nova geração. Cada teleógina possui potencial de reverter em torno de 50% do seu peso inicial em massa de ovos, gerando uma capacidade de aproximadamente 3000 ovos (GARCIA; KOLLER, 2019). Após o nascimento das neolarvas, é necessário um período de quatro a 20 dias para que se tornem larvas infestantes. O tempo de vida livre do carrapato dos bovinos gira em torno de 28 a 51 dias, podendo se estender a mais de 300 dias. Além disto, as larvas podem ficar mais de seis meses sem se alimentar. Em condições ótimas de temperatura e umidade, a eclosão tem duração de um mês (GONZALES, 1974).

A fase não parasitária sofre interferências climáticas, trazendo alterações nos seus períodos, que são especialmente afetados pela umidade e temperatura. Essa fase termina quando as larvas conseguem alcançar e se fixar no hospedeiro ou morrem por inanição.

No que diz respeito à fase parasitária, sabe-se que vários fatores (clima, vegetação, densidade animal, raça etc.) influenciam na sobrevivência do carrapato em cada segmento de seu ciclo e também que algumas regiões do corpo do animal (barbela, virilha, úbere, região posterior e períneo) são mais desejadas para o parasitismo, seja por causa da temperatura e espessura da pele como também para se proteger da autolimpeza realizada pelos hospedeiros na tentativa de elimina-los .

A fase parasitária inicia quando a larva infestante se instala no hospedeiro, passando a ser larva parasitária e transformando-se em metalarva. Após, vai de metalarva a ninfa (5 a 10 dias, em média 8); de ninfa a metaninfa (9 a 23 dias, 13 em média); de metaninfa para neandro (18 a 28 dias, com 14 dias em média); passando a gonandro em 2 dias, podendo permanecer no animal por mais de 38 dias. Já a transformação de metaninfa para neógina é feita em torno de 14 a 23 dias, em média 17 dias, passando à partenógena em três dias e à teleóginas em dois dias. O início da queda das teleóginas ocorre no décimo nono dia da infestação, sendo, em média, entre o vigésimo segundo e vigésimo terceiro dias (GONZALES, 1974).

Apesar da amplitude de tempo de fixação relatados na literatura (entre 18 e 35 dias), a fase parasitária desde a fixação da larva até o desprendimento da teleógina tem duração média de 21 dias. Os machos permanecem no hospedeiro por um período maior de tempo em busca de novas fêmeas para cópula (GARCIA; KOLLER, 2019).

É relevante lembrar que em torno de 95% dos carrapatos em um sistema de produção de bovinos encontram-se na pastagem e estão nos estágios de ovos, larvas e teleóginas, e apenas 5% da população encontra-se parasitando os bovinos (CAMPOS PEREIRA et al., 2008). Isso se torna um grande obstáculo no que diz respeito ao controle, uma vez que a grande maioria das ações estão focadas apenas no combate dos carrapatos fixos nos animais, que representam uma pequena porcentagem da população.

2.6 Controle

Os carrapaticidas, principais agentes utilizados no controle de carrapatos, são classificados em famílias ou grupos químicos. Com o passar dos anos, novos grupos químicos foram surgindo e outros desaparecendo e, atualmente, além da classificação dos carrapaticidas por famílias, podem-se agrupar os carrapaticidas em “de contato” ou “sistêmicos” (atuação pela

circulação sanguínea), encontrando-se no mercado as seguintes alternativas para o controle: carrapaticidas de contato: organofosforados, amidínicos, piretróides sintéticos, fenilpirazóis e naturalyte; e carrapaticidas sistêmicos: lactonas macrocíclicas (as avermectinas e a moxidectina) e benzofenilureas (FURLONG; MARTINS²; PRATA, 2007; ZERINGÓTA et al., 2013).

O controle químico pelo uso de acaricidas tem sido a principal forma utilizada para controle desse parasito. Porém, essa forma de controle possui dois grandes entraves: o desenvolvimento acelerado da resistência ao princípio ativo e a preocupação da sociedade e órgãos governamentais com os resíduos nos produtos de origem animal. Estes dois pontos têm determinado efetivamente o rumo atual das pesquisas científicas na área da parasitologia.

Apesar de ser usado amplamente e há muito tempo, o emprego do controle químico é, sistematicamente, feito de maneira incorreta, sem considerar os conhecimentos básicos do ciclo do parasito, o que permitiria um controle estratégico.

O monitoramento da susceptibilidade e/ou resistência dos carrapatos, assim como a classe de drogas utilizada, são essenciais para melhorar as medidas de controle, evitando o uso de produtos ineficazes e minimizando o impacto ambiental. Por isso, é extremamente importante estabelecer medidas de controle estratégico e, conseqüentemente, melhorar a eficiência e prolongar a vida útil dos produtos (Furlong 1993), além de desfavorecer o aparecimento de indivíduos resistentes.

2.7 Lactonas macrocíclicas

Com a descoberta do grupo das lactonas macrocíclicas no início da década de 1980, o setor agropecuário sofreu grande impacto positivo em decorrência da elevada eficácia contra ecto e endoparasitas, além da possibilidade de administração destes compostos em diferentes espécies. As macro lactonas são derivadas de produtos obtidos com a fermentação do fungo *Streptomyces avermectilis*, inicialmente isolado de uma amostra de solo coletada na cidade de Kawana Ito, no Japão . Existem dois grupos disponíveis no mercado, as avermectinas e a milbemicina. As avermectinas de uso comercial são compostas por cinco subgrupos: abamectina, ivermectina, doramectina, eprinomectina e selamectina. Estes subgrupos podem ser administrados na forma injetável ou pour-on, onde são absorvidos e chegam à circulação sanguínea (FURLONG et al., 2007; COSTA, 2004; LASOTA; DYBAS, 1991).

As lactonas macrocíclicas também são consideradas endectocidas, ou seja, atuam contra ectoparasitas e endoparasitas. O mecanismo de ação destes compostos ocorre por meio da sua ação nos canais de cloro, controlados pelo ácido glutâmico e nos canais de cloro controlados pelo ácido gama aminobutírico (GABA), promovendo ataxia e morte do parasita (SHOOP; SOLL, 2002).

Os produtos referentes à essa classe parasiticida são excretados principalmente nas fezes dos animais tratados (FLOATE, 2006), possuindo boa absorção sistêmica quando administradas através de formulações pour-on ou parenteral e concentrando-se particularmente no tecido adiposo (VERCRUYSSSE; CLAEREBOU, 2016).

Dentre as lactonas macrocíclicas, somente a eprinomectina pode ser administrada em vacas em lactação (SCOTT et al., 2008).

2.8 Eprinomectina

A eprinomectina, molécula do grupo de lactonas macrocíclicas, foi manipulada em sua estrutura química (que passou a possuir um caráter mais hidrofílico do que a ivermectina) o que permitiu o seu uso com intervalo de segurança zero (Shoop et al., 1996), demonstrando que a formulação injetável poderia ser aplicada em vacas lactantes sem necessitar de intervalo para o aproveitamento do leite, uma grande vantagem comparando-a aos outros endectocidas.

Essa mesma molécula, quando administrada por via subcutânea, possui concentrações plasmáticas mais elevadas e maior disponibilidade no plasma comparando-se com a administração tópica em bovinos não lactantes, além de também possuir maiores concentrações fecais (AKSIT et al., 2016).

LIFSCHITZ et al. em 2016, concluiu que, na dose de 0,5mg/kg, a eprinomectina pode ser usada contra endo-ectoparasitas sem tempo de retirada em leite e carne após sua administração contínua. Portanto, o tratamento com eprinomectina pode ser útil para o controle de carrapatos em bovinos, principalmente em sistemas de produção leiteira.

