

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

**TESE**

**Ação de Dois Reguladores de Crescimento Sobre a  
Eficiência Reprodutiva de Fêmeas Ingurgitadas de  
*Dermacentor nitens***

**Rosângela Rodrigues dos Santos**

**2019**



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

AÇÃO DE DOIS REGULADORES DE CRESCIMENTO SOBRE A  
EFICIÊNCIA REPRODUTIVA DE FÊMEAS INGURGITADAS DE  
*Dermacentor nitens*

**ROSÂNGELA RODRIGUES DOS SANTOS**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Fabio Barbour Scott**

*e Co-orientação da Professora*  
**Raquel Moreira Pires dos Santos Melo**

Tese submetida como requisito  
parcial para obtenção do grau de **Doutor**  
**em Ciências**, no Curso de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ  
Março de 2019



ATA N° 3485/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.043387/2024-05

Seropédica-RJ, 19 de agosto de 2024.

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

ROSÂNGELA RODRIGUES DOS SANTOS

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

TESE APROVADA EM 08/05/2019

(Assinado digitalmente em 22/08/2024 08:54)  
FABIO BARBOUR SCOTT  
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR  
DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)  
Matrícula: ###736#0

(Assinado digitalmente em 20/08/2024 10:23)  
BARBARA RAUTA DE AVELAR  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.647-##

(Assinado digitalmente em 21/08/2024 18:06)  
ARY ELIAS ABOUD DUTRA  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.877-##

(Assinado digitalmente em 19/08/2024 17:34)  
ISABELLA VILHENA FREIRE MARTINS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.547-##

(Assinado digitalmente em 19/08/2024 17:00)  
DIEFREY RIBEIRO CAMPOS  
ASSINANTE EXTERNO  
CPF: ###.###.737-##

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

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

S194a Santos, Rosângela Rodrigues dos, 1977-  
Ação de Dois Reguladores de Crescimento Sobre a  
Eficiência Reprodutiva de Fêmeas Ingurgitadas de  
Dermacentor nitens / Rosângela Rodrigues dos Santos. -  
Rio de Janeiro, 2019.  
77 f.

Orientador: Fabio Barbour Scott.  
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio  
de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Veterinárias - PPGCV - UFRRJ, 2019.

1. Carrapatos de Equinos. 2. Controle Parasitário  
dos Equinos. 3. Regulador de Crescimento de Insetos.  
4. Controle da Síntese de Quítina e Hormônio Juvenil.  
I. Scott, Fabio Barbour, 1966-, orient. II  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias -  
PPGCV - UFRRJ III. Título.

Dedico essa conquista a minha  
família por seu apoio em todos os  
momentos

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por estar comigo em todos os momentos bons e me dar forças em todos os difíceis.

A minha família por estar comigo em todos os momentos. Aos meus pais Altair e Aurora por me ensinarem a perseverança e ver as coisas boas da vida como uma dádiva e as ruins como conhecimento. Ao meu avô Aderbal por me amar incondicionalmente. E meus irmãos Roberto, Ronaldo, Robson e Silvia a presença de cada um de vocês me ajudou em todos os momentos da caminhada. E meus cunhados Elza, Renata e Wladimir por estarem presentes. E os meus sobrinhos, que eu possa ser um exemplo os estimulando a continuar sempre.

Queria agradecer muito ao meu orientador Fabio Barbour Scott, por me estimular a melhorar e continuar no caminho do conhecimento acadêmico e pessoal.

Aos professores Katerina Coumendouros, Thaís Ribeiro Correia, Júlio Israel Fernandes e Iara Peluso Cid, pelo ensino em todos os momentos de convivência.

Ao falecido professor Laerte Grisi, sem a oportunidade que me deu não teria conseguido chegar até aqui.

Minha colega Bárbara Rauta Avelar por me ajudar a cumprir essa meta, sem você não conseguiria. Aos colegas Diefrey Ribeiro Campos, Monique Moraes Lambert, Débora Azevedo Borges, Gabriela Ferreira Oliveira e Raphael Comissário por ouvirem minhas dúvidas e contribuírem com ideias para melhorar o meu trabalho.

Aos colegas da farmacometria pelo auxílio em todos os momentos de dúvida, e todo o trabalho para que a tese pudesse ser realizada.

Aos estagiários do LQEPV: Jéssica K. Chaves, Breno Gava, Gabriela Almeida, Caroline Rodrigues, Renan B. Tavares, Rayane Monteiro, Rayane Assis, Roxane Marina e Thalita Xavier, que me ajudaram em todos os momentos desses quatro anos de doutorado, sem vocês o trabalho teria sido muito duro, sua companhia tornou tudo mais divertido e me tornou uma pessoa melhor. E a todos os colegas de LQEPV, mais uma etapa da vida se conclui e vocês foram essenciais para que isso acontecesse.

E aos amigos que a vida me deu Elen Tatiane Miquelon, Emerson Santos, Maria Das Graças de Souza Santos, Jenif Braga, Monique Silveira, Laila Simone, Luena Penna e tantos outros que me incentivaram ao longo dos anos. Obrigado por tudo cada um foi um momento de alegria.

Aos meus filhos de pelos Barbie, Babalú, Pimenta, Negão e Lilo que estão comigo o tempo todo e o amor que eu vejo nos olhos de vocês me ajuda a ser um ser humano melhor. Também a dedicação dos membros do LQEPV: cães, gatos, pôneis, bovinos e ovelhas.

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

Obrigada a todos!

## **BIOGRAFIA**

Rosângela Rodrigues dos Santos filha de Altair José dos Santos e Aurora Rodrigues dos Santos, nascida no dia 19 de setembro de 1977 na cidade do Rio de Janeiro. Estudou todo o ensino fundamental na Escola Municipal Coronel Corsino do Amarante e o ginásio na Escola Municipal Gil Vicente. Em 1994 ingressou no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR) no curso Técnico em Agropecuária. Aprovada no vestibular da UFRRJ do ano de 2000 para o segundo semestre no curso de Medicina Veterinária e diplomada no ano de 2006. Durante esse período realizou estágios na área de animais de companhia, e obteve experiência também no campo da cirurgia. No ano de 2009 se especializou em Saúde Pública na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). E entre os anos de 2008 e 2012 cursou Residência na UFRRJ na área de Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais. No ano de 2013 foi admitida no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias para o nível de Mestrado, sob a orientação do renomado professor Laerte Grise, na mesma instituição que se formou Médica Veterinária, concluindo em fevereiro de 2015 já sob orientação do Professor Fabio Barbour Scott. Ingressando no mesmo ano no Doutorado dando sequência aos estudos.

## RESUMO

SANTOS, Rosângela Rodrigues dos. **Ação de dois Reguladores de Crescimento sobre a eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *Dermacentor nitens*.** 77f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

A espécie de carrapato *Dermacentor nitens* é um importante transmissor de patógenos em equídeos no Brasil, prejudicando a saúde dos animais e o seu comércio no mundo. Poucos são os produtos registrados para o controle desse ectoparasito. Os Reguladores de Crescimento de Insetos já usados em outras espécies apresentam maior segurança e tem potencial para esse controle. O fluazuron que age na síntese de quitina e o piriproxifen que é um regulador do hormônio juvenil podem representar uma alternativa aos tratamentos usados até o momento. Com o objetivo de avaliar a ação dos reguladores de crescimento fluazuron e piriproxifen sobre fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*, foram realizados três ensaios *in vitro*, para cada um dos dois reguladores de crescimento. As soluções utilizadas nos três ensaios foram feitas a partir das matérias primas diluídas em Triton-X 100, N-metilpirrolidona e acetona formando duas soluções mães a 40.000 ppm, a partir das quais foram realizadas diluições seriadas para obtenção das seguintes concentrações 4.000; 2.000; 1.000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 e 15,62 ppm. Para a realização do teste de imersão as fêmeas ingurgitadas foram agrupadas em dez exemplares, cada fêmea foi considerada uma unidade experimental, e todos os grupos possuíam médias de peso semelhantes. Cada grupo foi imerso por um minuto nas concentrações descritas acima, posteriormente cada teleóGINA foi seca e fixada individualmente em placas de petri. Todas as fêmeas foram observadas diariamente até iniciarem o processo de oviposição para avaliar o período de prépostura. Em 21 dias posteriores a imersão as respectivas posturas e quenóginas foram pesadas e os percentuais de eclosão das massas de ovos foram lidos em 21 dias após a pesagem das mesmas. Durante o decorrer do estudo todas as fases do carrapato foram mantidos em estufa a  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$  de temperatura e  $80 \pm 10\%$  de umidade relativa. Foram calculadas as médias das eclodibilidades, mortalidade, eficácia reprodutiva, eficiência reprodutiva e índice de nutrição. Como resultados observou-se que o fluazuron no primeiro ensaio a eficácia foi de 97,82% na concentração de 250ppm e gradativamente chegou a 100% na última concentração de 4000ppm, já nos outros ensaios esse valor só foi encontrado nas concentrações de 1000 ppm, sendo respectivamente nas tomadas de tempo dois e três 95,79 e 97,98 %, sem alcançar eficácia máxima. O aumento da concentração não influenciou no peso das posturas, o peso das quenóginas e o índice de conversão nutricional das fêmeas ingurgitadas. Para piriproxifen na primeira tomada de tempo a eficácia foi máxima na concentração de 1000ppm, para os outros ensaios esse patamar foi alcançado na concentração de 250ppm. E para este produto foi observado nitidamente a influência do aumento das concentrações em queda do peso médio das posturas, no aumento do peso das quenóginas ao final da postura e na diminuição do índice nutricional. Pode-se concluir que ambos reguladores de crescimento foram eficazes *in vitro* sobre o carrapato *D. nitens*, com o piriproxifen apresentando maior inibição da eficiência reprodutiva nas fases não parasitárias em concentrações mais baixas.

**Palavras chaves:** Carrapato; controle; “*in vitro*”

## **ABSTRACT**

SANTOS, Rosângela Rodrigues dos. Action of two Growth Regulators on the Reproductive Efficiency of *Dermacentor nitens* Engorged Females. 77f. Thesis (Doctorate in Veterinary Sciences). Veterinary Institute, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019

In order to evaluate the action of the growth regulators fluazuron and piriproxifen on engorged females of *Dermacentor nitens*, three “*in vitro*” methodological tests were performed for each of the two products. Dilutions were performed using the fluazuron and pyriproxyfen raw material diluted in Triton-X 100, N-methylpyrrolidone and acetone, with the serial dilution performed with the diluent containing the last three compounds plus water. Concentrations were in ppm: 4,000; 2,000; 1,000; 500; 250; 125; 62.5, 31.25, 15.62. To perform the immersion the females were grouped in ten, each considered as an experimental unit, and so that the groups had similar weight averages among the concentrations. They were immersed for one minute and then dried and fixed in petri dishes so that the postures were weighed individually. They were conditioned in a heated room with temperature and humidity control for 21 days for weighing the posture, and the quenogins and after further 21 days the percentage of hatching was read. During the first days of incubation the pre-posture period was observed in all the engorged females of the tests until all of them began the laying process. And with all results, the means of hatchability, mortality, reproductive efficiency, reproductive efficiency and nutrient index were calculated separately for each experimental day as well as for the two growth regulators. On observation of the first Fluazuron result showed efficacy above 95% in the concentration of 250ppm with the result of 97.82% and gradually reaching 100% in the last concentration of 4000ppm in others, the value was only found in concentrations of 1000 ppm, being respectively 95.79 and 97.98%, without achieving maximum efficacy. The increase in concentration did not influence the weight of the postures, the weight of the quenogins or the nutritional conversion index of the engorged females. For piriproxifen at the first study, the efficacy was maximal at the concentration of 1000ppm, for the others this level was reached at the concentration of 250ppm. And for this product the influence of the increase of the concentrations in decrease of the average weight of the postures, in the increase of the weight of the kenogins at the end of the posture and in the depletion of the nutritional index was observed clearly. With the results, it is possible to conclude the effectiveness of the two products on the *D. nitens* tick, with pyriproxyfen showing greater inhibition of the index in the non-parasitic phases and lower concentrations of efficacy.

Keywords: Tick; control; “*in vitro*”

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do primeiro teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de fluazuron.	27
<b>Tabela 2:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do segundo teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de fluazuron.	29
<b>Tabela 3:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do terceiro teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de fluazuron.	31
<b>Tabela 4:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões da média das três tomadas de tempo do teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de fluazuron.	34
<b>Tabela 5:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do primeiro teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de piriproxifen.	36
<b>Tabela 6:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do segundo teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de piriproxifen.	38
<b>Tabela 7:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do terceiro teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de piriproxifen.	40
<b>Tabela 8:</b> Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões da média das três tomadas de tempo do teste de imersão de adultos de <i>Dermacentor nitens</i> , em diferentes concentrações de piriproxifen.	43

## ANEXOS

<b>ANEXO A.</b> Cópia de declaração da aprovação do comitê de ética para a realização do experimento.....	53
<b>ANEXO B.</b> Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de eclodibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de préoviposição para fluazuron no primeiro ensaio. ....	54
<b>ANEXO C.</b> Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de eclodibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de préoviposição para fluazuron no segundo ensaio .....	56
<b>ANEXO D.</b> Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de eclodibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de préoviposição para fluazuron no Terceiro ensaio. ....	58
<b>ANEXO E.</b> Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de eclodibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de préoviposição para piriproxifen no primeiro ensaio. ....	60
<b>ANEXO F.</b> Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de eclodibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de préoviposição para piriproxifen no segundo ensaio. ....	62
<b>ANEXO G.</b> Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de eclodibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de préoviposição para piriproxifen no terceiro ensaio. ....	64

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>3</b>
2.1 Biologia e <b>Importância dos Carapatos .....</b>	<b>3</b>
2.2 A Espécie <i>Dermacentor nitens</i> .....	5
2.2.1 Importância do <i>Dermacentor nitens</i> .....	7
2.2 Controle de Ectoparasitos .....	9
2.2.1 Controle químico dos ectoparasitos.....	10
2.2.2 Reguladores do crescimento de insetos.....	14
2.2.2.1 Fluazuron .....	16
2.2.2.2 Piriproxifen.....	18
2.2.3 Testes <i>in vitro</i> .....	20
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>23</b>
3.1 Local do Estudo .....	23
3.2 Origem dos Carapatos .....	23
3.3 Teste <i>in vitro</i> .....	23
3.3.1 Processo de diluição .....	23
3.3.2 Teste de imersão de teleóginas .....	23
3.4 Cálculos e Análises estatísticas .....	24
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>26</b>
4.1 Fluazuron.....	26
4.1.1 Primeira repetição.....	26
4.1.2 Segunda repetição.....	28
4.1.3 Terceira repetição .....	30
4.1.4 Médias dos resultados do Fluazuron .....	32
4.1.4.1 Eficácia sobre a eficiência reprodutiva das teleóginas tratadas com fluazuron.....	33
4.2 Piriproxifen .....	35
4.2.1 Primeira repetição.....	35
4.2.2 Segunda repetição.....	37
4.2.3 Terceira repetição .....	39
4.2.4 Médias dos resultados do Piriproxifen .....	41
4.2.4.1 Eficácia sobre a eficiência reprodutiva das teleóginas tratadas com piriproxifen .....	42
<b>5 Conclusão.....</b>	<b>44</b>
<b>6 Considerações Finais .....</b>	<b>45</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>46</b>
<b>8 ANEXOS .....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os carapatos da subordem Ixodida são os mais importantes grupos de vetores de patógenos do Filo Artropoda. Sendo responsáveis pela manutenção e transmissão de várias espécies de bactérias, helmintos, protozoários e vírus que afetam tanto os animais domésticos quanto o homem.

A espécie *Dermacentor nitens* é ectoparasita de cavalos e outros equídeos, está presente dos Estados Unidos ao sul da Argentina, inclusive no Brasil. É monoxênico, e costuma se fixar no divertículo nasal, na crina, na cauda, nas regiões perineal e perianal e, principalmente, nos ouvidos do hospedeiro. Esta espécie é vetor do protozoário *Babesia caballi*, um dos agentes causadores da piroplasmose equina. Infestações graves podem causar uma série de problemas, pode ocorrer o acúmulo de secreção no pavilhão auditivo, com excreções do próprio parasito e as exúvias, que levam a mal cheiro e lesões que desenvolvem infecções secundárias, atraem moscas que propiciam o desenvolvimento de miíases, além de traumatismos permanentes das orelhas. E a presença deste no divertículo nasal leva uma maior facilidade de reinfeção.

O conhecimento da biologia e das características inerentes ao *D. nitens* são fundamentais para a elaboração de um manejo integrado visando o controle e o manejo sanitário dos animais.

Devido aos prejuízos que o parasitismo pode causar aos animais há a necessidade de desenvolver formas de controle eficazes. Após o desenvolvimento do controle integrado de pragas, passou-se a pensar em formas alternativas que causem menos prejuízo aos animais e ao meio ambiente em que eles vivem, e que também sejam menos onerosas aos proprietários.

Para o controle de carapatos em equinos as únicas bases recomendadas são as permetrinas, usadas na forma de banhos, talcos e pastas, esta última recomendada para o uso nas narinas e nas orelhas. Um problema das criações de cavalos é o uso sem critérios de bases químicas recomendadas para outras espécies, isso pode causar o desenvolvimento de resistência aos carapaticidas e até mesmo levar os animais a apresentarem problemas de intoxicações ou doenças crônicas relacionadas ao uso prolongado dos acaricidas. Pois, deve-se sempre levar em consideração as características fisiológicas do animal e o ciclo biológico da espécie do parasito alvo, quando se pensa em uma estratégia eficaz, a fim de maximizar os resultados sem prejudicar o animal e o meio ambiente.