3 METODOLOGIA

3.1 Teste de campo

3.1.1 Período de realização do estudo

De 01 de julho de 2017 até 01 agosto de 2017.

3.1.2 Aprovação na Comissão de Ética no uso de animais (CEUA)

O protocolo experimental deste estudo foi submetido à aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária (IV) da UFRRJ. O certificado de aprovação, protocolado sob o CEUA nº 8201170517 em 30/06/2017 e expedido em 14/07/2017.

3.1.3 Animais

Foram utilizados vinte bovinos, mestiços das raças Red Angus e Nelore, nove machos e onze fêmeas, com idades variando entre 24 e 96 meses, todos pertencentes ao rebanho experimental da Área de Campo do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

3.1.4 Identificação dos animais

Todos os animais estavam identificados com brincos de plástico numerados com caneta permanente própria para brinco, colocados preferencialmente na orelha esquerda.

3.1.5 Critérios de seleção

Animais com bom estado higiênico sanitário e físico, comprovados por exame físico realizado antes do início do estudo; naturalmente infestados pelo carrapato *R.microplus*; não tratados com antiparasitário por pelo menos trinta dias antes do início do estudo; dóceis ou de fácil manejo.

3.1.6 Instalações

Cada grupo experimental, composto por dez animais, foi mantido em um piquete, com aproximadamente seis hectares de área, com uma distância média de aproximadamente 1km entre os grupos.

3.1.7 Alimentação

Os animais alimentaram-se de pasto nativo composto por *brachiaria decumbens* e *B. humidicola* e água tratada *ad libidum* em bebedouros. Esses animais ainda foram suplementados com capim triturado e silagem de milho uma vez ao dia, durante todo o período experimental.

3.1.8 Manejo dos animais

Em todos os momentos em que houve necessidade de manejar os animais, estes foram trazidos do pasto para o curral tocados por campeiros montados a cavalo, posteriormente contidos individualmente em troncos de contenção específico para bovinos e então, adequadamente manejados, preservando-se assim, a integridade dos animais, das pessoas e das amostras colhidas.

3.1.9 Observação geral de saúde dos animais durante o estudo

Os animais foram observados diariamente quanto ao seu comportamento geral considerado normal para a espécie.

3.1.10 Contagens de carrapato *R. microplus* sobre o corpo do animal

Com o animal contido em tronco de contenção, com janelas que se abriam para acessar todas as partes de seu corpo, como demonstrado na figura 2, realizou-se a contagem, de preferência desempenhada sempre pela mesma pessoa, deslizando as pontas dos dedos por sobre o corpo do animal e, dessa forma, contando as fêmeas de carrapato que possuíam a partir de 4 mm de comprimento.

As contagens foram feitas sempre na parte da manhã, mais especificamente antes das 9h da manhã.

Os momentos em que as contagens das fêmeas de *R. microplus* foram realizadas foram: dias D-3, D-2, D-1 (pré-tratamento); D+3, D+7, D+14, D+21 e D+28 (pós-tratamento).



FIGURA 1 BOVINO NO TRONCO DE CONTENÇÃO PARA CONTAGEM DE CARRAPATOS. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

3.1.11 Randomização

A randomização dos animais foi feita a partir das médias das contagens de fêmeas ingurgitadas nos três dias que antecederam ao tratamento, dispondo os valores em ordem decrescente de fêmeas de carrapato para que fosse feita a classificação dos animais em repetições. Em seguida, destinou-se os dois animais com maior contagem de fêmeas ingurgitadas à repetição 1, os dois animais subsequentes à repetição 2 e assim sucessivamente até que fossem formadas 10 repetições.

Depois, os animais de cada repetição foram distribuídos, por sorteio, um em cada um dos grupos experimentais: Grupo Controle (GC) ou Grupo Tratado (GT).

3.1.12 Pesagem dos animais

A pesagem foi realizada no dia zero (dia do tratamento). Utilizou-se balança digital da marca Coimma, calibrada anualmente por empresa certificada. Antes da pesagem, houve aferição da balança, que consistiu em colocar um peso de 10 kg em cada um dos cinco pontos distintos da

rampa da balança para conferir o peso estimado por ela e, dessa forma, seguramente melhorar ainda mais a precisão da pesagem.

3.1.13 Tratamento

No dia zero, os animais foram contidos individualmente em tronco de contenção para a realização do tratamento.

Os animais do GT receberam um produto à base de eprinomectina 2%, administrado na dose única de 1mL/100kg de peso vivo por animal (correspondente a uma concentração de eprinomectina de 2mg/kg) por via subcutânea, na região da tábua do pescoço direita.

Para tal, utilizou-se seringas descartáveis graduadas de 5mL e agulhas hipodérmicas de calibre 40 x 1,2 mm. O critério de arredondamento da dose utilizado nesse estudo, quando necessário, foi o arredondamento para o decimal anterior, ou seja, sempre igual ou menor que a dose calculada. Por exemplo, se a dose calculada tivesse sido de 3,12 mL, o arredondamento praticado teria corrigido a dose para 3,1 mL.

Imediatamente após o tratamento, os animais do grupo tratado foram observados durante 60 minutos, no intuito de identificar quaisquer sintomas advindos do tratamento. Após esse período, os dois grupos de bovinos foram separados em piquetes diferentes, conforme relatado no subitem 1.1.2, permanecendo nesses locais até o término do estudo.

3.1.14 Avaliação da eficácia carrapaticida

A eficácia do tratamento foi calculada comparando-se as médias dos números de teleóginas quantificadas dos animais tratados com os animais controle. A seguinte fórmula foi empregada:

$$\text{Percentual de eficácia} = 100 \times \left(\frac{\text{MédiaGC} - \text{MédiaGT}}{\text{MédiaGC}} \right)$$

Onde:

MédiaGC = número médio de teleóginas dos animais controle;

MédiaGT = número médio de teleóginas dos animais;

A interpretação da eficácia foi dada de acordo com os percentuais de eficácia atingidos, conforme preconizado na legislação vigente (portaria 48).

3.1.15 Análise estatística

Os dados de teleóginas do GT e do GC foram submetidos à análise estatística para comparação de valores de médias.

Inicialmente, foram avaliados através do teste de normalidade denominado Shapiro-Wilk.

No caso de distribuição normal, o método estatístico escolhido foi o do Test T para duas amostras independentes. No caso de dados com distribuição não normal o método empregado seria o de Mann Whitney.

Foi utilizado o programa estatístico computacional BioStat 5.0. O nível de confiança considerado foi de 95% ($\alpha=0,05$).

3.2 Teste de estábulo

3.2.1 Período de realização do estudo

De 05 de novembro de 2016 até 23 de janeiro de 2017.

3.2.2 Aprovação na Comissão de Ética no uso de animais (CEUA)

O protocolo experimental deste estudo foi submetido à aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária (IV) da UFRRJ. O certificado de aprovação no dia 08/06/2016, protocolado sob o CEUA nº 4840250516 e expedido em 06/08/2016.

3.2.3 Animais

Foram utilizados doze bovinos, mestiços das raças Red Angus e Holandês, todos machos, com idades variando entre 10 e 24 meses, todos pertencentes ao rebanho experimental da Área de Campo do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

3.2.4 Identificação dos animais

Todos os animais estavam identificados com brincos de plástico numerados com caneta permanente própria para brinco, colocados preferencialmente na orelha esquerda.

3.2.5 Critérios de seleção

Animais com bom estado higiênico sanitário e físico, comprovados por exame físico realizado antes do início do estudo (detalhar exame físico); livres de carrapatos oriundos do campo; não tratados com antiparasitário por pelo menos trinta dias antes do início do estudo; dóceis ou de fácil manejo.

A média de teleóginas utilizada foi acima de dez.

3.2.6 Instalações

Instalação contendo 37 baias individuais de alvenaria, medindo 3x2 m, com piso suspenso móvel de estrado de madeira, construído com ripas de madeira medindo 8cm de largura e espaçamento entre as ripas, medindo 5 cm.

3.2.7 Alimentação

Durante todo o período de experimentação, os animais foram alimentados com feno de coast cross ou silagem de milho. Ofertou-se também, ração comercial balanceada na quantidade de 1 kg/dia/animal.

A água era oferecida aos animais em galões de 40 litros, dispostos sobre o piso de madeira, onde eram preenchidos sempre que necessário, com troca total da água a cada 24 horas.

3.2.8 Manejo dos animais

Os animais ficaram encabrestados durante todo o estudo facilitando o manejo sempre que necessário.

3.2.9 Observação geral de saúde dos animais durante o estudo

Os animais foram observados diariamente quanto ao seu comportamento geral considerado normal para a espécie.

3.2.10 Aclimação para o estudo

No D – 34 do estudo, cada animal recebeu um cabresto de fita e foi acomodado em uma baia, onde lá permaneceram até o fim do experimento. Durante os nove primeiros dias da aclimação, os animais somente foram manejados no momento da limpeza de suas baias, permanecendo sem manejo experimental até o D – 25, momento em que foi realizada a primeira infestação artificial.

3.2.11 Infestação artificial dos animais

Em cada infestação, os animais foram infestados com aproximadamente 2500 larvas não alimentadas de *R. (B.) microplus*, com idades de aproximadamente 14 dias. As larvas eram oriundas de uma cepa do LQEPV/UFRRJ, mantida há mais de seis anos sem ter contato com acaricidas, e armazenadas em seringas (Figura 1).

Iniciando no D – 25 e seguindo em dias alternados (D-25, D-23, D-21, D-19, D-17, D-15, D-13, D-11, D-9, D-7, D-5, D-3 e D-1), as infestações ocorreram dessa forma até o dia anterior ao tratamento (D – 1). Após o tratamento, para fins de avaliação de eficácia residual, as infestações ocorreram semanalmente (D+7, D+14, D+21, D+28, D+35 e D+42), a partir do sétimo dia pós-tratamento (D + 7) até o quadragésimo segundo dia (D + 42).

Cada baia possuía uma argola fixada na parede onde o animal era contido pelo cabresto, com auxílio de corda, a fim de permitir uma melhor fixação das larvas no hospedeiro, impedindo a lambertura. A cauda também era contida com auxílio de corda fina, para evitar a remoção das larvas por movimentos de cauda.

Na sequência, as larvas eram distribuídas sobre o corpo do animal e então, duas horas depois, os animais eram liberados da contenção.

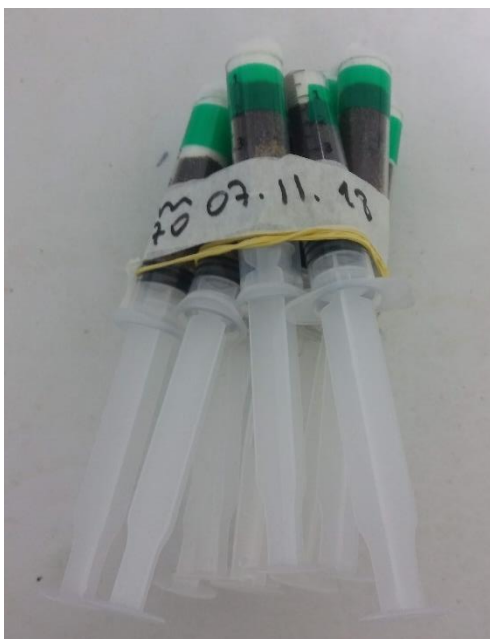


FIGURA 2 CERCA DE 2500 LARVAS NÃO ALIMENTADAS DE *R. MICROPLUS* POR SERINGA, COM IDADE DE APROXIMADAMENTE 14 DIAS, ORIUNDAS DA COLÔNIA MANTIDA NO LQEPV.

3.2.12 Recuperação e contagens de teleóginas

As teleóginas desprendidas dos animais a partir do D-3 do ensaio foram diariamente coletadas do chão das baias, após a remoção do animal para a área de espera e elevação dos estrados de madeira. Todos os carrapatos coletados foram acondicionados em saco plástico transparente, identificados com caneta permanente com o número de identificação do animal para posterior contagem nas dependências do LQEPV. As contagens das teleóginas foram realizadas diariamente até eficácia encontrar-se inferior a 80% após pelo menos duas datas consecutivas de avaliações.

Quando possível, vinte teleóginas pertencentes de cada grupo foram pesadas coletivamente, acondicionadas em estufa climatizada regulada a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e umidade relativa de 70-80% e incubadas, para realização das posturas e, conseqüentemente, análise da viabilidade dos ovos.

3.2.1.3. Randomização

A randomização dos animais foi feita a partir das médias das contagens de fêmeas ingurgitadas, recuperadas sob os estrados de madeira, nos três dias que antecederam ao

tratamento, dispondo os valores em ordem decrescente de fêmeas de carrapato para que fosse feita a classificação dos animais em repetições. Em seguida, destinou-se os dois animais com maior contagem de fêmeas ingurgitadas à repetição 1, os dois animais subsequentes à repetição 2 e assim sucessivamente até que fossem formadas 10 repetições.

Depois, os animais de cada repetição foram distribuídos, por sorteio, um em cada um dos grupos experimentais: Grupo Controle (GC) ou Grupo Tratado (GT).

3.2.1.4 Pesagem dos animais

A pesagem foi realizada no dia zero (dia do tratamento). Utilizou-se balança digital da marca Coimma, calibrada anualmente por empresa certificada. Antes da pesagem, houve aferição da balança, que consistiu em colocar um peso de 10 kg em cada um dos cinco pontos distintos da rampa da balança para conferir o peso estimado por ela e, dessa forma, seguramente melhorar ainda mais a precisão da pesagem.

3.2.14 Tratamento

Na manhã do dia zero (dia do tratamento), os animais do GT receberam um produto à base de 2% de eprinomectina, administrado na dose única de 1 mL/100 kg de peso vivo por animal (correspondente a uma concentração de eprinomectina 2 mg/kg), por via subcutânea, na região da tábua do pescoço direita, como demonstrado na figura 3.

Para tal, utilizou-se seringas descartáveis graduadas de 5mL e agulhas hipodérmicas de calibre 40 x 1,2 mm. O critério de arredondamento da dose utilizado nesse estudo, quando necessário, foi o arredondamento para o decimal anterior, ou seja, sempre igual ou menor que a dose calculada. Por exemplo, se a dose calculada tivesse sido de 3,12 mL, o arredondamento praticado teria corrigido a dose para 3,1 mL.

Imediatamente após o tratamento, os animais do grupo tratado foram observados durante 60 minutos, no intuito de identificar quaisquer sintomas advindos do tratamento.

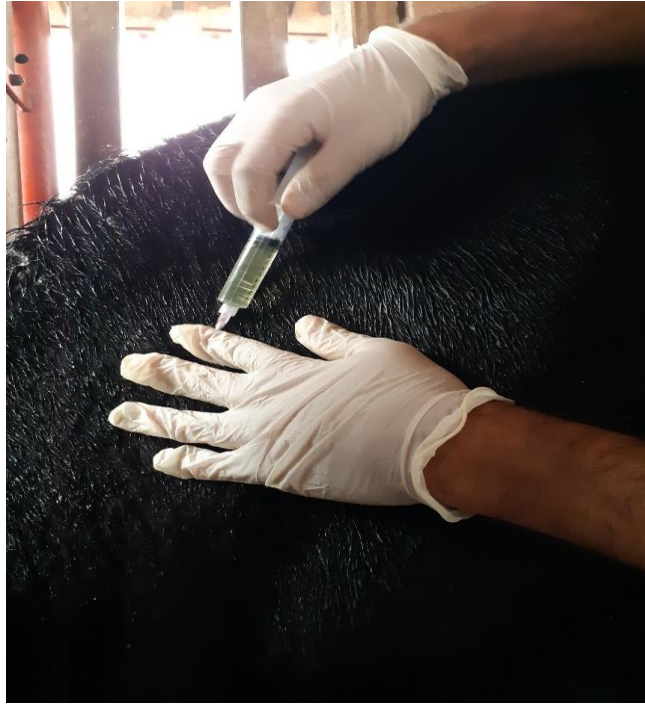


FIGURA 3. APLICAÇÃO INJETÁVEL VIA SUBCUTÂNEA. FONTE: ARQUIVO PESSOAL.