Esses animais têm grande importância na economia, desde pequenas criações, que os usam como o transporte, força de trabalho e como animais de estimação, até os grandes criadores de animais de raça, com valor econômico elevado. Dessa forma novas bases devem ser pensadas para o uso em equídeos, para testar essas novas bases os testes *in vitro* tem um papel importante na eleição de moléculas químicas, que potencialmente podem ser selecionadas para o uso em animais, por apresentarem bons resultados frente aos ixodídeos.

Os reguladores de crescimento de insetos se apresentam como uma alternativa para o controle dos ectoparasitos. Este grupamento químico vem sendo utilizado concomitante aos carapaticidas convencionais, com bons resultados frente a outras espécies de ixodídeos. Apresentam três mecanismos de ação: análogos do hormônio juvenil, inibidores da síntese de quitina e inibidores da deposição da quitina. O fluazuron é o regulador de crescimento mais utilizado no Brasil, atualmente, possui ação direta no processo de quitinização da cutícula do artrópode, levando a fragilidade dos estágios evolutivos de parasitos, no entanto, não possui indicação para o uso no controle de *D. nitens*. E o piriproxifen, análogo do hormônio juvenil, age ao inibir a enzima que degrada o hormônio juvenil e também como agonista fraco competindo pelos sítios de ação deste hormônio, o que lhe confere potencial no controle de ectoparasitos em animais domésticos. Seu uso é regulamentado para o controle de pragas de

lantações, mosquitos e pulgas, existe no mercado formulações que associam o piriproxifen a carrapaticidas tradicionais como o fipronil para o controle de *Rhipicephalus sanguineus*.

Por causa das limitações existentes no tratamento de cavalos contra ectoparasitos, as perdas causadas pelo parasitismo e a conhecida sensibilidade destes animais a vários compostos há necessidade de se estudar novas moléculas mais seguras, que possam ser aplicadas no controle de *D. nitens*. Os ensaios desse estudo tiveram como objetivo avaliar a ação do fluazuron e do piriproxifen, *in vitro*, na eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*, com o intuito de apresentar uma alternativa eficaz no tratamento de equídeos parasitados.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Biologia e Importânciia dos Carrapatos

Os carrapatos são classificados na classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Parasitiformes, e subordem Ixodida. Os ácaros da subordem Metastigmata ou Ixodida se caracterizam pela presença de um par de estigmas respiratórios laterais ou posteriores as coxas do terceiro par de patas, que se relacionam a peritremas em forma de placa (FLECHTMAN, 1985). Muitas espécies também têm a região dos olhos localizados no escudo e chanfraduras na parte posterior do corpo chamadas de festões que podem ser usados como auxiliares na identificação (BLAGBURN; DRYDEN, 2009). Existem aproximadamente 878 espécies, divididos em quatro famílias: Argasidae, Ixodidae, Nutalliellidae e Laelaptidae (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008). Os ixodídeos possuem 12 gêneros e são conhecidos pelo seu corpo duro por causa de sua placa de escudo dorsal esclerotizada (SONENSHINE; ROE, 2014).

Tem a estrutura do corpo fusionada em duas partes, consistindo no *capitulum* ou gnatossoma e o corpo ou idiossoma, ao qual as pernas estão fixadas. As larvas possuem seis patas, enquanto ninfas e adultos possuem oito (ANDERSON, 2002; ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

A cabeça é distintamente ausente, no gnatossoma estão presentes o aparelho bucal e o par de quelíceras, que constituem o hipostômio que é posicionado medialmente e é relativamente grande, com dentículos em sua superfície externa ventral e voltados para trás, tem sua superfície interna coberta dorsalmente pelas quelíceras e é usada como órgão de sustentação e canal alimentar. O tamanho e forma do hipostômio assim como o arranjo dos dentículos variam entre as espécies e são importante ferramenta de identificação delas (ANDERSON, 2002; ANDERSON; MAGNARELLI, 2008; SONENSHINE; ROE, 2014).

O corpo é subdividido em uma região anterior, o podossoma, contendo os 4 pares de pernas, o poro genital, e uma região posterior o opistossoma, portando a placa espiracular e a abertura anal. As pernas são divididas em 6 segmentos e articulam com o corpo através das coxas. O tarso do primeiro par de pernas contém o órgão de Haller, um importante aparelho sensorial capaz de detectar, principalmente, o CO<sub>2</sub> eliminado pelo hospedeiro durante a respiração (SONENSHINE; ROE, 2014).

São um grupo altamente especializado de artrópodes, sugadores de sangue, ectoparasitas não permanentes, se alimentam de todas as espécies animais e ocorrem na maioria das regiões da Terra (FLECHTMANN, 1985; ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

A quantidade e os tipos de hospedeiros aos quais os carrapatos de corpo duro fazem o seu repasto podem variar entre aqueles que se alimentam indiscriminadamente entre as espécies, e os que procuram um tipo específico de hospedeiro (ANDERSON, 2002). Eles são caracterizados por terem tamanhos corporais relativamente grandes, dentro da subclasse Acari. Se alimentam de sangue, linfa ou tecidos digeridos. Tem sua muda e a reprodução reguladas pela ingestão de sangue. Põem um número relativamente grande de ovos (ANDERSON, 2002, SONENSHINE; ROE, 2014).

A alimentação com sangue é necessária para a sobrevivência, muda para o próximo estágio de desenvolvimento e reprodução do parasita. Após a penetração do aparelho bucal na pele do hospedeiro, secretam grandes quantidades de cimento de suas glândulas salivares. Quando o cimento endurece, liga firmemente seu aparelho bucal à pele do animal, permitindo um período de alimentação que varia de alguns dias a várias semanas. O sangue e tecido digerido são ingeridos pelo canal alimentar, formado pela superfície dorsal do hipostômio e a superfície ventral das quelíceras, por ação sugadora da faringe. As secreções salivares iniciais

previnem a coagulação do sangue, dilatam os capilares da pele, digerem os tecidos do hospedeiro, causam extensa hemorragia além de suprimir as respostas inflamatórias do organismo. Existe alternância dos períodos de salivação e ingestão de sangue, tecido fluido e linfa (ANDERSON, 2002; ANDERSON; MAGNARELLI, 2008; SONENSHINE; ROE, 2013).

Durante as primeiras 24-36 horas após a fixação no hospedeiro, pouca ou nenhuma ingestão de sangue acontece. Assim que o local de fixação está estabelecido se inicia a segunda fase lenta de ingurgitamento, que dura vários dias, permitindo o desenvolvimento de tecidos, glândulas salivares e a cutícula. facilitando a expansão do corpo durante a fase final do ingurgitamento. E depois é seguida por uma alimentação rápida, que ocorre por 12 a 36 horas antes do desprendimento, a fêmea pode aumentar o seu tamanho dramaticamente, e frequentemente pode atingir até 100 vezes o peso original (SONENSHINE, 1991; ANDERSON, 2002).

A injeção de agentes causadores de doenças é favorecida pela secreção de quantidades relativamente grandes de saliva durante a alimentação prolongada dos ixodídeos. Além disso, a excreção de grandes quantidades de fezes semidigeridas com o sangue durante a alimentação pode resultar em concentrações de patógenos sendo depositado imediatamente na pele adjacente aos locais de alimentação, aumentando a transmissão destes patógenos. É por este meio que o parasito pode prejudicar o seu hospedeiro, se infectando com um organismo patogênico e posteriormente transmitindo o agente para outro, em repastos subsequentes, no caso de carapatos heteroxenos (ANDERSON, 2002; ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

A saliva injetada suprime a resposta inflamatória do hospedeiro, reduzindo sua defesa que de outra forma prejudicariam a alimentação do parasito. Em contraste, muitas espécies de animais são capazes de resistir a repetidas infestações. As respostas do hospedeiro envolvem anticorpos, complemento, apresentação de抗ígenos celulares e linfócitos T. Incapaz de resistir ao desafio inicial, os animais parasitados desenvolver uma resposta imune contra infestações subsequentes. A resistência adquirida à alimentação do carapato pode resultar em queda na ingestão de sangue, diminuição de peso das teleóginas, alimentação prolongada, diminuição na produção de ovos e redução de sua viabilidade, inibição da muda e morte. A resistência do hospedeiro é uma das principais causas de mortalidade entre os parasitos, porém nem todas as espécies animais desenvolvem resistência a picada do carapato (ANDERSON, 2002).

A alimentação relativamente lenta aumenta as chances de dispersão desses ectoparasitos pelo hospedeiro enquanto ele se move. Em sua maioria larvas e ninfas se alimentam por 2,5 a 8 dias e adultos de 8 a 12 dias. E após ingurgitados a maioria se desprende de seu hospedeiro (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

Pelo menos 222 espécies, das aproximadamente 878 conhecidas, foram relatadas se alimentando de humanos, mas relativamente poucas o fazem regularmente. De todas elas 33 espécies comumente se alimenta de pessoas, e dessas 28 espécies abrigam e transmitem patógenos conhecidos por causar doença em humanos (ANDERSON; MAGNARELLI, 2002). O número e tipos de hospedeiro parasitados por ixodídeos variam de totalmente indiscriminada na seleção do hospedeiros até espécie específico. E também a preferencia do hospedeiro pode variar nas fases adulta e jovem dentro da mesma espécie (ANDERSON, 2002; JORGEJAN E UILENBERG, 2004).

Os parasitos transportam e transmitem uma variedade de patógenos para animais domésticos, de produção e ao homem(ANDERSON, 2002; JORGEJAN E UILENBERG, 2004; SONENSHINE; ROE, 2014). São considerados o segundo mais importante vetor mundial de patógenos para humanos perdendo somente para os mosquitos como causadores de doenças em ambientes domésticos e selvagens. Acredita-se que seja responsável por mais de 100.000 casos de doença em humanos em todo o mundo (OBENCHAIN; GALUM, 1982; FUENTE et al., 2008). Há um grande número de agentes patogênicos que carapatos podem transmitir para seus

hospedeiros e, transovarialmente para seus descendentes potencializando em muitas vezes o número de reservatórios destas doenças (OBENCHAIN; GALUM, 1982).

Considerando a importância econômica global dos carapatos é particularmente alta para a pecuária, há também uma grande impacto na saúde pública, principalmente devido à Borreliose de Lyme (LB), mas também outras doenças zoonóticas como as de origem viral, caracterizada por encefalite e febres hemorrágicas, causando a maior morbidade e mortalidade no homem. Patógenos transmitidos por parasitos de animais de estimação são de importância econômica em países industrializados, enquanto os patógenos transmitidos por para os cavalos constituem restrições importantes para a eventos comerciais e esportivos envolvendo esses animais (JORGEJAN E UILENBERG, 2004).

Estes parasitos também são importantes como pragas, mesmo quando não transmitem patógenos nocivos. Infestações severas são prejudiciais aos animais de companhia, muitas vezes ferindo seus couros e deixando lesões abertas que podem ser infectadas. Cargas pesadas de infestações também podem levar a redução do ganho de peso, perda de produção de leite para o sustento dos filhotes e/ou aborto (SONENSHINE; ROE, 2013).

Muito depende das circunstâncias, da espécie do parasitária envolvida, das condições climáticas locais (favorável ou desfavorável a infestação) e, em grande parte, sobre a suscetibilidade à infestação dos animais na região. Resistência às infestações, ou pelo menos a capacidade de desenvolver uma resposta imunológica eficaz à infestação, é geneticamente determinado (JORGEJAN E UILENBERG, 2004).

Em sua maioria os carapatos nas fases móveis procuram o hospedeiro ativamente, como estratégia eles sobem pela relva, gramíneas, arbustos e outras vegetações folhosas, estendendo seu primeiro par de patas, que contém o Órgão de Haller e esperam por um hospedeiro que passe pela vegetação, assim ele se solta da vegetação e passa para o hospedeiro (BLAGBURN; DRYDEN, 2009).

Os ixodídeos do gênero *Dermacentor* podem viver por um ano ou mais, porém passam relativamente curtos períodos no hospedeiro. Possui 36 espécies em todo o mundo pertencentes a este gêneros, são elas: *D. abaensis* (Teeng, 1963), *D. albipictus* (Packard, 1869), *D. andersoni* (Stiles, 1908), *D. asper* (Arthur, 1960), *D. atrosignatus* (Neumann, 1906), *D. auratus* (Supino, 1897), *D. circumguttatus* (Neumann, 1897), *D. compactus* (Neumann, 1901), *D. confractus* (Schulze, 1933), *D. daghestanicus* (Olenev, 1928), *D. dispar* (Cooley, 1937), *D. dissimilis* (Cooley, 1947), *D. everestianus* (Hirst, 1926), *D. halli* (McIntosh, 1931), *D. hunteri* (Bishopp, 1912), *D. imitans* (Warburton, 1933), *D. latus* (Cooley, 1937), *D. marginatus* (Sulzer, 1776), *D. montanus* (Filippova & Panova, 1974), *D. nigrolineatus* (Packard, 1869), *D. nitens* (Neumann, 1897), *D. niveus* (Neumann, 1897), *D. nuttalli* (Olenev, 1928), *D. occidentalis* (Marx, 1892), *D. parumapertus* (Neumann, 1901), *D. pavlovskyi* (Olenev, 1927), *D. pomerantzevi* (Serdyukova, 1951), *D. raskemensis* (Pomerantsev, 1946), *D. reticulatus* (Fabricius, 1794), *D. rhinocerinus* (Denny, 1843), *D. silvarum* (Olenev, 1931), *D. sinicus* (Schulze, 1932), *D. steini* (Schulze, 1933), *D. taiwanensis* (Sugimoto, 1935), *D. ushakovae* (Filippova & Panova, 1987), *D. variabilis* (Say, 1821) (BARQUER; MURREL, 2008).

## 2.2 A Espécie *Dermacentor nitens*

Um total de 61 espécies de carapatos é considerada endêmica ou estabelecida no Brasil. A fauna ixodológica brasileira possui apenas uma espécie do gênero *Dermacentor*, a espécie *Dermacentor nitens* Neumann, sinonímia *Anocentor nitens* (Neumann 1897) e *Otocentor nitens*

(Neumann, 1897) (ARAGÃO; FONSECA, 1953; DANTAS-TORRES; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2009; FLECHMAN, 1985).

Em 2001 os pesquisadores Murrell, Campbell e Barker realizaram um estudo genético para determinar as semelhanças e diferenças entre os gêneros, e concluíram que *Dermacentor* é parafilético de *Anocentor*. Os carrapatos que até este ano eram chamados de *Anocentor nitens* passaram para o gênero *Dermacentor* (Koch, 1844) devido a prioridade que o nome tem sobre *Anocentor* (Schulze, 1932). Todos os genes estudados para *A. nitens* indicaram que esse deve ser incorporado ao gênero *Dermacentor*. Além disso, um estudo da evolução molecular revelou uma deleção de 20 pares de bases em *A. nitens*, *D. variabilis* e *D. andersoni*, que é uma suposta sinapomorfia para estas três espécies. O gênero *Anocentor* foi criado para *A. nitens*, porque embora essa espécie compartilhe muitos recursos com *Dermacentor* spp., esse ixodídeo possuía características únicas (autapomorfia), como sete festões e uma placa espiracular distinta (Schulze, 1937). Assim os autores concluíram que *A. nitens* é um espécime altamente derivado da linhagem de *Dermacentor*, de forma que esse gênero até então distinto passa a ser chamado a partir da publicação supracitada de *D. nitens*.

*Dermacentor nitens* tem distribuição do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina. (FLECHMAN, 1985; SERRA-FREIRE, 1989). No ano de 1952, Malheiro, com a colaboração de veterinários de várias partes do país identificaram a presença dessa espécie nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso e Goiás.

Conhecido popularmente por carrapato da orelha do cavalo ou carrapato tropical do cavalo, a espécie *D. nitens* teve a sua primeira descrição no Brasil por Aragão em 1936. São parasitos, principalmente, de cavalos sendo encontrado também em asnos, bois, cabras, veados e cães, e eventualmente em onças pintadas. Seu ciclo de vida é monoxeno. Tem preferência de fixação no pavilhão auricular e no conduto auditivo, chegando a desenvolver grandes populações com larvas, ninfas, adultos e exúvias misturados a secreção, levando ao surgimento de infecções secundárias e podendo propiciar a total ou parcial obliteração do conduto com produção de odores desagradáveis que podem atrair moscas, levando a miases e lesões no pavilhão auricular (ARAGÃO; FONSECA, 1953; FLECHTMANN, 1985; SERRA-FREIRE, 1989; KAUFMAN, 1989; KOLLER et al., 2017).

Apesar de preferirem o pavilhão auricular e o conduto auditivo, também podem ser encontrados em outros locais do corpo como no divertículo nasal, na crina, no abdome e nas regiões anal e inguinal, em infestações naturais (FLECHTMANN, 1985; LABRUNA; AMAKU, 2006).

As fêmeas da espécie apresentam um corpo elíptico, de coloração castanho-vermelhada, o escudo é mais claro do que o resto do corpo e quase destituído de ornamentação com peritremas salientes e ovais. No macho o escudo cobre todo o dorso e sua coloração é castanha escura, destituído de ornamentação e com sete festões na margem posterior. O hipostômio mostra quatro fileiras de dentes recorrentes (FLECHTMANN, 1985).