3.2.15 Avaliação da eficácia carrapaticida

Para o cálculo da eficácia do tratamento foram comparadas as médias dos números de teleóginas recuperadas dos animais tratados, com os animais controle. Para tanto, poderia ser empregada a seguinte fórmula:

$$\text{Percentual de eficácia} = \left[1 - \left(\frac{T_a \times C_b}{T_b \times C_a} \right) \right] \times 100$$

Onde:

T_a = número médio de teleóginas dos animais tratados, após a medicação (dias +1 a +23);

T_b = número médio de teleóginas dos animais tratados nos 3 dias anteriores ao tratamento;

C_a = número médio de teleóginas recuperadas dos animais controle no período pós-tratamento (dias +1 a +23)

C_b = número médio de teleóginas recuperadas dos animais controle nos 3 dias anteriores ao dia de tratamento.

3.2.16 Avaliações da eficácia residual de proteção contra reinfestações

A eficácia residual da eprinomectina 2%, foi calculada utilizando a média de teleóginas desprendidas em ambos os grupos após cada reinfestação (D+7, D+14, D+21, D+28, D+35 e D+42) e as contagens realizadas diariamente do D+1 ao D+45.

A fórmula utilizada foi a seguinte:

$$\% \text{ eficácia} = (\text{MedGC} - \text{MedGT}) / \text{MedGC} \times 100$$

Em que:

MedGC = média de teleóginas desprendidas do grupo controle entre os dias 18 e 45, após cada reinfestação.

MedGT = média de teleóginas desprendidas do grupo tratado nos dias 18 ao 45, após cada reinfestação.

Portanto, a indicação do período residual de proteção contra reinfestação deveria ser expressa em intervalos semanais.

3.2.17 Índice de reprodução e viabilidade das teleóginas

Para avaliação do índice de reprodução, quando possível, um mínimo dez teleóginas pertencentes a cada grupo foram pesadas individualmente, acondicionadas em placas de petri descartáveis, medindo 60 x 90 mm e incubadas a uma temperatura de 27°C, com 70-80% de umidade por um período de 21 dias. Após o período de incubação, estas foram descartadas e os ovos foram pesados e colocados dentro de tubos de ensaio identificados, retornando à incubação.



FIGURA 4 TELEÓGINAS INCUBADAS EM B.O.D. A UMA TEMPERATURA DE 27°C, COM 70-80% DE UMIDADE POR UM PERÍODO DE 21 DIAS. FONTE: ARQUIVO PESSOAL, 2017.

Após três semanas da pesagem dos ovos foi estimada visualmente a porcentagem de eclosão de ovos em relação à quantidade de larvas

O Índice de reprodução (IR) foi calculado para cada grupo utilizando a seguinte fórmula:

$$IR = \left(\frac{\text{média do peso da massa de ovos}}{\text{média do peso das teleóginas}} \right) \times (\% \text{ de eclosão dos ovos}) \times 20.000$$

Já para a determinação da viabilidade das teleóginas de *R. (B.) microplus* colhidas durante o teste de estábulo, foi empregada a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de inibição de reprodução} = \frac{(\text{IR controle} - \text{IR tratado}) \times 100}{\text{IR controle}}$$

3.2.18 Análise estatística

Os dados das contagens de teleóginas dos grupos tratado (GT) e controle (GC) foram submetidos a análise estatística para comparação de valores de médias. Inicialmente foram avaliados através do teste de normalidade denominado Shapiro-Wilk. No caso de distribuição normal o método estatístico escolhido foi o do Test T para duas amostras independentes. No caso de dados com distribuição não normal o método empregado foi o de Mann Whitney.

O nível de confiança considerado foi de 95% ($\alpha=0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa computacional Bioestat 5.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste de campo

Na tabela 1, estão expressas as contagens de teleóginas detalhadas por animal, assim como as médias de teleóginas desprendidas dos grupos tratado e controle nos três dias que antecederam ao estudo e durante os 28 dias que se sucederam (D + 1, D + 3, D + 7, D + 14, D + 21, D + 28), assim como o percentual de eficácia encontrado para eprinomectina 2% administrada por via injetável.

As médias de teleóginas desprendidas nos momentos D - 3, D - 2, D - 1 e D + 1 não diferiram significativamente quando comparadas entre os grupos. No entanto, a partir do D + 3 até o D+21 essa diferença estatística foi significativa ($p = 0,0002$) e nos mostrou que durante esse período o tratamento foi efetivo no controle de *R. microplus*. Com relação à eficácia do tratamento durante esse período, pode-se observar um percentual de eficácia de 77,49% no D + 3, 97,31% no D + 7, atingindo a eficácia máxima de 98,37% no D + 14 e 96,36% no D + 21, conforme gráfico 1.

No momento D + 28, a média de teleóginas desprendidas não diferiu mais entre os grupos e a eficácia reduziu para 79,68%, determinando o fim do estudo, conforme preconiza a Portaria 48 do Ministério da Agricultura, que sugere o fim do estudo quando o percentual de eficácia foi abaixo de 80%.

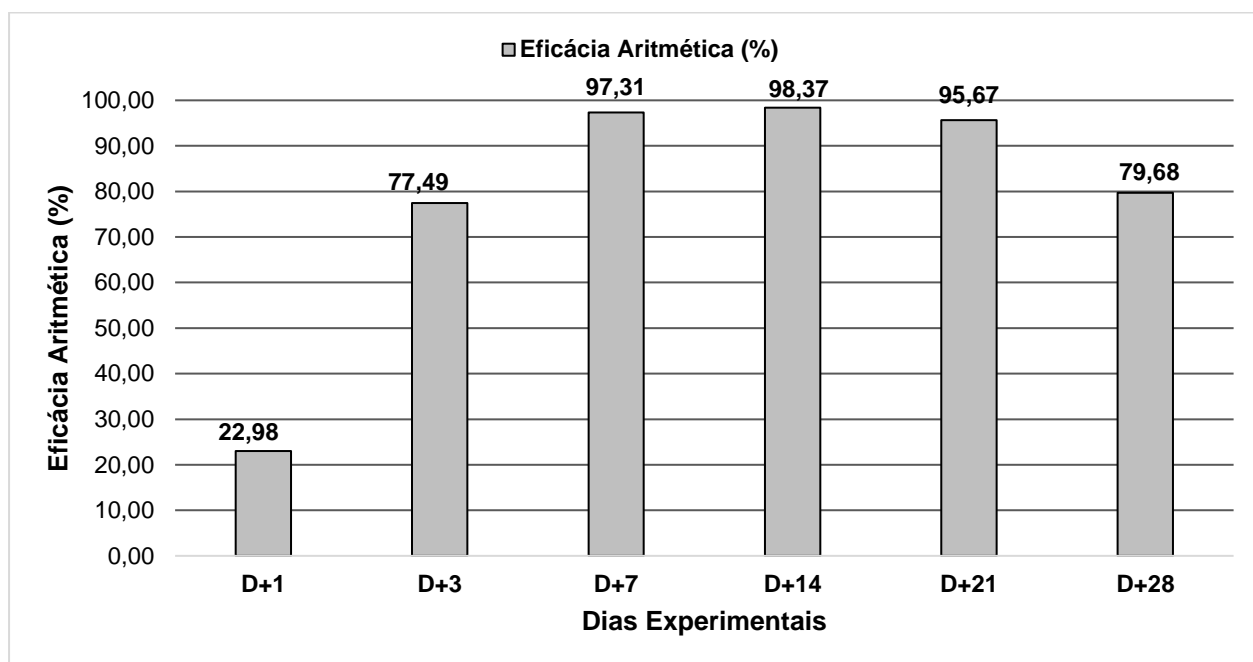


GRÁFICO 01. PERCENTUAIS DE EFICÁCIAS ARITMÉTICAS DO PRODUTO 593.04 (INJETÁVEL) CONTRA *RHIPICEPHALUS (BOOPHILUS) MICROPLUS* EM BOVINOS NATURALMENTE INFESTADOS.

Grupo	Animal	Número de teleóginas ≥ 4 mm									
		D-3	D-2	D-1	Média	D+1	D+3	D+7	D+14	D+21	D+28
Grupo Controle (GC)	2	54	76	89	73,00	45	54	67	87	43	38
	30	37	54	38	43,00	23	54	68	87	42	41
	4	34	67	23	41,33	16	43	34	78	11	79
	29	26	37	23	28,67	23	26	32	23	18	21
	3	43	21	18	27,33	32	46	27	20	23	20
	26	32	23	20	25,00	16	26	21	39	24	18
	12	30	23	17	23,33	30	22	41	22	18	10
	23	7	14	32	17,67	27	30	25	29	14	20
	25	3	14	23	13,33	25	25	12	35	9	3
	9	12	16	10	12,67	11	16	8	10	6	1
Média Aritmética		27,80	34,50	29,30	30,53	24,80	34,20	33,50	43,00	20,80	25,10
Desvio Padrão		16,21	23,08	22,37	18,11	9,68	13,81	20,42	29,50	12,80	22,95
Média Geométrica*		21,74	28,68	24,72	26,72	23,18	31,79	28,04	34,71	17,68	16,09
Grupo Tratado (GT)	6	60	87	91	79,33	65	16	2	1	2	4

	14	45	35	78	52,67	11	12	1	0	1	2
	7	54	21	36	37,00	8	1	0	3	0	10
	10	32	45	20	32,33	12	8	0	0	0	3
	17	26	16	38	26,67	24	8	0	0	0	8
	13	24	34	17	25,00	7	1	0	0	2	1
	11	12	17	24	17,67	15	5	2	1	1	5
	16	20	13	19	17,33	34	19	1	2	3	8
	24	9	24	11	14,67	15	5	0	0	0	7
	18	10	8	14	10,67	0	2	3	0	0	3
Média Aritmética	29,20	30,00	34,80	31,33	19,10	7,70	0,90	0,70	0,90	0,90	5,10
Desvio Padrão	18,30	23,02	27,76	20,93	18,67	6,25	1,10	1,06	1,10	1,10	3,00
Média Geométrica*	24,20	24,32	27,53	26,48	12,24	5,59	0,64	0,47	0,64	0,64	4,39
Teste T	0,8583	0,6501	0,8501	0,9699	0,4026	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0126
Eficácia Aritmética (%)	#	#	#	#	22,98	77,49	97,31	98,37	95,67	79,68	79,68
Eficácia Geométrica (%)	#	#	#	#	47,19	82,41	97,70	98,64	96,36	72,74	72,74

TABELA 1 CONTAGENS DE TELEÓGINAS DETALHADAS POR ANIMAL, ASSIM COMO AS MÉDIAS DE TELEÓGINAS DESPRENDIDAS DOS GRUPOS TRATADO E CONTROLE NOS TRÊS DIAS QUE ANTECEDERAM AO ESTUDO E DURANTE OS 28 DIAS QUE SE SUCEDERAM (D + 1, D + 3, D + 7, D + 14, D + 21, D + 28).

4.2. Teste de estábulo

4.2.1 Eficácia carrapaticida sobre as formas evolutivas já instaladas sobre o animal - ação curativa.

A média de teleóginas desprendidas nos três dias que antecederam o tratamento foi de 71,33 para o grupo controle (D – 3: 73,83; D – 2: 65,50; D – 1: 74,67) e 70,94 para o grupo tratado (D – 3: 73,83; D – 2: 68,83; D – 1: 70,17), conforme pode ser visto na tabela 2. Não houve diferença estatística entre os grupos experimentais para os valores médios de teleóginas desprendidas nos dias D-3, D-2 e D-1 (P= 0,9647).

Após o tratamento, o número médio de teleóginas recuperadas do GC para os 23 dias (D+1 ao D+23) foi de 50,96. Já para o GT, essa média foi de 7,46 teleóginas. Houve diferença significativa ao nível de 95% (P=0.0039). Os valores médios de teleóginas desprendidas, assim como os valores médios de eficácia por dia experimental, podem ser vistos na tabela 2.

O valor médio de eficácia calculado a partir do primeiro dia de estudo foi de 85,29%. A partir do quinto dia pós-tratamento, o valor médio de eficácia elevou-se para 97,43% e, a partir do sexto dia após o tratamento, o valor médio de eficácia alcançou o valor máximo de 97,49%. Os valores de eficácia carrapaticida curativa destacaram-se a partir do quinto dia após o tratamento, onde pode-se perceber diferença significativa entre as médias do GT com o GC.

Dia Experimental	Número Médio de contagens teleóginas de <i>R. microplus</i> desprendidas						Porcentagens de Eficácia do Grupo Tratado (GT)	Valor de p	
	Grupo Controle (GC)			Grupo Tratado (GT)					
	Média Aritmética		Desvio Padrão		Média Aritmética				Desvio Padrão
D-3	73,83	±	26,46		73,83	±	25,73	-	-
D-2	65,50	±	21,72		68,83	±	24,38	-	-
D-1	74,67	±	27,29		70,17	±	26,11	-	-
0	71,33*	±	23,37		70,94*	±	23,09	-	0,9647
D+1	54,50	±	14,73		50,33	±	11,76	7,14%	-
D+2	66,00	±	30,93		47,67	±	23,50	27,38%	-
D+3	65,17	±	26,21		36,00	±	25,09	44,45%	-
D+4	48,00	±	27,86		13,50	±	9,23	71,72%	-
D+5	36,83	±	18,88		1,50	±	1,38	95,91%	-
D+6	64,33	±	37,46		0,50	±	1,12	99,22%	-
D+7	50,00	±	26,91		0,17	±	0,37	99,66%	-
D+8	42,67	±	21,15		0,67	±	0,75	98,43%	-
D+9	42,83	±	27,11		1,33	±	1,11	96,87%	-
D+10	43,83	±	33,82		1,33	±	1,80	96,94%	-
D+11	36,67	±	24,10		2,83	±	4,18	92,23%	-
D+12	37,50	±	31,47		1,00	±	1,15	97,32%	-
D+13	55,67	±	31,50		1,67	±	1,49	96,99%	-
D+14	61,83	±	42,77		1,17	±	1,46	98,10%	-
D+15	72,83	±	57,12		1,00	±	0,82	98,62%	-
D+16	53,17	±	30,49		1,17	±	1,46	97,79%	-
D+17	44,00	±	27,22		0,67	±	0,75	98,48%	-
D+18	48,33	±	26,79		0,67	±	0,75	98,61%	-
D+19	54,33	±	31,41		1,33	±	1,11	97,53%	-
D+20	55,33	±	34,40		1,33	±	2,98	97,58%	-
D+21	39,17	±	25,73		2,17	±	2,73	94,44%	-
D+22	43,50	±	28,92		1,67	±	1,70	96,15%	-