Para Drummond et al. (1969) o ciclo parasitário em cavalos se completa em 25,4 dias em média, estando entre 24 e 28 dias, o peso médio das fêmeas é de 0,291 g, variando entre 0,180 e 0,358 g, o período de préoviposição tem média de quatro dias, variando entre três e cinco dias, o número médio de ovos na postura é de 2833, com número de ovos por massa de postura entre 1340 e 3692, e o período de incubação é em média 21,1 dias, estando entre 19 e 23 dias. Outros autores depois dessa data também estudaram o ciclo não parasitário do *D. nitens*, mas não encontraram diferenças significativas dos valores citados anteriormente por Drummond et al. (1969) (DESPINS, 1992; BASTOS et al., 1996; SANAVRIA; PRATA, 1996; FAUSTINO et al., 1996; LABRUNA; AMAKU, 2006; RODRIGUES et al., 2016). O índice de conversão alimentar das fêmeas ingurgitadas fixado por Rodrigues et al. (2016) foi de 56,8%, tendo o intervalo entre 36 e 65%, a ecldibilidade média foi de 95,5%, com valores entre 50 e 100%, e o ciclo de vida médio de 55,4 dias.

Por ser monoxeno, *D. nitens* faz as mudas de larva a adulto, principalmente, na orelha do hospedeiro. Os adultos iniciam a cópula dois dias após a sua ecdise e permanecem *in coitus* até o desprendimento da fêmea. O início da postura se dá três a quinze dias pós-queda (FLECHTMAN, 1985).

Como característica *D. nitens* mostra diferentes ritmos de queda das fêmeas ligadas as diferentes partes anatômicas do corpo do cavalo, ou seja, orelhas, períneo e cauda apresentam padrões semelhantes e diferentes daqueles ligados a crina, garupa e outras partes. As orelhas do cavalo, períneo e a superfície ventral da cauda são áreas que apresentam uma escassez natural de pelos, enquanto a crina, garupa e outras partes do corpo tem uma cobertura mais densa de pelagem, especialmente durante o inverno. Esta diferença no padrão de desprendimento das teleóginas está ligada provavelmente ao fato do carrapato se fixar preferencialmente nas áreas sombreadas do corpo do animal. Durante o inverno, o pelo atinge seu comprimento máximo criando locais adicionais de fixação, que em condições contrárias não seriam locais adequados. É de fato comprovado que fêmeas de *D. nitens* fixadas à crina secam e morrem se o pelo for muito curto, por exposição a luz solar direta e além disso observa-se que cavalos com pelos mais longos tendem a ter cargas mais elevadas desta espécie de carrapato nessa área do corpo (LABRUNA; AMAKU, 2006).

No geral, os padrões de queda são estatisticamente semelhantes entre cavalos mantidos em baías durante o inverno e o verão, mas estatisticamente diferentes daqueles mantidos a pasto no inverno e no verão. O maior desprendimento de fêmeas ocorre entre as 18:00-00:00h. Variando apenas no período do inverno se os animais estiverem a pasto, quando o maior desprendimento ocorre durante o período das 06:00-12:00h, seguido pelo período das 18:00-00:00h (LABRUNA; AMAKU, 2006).

Além de agir como vetores, os efeitos diretos de carrapatos também têm grande importância econômica, eles são considerados o principal fator limitante para o sucesso das criações em muitas partes do mundo, especialmente nos países tropicais em desenvolvimento e na região subtropical (GRAF et al., 2004).

### 2.2.1 Importância do *Dermacentor nitens*

Carrapatos são considerado o segundo maior vetor mundial em transmissão de doenças para os humanos e são os mais importantes veículos de patógenos causadores de doenças em animais domésticos e selvagens. Estão presentes na transmissão de fungos, vírus, bactérias (incluindo rickettsias) e protozoários (FLECHTMAN, 1985; DE LA FUENTE et al., 2008; SONEMSHINE; ROE, 2014).

A espécie *D. nitens* é responsável por transmitir um dos agentes causadores da piroplasmose equina, a *Babesia caballi* (Nutall e Strickland 1910) (SCHWINT, 2008; KOLLER et al., 2017). Este hematozoário pode persistir indefinidamente em seus hospedeiros vertebrados, os equídeos (WISE et al., 2013; SCOLES; UETI, 2015).

Os principais sinais clínicos da piroplasmose equina são: febre, anemia, icterícia, hemoglobinúria, distúrbios do sistema nervoso central, podendo levar o animal à óbito. Na fase aguda, alguns cavalos infectados são menos afetados e podem apresentar pouco ou nenhum sintoma, sem diminuição do desempenho. Porém esses animais que sobrevivem e não apresentam à infecção na fase aguda, podem apresentar a parasitemia por períodos prolongados, atuando também, como amplificadores do patógeno. Durante esse período, são fontes potenciais de infecções a outros cavalos por transmissão direta por picadas de carrapato ou transferência mecânica por seringas ou instrumentos cirúrgicos (USDA, 2008).

Para muitos países o trânsito de animais positivos para os dois causadores da

piroplasmose equina, *B. caballi* e *Theileria equi* (esta última transmitida pelo *Rhipicephalus microplus* e pelos representantes do gênero *Amblyomma*), é um fator limitante para a movimentação dos animais. A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) (2018) recomenda que a importação de animais para países livres da doença, as autoridades veterinárias dos países importadores exijam a apresentação de um certificado veterinário que os animais não apresentaram sinal clínico de piroplasmose equina no dia do embarque, foram submetidos a testes de diagnósticos para *T. equi* e *B. caballi* com resultados negativos, 30 dias antes do embarque, também foram mantidos livres de infestações por carrapato, e com tratamento preventivo carrapaticida e babesicida, quando necessário. Em casos de importação temporária, como em competições internacionais, além dos certificados citados acima são exigidos o passaporte do animal, tratamento preventivo com data anterior em até sete dias da data do embarque, e que animal tenha passado por inspeções constantes sob a supervisão de um veterinário (OIE, 2018).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) em seu levantamento de 2016 não obteve um número preciso de equinos no Brasil até essa data. Devido a dados conflitantes entre as bases de pesquisa, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estima que no ano de 2014 existiam no país 5.000.000 de animais e de todo o dinheiro gasto com a tropa, os antiparasitários correspondiam a 25% (BRASIL, 2016).

Ainda no levantamento feito pelo MAPA (BRASIL, 2016) os dados apresentados pelo Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Saúde Animal (SINDAN) estimavam o dinheiro gasto diretamente com os equinos sendo 2% de toda a indústria nacional. Pode parecer muito pouco, mas os autores consideravam que a maioria do gasto com estes animais estavam subestimados devido ao fato de grande parte dos fármacos no mercado terem as suas indicações para o uso em bovinos, e quando estes produtos eram adquiridos os dados eram consolidados como referentes a espécie bovina. Os dados referentes as vendas de animais não são precisos de forma que não seria possível estimá-los.

As perdas atribuíveis a carrapatos são causadas diretamente pela exposição ao parasita através da perda de sangue, danos a pele e úberes, injeção de toxinas, ou indiretamente através da mortalidade ou debilidade causada pelas doenças transmitidas ou associadas a eles. Na maioria dos casos o que se quer é a estabilidade endêmica, que surge quando há exposição precoce dos animais jovens as infestações por carrapatos e as doenças transmitidas por eles para assegurar que haja um alto nível de imunidade na população hospedeira, reduzindo a incidência de doença clínica. As perdas tendem a ser maiores quando animais exóticos suscetíveis são introduzidos em áreas sujeitas a infestações ou quando esse é introduzido em áreas onde a tropa não foi previamente exposta. (FAO, 2004).

A presença de parasitismos intenso nos animais está diretamente relacionado ao efeito espoliativo que estes ectoparasitos representam, durante a alimentação os carrapatos causam diversos danos ao hospedeiro como a ação traumática pela dilaceração de células e tecidos no local da fixação, o hematofagismo pode levar a severo emagrecimento e debilidade do animal, a ação tóxica que a saliva do carrapato pode causar a muitos danos ao hospedeiros, além da inoculação de microrganismos patogênicos KOLLER et al., 2017)

Outra consequência do intenso parasitismo nos animais é a perda da rigidez das orelhas, ou orelha troncha, a mutilação deixa as orelhas caídas e/ou inclinadas. Isso leva a depreciação do valor comercial dos animais e também a perda dos sentidos de orientação e audição. O aparecimento das miíases é um resultado das lesões graves na pele dos animais, e dependendo da extensão podem formar ferimentos extensos e prejudicar muito a saúde do animal (KOLLER et al., 2017).

## 2.2 Controle de Ectoparasitos

Todos os anos ocorrem centenas de milhares de casos de doenças transmitidas por vetores, como insetos e roedores, indicando grande ameaça à saúde pública global. Os problemas operacionais, financeiros e administrativos associados às mudanças climáticas, resistência aos pesticidas e o movimento das populações causaram um aumento na prevalência de muitas dessas doenças nos últimos anos (WHO, 1997). A consciência crescente do papel dos artrópodes, como vetores de doença direta ou indiretamente, levou a uma demanda de agentes de controle eficazes que possam ser usados com segurança para o tratamento de animais de produção e companhia, assim como para casas e estruturas (TAYLOR, 2001; DRYDEN, 2009).

A resistência desenvolveu-se para todas as classes de medicamentos ectoparasiticidas, incluindo os reguladores de crescimento de insetos. Apesar de décadas de esforços internacionais, uma descrição prática e detalhada sobre resistência a acaricidas que permitiria estratégias de controle a serem ajustadas às necessidades específicas de cada caso continua sendo exceção e não regra (BROGDON, 1998).

A eliminação eficaz de populações de carrapatos exige uma estratégia de controle integrado visando a população animal, o meio ambiente e as características individuais dos ixodídeos parasitas do plantel. Uma estratégia integrada de controle significa que toda tecnologia adequada e técnicas de gestão devem ser utilizadas, proporcionando uma diminuição efetiva das populações alvo de maneira economicamente viável. Esta abordagem inclui tanto a utilização de estratégias químicas e não químicas como a gestão ambiental (DRYDEN, 2009). Uma abordagem integrada inclui o uso de vacinas, acaricidas sintéticos e botânicos, educação de criadores, monitoramento e manejo de resistência a drogas, assim como das populações de carrapatos e de hospedeiros. Reduzir a dependência de acaricidas também reduzirá suas desvantagens como a seleção de cepas resistentes, a contaminação ambiental e as reações tóxicas em animais e seres humanos, além de reduzir os custos com os tratamentos (DE LA FUENTE; KOCAN; CONTRERAS, 2015)

O controle ambiental das infestações geralmente envolve a supervisão de áreas de refúgio dos animais que podem servir como hospedeiros alternativos. Estratégias bem-sucedidas para o controle incluem uso de acaricidas ambientais. Propriedades ou questões sobre o princípio ativo utilizado devem ser consideradas para planejar esquemas de controle bem-sucedidos incluem os números e espécies de carrapatos no ambiente, o hospedeiro, o nível esperado de exposição aos ixodídeos, a prevalência, o espectro de doenças transmitidas e a gravidade das reações à picadas desses. Estudos sugerem que as bases químicas disponíveis para o controle podem ajudar na prevenção da transmissão de doenças transmitidas por vetores (BLAGBURN, 2009).

Para Dryden (2009) os veterinários devem ter uma compreensão da ecologia dos parasitos encontrados na área em que praticam sua profissão. Esses profissionais devem ser educados sobre os vários aspectos da ecologia, transmissão de doenças e metodologias de controle para que eles possam, em seguida, educar sua equipe e proprietários de animais.

A importância das particularidades da espécie se apresenta quando dados apresentados por Labruna et al. (2001) e Bello et al. (2008) constatam que a presença de *D. nitens* no divertículo nasal, mesmo em pequenas quantidades, é uma grande fonte de autoinfestação, e quando esta região não é tratada juntamente com as orelhas, o animal volta a ter níveis altos de infestação mesmo ainda dentro do período de vigência de carência. Demostrando assim a necessidade de conhecimento da biologia do parasito para aumentar as chances de sucesso no tratamento.

O problema do carrapato muitas vezes não é mais percebido como tão importante quanto era. O custo-benefício do tratamento intensivo está sendo reavaliado em uma base diferente. A ideia de erradicação dos parasitos foi abandonada quase em todo o mundo e o conceito de

estabilidade enzoótica está ganhando terreno. A indústria de saúde animal passou a mudar seu foco para medicamentos voltados a animais de estimação, pois acredita-se serem mais fáceis de desenvolver por não possuírem problemas com resíduos e serem mais lucrativos. Enquanto no passado, parasiticidas foram desenvolvidos para uso em animais de grande porte e em seguida possivelmente adaptados para uso em animais de estimação, o oposto pode agora ser observado. Algumas moléculas bem-sucedidas no controle de ectoparasitas de animais de companhia não fizeram e provavelmente não irão, por várias razões, chegar ao mercado de animais de grande porte (GRAF et al., 2004).

Sendo assim, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) propôs em outubro de 1965 o conceito de Manejo Integrado de Pragas (IPM, do inglês Integrated Pest Management), para tentar substituir a Revolução Verde convencional praticada até então. Esse conceito tenta fazer com que a sociedade aceite que o controle de pragas e a erradicação de doenças são questões complexas que nunca serão resolvidas sem causar problemas ao meio ambiente, pois não há soluções simples para problemas complexos. O objetivo deve ser minimizar os impactos ambientais em níveis que sejam aceitáveis pela sociedade e suportáveis pelos ecossistemas (SANCHES-BAYO, 2012).

Neste último século existem fatores que influenciaram nas estratégias de controle dos parasitos como: os fatores científicos, sociais e econômicos relacionados ao aumento do lucro e consolidação da indústria farmacêutica; as diferenças entre países desenvolvidos que enfatizam a redução do uso de quimioterápicos na produção e aqueles países ainda em desenvolvimento que possuem os carapatos e as doenças transmitidas por eles como um empecilho ao desenvolvimento das criações; a necessidade de complementação proteica da população mundial; as resistências aos acaricidas existentes e a redução da produção tradicional em certos países em desenvolvimento atraindo suas atenções aos modos de produções verdes ou orgânicos (PETER et al., 2005).

Com poucas exceções, não é prático considerar a completa erradicação das espécies. A aplicação contínua e frequente de produtos químicos não é sustentável ambientalmente, do ponto de vista das doenças e fundamentalmente do ponto de vista econômico este ixodídeo continuará a ser uma praga importante no futuro. Seu controle efetivo será determinado não só pela eficácia de um método particular ou combinação de métodos, mas também pela sustentabilidade da abordagem de controle (PETER et al., 2005).

Para o futuro devemos conservar os acaricidas que temos e usá-lo em combinação com todos os princípios de IPM: isto é, tratamentos estratégicos focados nos animais, controle ambiental dos criadouros, gestão de doenças (incluindo os princípios de estabilidade enzoótica), interferência na reprodução, modificação da capacidade vetorial e raças resistentes. Os esforços de pesquisa devem ir para desenvolvimento de vacinas viáveis contra as doenças, seus vetores e a modificação genética de artrópodes (PETER et al., 2005).

## 2.2.1 Controle químico dos ectoparasitos

Desde meados do século XIX, quando a indústria de produção animal estava se desenvolvendo em muitos países tropicais e subtropicais, os ectoparasitos se tornaram um grande problema econômico e, consequentemente, medidas de controle destes ectoparasitos começaram a ser desenvolvidas. Esses parasitos constituem o principal fator limitante para o sucesso da criação animal em muitas partes do mundo (GRAF et al., 2004).

Doenças associadas a infecções crônicas transmitidas por carapatos podem muitas vezes levar ao aborto, diminuição do ganho de peso e produção de leite. Em regiões

economicamente debilitadas, doenças crônicas podem também resultar em graves consequências para os proprietários dos animais e suas famílias incluindo a subnutrição e fome (TAYLOR, 2001).

As infestações podem ser evitadas pela diminuição das fases jovens no hospedeiro e no ambiente através do uso criterioso de acaricidas para eliminar larvas, ninfas e adultos sobre o animal (DRYDEN; PAYNE, 2004). Principalmente quando esse é parasitado por diferentes espécies desses ectoparasitos com ciclos de vida diferenciados.

Com a necessidade de controle carrapaticida, derivados dos produtos naturais foram utilizados desde a antiguidade até meados do século XX. A partir de meados do século XIX passou-se a pesquisar e desenvolver moléculas orgânicas e sintéticas, mas o uso massivo dessas na agricultura, higiene e saúde animal começou na metade do século XX (GRAF, 1993).

No início século XX os meios utilizados para controlar as infestações eram limitados, os compostos tinham baixo efeito residual e baixa eficácia com elevada toxicidade para os animais, como era o caso do arsênio. O desenvolvimento do DDT em 1939, ajudou o desenvolvimento de outros pesticidas orgânicos, e consequente melhorias para os criadores de animais no mundo todo. O controle de carapato beneficiou-se com o desenvolvimento de uma gama de acaricidas, embora essa evolução tenha sido impulsionada principalmente pelas necessidades de proteção das plantações (GRAF et al., 2004).

Atualmente, existem cerca de 460 compostos químicos utilizados no controle de insetos, ácaros e outros invertebrados em todo o mundo. A maioria deles são usados como inseticidas (60%), enquanto cerca de 24% são usados como acaricidas (SANCHES-BAYO, 2012).