D+23	55,67	±	43,00		1,83	±	1,34		96,69%	-
Média dia D+1 a D+23	50,96	±	30,44		7,46	±	4,26		-	0,0039¹
Eficácia dia D+1 a D+23	-		-		-	-	-		85,29%	-
Média dia D+5 a D+23	49,39	±	31,59		1,26	±	1,50		-	0,0039¹
Eficácia dia D+5 a D+23	-	-	-		-	-	-		97,43%	-
Média dia D+6 a D+23	50,09	±	32,30		1,25	±	1,50		-	0,0039¹
Eficácia dia D+6 a D+23	-	-	-		-	-	-		97,49%	-

TABELA 2. MÉDIAS ARITMÉTICAS E DESVIOS PADRÃO DAS CONTAGENS DE TELEÓGINAS DE RHIPICEPHALUS MICROPLUS DESPRENDIDAS DOS BOVINOS DOS GRUPOS CONTROLE (GC) E TRATADO (GT), PERCENTUAIS DE EFICÁCIA DO GRUPO TRATADO (GT) DOS DIAS D+1 AO D+23 E EFICÁCIAS MÉDIAS.

Com as formulações injetáveis de Eprinomectina espera-se que os efeitos sejam observados após o período necessário para a absorção e distribuição da substância pelo organismo. Isso é particularmente relevante quando se considera a forma de aplicação injetável (DO NASCIMENTO, C. G. et al, 2020), pois o carrapato só terá acesso a eprinomectina através da ingestão de sangue.

A administração subcutânea de eprinomectina é 2,5 vezes mais eficaz do que a administração tópica em gado leiteiro, em termos de biodisponibilidade (BAOLIANG et al., 2006).

Em testes realizados em condições semelhantes por GRISI et al. (2020), os resultados encontrados corroboraram com os valores de eficácia carrapaticida curativa (D+1 a D+23) encontrados no presente estudo, onde a média de queda de teleóginas do GC e GT foram de respectivamente 50,96% e 7,46%. A eficácia média observada foi de 85,29% com variação mínima de 7,14% (D+1) e máxima de 99,66% (D+7).

4.2.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DA FORMULAÇÃO EM TESTE NA PROTEÇÃO CONTRA A REINFESTAÇÃO - EFEITO PROFILÁTICO.

Os valores médios de teleóginas desprendidas dos animais para cada período de sete dias, referentes aos desafios nos dias D+7, D+14 e D+21 estão apresentados na Tabela 02.

Os números médios de teleóginas desprendidas dos animais no período entre D+25 a D+31 (desafio do dia D+7) foram de: 26,90 para o GC e 33,62 para o GT. Sendo assim, não houve diferença significativa entre as médias dos dois grupos ($p=0,5201$) nesse primeiro desafio, sugerindo que não houve eficácia protetora contra a reinfestação durante esse período.

Os números médios de teleóginas desprendidas dos animais entre os dias D+32 a D+38, (desafio do dia D+14) foram de: 24,24 para o GC e 91,64 para o GT. Houve diferença significativa entre as médias dos dois grupos ($p=0,0131$), porém não houve eficácia protetora contra a reinfestação também nesse período.

Os números médios de teleóginas desprendidas dos animais entre os dias D+39 a D+45, (desafio do dia D+21) foram de: 21,31 para o GC e 22,33 para o GT. Não houve diferença significativa entre as médias dos dois grupos ($p=0,9216$). E também não houve eficácia protetora contra a reinfestação para 21 dias após o tratamento.

Considerando os resultados do efeito profilático do produto testado observou-se que não houve a manutenção da eficácia carrapaticida para os desafios D+7, D+14 e D+21.

LANUSSE et al., sugere que a persistência da atividade antiparasitária (efeito profilático) das lactonas macrocíclicas é dependente da cinética do padrão de troca plasma/tecido no organismo hospedeiro que irá interferir diretamente na concentração plasmática. No estudo realizado por Grisi, C. em 2020, constatou-se que as maiores concentrações de EPM foram alcançadas 30 horas após a administração da formulação injetável

Grupo	Parâmetros	Média do Número de teleóginas $\geq 4\text{mm}$ - correspondente aos desafios		
		D+7	D+14	D+21
Grupo Controle (GC)	Média Aritmética	26,90	24,24	21,31
	Desvio Padrão	18,92	14,43	13,35
Grupo Tratado (GT)	Média Aritmética	33,62	91,64*	22,33
	Desvio Padrão	27,53	60,83	21,03
	Eficácia (%)	-	-	-
	Valor de P	0,5201	0,0131*	0,9216

TABELA 3. MÉDIAS ARITMÉTICAS, DESVIO PADRÃO E EFICÁCIA CARRAPATICIDA PREVENTIVA DE TELEÓGINAS DESPRENDIDAS DOS ANIMAIS PERTENCENTES AOS GRUPOS CONTROLE (GC) E TRATADO (GT) PARA OS DESAFIOS DOS DIAS: D+7, D+14 E D+21.

4.2.3 Índice de reprodução e viabilidade das teleóginas

O peso médio das teleóginas obtido para cada grupo em cada dia de avaliação (D+1 a D+23), o peso das respectivas oviposturas, assim como o percentual médio de eclosão dos ovos em larvas de *R. microplus* estão expostos na Tabela 03.

Para o GC, o peso médio das teleóginas observado no período de 23 dias foi de 0,21 g, enquanto para o GT foi de 0,18 g. O peso médio das posturas foi de 0,10 g para o GC e para o GT 0,08. E o percentual médio de eclosão de ovos em larvas durante os 23 dias foi de 84,15% para o GC e de 73,28% para o GT.

Sendo assim, o percentual de inibição da reprodução de fêmeas de *R. microplus* na avaliação dos primeiros 23 dias foi de 25,97%. A partir desse resultado, pode-se perceber que o produto não apresentou valores percentuais adequados de inibição da reprodução durante esse período.

O peso médio das teleóginas obtidos para cada grupo em cada dia de avaliação considerando as teleóginas obtidas das infestações dos dias D+7 (D+25 a D+31), D+14 (D+32 a D+38) e D+21 (D+39 a D+45), pesos das respectivas oviposturas, e percentual médio de eclosão dos ovos em larvas de *R. microplus* também estão expostos na Tabela 04.

Foi observado no período de D+25 a D+31 dias, para o GC e GT, o peso médio/número das teleóginas cujo valores obtidos são, respectivamente: 0,23g e 0,21g. O peso médio das posturas foi de 0,12g para o GC e de 0,12g para o GT. O percentual médio de eclosão de ovos em larvas foi de 83,93% para o GC e de 72,57% para o GT. As informações obtidas foram utilizadas para calcular o percentual de inibição da reprodução de fêmeas de *R. microplus* na avaliação dos dias D+25 a D+31 referentes ao desafio do dia D+7. Desta forma, a formulação não apresentou valores percentuais adequados de inibição da reprodução.

Foi observado no período de D+32 a D+38, para o GC e GT, o peso médio das teleóginas cujo valores obtidos são, respectivamente: 0,21g e 0,20g. O peso médio das posturas foi de 0,11g para o GC e de 0,08g para o GT. O percentual médio de eclosão de ovos em larvas foi de 88,07% para o GC e de 81,36% para o GT. As informações obtidas foram utilizadas para calcular o percentual de inibição da reprodução de fêmeas de *R. microplus* na avaliação dos dias D+32 a D+38 referentes ao desafio do dia D+14. Sendo assim, a formulação não apresentou valores percentuais adequados de inibição da reprodução.