As bases químicas mais utilizadas como acaricidas no momento são:

- Organofosforados – sua ação se dá no sistema nervoso central inibindo a ação da acetilcolinesterase superestimulando seus receptores, seus representantes são paration, diazinon e coumafós (GUERRERO et al., 2013; BARBOZA et al., 2018);
- Piretróides – os piretróides sintéticos são sintetizados a partir da molécula de piretrina natural, são mais estáveis e têm potência maior. Agem nos canais de sódio do parasita, resultando em repolarização tardia dos axônios nervosos e eventual paralisia. Causam paralisia imediata, mortalidade, efeito de choque denominado “Knock down.” Apesar disso, apresentam baixa toxicidade em mamíferos e baixo impacto ambiental. São efetivos contra um largo espectro de insetos e ácaros em baixas quantidades exercerem sua ação. Estão disponíveis em muitos países nas apresentações “pour-on”, “spot-on”, “spray” e concentrados emulsificáveis, para banhos de imersão, com atividade contra as picadas e incômodo causado pelas moscas, piolhos, carapatos e outras espécies de ácaros. Seus compostos são permethrina, deltametrina, cipermetrina, flumetrina e cifutrina. O período de proteção varia entre as moléculas e o método de aplicação, mas geralmente duram até um mês (SANTOS; AREAS; REYES, 2008; GUERRERO et al., 2013);
- Carbamatos – são intimamente relacionados aos organofosforados, possuem ação anticolinesterases, mas ao contrário dos compostos organofosforados, causam espontaneamente bloqueio reversível a enzima acetilcolinesterase, sem mudá-la. Os dois principais compostos com uso em medicina veterinária são carbaryl e propoxur (TAYLOR, 2001);
- Amidinas – agem em sítios receptores de octopamina dos ectoparasitas resultando em hiperexcitabilidade neuronal e morte apesar de possuir outros compostos o amitraz é o mais usado contra ectoparasitos de bovino e do cão. Equídeos apresentam forte reação, pois o amitraz possui propriedades lipofílicas

e tem capacidade de estimular os receptores  $\alpha$ -adrenérgicos levando a hiperexcitação dos neurônios, causando sistematicamente pressão baixa, hipotermia, letargia, anorexia, vômito, níveis altos de glicose e desordens do trato digestivo (TAYLOR, 2001; GUERRERO et al, 2013; FILAZI; YURDAKOK-DIKMEN, 2018);

- Lactona macrocíclica – agem na neurotransmissão do ácido  $\alpha$ -aminobutírico (GABA), bloqueando os estímulos interneuronais de excitação dos neurônios motores, portanto levando a uma paralisia flácida. Possuem atividade endectocida, particularmente contra ectoparasitas, isso é variável entre indivíduos e é dependente tanto da molécula ativa, o produto da formulação e método de aplicação. Podem ser administradas por via oral, por via parenteral ou tópica (como “pour-ons” ou “spot-ons”). O método de aplicação varia de acordo com o hospedeiro alvo e até certo ponto com os parasitas associados aos hospedeiros. ivermectina, abamectina, doramectina, epinomectina, milbemicina, moxidectina e selamectina são os representantes dessa classe. São usados para o controle de parasitos de animais domésticos e de produção (TAYLOR, 2001; GUERRERO et al. 2013);
- Nitroguanidinas - ligam-se à acetilcolina nicotínica nos receptores do sistema nervoso central do inseto, levando à inibição da transmissão colinérgica resultando em paralisia e morte. O imidacloprid é o seu representante (TAYLOR, 2001);
- Spinosad – é extraído da fermentação de uma bactéria do solo, é considerado bioinseticida. Possui ação neurotóxica, seu uso é registrado para a agricultura, mas já foi testado no controle das infestações em bovino, principalmente as estirpes resistentes ao amitraz. Possuem potencial importante como carrapaticida alternativo no controle de vetores de doenças de importância em saúde pública (GUERRERO et al., 2013; BACCI et al. 2016).
- Fenilpirazoles – bloqueiam a transmissão de sinais pelo neurotransmissor inibitório, GABA. Seus compostos são o fipronil e piriproclor, o primeiro foi desenvolvido inicialmente para pragas de plantações, posteriormente foi comprovada sua eficácia frente ao *R. microplus*, e o segundo foi sintetizado em 2006 para controle de pulgas e carapatos em cães (TAYLOR, 2001; GUERRERO, et al., 2013);
- Reguladores de crescimento de insetos – inibem o desenvolvimento do artrópode, mas não os matam diretamente, no entanto interferem nos processos de muda. Essa classe possui várias moléculas representantes, porém dentre estas somente o fluazuron, possui registro para o controle de *R. microplus* (TAYLOR, 2001; GRERRERO et al, 2013). O piriproxifen, outro representante deste grupamento químico é utilizado para o controle de *Ctenocephalides felis felis* (BATISTA et al. 2012)

Essas bases químicas têm suas utilizações baseadas em formulações para banhos de imersão e aspersão, sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, aerossóis, coleiras impregnadas, “spot-on”, “strip-on”, e “pour-on” (SCOTT et al., 2002), além de produtos injetáveis, aplicação em bolus intrarruminal, brincos e dispositivos impregnados com feromônios/ectoparasiticidas ( GEORGE; POUND; DAVEY, 2004). Para equídeos KOLLER et al. (2017) recomenda o uso de banhos carrapaticidas por imersão, aspersão e aplicações tópicas de pastas e pós nas orelhas e também pastas neutras no divertículo nasal dos animais.

Historicamente, a maioria dos tratamentos em animais com acaricidas exigiam métodos de aplicação que assegurassem o molhamento completo das superfícies corporais com a solução

contendo o acaricida na diluição correta indicada pelo fabricante. Porém as falhas em distribuir sobre toda a superfície do animal as doses corretas e os mecanismos de adaptação evolutivas do parasito levaram a lapsos nesse sistema, que acarretou o desenvolvimento de resistência do ácaro, com posterior inadequação de alguns produtos. O desenvolvimento das formulações “pour-on” foi voltado para questão da relação custo-benefício, já que é uma ferramenta eficaz para tratar pequeno números de animais, mas também pode ser usado para tratar com a mesma eficiência grandes rebanhos, Fatores como custo e resistência adquirida aos acaricidas com formas de aplicação diferente podem influenciar sobre a decisão de usar tal forma de tratamento. Em detrimento aos produtos injetáveis está o risco de espalhar um agente infeccioso dentro de um rebanho por agulhas contaminadas. Os custos e inconvenientes de reunir os animais regularmente para tratamentos com parasiticidas estimularam pesquisas para desenvolver métodos de administração dos produtos químicos que prologuem a duração da ação, garantindo o controle com um único tratamento (GEORGE; POUND; DAVEY, 2004).

Para o controle das infestações nos equinos as únicas formulações comerciais recomendadas são aquelas à base de piretróides, tais como, alfametrina (LABRUNA et al., 2004) e cipermetrina (BELLO, 2008). Os piretróides podem provocar alterações clínicas como: salivação profunda; movimento de pedalar; convulsões crônicas, incoordenação e desorientação, porém esses fármacos são considerados de baixa toxidez para mamíferos, porque são eficazes em baixas concentrações, os equídeos são, particularmente, sensíveis aos efeitos tóxicos de altas doses. Daí vem a dificuldade em se ter uma de maior variedade de produtos comerciais para o uso nestes animais (KOLLER et al., 2017).

O uso indiscriminado das bases químicas disponíveis em alguns casos, teve efeitos indesejáveis em espécies não-alvo e no ambiente geral. O uso incorreto de acaricidas também resultou em casos nos quais os níveis de resíduos químicos foram inaceitáveis na carne. Esses fatores contribuíram para a crescente inquietação pública sobre o uso de produtos químicos na carne bovina. O sistema de produção acelerou a busca por métodos alternativos para o controle de parasitas. Incluído, nestas alternativas tem sido empregado os reguladores de crescimento, benzoilfeniluréias, que deram origem a produtos significativos de controle de ixodídeos (GRAF et al., 2004), do qual o fluazuron faz parte (TAYLOR, 2001; OLIVEIRA et al., 2012).

Outra força por trás da inovação de produtos é o aspecto de segurança e eficácia, quando os produtos atuais são comparados com os antigos derivados de arsênico, é evidente que um progresso considerável foi alcançado (GRAF et al., 2004). Como resultado do uso de novos produtos químicos os impactos em organismos não-alvo foram melhorados significativamente na última década (SANCHES-BAYO, 2012).

Outro aspecto do problema atual é a procura do público por tecnologias mais seguras, utilizando modos mais seletivos de ação, bem como riscos reduzidos para os organismos não alvo, o meio ambiente e os consumidores. Esses dois fatores, resistência e segurança, levaram ao aumento dos esforços na busca de diferentes mecanismos de ação, órgãos alvo alternativos e busca de abordagens diferentes para o controle de artrópodes (GRAF, 1993).

Algumas questões importantes relacionadas ao controle sustentável de ectoparasitas devem ser consideradas, como por exemplo:

- a sustentabilidade ambiental, o estudo direto e indireto dos efeitos das intervenções de controle sobre o meio ambiente e pelo desenvolvimento de compostos químicos que possuem impacto mínimo em espécies não-alvo (PETER et al., 2005);
- a sustentabilidade socioeconômica, se aplica particularmente nos países em desenvolvimento. Três questões são importantes: o custo do método de controle, o poder aquisitivo do produtor para adquirir o método de controle e a disponibilidade de aquisição do método no mercado (PETER et al., 2005);

- a sustentabilidade técnica é determinada em grande parte pela eficácia dométodo ou combinação de métodos utilizados. No caso de inseticidas e acaricidas, o desenvolvimento de resistência contra os compostos ativos é motivo de preocupação, apesar de ser difícil de evitar em algumas espécies-alvo, o seu desenvolvimento pode ser retardado pelo uso químico adequado. O gerenciamento de resistência é primordial, se quisermos conservar os inseticidas existentes para uso posterior. A sustentabilidade técnica também se relaciona com o uso de um método adequados de controle (PETER et al., 2005).

## 2.2.2 Reguladores do crescimento de insetos

A categoria de composto sintético com potencial de controlar o crescimento dos artrópodes são os Reguladores de Crescimento de Insetos (da sigla em inglês Insect Growth Regulators, IGR) capazes de afetar o metabolismo da quitina e/ou a produção do hormônio juvenil, por consequência interferir no processo de muda, crescimento e desenvolvimento dos ectoparasitos. Os estágios imaturos destes tornam-se incapazes de sobreviver aos próximos estágios de desenvolvimento, por exemplo nas larvas inibem a sua emergência dos ovos (SCOTT et al., 2002, DOUCET; RETNAKARAN, 2012, OLIVEIRA et al., 2012;).

A morfogênese anormal do tegumento é geralmente irreversível e é o primeiro aspecto observado da ação dos IGRs sobre os insetos. Defeitos metamórficos também podem resultar na mortalidade indireta por meio da deficiência de funções sensoriais, comportamento, alimentação e etc. (STAAL, 1975).

A quitina é um amino polissacarídeo formador dos elementos de suporte extracelular principalmente no exoesqueleto dos artrópodes (GRAF, 1993), ela regula a arquitetura da cutícula. A síntese de quitina, a síntese de proteínas cuticulares, a esclerotização, a formação de cerdas na superfície e a pigmentação são alguns dos principais processos que necessitam ser precisamente regulados a partir de uma extremidade do plano do corpo para o outro, bem como as transições entre as fases da vida. A vantagem estrutural fornecida pela quitina, sob a forma de um exoesqueleto rígido, é incompatível com o crescimento linear e gradual do tamanho do corpo, os artrópodes resolveram esse enigma por pontualmente destruir e reconstruir o exoesqueleto através do processo de muda (DOUCET; RETNAKARAN, 2012).

O conhecimento de como funciona o metabolismo da quitina não só ajudará a entender como os ectoparasiticidas manifestam sua ação, mas também ajudar a explorar novas metas de intervenção com novos agentes químicos e como novas abordagens biotecnológicas podem ser desenvolvidas (DOUCET; RETNAKARAN, 2012).

O crescimento e desenvolvimento em insetos, que são pontuados por períodos de muda, são regulados pelo esteroide 20-hidroxiecdisona (20E; hormônio da muda;ecdisterona) e o sesquiterpenóide hormônio juvenil (HJ). Na fase adulta, ambos hormônios também estão envolvidos na regulação da maturação reprodutiva. O momento do crescimento e desenvolvimento em insetos é muito bem orquestrado pelos 20E, HJ, hormônio de eclosão e outros neuromônios. As mudanças morfológicas e ultra estruturais que ocorrem na epiderme durante o crescimento e desenvolvimento de insetos dependem da regulação da expressão gênica com diferentes títulos de 20E na ausência ou presença de HJ. Qualquer interferência na homeostase de um ou mais desses hormônios com fontes exógenas ou com análogos sintéticos (agonistas ou antagonistas) resulta em crescimento e desenvolvimento anormal (DHADILLA; CARLSON; LE, 1998).

Os IGRs são caracterizados pelo fato de que eles não necessariamente matam as pragas alvo diretamente, mas por interferirem de alguma forma com os processos de crescimento e

desenvolvimento. Eles abordam órgãos-alvo distintos do sistema nervoso central, e exibem uma atividade mais seletiva, mostram um perfil de segurança aprimorado (GRAF, 1993). O IGR atua em alvos específicos nos artrópodes (neste caso, a síntese de quitina, e a ação do hormônio juvenil), sendo inócuo para mamíferos (GRAF et al., 2004). Eles agem principalmente em embriões, desenvolvimento de larvas e ninhas interferindo com a metamorfose e reprodução nos adultos. Isso pode limitar sua aplicação na prática, necessitando uma estratégia mais sofisticada e específica no controle, e um melhor conhecimento da biologia do artrópode alvo (GRAF, 1993).

Na maioria dos casos, os IGRs exigirão mais tempo para reduzir as populações de artrópodes do que inseticidas e acaricidas convencionais e às vezes devem ser usados em associação as bases químicas adulticidas para alcançar um efeito imediato (GRAF, 1993). Outro benefício dessas associações seria a diminuição das doses de ambos os ativos e a redução da chance de efeitos relacionados a intoxicação nos animais com um maior tempo de ação no controle dos ectoparasitos.

Os reguladores de crescimento incluem várias classes de produtos químicos com diferentes modos de ação, e pode provisoriamente ser dividido em três categorias:

- Análogos do hormônio juvenil – os hormônios juvenis produzidos na maioria das espécies de insetos por pequenos aglomerados de células chamado *corpora allata* (localizado logo atrás do cérebro), evitam a metamorfose até que a larva esteja totalmente desenvolvida. Os análogos do hormônio juvenil são imitadores do hormônio juvenil endógeno de insetos, impedindo a metamorfose paraadultos viáveis quando aplicado em estágios larvais, e exercem efeito ovicida quando usados em adultos. Exemplos: metoprene e hidroprene sintetizadas em meados de 1970 eram os principais representantes dessa categoria (GRAF, 1993, SANCHES-BAYO, 2012; TURBERG, 2015)), mais tarde foram sintetizados fenoxicarb, piriproxifen e diofenolan (DHADILLA; CARLSON; LE, 1998);
- Inibidores da síntese de quitina – agem na enzima de ligação de membrana quitina sintetase ou na etapa de polimerização da mesma, a enzima chave na formação de quitina. Seu principal representante são as benzoilfeniluréias (BPU), esses atuam sobre as fases larvais, que geralmente tornam-se incapazes de sobreviver a próxima muda, a atividade ovicida destes compostos é alcançada através da inibição da deposição de quitina na larva em desenvolvimento(GRAF, 1993). A classe das benzoilfenilurea, inclui diflubenzuron, lufenuron, flufenoxuron, fluxiloxuron, clorfluazuron, teflubenzuron, hexaflumuron, novaluron, noviflumuron triflumuron e fluazuron (MILLER et al., 2001; CORREIA, 2003; OLIVEIRA et al., 2012; DOUCET; RETNAKARAN, 2012, SANCHES-BAYO, 2012, OLIVEIRA, 2014);
- Derivados da triazina – interferem na muda e formação da pupa, mas sem interferir diretamente na síntese da quitina. Seu principal representante é a ciromazina, com alta especificidade para larvas de dípteros. De forma que as concentrações usadas no controle de moscas são quase virtualmente ineficazes e inofensiva, contra larvas das outras espécies de insetos (GRAF, 1993, SANCHES-BAYO, 2012).

Para isso o IPM propõe o uso criterioso de produtos químicos associados a métodos de manejo compatíveis com estratégias de controle biológico, ecologicamente sensível e não tóxico para a saúde humana. Logo um tipo mais suave de controle químico, muitas vezes desenvolvido a partir de produtos naturais, fez a sua aparição, e produtos desenvolvidos sob essa nova tendência foram chamados de “pesticidas bioracionais”. “Bioracional” é um termo

que abrange muitos compostos diferentes que eram mais específicos contra uma determinada praga e menos tóxicos para o meio ambiente. As BPU's foram consideradas um pesticida biorracional devido à sua baixa toxicidade em mamíferos, bem como a sua especificidade para as fases de crescimento de artrópodes no processo de sintetizar ativamente a quitina (DOUCET; RETNAKARAN, 2012).

O uso de reguladores de crescimento certamente requer uma abordagem mais sofisticada do que a compostos neurotóxicos clássicos. Os IGR's se encaixam particularmente bem no controle estratégico de pragas e nos programas de manejo integrado de pragas (GRAF, 1993). Mirar em um comportamento bioquímico que é importante para a sobrevivência dos artrópodes é uma proposta atraente para que os programas de controle de parasitas funcionem, e para a manutenção da saúde das tropas de animais (DOUCET; RETNAKARAN, 2012).

#### 2.2.2.1 Fluazuron

O composto fluazuron tem o nome químico 3-[3-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridinyloxy)-4-chlorophenyl]-1-(2,6-difluorobenzoyl)-urea. À temperatura de 20 °C é um composto de coloração branco à rosa claro, um pó cristalino, sem sabor e odor. Com ponto de fusão a 219 °C. A FAO recomenda o uso do fluazuron para o controle de carapatos *R. microplus* na dose de 1,5 a 2,5 mg/kg de peso corporal, na apresentação “pour-on” dividido em duas linhas contínuas ao longo do corpo da escápula a garupa, uma vez por estação, ou duas dependendo da situação climática da região, após três a seis meses (USDA, 2010).

Após a análise de vários trabalhos realizados por pesquisadores pelo mundo, (nas administrações oral, subcutânea e “pour-on”), a FAO recomendou valores para limites máximos de resíduos (do inglês maximum residue limits - MRL's) em carcaças bovinas tratadas com o fluazuron, de acordo com as boas práticas na utilização de medicamentos veterinários, o comitê recomendou níveis máximos de resíduos nos bovinos de 200µg/kg para o músculo, 500µg/kg para o fígado e rim e 7000µg/kg na gordura, expresso como medicamento original. A partir destes valores, a ingestão diária máxima teórica dos resíduos de fluazuron é de 606 µg/kg de peso vivo (USDA, 2010).

A eficácia do fluazuron persiste por aproximadamente doze semanas. Devido à sua característica de ligação a gordura, também é excretado no leite, sendo desnecessário tratar bezerros mamando. Por causa da persistência de resíduos em gordura, é necessário reter o gado tratado do consumo humano por seis semanas (Bull et al., 1996).

O fluazuron, um composto derivado das benzoilfeniluréias, foi o primeiro regulador de crescimento de isento a ser registrado para o controle de ixodídeos. O produto tem uma especificidade muito estreita, em quantidades extremamente baixas inibe a formação de quitina em *R. microplus*, através da inibição de enzimas específicas envolvidas no processo de muda. A síntese da quitina ocorre durante a embriogênese, a muda e ingurgitamento de todos os instares. A potência dos dutos salivares é também comprometida causando um desequilíbrio de hemolinfa (BULL et al., 1996).

Fluazuron, como uma típica BPU tem seu modo de ação não afetando diretamente os diferentes estágios do parasito, mas sim nos processos de muda e incubação. Este tipo de atividade é especialmente bem adequado ao controle do *R. microplus*, que gasta toda a fase parasitária de seu ciclo no mesmo animal e se alimenta quase exclusivamente em bovinos. Desse modo, larvas de *R. microplus* que se alimentam no gado tratado não vão mudar para a ninfa, a ninfa não mudará para adulto, e as fêmeas ingurgitadas, embora ingerindo sua porção de sangue normal, irá produzir ovos dos quais nenhuma larva eclodirá. Tratamento sistemático

de todo o gado de uma região levará a uma redução rápida da população de *R. microplus* (GRAF, 1993).

Alguns estudos foram realizados ao longo dos anos para atestar a ação do fluazuron sobre as espécies parasitas que infestam os mamíferos, porém não existem trabalhos que pesquisem a ação do fluazuron sobre o carrapato *D. nitens*.

O trabalho realizado por Melo (2007) testou o IGR em coelhos artificialmente infestados por *R. sanguineus*. Foram analisados os parâmetros da fase não parasitária deste ixodídeo, observando diferenças significativas no período de prépostura, peso da massa de ovos, índice de eficiência reprodutiva, uma eficácia de 86,07% e uma inibição de eclosão dos ovos de 90%. Observou-se também uma inibição do processo de muda de larva para ninfas de 100% e uma inibição da ecdise de ninfa para adulto de 69,83%, apesar de menor a interferência na ecdise da ninfa continua sendo relevante para o controle ambiental, comprovando assim a eficácia do produto sobre os parâmetros na fase não parasitária e na inibição do processo de muda desse ixodídeo.

Viera (2012) também estudou a ação do fluazuron sobre o *R. sanguineus*, porém agora em cães infestados artificialmente. As três fases do foram observadas, coletadas e avaliadas quanto a realização da ecdise, as fêmeas ingurgitadas foram avaliadas quanto a eficiência reprodutiva. Como resultados observou-se a redução de 30,3% da recuperação das teleóginas no grupo tratado, com uma redução de 12,4% eficiência reprodutiva das telegonias recuperadas.

Para o controle de *R. microplus*, Coelho et. al (2015) utilizou a associação abamectina 0,6% e fluazuron 3,0% em bovinos naturalmente infestados. O trabalho chegou a 91 dias experimentais com 13 tomadas de tempo de contagens de carrapato. A análise estatística entre as médias de teleóginas recuperadas dos grupos controle e tratado demonstrou que ocorreu diferença significativa para as tomadas de tempos após o tratamento até o dia +70. A ação do fluazuron determinou prevenção da reinfestação de larvas com níveis superiores a 90% por até 63 dias. Com esses resultados os autores concluem que a associação de abamectina e fluazuron empregada por via “pour-on” demonstra potencial para o controle de *R. microplus* em bovinos.

O primeiro caso de resistência ao fluazuron foi notificado por Reck et al. (2014), a população de carapatos em questão apresentou-se multirresistente, com resistência também aos carrapaticidas a base de cipermetrina, clorpirifos, fipronil, amitraz e ivermectina. No estudo realizado *in vivo* o tratamento com fluazuron, na dose recomendada pelo fabricante de 2,5

mg/kg em animais infestados artificialmente com a cepa resistente, denominada Jaguar, apresentou ausência de eficácia na inibição da eficiência reprodutiva, em relação ao percentual de eclosão das fêmeas ingurgitadas recuperadas nos dias +14, +21, e +28 após o tratamento foram de 80, 60 e 100% respectivamente.

Em relação ao estudo realizado *in vitro* por Reck et al. (2014) utilizaram da diluição do fluazuron padrão técnico proposta pela Fao (2004), assim como tempo de imersão de um minuto para as teleóginas, as concentrações utilizadas para avaliar a sensibilidade entre a cepa sensível (Porto Alegre) e a cepa Jaguar foram de 500; 50; 5; 0,5; e 0,05 ppm. Para a cepa sensível a redução na eclosibilidade variou de 86% para a concentração de 0,05 ppm a 99% nas de 50 e 500 ppm, enquanto os percentuais de redução de eclosão para a cepa Jaguar foram de 21% na concentração de 0,05 ppm e 52% para 500 ppm. Os autores selecionaram ainda os descendentes da cepa Jaguar, os quais denominaram de Jaguar R e avaliaram *in vitro* a eclosibilidade da massa de ovos das fêmeas tratadas nas concentrações de fluazuron citadas anteriormente, observando uma eclosão de 9% na concentração de 0,05 ppm e 20% em 500 ppm. A grande pressão de seleção causada pelos tratamentos intensivos dos animais e a densidade populacional dos rebanhos podem ter sido as causadoras dos resultados observados.

Recentemente Gaudêncio et al. (2017) avaliaram parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* alimentadas em animais tratados com fluazuron, na dose de 2,5 mg/kg. Coletadas em quatro dias experimentais: 0, +4, +8 e +15, as teleóginas começaram a

apresentar diferenças nos parâmetros biológicos a partir do dia +8, quando o índice de eficiência reprodutiva chegou a 0,056% no grupo tratado, inferior ao controle, que foi de 42,12%. Devido ao fato das teleóginas após oito dias de alimentação com sangue contendo fluazuron, um volume considerável do princípio tenha sido ingerido, além de que estas fêmeas estavam passando pelo processo de muda no momento do tratamento, sendo dependentes da quitina para esse processo e sofrendo assim fortes efeitos do produto. Na avaliação realizada no dia +15 o número de fêmeas ingurgitadas diminuiu consideravelmente, indicando uma elevada mortalidade. Entretanto a sobrevivência de algumas fêmeas associadas a atenuação dos efeitos nos parâmetros biológicos pode levar a possível desenvolvimento de estratégias, por parte dos carapatos, para a sobrevivência a exposição ao fluazuron, de forma que a exposição prolongada pode levar a alterações nos parâmetros biológicos que levarão a efeitos a longo prazo nessa população.

Uma preocupação que se tem é o efeito que os produtos IGR's geram sobre insetos que estão no ambiente, devido a isso Kryger, Deschadt e Scholtz (2005) realizaram um estudo na África do Sul para saber os efeitos, a longo prazo, de tratamentos intensivos em duas populações de besouros do esterco, em propriedades distintas, e a ecotoxicidade que o fluazuron poderia exercer frente ao inseto. As populações de besouros analisadas por um ano agrícola tiveram contato com bovinos que foram tratados simultaneamente com o endectocida de largo espectro ivermectina e o ectoparasiticida fluazuron, por quatro tratamentos com o intervalo de oito semanas entre eles, nas doses recomendadas pelos fabricantes. Os autores não notaram efeito do tratamento nas comunidades de besouros, com estas expressando números semelhantes a comunidade em contato com bovinos não tratados. Os achados suportam o conceito de que impactos ecotoxicológicos das drogas antiparasitárias dependem de fatores como condições climáticas, espaçamento entre os tratamentos e a população de animais tratados.

Pelos resultados apresentados por esses trabalhos é necessário que se teste o fluazuron para o uso em *D. nitens*.

#### 2.2.2.2 Piriproxifen

De acordo com o manual para especificações e avaliações do piriproxifen da FAO de 2011, seu nome químico é 2-[1-methyl-2-(4-phenoxyphenoxy) ethoxy] pyridona. Sob a forma sólida apresenta coloração branca e ausência de odor, para ser usado como emulsão após solubilizado em água, acetona, acetonitrila e outros, a temperatura entre 48 e 50°C (FAO, 2011). É um regulador de crescimento de insetos com atividade inseticida, análogo do hormônio juvenil (HJ), e também chamado de juvenóide e simulador do HJ (FAO, 1999). Em animais, a quantidade do resíduo varia em diferentes tecidos, piriproxifen em si é solúvel em gordura, e neste tecido é predominante, no músculo todos os resíduos são muito baixos. Estudos realizados em vacas leiteiras sugerem que os resíduos no leite e nos tecidos geralmente são indetectáveis ou muito baixos, em qualquer que seja a concentração determinada, exceto na gordura corporal e na gordura do leite, onde são encontradas as maiores cargas de piriproxifen (FAO, 2011).

É utilizado contra pragas de insetos em saúde pública como: moscas domésticas, mosquitos e baratas. Na agricultura e horticultura, seu registro é para o controle de mosca branca, lagartas, cigarrinhas, pulgões e mariposas, em Israel, África do Sul, Espanha e Itália (FAO, 1999). No Brasil está presente em um produto comercial em associação com o piretróide cifultrina, em forma de aerossol, para o controle de *C. felis felis* (BATISTA et al., 2012).

Como análogo do hormônio juvenil endógeno de insetos impede a metamorfose para adultos viáveis quando aplicado em estágios larvais. Eles também exercem efeitos ovicida quando aplicado sobre artrópodes adultos (TURBERG, 2015). O efeito residual é maior quando

empregado mesmo que em dosagens menores, é um composto aromático relativamente estável entre 16 e 21 dias na superfície da água, e seu consumo diário está limitado a 100 mg por quilo de peso vivo (MAHARAJAN et al., 2018).

Até agora, dois alvos primários deste juvenóide foram identificados inibição da esterase de degradar o hormônio juvenil endógeno e um fraco efeito agonístico nos receptores do hormônio juvenil. Isso aumenta seus efeitos endógenos compensando assim a degradação natural da glândula corpora allata, que produz o HJ. Em insetos adultos, os HJs estão envolvidos na regulação da vitelogênese dos ovos, a alteração da homeostase causada pelo piriproxifen nesse estágio de desenvolvimento leva a produção de ovos inférteis. O hormônio juvenil e seus imitadores atuam como supressores e estimuladores da expressão gênica, dependendo do estágio de desenvolvimento e do tipo de proteína regulada (TURBERG, 2015).

Apesar de não ser recomendado o uso em superfícies de água por causar a mortalidade em pequenos vertebrados e peixes menores não alvos, quando usado no controle de mosquitos. Estudo realizado por Mahajan et al. (2018), avaliou a ação de três concentrações de piriproxifen sobre peixes-zebra (*Danio rerio*) e concluíram que em geral alterações moleculares se apresentaram nas maiores concentrações podendo gerar radicais livres e causar estresse oxidativo, isso leva a deformidades de desenvolvimento, alterações na frequência cardíaca, inibição da acetilcolinesterase, danos no DNA e alterações histológicas. Assim, a partir dos resultados, os autores sugeriram que o piriproxifen é moderadamente tóxico para os vertebrados aquáticos, em especial nas concentrações mais altas sobre a fase embrionária do peixe-zebra.

Em consoante ao estudo de Mahajan et al. (2018) os autores Ginjupalli e Baldwin (2013) estudaram o impacto da exposição por longo prazo do piriproxifen sobre *Daphnia magna*, um pequeno crustáceo planctônico, habitante de uma variedade de ambientes de água doce. Esse princípio ativo causou queda acentuada na fecundidade em todas as idades testadas. Os resultados indicam que exposições prolongadas ao piriproxifen (oito-12 dias) aumentam a produção de machos e diminuem a reprodução. Entretanto aqueles indivíduos expostos por períodos entre dois e quatro dias se recuperam e produzem números relativamente normais de neonatos, quando comparados ao grupo controle. Os autores concluem que o uso contínuo de piriproxifen em coleções aquáticas necessita cautela, porque o seu potencial efeito adverso causa atrasos significativos no desenvolvimento e produção acentuada de machos combinada a exposição prolongada.

Porém este análogo do hormônio juvenil pode ter ação benéfica sobre algumas espécies. Miranda, Bortoli e Takahashi (2002) estudaram o efeito do piriproxifen aplicado por via tópica 24, 48, 72 e 96 horas após o início do quinto instar de *Bombyx mori* L. (Bicho da seda). E observaram que o produto influenciou em todos os parâmetros biológicos avaliados, desde a reserva de nutrientes acumulada durante o período larval prolongado destinada ao crescimento das glândulas cericígenas, e posteriormente convertida em peso corporal, com consequente incremento na produção de seda. Com resultados mais significantes observados nos tempos de 48 e 72 horas, e com os tempos de 24 e 96 horas não apresentando interferência na emergência de adultos, na oviposição e nem na viabilidade dos seus ovos. Mostrando que os juvenóides poder ter sua aplicação associada a melhoria e desenvolvimento em outras áreas de pesquisa.

Em seu trabalho, Donahue et al. (1997), submeteram larvas e ninhas alimentadas de *Amblyomma americanum* a três concentrações de piriproxifen por sete e 14 dias, a ação do princípio ativo interferiu na ecdisse de larva para ninfa, que permaneceu presa dentro da exúvia da larva. O exoesqueleto antigo se divide transversalmente, mas a ninfa emergente nãoconsegue desvencilhar seus apêndices da exúvia, morrendo pouco tempo depois. E aqueles indivíduos que conseguiram mudar não pareceram ser tão ativos quanto aqueles do grupo controle. Os adultos emergidos de ninhas expostas ao piriproxifen exibiram uma variedade de características que não estavam presentes no instares do grupo controle, como atividadelocomotora letárgica, uma aparência física magra sugestiva de desidratação, cutícula

descolorida, formas alteradas no intestino divertículos e sacos retais aumentados contendo o que parecia ser guanina. Os autores concluem que a mudança do comportamento expressa como letargia pode impedir o sucesso na procura ativa por hospedeiros, a fixação e o repasto de sangue normalmente. A mortalidade resultante em uma população tratada teria um efeito dramático sobre a infestação dos animais, especialmente naqueles trioxenos.

Ribeiro (2010) avaliou a atividade do piriproxifen em três concentrações distintas, frente ao *R. sanguineus* em coelhos infestados artificialmente com larvas, ninhas e adultos. O tratamento inibiu o percentual de ecdisse de larva para ninha e de ninha para adulto em todas as concentrações. Olhando para os resultados referentes aos adultos o produto apresentou, redução na recuperação de teleóginas, aumento do período de prépostura, redução do peso da postura e também redução da eficiência reprodutiva. A eficácia dos tratamentos foi de 47,43% para o grupo tratado com piriproxifen a 1%, o grupo tratado com 1,5% teve 70,16% e o grupo de 2% ficou com 85,63%. Os dados encontrados neste estudo demonstram além de ação como de análogo do hormônio juvenil também possui moderada ação adulticida, demonstrado pelo decréscimo na recuperação de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, de acordo com o aumento da concentração do piriproxifen.

Esse composto não possui registro para o controle de ixodídeos, porém de forma experimental apresenta resultados para uma variedade de exemplares desta família. Seu uso até o presente momento não tinha sido direcionado para o controle de *D. nitens*, disso se dá a relevância em se usar uma molécula a qual este parasito ainda não tinha sido exposto, e possui um enorme potencial de controle.

### 2.2.3 Testes *in vitro*

A mudança na forma de trabalho dos serviços veterinários, associado as reduções de orçamento, mudanças econômicas e sociais no sistema de produção animal, somado ao aumento crescente nos custos de desenvolvimento de drogas acaricidas e o aumento das resistências as drogas presentes no mercado levaram a uma demanda por custos mais efetivos e sustentáveis quando se aborda o controle dos ectoparasitos (FAO, 2004).