Foi observado no período de D+39 a D+45 dias, para o GC e GT, o peso médio das teleóginas cujo valores obtidos foram, respectivamente: 0,16g e 0,18g, respectivamente. O peso médio das posturas foi de 0,11g para o GC e de 0,06g para o GC. O percentual médio de eclosão de ovos em larvas foi de 83,57% para o GC e de 69,36% para o GT. As informações obtidas foram utilizadas para calcular o percentual de inibição da reprodução de fêmeas de *R. microplus* na avaliação dos dias D+39 a D+45 referentes ao desafio do dia D+21. Desta forma, a formulação não apresentou

valores percentuais adequados de inibição da reprodução, fato este que não corrobora com o estudo realizado por Aguirré, D. H. *et al*, em 2005 que sugeria que as teleóginas desprendidas dos bovinos tratados com eprinomectina 1% a 0,5 mg/kg por via tópica, apresentavam além de diminuição do tamanho, capacidade reprodutiva e viabilidade das larvas diminuída em condições de campo.

Dia Experimental	Grupo Controle (GC)				Grupo Tratado (GT)				Eficiência Reprodutiva**
	Peso médio de teleóginas	Peso médio das posturas (g)	Percentual médio de eclosão	Índice de reprodução*	Peso médio de teleóginas	Peso médio das posturas (g)	Percentual médio de eclosão	Índice de reprodução*	
D+1	0,20	0,11	83,00	870786,24	0,18	0,11	76,50	905142,86	0,00
D+2	0,22	0,11	93,50	890056,15	0,21	0,10	82,00	769885,56	13,50
D+3	0,22	0,09	93,50	792495,45	0,21	0,07	90,50	652093,48	17,72
D+4	0,23	0,11	83,00	775769,66	0,15	0,00	0,00	0,00	100,00
D+5	0,20	0,10	84,50	901275,61	0,16	0,01	81,00	57472,28	93,62
D+6	0,23	0,10	76,00	646125,41	0,12	0,06	66,00	649060,77	0,00
D+7	0,21	0,09	74,50	660566,67	0,21	0,10	92,00	871578,95	0,00
D+8	0,18	0,12	88,50	1223946,92	0,12	0,06	71,00	694957,63	43,22
D+9	0,20	0,11	85,00	991339,99	0,24	0,00	0,00	0,00	100,00
D+10	0,18	0,12	84,50	1089894,37	0,10	0,07	87,00	1227607,36	0,00
D+11	0,21	0,08	70,00	570784,88	0,20	0,12	78,50	979264,24	0,00
D+12	0,20	0,10	80,50	836437,39	0,18	0,15	88,00	1453079,02	0,00
D+13	0,19	0,07	72,00	553523,81	0,18	0,05	65,00	380112,68	0,00
D+14	0,20	0,08	81,00	635984,65	0,17	0,09	65,00	686813,19	0,00
D+15	0,22	0,14	88,00	1114150,86	0,21	0,02	85,00	179017,16	83,93
D+16	0,20	0,12	70,00	806620,21	0,28	0,10	79,00	535135,68	33,66
D+17	0,22	0,07	85,50	542321,10	0,23	0,02	89,00	184405,67	66,00
D+18	0,27	0,12	90,00	778670,67	0,14	0,23	80,00	2573310,23	0,00
D+19	0,24	0,11	83,00	760949,58	0,21	0,08	84,00	651448,93	14,39
D+20	0,23	0,09	89,00	682339,74	0,16	0,07	82,00	767520,00	0,00

D+21	0,21	0,11	93,00	943567,06	0,15	0,09	87,00	1103952,86	0,00
D+22	0,22	0,11	92,00	901574,87	0,19	0,13	70,00	963402,06	0,00
D+23	0,19	0,10	95,50	1011118,56	0,13	0,17	87,00	2367734,72	0,00
Média	0,21	0,10	84,15	825230,43	0,18	0,08	73,28	810999,80	25,97

TABELA 4. VALORES REFERENTES AO NÚMERO DE TELEÓGINAS INCUBADAS, PESOS DAS TELEÓGINAS INCUBADAS, PESO DAS POSTURAS DAS TELEÓGINAS INCUBADAS E PERCENTUAL DE ECLOSÃO DE LARVAS, DOS GRUPOS CONTROLE E GRUPO TRATADO DURANTE OS 23 DIAS.

Dia Experimental	Grupo Controle (GC)				Grupo Tratado (GT)				
	Peso médio de teleóginas (g)	Peso médio das posturas (g)	Percentual médio de eclosão	Índice de reprodução	Peso médio de teleóginas (g)	Peso médio das posturas (g)	Percentual médio de eclosão	Índice de reprodução	Eficiência Reprodutiva
D+7	0,23	0,12	83,93	850435,39	0,21	0,12	72,57	884016,04	0,00
D+14	0,21	0,11	88,07	937973,19	0,20	0,08	81,36	600799,44	33,50
D+21	0,16	0,11	83,57	1270684,18	0,18	0,06	69,36	459241,51	61,82

TABELA 5 VALORES MÉDIOS REFERENTES AO NÚMERO DE TELEÓGINAS INCUBADAS, PESOS DAS TELEÓGINAS INCUBADAS, PESO DAS POSTURAS DAS TELEÓGINAS INCUBADAS E PERCENTUAL DE ECLOSÃO DE LARVAS, DOS GRUPOS CONTROLE (GC) E GRUPO TRATADO (GT) DURANTE OS DESAFIOS.

$$* IR = \left(\frac{\text{Média do peso da massa de ovos}}{\text{Média do peso das teleóginas}} \right) \times (\% \text{ de eclosão dos ovos}) \times 20.000\% \text{ de inibição de reprodução} =$$

$$\frac{(\text{IR controle} - \text{IR tratado}) \times 100}{\text{IR controle}}$$

Dia Experi- mental	Grupo Controle (GC)				Grupo Tratado (GT)				
	Peso médio de teleógi- nas (g)	Peso médi- o das postu- ras (g)	Perce- tual médio de eclosã- o	Índice de reprodu- ção	Peso médio de teleógi- nas (g)	Peso médi- o das postu- ras (g)	Perce- tual médio de eclosã- o	Índice de reprod- ução	Eficiência Reprod- utiva
D+7	0,23	0,12	83,93	850435 ,39	0,21	0,12	72,57	884016 ,04	0,00
D+14	0,21	0,11	88,07	937973 ,19	0,20	0,08	81,36	600799 ,44	33,50
D+21	0,16	0,11	83,57	127068 4,18	0,18	0,06	69,36	459241 ,51	61,82

TABELA 6 VALORES MÉDIOS REFERENTES AO NÚMERO DE TELEÓGINAS INCUBADAS, PESOS DAS TELEÓGINAS INCUBADAS, PESO DAS POSTURAS DAS TELEÓGINAS INCUBADAS E PERCENTUAL DE ECLOSÃO DE LARVAS, DOS GRUPOS CONTROLE (GC) E GRUPO TRATADO (GT) DURANTE OS DESAFIOS.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados encontrados tanto no teste de campo quanto no teste de estábulo podemos concluir que a eprinomectina 2% administrada por via injetável em bovinos foi efetiva para o tratamento de bovinos naturalmente infestados com carrapatos, apresentando níveis de eficácia carrapaticida acima de 95%, por 21, e por 23 dias em bovinos artificialmente infestados, além de não apresentar valores percentuais adequados de inibição na reprodução do carrapato.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKSIT, D.; KORKUT, O.; AKSOZ, E.; GOKBULUT, C. Plasma disposition and faecal excretion of eprinomectin following topical and subcutaneous administration in non-lactating dairy cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 64, n. 4, p. 207-211, 2016.

BAOLIANG, P. et al. Pharmacokinetics of Eprinomectin in Plasma and Milk following Subcutaneous Administration to Lactating Dairy Cattle. **Veterinary Research Communications**, v. 30, p. 263–270, 2006.

BARROS, A. T. M.; OTTEA, J.; SANSON, D.; FOIL, L. D. Horn fly (Diptera: Muscidae) resistance to organophosphate insecticides. **Veterinary Parasitology**, v. 96, n. 3, p. 243-256, 2001.

BARROS, A. T. M.; VAZQUEZ, S. A. S. Comunicado Técnico - Recomendações para a prevenção e controle de bicheiras em bezerros no Pantanal. **Comunicado Técnico Embrapa**, v. 35, p. 1–4, 2004.

BRASIL. **Lei nº 11.794 (Lei Arouca), de 08 de Outubro de 2008**. Estabelece os procedimentos para o uso científico de animais. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2008/lei/11794.htm. Acesso em: 17/11/2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997. Diário Oficial (da) União. Brasília, 12 de maio de 1997. Seção I, n.92, p. 10165-10169.

BYFORD, R. L.; CRAIG, M. E.; CROSBY, B. L. A review of ectoparasites and their effect on cattle production. **Journal of Animal Science**, v. 70, p. 597-602, 1992.

CALVANO, Maria Paula Cavuto Abrão et al. Bioeconomic simulation of *Rhipicephalus microplus* infestation in different beef cattle production systems in the Brazilian Cerrado. **Agricultural Systems**, v. 194, p. 103247, 2021.

CAMPOS-PEREIRA, M; LABRUNA, M.B. *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: biologia controle e resistência. Medicina Veterinária. cap. 3, p. 1-169, 2008.

CARVALHO, Wanessa Araujo, et al. *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus*: distinct acute phase proteins vary during infestations according to the genetic composition of the bovine hosts, *Bos taurus* and *Bos indicus*. **Experimental parasitology**, v. 118.4, p. 587-591, 2008.

COSTA, A. J. Atividade endectocida de uma inovação quimioterápica (ivermectina+ abamectina): resultados de 12 avaliações experimentais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 171, 2004.

CRUZ, B. C. ASPECTOS ECOLÓGICOS, BIOLÓGICOS E DE RESISTÊNCIA DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) NA REGIÃO DE JABOTICABAL, SÃO PAULO, BRASIL. 2017. Tese (Doutorado em Ciências Agrárias e Veterinárias). Instituto de Veterinária: Universidade Estadual de São Paulo, 2017.

ESTRADA-PENÑA, Agustín, et al. Reinstatement of *Rhipicephalus (Boophilus) australis* (Acari: Ixodidae) with redescription of the adult and larval stages. *Journal of Medical Entomology*. v. 49.4, p. 794-802, 2012.

FAO. Hoja de Ruta para la Supresión y Erradicación Progresiva del Gusano Barrenador del Ganado *Cochliomyia hominivorax* en las Zonas Endémicas del Continente Americano. Panamá. p. 1–77, 2018.

FLOATE, K. D. Endectocide use in cattle and fecal residues: environmental effects in Canada. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 70, n. 1, p. 1, 2006.

FLOATE, K. D.; SPOONER, R. W.; COLWELL, D. D. Larvicidal activity of endectocides against pest flies in the dung of treated cattle. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 15, n. 1, p. 117-120, 2001.

FURLONG, J.; MARTINS², J. R.; PRATA, M. C. A. O carrapato dos bovinos e a resistência : temos o que comemorar ? **A Hora Veterinária**, v. 159, 2007.

GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. Biologia e importância do carrapato. In: **Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos**. Brasília, DF: Embrapa, v. 240, p. 15–25, 2019.

GERENUTTI, M.; SPINOSA, H. S. Avermectinas: revisão do uso e da ação sobre o SNC. **Biotemas**, v. 10, n. 2, p. 7-27, 1997.

GODOI, C.R., SILVA, E.F.P. Carrapato *Boophilus microplus* e impacto na produção animal - Revisão de literatura. *PUBVET*, Londrina, V. 3, N. 22, Art. 606, Jun4, 2009.

GONZALES, J. C.; SILVA, N. R.; WAGNER, E. M. O ciclo parasitário do *Boophilus microplus* em bovinos estabulados. *Arquivos da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS*, v.2, p. 25-34, 1974.

GRISI, C. et al. Injectable eprinomectin for cattle: Tick efficacy and pharmacokinetics. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, n. October 2019, p. 1–8, 2020.

GRISI, L.; SCOTT, F. B. Lactonas macrocíclicas (avermectinas) de longa ação no controle de parasitismo em bovinos. **A Hora Veterinária**, v. 34, n. 201, p. 45-48, 2014.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; BORJA, G. E. M.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 8-10, 2002.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol.**, v. 23, n. 2, p. 150–156, 2014.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2017. Censo Agropecuário. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/21814-2017>. Acesso em 06/02/2022.

KASHINO, Suely S. *et al.* *Boophilus microplus*: the pattern of bovine immunoglobulin isotype responses to high and low tick infestations. **Experimental Parasitology**, v. 110, n. 1, p. 12-21, 2005.

LABRUNA, M. B. *et al.* Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. **BMC. Evolutionary Biology**, v. 9, p. 1-12, 2009.

LANUSSE, C., et al. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, v. 20, p. 91-99, 1997.

LIFSCHITZ, A. et al. Eprinomectin accumulation in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* : Pharmacokinetic and efficacy assessment. **Veterinary Parasitology**, v. 215, p. 11–16, 2016.

LOPES, Welber Daniel Zanetti, et al. Effects of macrocyclic lactones on the reproductive parameters of engorged *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* females detached from experimentally infested cattle. **Experimental Parasitology**, v. 135.1, p. 72-78, 2013.

MURRELL, Anna; CAMPBELL, Nicholas JH; BARKER, Stephen C. A total-evidence phylogeny of ticks provides insights into the evolution of life cycles and biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 21.2: p. 244-258, 2001.

PATARROYO, J. H.; SILVA, S. S. *Babesia bovis*: infectivity of an attenuated strain of Brazilian origin for the tick vector, *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 52, n. 1-2, p. 139-143, 1994.

PINHEIRO, Michele Costa, et al. CAPACIDADE DE SOBREVIVÊNCIA DO EMBRIÃO DE *Rhipicephalus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE) A ALTERAÇÕES BRUSCAS DE TEMPERATURA. **Archives of Veterinary Science**, v. 19.1, 2014.

RECK, J.; MARKS, F.; WEBSTER, A.; SOUSA, U.A.; RODRIGUES, R.O.; LEITE, R.C.; GONZALES, J.C.; MARTINS, J.R. Infestação por carrapatos *Rhipicephalus microplus* como fator de risco para ocorrência de miíases em bovinos. Anais. XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. p. 155-155. 2012.

SILVA, H.; BUZZULINI, C.; PRETTE, N.; SAK MOTO, C.; PARANHOS, R. SOUZA, W.; OLIVEIRA, G.; COSTA, A. Ação carrapaticida de uma nova formulação pour-on contendo Ivermectina 1,5% e Abamectina 0,5% em bovinos naturalmente e artificialmente infestados. Anais. XVII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. p. 155-155. 2012.

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. v. 29. n. 1, p. 65- 70, 2009.

SOUZA, A. P. et al. Características do controle químico do *Boophilus microplus* na Região Sul do Rio Grande do Sul e a relação com a resistência a carrapaticidas. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 10, 1997, Itapema - SC. Anais Itapema: CBPV, p. 129, 1997.

VARGAS, et al.; Avaliação *in vitro* de uma cepa de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente

VICH Topic GL9 - Guideline on Good Clinical Practices. CVMP/VICH /595/98-Final, Londres, julho, 2000.

ZERINGÓTA, V. et al. Repellent activity of eugenol on larvae of *Rhipicephalus microplus* and *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 112, n. 7, p. 2675–

2679, 2013.