Uma forma encontrada para baixar custos na pesquisa por novas moléculas antiparasitárias, com resultados rápidos é o uso de testes *in vitro* em populações de parasitas estabelecidas. Com o uso de formulações adequadas pode se fazer os testes em várias espécies de artrópodes parasitos ou transmissores de patógenos, visando seu controle sem que populações animais vizinhas sejam afetadas. Também para identificar a resistência existente de grandes populações parasitárias aos princípios ativos disponíveis no mercado para uso em animais. A resistência a determinado parasiticida ou acaricida pode ser descrita como uma redução na sensibilidade de um parasito ao produto quando este é usado na concentração recomendada de acordo com todas as instruções para seu uso (FAO, 2004). Muitas vezes para se determinar com certeza a presença da resistência em uma determinada população lançar-se mão do uso de testes *in vitro* com vários produtos, determinando assim a dose recomendada do medicamento para se obter o efeito esperado.

Testes diagnósticos devem ser simples, pouco dispendiosos, fornecer resultados rápidos e confiáveis, e também devem seguir uma padronização para que possa ser executado entre laboratórios de vários países. Os testes *in vitro* mais utilizados para carrapatos são os bioensaios aplicados a larvas não alimentadas e fêmeas ingurgitadas (FAO, 2004).

Os testes de imersão de teleóginas para IGR foi padronizado a partir da metodologia proposta por Drummond et al. (1973), com as adaptações feitas pela FAO (2004) onde a imersão é realizada por um minuto, e não por 30 segundos, com a diluição do princípio ativo em acetona e triton-x. O mínimo de 10 fêmeas ingurgitadas deve ser utilizadas para cada concentração

realizada neste tipo de bioensaio, mas o ideal são 20 exemplares.

Os ensaios realizados em adultos com uma dose discriminante foram recentemente recomendados como testes de triagem preliminar para resistência, porque é relativamente rápido, e provavelmente este é o tipo de ensaio mais apropriado para fornecer suporte rápido e evidência quando o controle é perdido à campo. (FAO, 2004).

Esta metodologia é usada como critério para se determinar a dose adequada sugerida de um produto para a população de parasitária analisada. No caso do *D. nitens* poucos produtos são recomendados para o uso no controle, porém muitos são usados a campo, principalmente adaptando as dosagens recomendadas para uso em bovinos, como é o caso do fluazuron (FAO, 1998). O piriproxifen tem seu uso recomendado para pragas de plantas e mosquitos (FAO, 2011), não possui um produto recomendado para o uso em animais de produção.

Ao longo dos anos autores realizaram alguns testes para a determinação das doses por testes de imersão para fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*. Um deles foi realizado por Drummond et al. (1971), no qual 28 acaricidas, entre organoclorados, organofosforados, carbamatos e arsenicais foram testados *in vitro* para determinar a inibição da eficiência reprodutiva destes produtos sobre o carapato alvo com o cálculo da concentração letal (CL) 50, CL<sub>95</sub> e slope para cada um dos ativos. A menor CL<sub>50</sub> e CL<sub>95</sub> foi observada para o organoclorado isobenzan e a maior foi observada para o organofosforado melation, ambos princípios ativos não são utilizados atualmente em animais. O coumafós (organofosforado) e propoxur (carbamato) amplamente utilizados em associação para o controle de *D. nitens* apresentaram CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> de 0,043 e 0,106, e 0,0067 e 0,25, respectivamente.

Drummond et al. (1983) realizaram estudo *in vitro*, que envolvia além de *D. nitens* outras três espécies *R. annulatus*, *R. microplus*, e *D. albipictus*. Analisando especificamente os dados obtidos referentes ao *D. nitens* para inibição da eficiência reprodutiva frente aos 21 ativos testados, os autores observaram que a inibição da reprodução estimada foi eficaz a 0,01% para os produtos Bayvet BAY-V-6045 e Zoecon fluvalinate, a 0,1% para BASF Lab-96114-I e Pfizer UK-32985. Estes dois testes realizados há algum tempo foram essenciais para se concluir como estava o panorama de sensibilidade do *D. nitens* naqueles dois momentos, e ainda são essenciais atualmente, uma vez que trabalhos com essa espécie de carapato são escassos.

Nos últimos anos reduzidos trabalhos envolvendo testes *in vitro* foram realizados com *D. nitens*, entre estes publicações com extratos de plantas foram realizadas .Vasconcelos (2018) usou extrato etanólico de folhas das seguintes plantas do cerrado *Schinopsis brasiliensis*, *Piptadenia viridiflora*, *Ximenia americana* e *Serjania lethalis* nas concentrações de 25, 50, 100, 150 mg/ml<sup>-1</sup>, para avaliação dos seus efeitos nos parâmetros não parasitários desta espécie. Os extratos de *S. lethalis* e *X. americana* a 100 e 150 mg/ml<sup>-1</sup> inibiram significativamente a capacidade de postura. Diferentemente, os extratos de *S. brasiliensis* e *P. viridiflora* foram os mais eficazes na inibição da eclosão das larvas. Extratos de *X. americana* e *P. viridiflora* mostraram inibição eficaz dos parâmetros reprodutivos do *D. nitens* apresentando a dose dependente de CL<sub>50</sub> de 78.86 e 78.94 mg/ml<sup>-1</sup>, respectivamente. As eficácia das extratos de *P. viridiflora* e *X. americana* foram superiores a 90% demonstrando que estes extratos são promissores como agentes alternativos no controle.

Avelar (2018) utilizou três metodologias distintas para o teste de imersão de teleóginas, variando entre elas os métodos de diluição, os tempos de imersão e as concentrações para avaliar *in vitro* a ação do fluazuron e do piriproxifen sobre fêmeas ingurgitadas de *R. microplus*. Em uma das metodologias avaliadas a diluição dos princípios ativos de piriproxifen e fluazuron foi realizada em triton-X 100 e acetona em uma solução mãe a 5%, de forma que uma solução com esses diluentes mais água foi utilizada para obter as concentrações testadas no estudo, o tempo de imersão empregada foi de um minuto. Para o fluazuron o autor observou diferenças estatísticas significativas para quatro das seis maiores concentrações quando se observou o peso das posturas dos grupos tratados em relação ao grupo controle, intensa inibição da

eclodibilidade, com 1,91% de eclosão na concentração de 500ppm, e zero nas concentrações de 1000; 2000; e 4000 ppm. Inibição total da eficiência reprodutiva na concentração de 1000 ppm, porém o ativo interferiu significativamente sobre a reprodução em concentrações superiores a 25 ppm, observando eficácia elevada a partir de 500 ppm.

Quanto a ação do piriproxifen sobre as teleóginas Avelar (2018) observou diferenças significativas no peso das posturas dos grupos tratados a partir de 0,50 ppm. Com percentual de eclosão de 13,72% na concentração de 3000 ppm, sem inibição total da eclosão em nenhuma das concentrações avaliadas. A eficiência reprodutiva foi inibida nos grupos tratados, mas sem a eficácia do piriproxifen sobre esta alcançar resultados acima de 90%, a concentração de 3000 ppm apresentou o valor mais alto de eficácia, 89.7%.

Aboelhadid et al. (2018) avaliaram a eficácia do regulador de crescimento piriproxifen sobre fêmeas ingurgitadas, larvas e ovos de *R. annulatus*. As concentrações do piriproxifen utilizadas foram 1X (0.09 mg/ml); 2X (0.18 mg/ml), 4X (0.36 mg/ml), 8X (0.72 mg/ml) e 16X (1.44 mg/ml), nas concentrações de quatro, oito e 16X mostraram queda significativa na eficiência reprodutiva comparado com o grupo controle. Nas concentrações acima de 4X a eclosão foi adiada por mais de 21 dias e a redução na ecludibilidade foi de 60,60% e na mesma concentração a mortalidade foi de 100% depois de 72h de exposição, no teste de pacote de larva. Demostrando assim a ação do piriproxifen na inibição no ciclo de *R. annulatus*, com ação na inibição do processo de muda.

Belozerov (2003) tratou larvas e ninfas de *Ixodes ricinus* com piriproxifen após a amputação do órgão da Haller, que apresentou regeneração e sinais de juvenilização sob a influência dessa droga, provando que o hormônio juvenil está envolvido na regulação da metamorfose dos Ixodídeos.

Poucos são os testes realizados com o *D. nitens* para todos os produtos presentes no mercado atualmente, porém os resultados obtidos com outros artrópodes podem ser considerados como indicativos para realização de testes com esse parasito.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Local do Estudo**

O trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado no município de Seropédica a latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27" oeste e altitude de 26 metros.

#### **3.2 Origem dos Carapatos**

As fêmeas ingurgitadas de *D. nitens* utilizadas no procedimento experimental foram provenientes de animais infestados artificialmente, mantidos no *campus* da UFRRJ. O protocolo do estudo tem aprovação da CEUA-IV/UFRRJ, sob o número 8808260617 com data de seis de julho de 2018.

#### **3.3 Teste *in vitro***

##### **3.3.1 Processo de diluição**

Para a obtenção das concentrações utilizadas de fluazuron, utilizou-se 3 gramas de matéria prima (Lote IP270720152256 cedido pela CEVA), mais 0,2 gramas de Triton-X 100, um mililitro de n-metilpirrolidona e quantidade suficiente de acetona para completar 10 ml, formando uma solução mãe a 3%. A partir da solução mãe foram realizadas diluições seriadas com o diluente para obter seguintes concentrações: 4.000; 2.000; 1.000; 500; 250; 125; 62.5, 31.25, 15.62 ppm.

A solução mãe de piriproxifen foi feita na concentração de 4 %, com 4 gramas da matéria prima (Lote 201004003 cedida pela Ouro Fino), 0,2 gramas de Triton-X 100, um mililitro de n-metilpirrolidona e quantidade suficiente de acetona para completar 10 ml. As concentrações finais obtidas a partir da diluição seriada com o diluente foram as mesmas obtidas para o fluazuron.

O diluente utilizado foi feito com 0,02% de Triton-X 100, mais 1% de acetona, 0,1% de n-metilpirrolidona e água destilada até completar 500 ml. Além de utilizado para diluir a solução mãe, este foi usado como controle negativo para os ensaios com ambos IGR's.

As diluições dos princípios ativos foram realizadas em três tomadas de tempo distintas para cada um dos dois IGR's testados.

##### **3.3.2 Teste de imersão de teleóginas**

O Teste de Imersão de Adultos (AIT) realizado em três tomadas de tempo, foi adaptado do teste proposto por Drummond et al. (1973) e pela FAO (2004). As fêmeas ingurgitadas foram

previamente higienizadas e distribuídas em grupos com pesos semelhantes compostos por 10 exemplares, de forma que cada exemplar representou uma unidade experimental. Cada grupo foi imerso por um minuto na solução ao qual era destinado. Posteriormente cada fêmea ingurgitada foi seca e fixada com fitas dupla-face, dentro de placas de petri devidamente identificadas com o nome do IGR e a respectiva concentração. Todas as fêmeas foram observadas diariamente até iniciarem o processo de postura. A pesagem das posturas e das quenóginas foi feita 21 dias após ao tratamento, em balança analítica devidamente calibrada. As posturas foram acondicionadas individualmente em seringas de cinco ml adaptas, identificadas com a respectiva concentração e o número da teleórgina.

A eclodibilidade foi avaliada 42 dias após o início do teste, em microscópio esteroscópico, onde um total de 100 ovos e cascas foram contabilizados com o auxílio de um contador manual de células. Todas as fases não parasitárias foram acondicionadas em câmaras climatizadas com demanda biológica de oxigênio (DBO), mantidas a temperatura de  $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $80 \pm 10\%$ .

### 3.4 Cálculos e Análises estatísticas

O Índice Nutricional (Índice de Conversão) foi obtido através da fórmula proposta por Bennet (1975), descrita a seguir:

$$\text{IN} = \frac{\text{Peso dos ovos}}{\text{Peso inicial das fêmeas ingurgitadas} - \text{Peso das quenóginas}} \times 100$$

Para avaliação da eficiência reprodutiva (ER) e da eficácia do fluazuron e do piriproxifen sobre a ER (Eficácia na Inibição da Reprodução – EIR) utilizou-se as seguintes fórmulas:

$$\text{ER} = \frac{\text{peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão}}{\text{peso das teleóginas}} \times 20.000$$

$$\text{EIR (\%)} = \frac{(\text{Média ER grupo controle} - \text{Média da ER do grupo tratado})}{\text{Média da Eficiência Reprodutiva do grupo controle.}} \times 100$$

Estatisticamente avaliou -se a distribuição da normalidade dos dados de peso das fêmeas ingurgitadas, peso de postura, índice de eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice nutricional e período de préoviposição por meio do teste de D'Agostino-Pearson. De forma que para analisar a variância estatísticas dos dados descritos acima, quando estes foram paramétricos utilizou-se ANOVA para um critério método de Dunnet e quando os dados foram não paramétricos foi usado o teste de Kruskal Wallis método proposto por Dunn. Para todas as análises foi considerado o nível de confiança de 95% ( $p \leq 0,05$ ). O programa estatístico computacional BioEstat 5.3 foi utilizado para as análises (AYRES et al., 2007; SAMPAIO, 2002).

Para obtenção da CL 50, por meio da média do percentual de inibição da eclosão corrigido dos ovos, utilizou-se da análise estatística via “probit” das médias dos três ensaios para ambos IGR's.

O percentual de inibição eclosão (% IR) foi calculado a partir do percentual de eclosão (% E) menos o número total de indivíduos avaliados (100 indivíduos). Com a obtenção do

percentual de inibição da eclosão, calculou-se o fator de correção deste com a fórmula proposta de Abbott:

$$\text{Fator de correção da inibição da eclosão: } \frac{(\% \text{ IR grupo tratado} - \% \text{ IR grupo controle}) \times 100}{100 - \% \text{ IR grupo controle}}$$

Além do cálculo da CL 50, a avaliação da potência relativa e do paralelismo do fluazuron e do piriproxifen foram realizadas via “probit”, pelo programa computacional IBM SPSS Statistics versão 23.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os resultados foram abordados de forma a descrever cada teste de imersão de teleóginas individualmente e no final de forma a consolidar os achados entre os testes individuais.

### **4.1 Fluazuron**

#### **4.1.1 Primeira repetição**

Para a primeira repetição do teste de teleóginas com o fluazuron os resultados estão descritos na Tabela 1, o peso das teleóginas não apresentou diferença estatística entre os grupos, todas elas estiveram entre os valores de 0,279 e 0,331g. Com as médias entre os grupos de 0,301g.

É possível notar que os peso das posturas não sofreu alteração com o aumento das concentrações e isso é demonstrado por não apresentar diferenças estatísticas entre eles (tabela 1), os resultados comprovam que o aumento das concentrações do fluazuron não influencia na postura das teleóginas.

Observando-se a eclodibilidade os resultados das concentrações de 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000 e 4000ppm apresentam os resultados 90,40; 84,40; 44,80; 10,20; 2,0; 1,3; 3,8; 0,4 e 0,0%, respectivamente (Tabela 1). Confirmando a ação do fluazuron que de acordo com o aumento da concentração do produto diminui a capacidade que a larva possui, de mesmo formada dentro do ovo, romper a casca e chegar ao ambiente. Mesmo em menores concentrações a capacidade das larvas de se fixarem fica muito diminuída. Dados confirmados também pela queda na eficiência reprodutiva, que as concentrações a partir de 250ppm apresentaram diferenças estatísticas significativas quando comparadas com o controle.

Seguindo o sentido contrário a eficácia aumenta conforme ocorre a inibição da eclodibilidade. Na concentração de 250ppm ela já era 97,82%. Para as seguintes 500; 1000; 2000 e 4000ppm mantiveram a mesma tendência, com os resultados 98,61; 95,49; 99,57 e 100% respectivamente, com diferenças estatísticas significativas quando comparadas as menores concentrações e o grupo controle, observado na tabela 1.

O peso médio das quenóginas, fêmeas após o término da postura, é importante pois a partir dele se calcula o índice de nutrição. Esse índice nos diz qual foi a conversão do que foi ingerido pela teleóginas em produção de ovos. É possível notar que ambos se mantiveram constantes já que não apresentam diferenças estatísticas entre as concentrações e o grupo controle (tabela 1),

Os períodos de prépostura foram constantes entre três e cinco dias ficando em média de 3,93 dias, e sem diferenças estatísticas entre eles. O acompanhamento criterioso do período de postura leva a dados confiáveis e a possibilidade de se ter uma margem para o uso das teleóginas em experimentação.

Tabela 1: Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do primeiro teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de fluazuron.

Concentração [ppm]	Peso TeleóGINA		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)		Fator de Correção da Inibição da eclosão		Eficiência Reprodutiva		Eficiácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)		Peso das Quenoginas		Indice de nutrição		Periodo de pré oviposição	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	0,291	± 0,038 <sup>a</sup>	0,161	± 0,034 <sup>a</sup>	97,7	± 3,1	2,3	± 3,1	1073831,26	± 153623,70 <sup>a</sup>	0,064	± 0,011 <sup>a</sup>	70,27	± 5,14 <sup>a</sup>	4,20	± 0,40 <sup>a</sup>				
15,62	0,287	± 0,037 <sup>a</sup>	0,178	± 0,038 <sup>a</sup>	90,4	± 12,4	9,6	± 12,4	7,5	1134682,47	± 322767,14 <sup>a</sup>	0,00	0,057	± 0,010 <sup>a</sup>	77,24	± 16,06 <sup>a</sup>	4,00	± 0,45 <sup>a</sup>		
31,25	0,279	± 0,021 <sup>a</sup>	0,156	± 0,022 <sup>a</sup>	84,4	± 22,2	15,6	± 22,2	13,6	942898,93	± 283159,83 <sup>a</sup>	12,19	0,061	± 0,017 <sup>a</sup>	71,05	± 4,34 <sup>a</sup>	3,80	± 0,60 <sup>a</sup>		
62,5	0,299	± 0,033 <sup>a</sup>	0,162	± 0,032 <sup>a</sup>	44,8	± 30,6	55,2	± 30,6	54,1	511599,37	± 368278,88 <sup>a</sup>	52,36	0,056	± 0,010 <sup>a</sup>	66,80	± 9,53 <sup>a</sup>	4,00	± 0,63 <sup>a</sup>		
125	0,331	± 0,047 <sup>a</sup>	0,186	± 0,025 <sup>a</sup>	10,2	± 18,1	89,8	± 18,1	89,6	120222,41	± 219213,87 <sup>a</sup>	88,80	0,072	± 0,016 <sup>a</sup>	71,78	± 2,11 <sup>a</sup>	3,70	± 0,90 <sup>a</sup>		
250	0,314	± 0,050 <sup>a</sup>	0,181	± 0,031 <sup>a</sup>	2,0	± 3,0	98,0	± 3,0	98,0	23358,64	± 35472,26 <sup>b</sup>	97,82	0,061	± 0,009 <sup>a</sup>	71,65	± 2,21 <sup>a</sup>	3,80	± 0,40 <sup>a</sup>		
500	0,300	± 0,033 <sup>a</sup>	0,169	± 0,035 <sup>a</sup>	1,3	± 3,3	98,7	± 3,3	98,7	14978,72	± 37017,37 <sup>b</sup>	98,61	0,061	± 0,015 <sup>a</sup>	70,06	± 8,04 <sup>a</sup>	4,00	± 0,00 <sup>a</sup>		
1000	0,305	± 0,033 <sup>a</sup>	0,176	± 0,025 <sup>a</sup>	3,8	± 11,1	96,2	± 11,1	96,1	48412,41	± 141160,75 <sup>b</sup>	95,49	0,066	± 0,009 <sup>a</sup>	73,56	± 6,53 <sup>a</sup>	3,90	± 0,54 <sup>a</sup>		
2000	0,299	± 0,031 <sup>a</sup>	0,164	± 0,024 <sup>a</sup>	0,4	± 1,2	99,6	± 1,2	99,6	4606,06	± 13818,18 <sup>b</sup>	99,57	0,060	± 0,009 <sup>a</sup>	68,38	± 3,62 <sup>a</sup>	3,80	± 0,40 <sup>a</sup>		
4000	0,306	± 0,036 <sup>a</sup>	0,168	± 0,026 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,058	± 0,008 <sup>a</sup>	67,73	± 7,46 <sup>a</sup>	0,60	± 0,60 <sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

#### **4.1.2 Segunda repetição**

Para esta repetição o peso das teleóginas esteve entre os valores de 0,288 e 0,339g, com média de 0,312g. Olhando as médias dentro das concentrações essas não estiveram distantes do valor geral, comprovado pela não diferença estatística entre elas (tabela 2).

Assim como aconteceu com o teste anterior as médias das posturas e as médias de índice de nutrição não foram influenciadas pelo aumento das concentrações do fluazuron, como pode ser visto pela igualdade das letras nas análises estatísticas desses valores (tabela 2). Evidenciando que o produto não interfere no metabolismo do *D. nitens* e assim não alterou também a reprodução e a conversão alimentar.

As eclodibilidades só começaram a diminuir a partir da concentração de 125ppm, diferente do teste anterior, estando em 87,20%. E nas concentrações seguintes de 250; 500; 1000; 2000 e 4000ppm foram de 58,50; 39,80; 3,9; 9,3 e 0,6, respectivamente. E nesse momento a eclodibilidade não chegou a zero. A eficiência reprodutiva das concentrações também diminuiu, mas a partir da concentração de 500ppm houve diferença estatística em relação as menores concentrações (tabela 2). Demonstrando a ação do produto sobre a reprodução das teleóginas.

A eficácia da concentração máxima de 4000ppm, apresentada na tabela 2, chegou a 99,33%, sendo a maior média entre as concentrações.

Nessa tomada de tempo as médias dos tempos das préposturas foram menores, com uma média de 2,37 dias com no mínimo um dia e no máximo quatro para seu início. Apesar disso não houve diferença estatística entre as concentrações (tabela 2). Várias coisas podem influenciar esses resultados como a temperatura do dia da coleta, ou dos dias que a antecederam e a hora em que aconteceu. Esse pode ser um dos motivos da diferença encontrada para o primeiro teste.

Tabela 2: Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do segundo teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de fluazuron.

Concentração [ppm]	Peso TeleóGINA		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)		Fator de Correção da Inibição da eclosão		Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)		Peso das Quenoginas		Índice de nutrição		Período de pré oviposição	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	0,300	± 0,052 <sup>a</sup>	0,169	± 0,035 <sup>a</sup>	96,0	± 2,8	4,0	± 2,8	1081088,67	± 129226,743 <sup>a</sup>	0,062	± 0,013 <sup>a</sup>	71,24	± 5,51 <sup>a</sup>	2,30	± 1,10 <sup>a</sup>				
15,62	0,308	± 0,069 <sup>a</sup>	0,149	± 0,078 <sup>a</sup>	75,0	± 37,9	25,0	± 37,9	21,9	843716,17	± 433299,530 <sup>a</sup>	21,96	0,074	± 0,031 <sup>a</sup>	58,67	± 23,96 <sup>a</sup>	2,44	± 0,68 <sup>a</sup>		
31,25	0,288	± 0,052 <sup>a</sup>	0,163	± 0,035 <sup>a</sup>	95,1	± 5,5	4,9	± 5,5	0,9	1071837,34	± 99740,904 <sup>a</sup>	0,86	0,052	± 0,009 <sup>a</sup>	68,87	± 3,78 <sup>a</sup>	2,40	± 0,66 <sup>a</sup>		
62,5	0,320	± 0,083 <sup>a</sup>	0,183	± 0,058 <sup>a</sup>	96,7	± 1,3	3,3	± 1,3	0,0	1086985,72	± 103634,084 <sup>a</sup>	0,00	0,058	± 0,013 <sup>a</sup>	68,98	± 5,39 <sup>a</sup>	2,70	± 0,78 <sup>a</sup>		
125	0,319	± 0,086 <sup>a</sup>	0,168	± 0,059 <sup>a</sup>	87,2	± 7,6	12,8	± 7,6	9,2	906104,80	± 164834,699 <sup>a</sup>	16,19	0,068	± 0,022 <sup>a</sup>	65,56	± 5,88 <sup>a</sup>	2,70	± 0,64 <sup>a</sup>		
250	0,339	± 0,064 <sup>a</sup>	0,192	± 0,050 <sup>a</sup>	58,5	± 34,3	41,5	± 34,3	39,1	707382,62	± 425748,724 <sup>a</sup>	34,57	0,061	± 0,013 <sup>a</sup>	69,10	± 14,53 <sup>a</sup>	2,50	± 0,67 <sup>a</sup>		
500	0,328	± 0,075 <sup>a</sup>	0,169	± 0,069 <sup>a</sup>	39,8	± 32,4	60,2	± 32,4	58,5	445678,94	± 386645,855 <sup>b</sup>	58,77	0,063	± 0,011 <sup>a</sup>	61,54	± 17,76 <sup>a</sup>	2,40	± 0,80 <sup>a</sup>		
1000	0,316	± 0,053 <sup>a</sup>	0,171	± 0,037 <sup>a</sup>	3,9	± 6,2	96,1	± 6,2	95,9	45559,69	± 74258,962 <sup>b</sup>	95,79	0,057	± 0,012 <sup>a</sup>	65,84	± 4,41 <sup>a</sup>	2,30	± 0,90 <sup>a</sup>		
2000	0,297	± 0,061 <sup>a</sup>	0,154	± 0,048 <sup>a</sup>	9,3	± 13,6	90,7	± 13,6	90,3	106406,07	± 155576,891 <sup>b</sup>	90,16	0,060	± 0,027 <sup>a</sup>	64,24	± 5,09 <sup>a</sup>	1,70	± 0,64 <sup>a</sup>		
4000	0,310	± 0,057 <sup>a</sup>	0,181	± 0,041 <sup>a</sup>	0,6	± 0,7	99,4	± 0,7	99,4	7193,78	± 7991,14 <sup>b</sup>	99,33	71,523	± 0,013 <sup>a</sup>	71,52	± 6,30 <sup>a</sup>	2,30	± 1,00 <sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

#### **4.1.3 Terceira repetição**

Na terceira repetição do teste as médias dos pesos das teleóginas ficaram sempre bem próximas a média geral de 0,261g, sendo o máximo de 0,272 e o mínimo de 0,238g, sem apresentar diferença estatística entre as concentrações (tabela 3). Refletindo a preocupação para se conseguir pesos semelhantes entre os grupos para que esse não seja um influenciador no resultado final.

Mais uma vez não houve influência da concentração do fluazuron no metabolismo das teleóginas, demonstrado na tabela 3, onde as médias de peso das posturas não apresentam diferença estatística entre os grupos, o que também aconteceu no índice de nutrição, que representa a conversão alimentar da teleóquina.

Como no teste anterior a eclodibilidade somente começou a diminuir a partir da concentração de 125ppm, quando estava em 76,56% (tabela 3). A partir daí, 250; 500; 1000; 2000 e 4000ppm, em que os resultados foram 52,33; 28,67; 1,8; 2,1 e 0%, respectivamente. Junto com ela fica a eficiência reprodutiva, que na última concentração chegou a zero também. Nessas últimas concentrações o efeito do fluazuron pode ser alcançado, já que o principal efeito nas fases não parasitárias é a redução da deposição de quitina na cutícula, e que nas larvas leva a redução na capacidade de se fixar e ingerir sangue e a inviabilidade da vida parasitária.

Nas últimas concentrações de 500; 1000; 2000 e 4000ppm foram alcançadas as eficácia de 70,96; 97,98; 97,62 e 100%, como visto na tabela 3. Resultados melhores que a tomada de tempo anterior já que as três últimas concentrações tiveram suas médias maiores que 95% de eficácia sobre a eficiência reprodutiva. Conseguindo assim um resultado mais satisfatório, já que uma boa eficácia em uma menor concentração possibilita que quando houver a oportunidade de se realizar o uso nos animais com uma dose menor pode ser possível alcançar os resultados desejados diminuindo a possibilidade dos efeitos colaterais do produto.

Os períodos de préoviposição variaram entre três e cinco dias, e com a média de 4,20 dias não apresentando diferenças estatísticas entre as concentrações (tabela 3), demonstrando a não influencia do fluazuron sobre o tempo de prépostura do *D. nitens*.

Tabela 3: Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do terceiro teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de fluazuron.

Concentração [ppm]	Peso Teleóquina		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)		Fator de Correção da Inibição da eclosão		Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)		Peso das Quenoginas		Indice de nutrição		Periodo de pré oviposição		
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
Placebo	0,286	± 0,068 <sup>a</sup>	0,158	± 0,049 <sup>a</sup>	95,6	± 2,8	4,4	± 2,8	1042652,23	± 115316,319 <sup>a</sup>	0,052	± 0,016 <sup>a</sup>	66,57	± 6,98 <sup>a</sup>	4,30	± 0,46 <sup>a</sup>					
15,62	0,254	± 0,059 <sup>a</sup>	0,148	± 0,041 <sup>a</sup>	95,5	± 3,9	4,5	± 3,9	0,1	1097819,44	± 104249,613 <sup>a</sup>	0,00	0,049	± 0,010 <sup>a</sup>	71,34	± 4,78 <sup>a</sup>	4,10	± 0,54 <sup>a</sup>			
31,25	0,238	± 0,038 <sup>a</sup>	0,128	± 0,031 <sup>a</sup>	83,1	± 27,0	16,9	± 27,0	13,1	891881,16	± 317625,665 <sup>a</sup>	14,46	0,048	± 0,008 <sup>a</sup>	67,01	± 6,41 <sup>a</sup>	4,30	± 0,46 <sup>a</sup>			
62,5	0,261	± 0,047 <sup>a</sup>	0,131	± 0,028 <sup>a</sup>	69,8	± 30,7	30,2	± 30,7	27,0	752573,50	± 351506,302 <sup>a</sup>	27,82	0,050	± 0,012 <sup>a</sup>	62,42	± 9,31 <sup>a</sup>	4,30	± 0,46 <sup>a</sup>			
125	0,255	± 0,058 <sup>a</sup>	0,126	± 0,058 <sup>a</sup>	76,6	± 27,3	23,4	± 34,6	19,9	760096,89	± 390728,401 <sup>a</sup>	27,10	0,059	± 0,026 <sup>a</sup>	61,13	± 21,07 <sup>a</sup>	4,22	± 0,42 <sup>a</sup>			
250	0,272	± 0,057 <sup>a</sup>	0,133	± 0,060 <sup>a</sup>	52,3	± 30,7	47,7	± 33,1	45,3	533198,60	± 389491,250 <sup>a</sup>	48,86	0,065	± 0,033 <sup>a</sup>	61,86	± 22,41 <sup>a</sup>	3,80	± 1,33 <sup>a</sup>			
500	0,266	± 0,052 <sup>a</sup>	0,131	± 0,053 <sup>a</sup>	28,7	± 36,7	71,3	± 35,9	70,0	302777,48	± 425107,275 <sup>b</sup>	70,96	0,053	± 0,006 <sup>a</sup>	63,16	± 22,59 <sup>a</sup>	4,33	± 0,47 <sup>a</sup>			
1000	0,258	± 0,042 <sup>a</sup>	0,145	± 0,030 <sup>a</sup>	1,8	± 2,2	98,2	± 2,2	98,1	21065,54	± 26296,972 <sup>b</sup>	97,98	0,054	± 0,008 <sup>a</sup>	71,24	± 4,05 <sup>a</sup>	4,40	± 0,49 <sup>a</sup>			
2000	0,261	± 0,056 <sup>a</sup>	0,128	± 0,040 <sup>a</sup>	2,1	± 6,3	97,9	± 6,3	97,8	24835,91	± 74507,740 <sup>b</sup>	97,62	0,052	± 0,013 <sup>a</sup>	60,60	± 10,05 <sup>a</sup>	4,40	± 0,66 <sup>a</sup>			
4000	0,255	± 0,050 <sup>a</sup>	0,137	± 0,035 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00	<sup>b</sup>	100,00	0,050	± 0,009 <sup>a</sup>	66,57	± 5,87 <sup>a</sup>	3,80	± 0,40 <sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

#### **4.1.4 Médias dos resultados do Fluazuron**

Nesse tópico foi feito uma avaliação das médias dos resultados obtidos em cada uma das concentrações. Foi realizado o teste estatístico para avaliar se houve diferenças estatísticas significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre a média do grupo com a média do controle, e assim foram obtidos os resultados presentes na tabela 4.

Para os resultados das médias dos pesos da teleóginas não houve diferenças estatísticas significativas quando comparados os grupos tratados com o controle (tabela 4). E bem perto do estabelecido por Drummond et al. (1969), para o peso de fêmeas ingurgitadas de *D. nitens*, que foi em média de 0,291g. Refletindo a preocupação de não haver diferenças entre as respostas das teleóginas ao fluazuron quando essa pode ser influenciada pelo peso, já que segundo Bennet (1974) a fêmea ingurgitada é essencialmente um saco cheio de nutrientes (sangue) e os órgãos e vias metabólicas para converter o nutriente em ovos, e no final da oviposição há pouco que sobra, exceto o exo-esqueleto, tecidos reprodutivos residuais, e os subprodutos do metabolismo, e o autor também enfatiza que carapatos de pesos diferentes não ovipõem de forma semelhante na mesma temperatura. Ou seja, grupos de teleóginas com pesos semelhantes responderam semelhantemente ao produto.

Quando se observa os pesos médios das posturas não ocorreu diferenças estatísticas significativas comparando-se o grupo controle e os grupos tratados com fluazuron (tabela 4). Demonstrando que o produto não interferiu na produção de ovos das teleóginas.

O efeito nas médias das eclodibilidades foi observado na medida em que se aumentavam as concentrações ia diminuindo os números obtidos, é possível observar na tabela 4 que apesar de não ter chegado a zero pode-se comprovar o efeito deletério do fluazuron na saída das larvas de dentro dos ovos. Esse é um dos efeitos do fluazuron que mesmo quando há a formação das larvas ocorre inibição da deposição de quitina impossibilitando que essas consigam emergir dos ovos.

Para a média da inibição da eclosão das larvas nas três últimas concentrações (1000; 2000 e 4000ppm) apresentaram os maiores valores 96,833; 96,067; 99,8% (tabela 4). Resultado que reflete o que diz Graf (1993) sobre a ação do fluazuron ser obtida quando a atividade ovicida é alcançada através da inibição da deposição de quitina na larva em desenvolvimento, também as fêmeas ingurgitadas absorvem sua porção de sangue normal e produzem ovos dos quais nenhuma, ou muito poucas larvas eclodirão.

Na média das eficiências reprodutivas ocorreram diferenças estatísticas significantes a partir da concentração de 125ppm, quando comparadas com o grupo controle (tabela 4). Isso representa a ação do fluazuron sobre as fêmeas ingurgitadas reduzindo o seu potencial de produção de ovos viáveis no ambiente e futura diminuição das reinfestações dos ambientes em que os animais tratados com o produto venham a habitar.

O peso médio das quenóginas dos grupos submetidos ao fluazuron não apresentaram diferenças estatísticas significantes em relação ao grupo controle. Esse resultado foi compatível com o obtido com as médias dos índices de nutrição, em que somente uma média, da concentração 2000ppm apresentou diferença significativa. Para Bennet (1974) o diferencial de peso entre o peso inicial e o peso residual do carapato é, portanto, próximo ao peso dos nutrientes disponíveis para a conversão em ovos. Este resultado pode ser visto como uma definição do modo como o sangue ingerido foi convertido em ovos, pela teleóquina.

Quando foram realizados as análises de próbitos o fluazuron apresentou um slope de 1,646 com erro padrão de  $\pm 0,029$ . A CL<sub>50</sub> foi de 155,350ppm de ingrediente ativo com limite inferior de 121,187ppm, e limite superior de 198,132ppm. A CL<sub>90</sub> de 932,635ppm de ingrediente ativo, com o limite inferior de 662,470ppm, e o limite superior de 1466,160ppm. E o R<sup>2</sup> linear de 0,965.

#### 4.1.4.1 Eficácia sobre a eficiência reprodutiva das teleóginas tratadas com fluazuron

As médias das eficáncias sobre as eficiências reprodutivas dos grupos tratados com o fluazuron foram aumentando constantemente a medida em que foram aumentando as concentrações do produto. Apesar de não ter chegado a 100% de mortalidade das larvas o fluazuron apresentou um bom resultado nas três maiores concentrações, de 1000; 2000; e 4000ppm os resultados foram respectivamente de 96,42; 95,78; e 99,78% (tabela 4), demonstrando que em qualquer uma dessas concentrações a inibição da imersão das larvas faria um controle satisfatório do *D. nitens*. Além disso com a ação do produto na redução da quitinização do hipostômio dessas larvas comprometeria o poder de fixação e alimentação delas.

Alguns autores também trabalharam com o fluazuron, porém nenhum outro trabalho associou o uso do produto com o carapato *D. nitens*. O autor Avelar (2018) submeteu teleóginas de *R. microplus* a ação do fluazuron em teste *in vitro*, as maiores eficáncias foram obtidas a partir da concentração de 500ppm (97,9%). Um resultado melhor, já que no presente trabalho na mesma concentração de 500ppm foi obtida uma eficácia de 76,11%. O fármaco não apresentou resultado tão bom para o *D. nitens* quanto para o outro representante da família, porém é satisfatório para um parasito que apresenta a característica de não sair do hospedeiro para fazer suas ecdises, e por isso estaria exposto a ação do produto por tempos maiores, inclusive nos momentos de deposição de quitina necessária para a muda e endurecimento de sua cutícula.

Quando se observa Melo (2007) e Vieira (2012) que trabalharam com *R. sanguineus* em animais tratados com o fluazuron, ambas conseguiram resultados de eficáncias bem mais baixos para seus tratamentos, 86,07% e 12,4%, respectivamente. Para eles o fluazuron não interferiu no desenvolvimento embrionário dos ovos de *R. sanguineus* não impedindo o elevado percentual de eclosão de larvas nos grupos tratados em ambos estudos.

Deve-se ter preocupação quanto ao uso do produto carrapaticidas para não apresentar os resultados semelhantes a Reck et al (2014) que em testes realizados com o fluazuron numa população multiresistente de *R. microplus* encontrou resistência, com eficácia de inibição de eficiência reprodutiva de 20% na concentração de 500ppm. Os resultados de trabalhos *in vitro* em populações de *D. nitens* sugerem as concentrações a serem usadas para que não aconteça o aparecimento das resistências ou o uso de produtos em excesso que causem problemas de saúde aos animais parasitados

A diferença nesses resultados pode estar no tipo de estudo realizado, já que o presente trabalho, o apresentado por Avelar (2018) e o de Reck et al, (2014) foram realizados *in vitro* e com parasitos monóxenos, já os realizados por Melo (2007) e Vieira (2012) foram feitos com teleóginas engurgitadas recuperadas de animais tratados, e que no caso deles o parasito era heteroxeno.

Tabela 4 Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões da média das três tomadas de tempo do teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de fluazuron.

Concentração [ppm]	Peso TeleóGINA		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)		Fator de Correção da Inibição da eclosão		Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)		Peso das QuenóGINAS		Índice de nutrição		Período de pré oviposição	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	0,292	± 0,053 <sup>a</sup>	0,163	± 0,039 <sup>a</sup>	96,433	± 2,932	3,567	± 2,932	1065857,387	± 132722,256 <sup>a</sup>	0,059	± 0,013 <sup>a</sup>	69,358	± 5,876 <sup>a</sup>	3,600	± 0,653 <sup>a</sup>				
15,62	0,283	± 0,055 <sup>a</sup>	0,158	± 0,052 <sup>a</sup>	86,967	± 18,049	13,033	± 18,049	9,817	1025406,027	± 286772,095 <sup>a</sup>	7,319	0,060	± 0,017 <sup>a</sup>	69,084	± 14,934 <sup>a</sup>	3,515	± 0,557 <sup>a</sup>		
31,25	0,268	± 0,037 <sup>a</sup>	0,149	± 0,030 <sup>a</sup>	87,533	± 18,256	12,467	± 18,256	9,209	968872,475	± 233508,801 <sup>a</sup>	9,170	0,054	± 0,012 <sup>a</sup>	68,975	± 4,843 <sup>a</sup>	3,500	± 0,574 <sup>a</sup>		
62,5	0,293	± 0,055 <sup>a</sup>	0,159	± 0,039 <sup>a</sup>	70,433	± 20,864	29,567	± 20,864	27,044	783719,528	± 274473,087 <sup>a</sup>	26,726	0,054	± 0,012 <sup>a</sup>	66,064	± 8,077 <sup>a</sup>	3,667	± 0,624 <sup>a</sup>		
125	0,302	± 0,064 <sup>a</sup>	0,160	± 0,047 <sup>a</sup>	57,985	± 17,682	42,015	± 20,118	39,549	595474,699	± 258258,991 <sup>b</sup>	44,030	0,066	± 0,021 <sup>a</sup>	66,155	± 9,686 <sup>a</sup>	3,541	± 0,652 <sup>a</sup>		
250	0,308	± 0,057 <sup>a</sup>	0,169	± 0,047 <sup>a</sup>	37,611	± 22,664	62,389	± 23,459	60,758	421313,288	± 283570,745 <sup>b</sup>	60,418	0,062	± 0,019 <sup>a</sup>	67,538	± 13,047 <sup>a</sup>	3,367	± 0,799 <sup>a</sup>		
500	0,298	± 0,053 <sup>a</sup>	0,156	± 0,052 <sup>a</sup>	23,256	± 24,117	76,744	± 23,837	75,742	254478,382	± 282923,501 <sup>b</sup>	76,114	0,059	± 0,011 <sup>a</sup>	64,923	± 16,129 <sup>a</sup>	3,578	± 0,424 <sup>a</sup>		
1000	0,293	± 0,043 <sup>a</sup>	0,164	± 0,031 <sup>a</sup>	3,167	± 6,496	96,833	± 6,496	96,722	38345,880	± 80572,227 <sup>b</sup>	96,419	0,059	± 0,009 <sup>a</sup>	70,212	± 4,998 <sup>a</sup>	3,533	± 0,643 <sup>a</sup>		
2000	0,285	± 0,049 <sup>a</sup>	0,148	± 0,037 <sup>a</sup>	3,933	± 7,017	96,067	± 7,017	95,902	45282,680	± 81300,937 <sup>b</sup>	95,782	0,057	± 0,016 <sup>a</sup>	64,404	± 6,256 <sup>b</sup>	3,300	± 0,568 <sup>a</sup>		
4000	0,290	± 0,048 <sup>a</sup>	0,162	± 0,034 <sup>a</sup>	0,200	± 0,221	99,800	± 0,221	99,792	2397,926	± 2663,712 <sup>b</sup>	99,778	23,877	± 0,010 <sup>a</sup>	68,606	± 6,542 <sup>a</sup>	2,233	± 0,668 <sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

## **4.2 Piriproxifen**

### **4.2.1 Primeira repetição**

Para o teste realizado com o Piriproxifen as teleóginas selecionadas estiveram entre os pesos de 0,058 e 0,432g, com uma média geral de 0,265g, porém apesar da existência dessa grande variação não houve diferenças estatísticas entre os pesos médios nos grupos em cada concentração (tabela5).

Dentro dos efeitos esperados do Piriproxifen, pode ser visto na tabela 5 a relação direta do aumento da concentração com a queda do peso das posturas, o controle teve uma média de

0,113g enquanto que as duas maiores concentrações de 2000 e 4000ppm apresentaram respectivamente 0,056 e 0,053g, redução que representou diferença estatística entre as médias.

As eclodibilidades apresentaram queda constante a partir da concentração de 62,5ppm quando a média estava em 60,70%. A partir daí as outras concentrações de 125; 250; 500; 1000;

2000 e 4000ppm, apresentaram os resultados de 49,40; 48,5; 12,3; 0; 0; 0 (tabela 5). Os resultados são muito bons, demonstrando a eficiência do tratamento na inibição da formação das larvas dentro dos ovos e mesmo quando essas se formam não foram capazes de romper o ovo para infestar o ambiente.

Para corroborar os dados da eclodibilidade a eficiência reprodutiva mostrou o mesmo padrão de queda, seus resultados diminuíram até a concentração de 1000ppm onde essa chegou a zero, e a partir dessa concentração apresentam diferença estatística entre aquelas mais baixas.

A eficácia do piriproxifen está demostrada na tabela 5, e quando se analisou os dados das concentrações de 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000 e 4000ppm apresentou os resultados 19,21; 30,98; 43,29; 85,41; 100; 100 e 100%, respectivamente.

As quenóginas sofreram influência do aumento nas concentrações, levando a uma menor conversão alimentar demonstrado no resultado apresentado pelo índice de nutrição que a partir da concentração de 1000ppm apresentou diferenças estatísticas significativas para as menores concentrações (tabela 5). Se formos comparar o índice de nutrição do grupo controle (50,33%) com o da maior concentração de 4000ppm (29,47%) ocorreu uma redução de 41,45%, ou seja, as teleóginas da maior concentração tiveram uma redução de 41,45% na sua capacidade de metabolizar o alimento ingerido quando comparado com a mesma capacidade das fêmeas ingurgitadas do grupo controle.

Após o teste de imersão as fêmeas levaram em média 4,15 dias para começar a fazer suas posturas sem representar diferenças estatísticas entre elas (tabela 5), sendo o máximo de cinco e o mínimo de quatro dias.

Tabela 5 Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do primeiro teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de piriproxifen.

Concentração [ppm]	Peso Teleógrina		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)		Fator de Correção da Inibição da eclosão		Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)		Peso das Quenóginas		Índice de nutrição		Período de pré oviposição	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	0,269	± 0,042 <sup>a</sup>	0,113	± 0,063 <sup>a</sup>	80,6	± 29,6	19,4	± 37,0	705642,18	± 441412,01 <sup>a</sup>	0,067	± 0,022 <sup>a</sup>	50,33	± 26,22 <sup>a</sup>	4,22	± 0,42 <sup>a</sup>				
15,62	0,270	± 0,055 <sup>a</sup>	0,117	± 0,046 <sup>a</sup>	49,2	± 40,6	50,8	± 40,6	38,9	509062,02	± 428793,73 <sup>a</sup>	27,86	0,063	± 0,019 <sup>a</sup>	54,91	± 13,52 <sup>a</sup>	4,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
31,25	0,270	± 0,076 <sup>a</sup>	0,115	± 0,044 <sup>a</sup>	52,6	± 29,9	47,4	± 29,9	34,7	480563,81	± 313702,57 <sup>a</sup>	31,90	0,061	± 0,017 <sup>a</sup>	55,14	± 11,51 <sup>a</sup>	4,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
62,5	0,261	± 0,086 <sup>a</sup>	0,128	± 0,062 <sup>a</sup>	60,7	± 34,8	39,3	± 34,8	24,6	570105,80	± 375784,89 <sup>a</sup>	19,21	0,063	± 0,018 <sup>a</sup>	60,96	± 17,01 <sup>a</sup>	4,40	± 0,49 <sup>a</sup>		
125	0,256	± 0,065 <sup>a</sup>	0,106	± 0,058 <sup>a</sup>	49,4	± 37,4	50,6	± 37,4	38,7	487067,60	± 376307,92 <sup>a</sup>	30,98	0,063	± 0,015 <sup>a</sup>	51,70	± 19,48 <sup>a</sup>	4,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
250	0,276	± 0,076 <sup>a</sup>	0,118	± 0,048 <sup>a</sup>	48,5	± 30,5	51,5	± 30,5	39,8	400191,27	± 273575,17 <sup>a</sup>	43,29	0,064	± 0,019 <sup>a</sup>	53,55	± 9,57 <sup>a</sup>	4,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
500	0,256	± 0,075 <sup>a</sup>	0,084	± 0,040 <sup>a</sup>	12,3	± 17,6	87,7	± 17,6	84,7	102978,21	± 149639,67 <sup>a</sup>	85,41	0,057	± 0,021 <sup>a</sup>	40,84	± 10,62 <sup>a</sup>	4,10	± 0,30 <sup>a</sup>		
1000	0,263	± 0,049 <sup>a</sup>	0,068	± 0,019 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,066	± 0,020 <sup>a</sup>	33,91	± 5,13 <sup>b</sup>	4,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
2000	0,264	± 0,070 <sup>a</sup>	0,056	± 0,022 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,087	± 0,027 <sup>a</sup>	30,72	± 4,85 <sup>b</sup>	4,30	± 0,46 <sup>a</sup>		
4000	0,264	± 0,055 <sup>a</sup>	0,053	± 0,013 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,084	± 0,030 <sup>a</sup>	29,47	± 5,16 <sup>b</sup>	4,30	± 0,46 <sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

#### **4.2.2 Segunda repetição**

Na segunda repetição do piriproxifen os resultados estiveram semelhantes a primeira tomada de tempo. Não houveram diferenças estatísticas entre as médias dos pesos das teleóginas das concentrações, demonstrado na tabela 6. A média geral entre todas as concentrações foi de 0,291g, com o peso máximo de 0,402g e o mínimo de 0,113g.

A média do peso da postura só apresentou diferença estatística em apenas uma concentração, de 1000ppm, em todas as outras não houveram diferenças significativas (tabela 6).

Mais uma vez o resultado das médias de eclodibilidade se apresentaram decrescentes acompanhando o aumento das concentrações do piriproxifen (tabela 6), tendo sido influenciadas pela ação do hormônio juvenil que inibiu a oogênese nas teleóginas. É possível observar esse padrão nas concentrações 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000 e 4000ppm, com os seus resultados de 75,60; 46,50; 13; 8,56; 0; 0; 0; 0; 0%, respectivamente. Acompanhado pela redução contínua da eficiência reprodutiva, que da concentração 62,5ppm (97272,47) apresentou diferença estatística quando comparada com o controle (964778,14), demonstrado na tabela 6.

Nessa tomada de tempo houve um comportamento diferente com os resultados da eficácia na inibição da eficiência reprodutiva, elas aumentaram de forma gradativa nas concentrações de 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000; 4000ppm, com as porcentagens correspondentes de 27,28; 57,85; 89,92; 93,10; 100; 100; 100; 100%.

E mais uma vez se observando os índices de nutrição é possível ver a queda da conversão alimentar, observado na tabela 6, a diferença apresentada entre o controle de 65,58% e a maior concentração de 27,71% representa uma redução de 57,75% de que as teleóginas sujeitas a 4000 ppm de piriproxifen sofreram em relação ao seu potencial conversor.

O período de préoviposição esteve entre um e três dias, com a média de 2,33 dias, aqui elas foram mais precoces, mas isso pode ser explicado pelos fatores ambientais, e o tempo entre a queda das teleóginas e o início do teste (tabela 6).

Tabela 6 Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do segundo teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de piriproxifen.

Concentração [ppm]	Peso Teleógina		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)	Correção da Inibição da eclosão	Fator de Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)		Peso das Quenóginas		Índice de nutrição		Período de pré oviposição	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP			Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	0,284	± 0,087 <sup>a</sup>	0,142	± 0,072 <sup>a</sup>	85,1	± 28,6	14,9	± 28,6	964778,14	± 342722,57 <sup>a</sup>	0,079	± 0,058 <sup>a</sup>	65,58	± 22,02 <sup>a</sup>	2,33	± 0,67 <sup>a</sup>		
15,62	0,277	± 0,078 <sup>a</sup>	0,129	± 0,037 <sup>a</sup>	75,6	± 9,6	24,4	± 9,6	701612,30	± 105706,70 <sup>a</sup>	27,28	0,056	± 0,016 <sup>a</sup>	58,52	± 4,44 <sup>a</sup>	2,60	± 0,49 <sup>a</sup>	
31,25	0,289	± 0,066 <sup>a</sup>	0,117	± 0,034 <sup>a</sup>	46,5	± 27,0	53,5	± 27,0	406653,89	± 261679,08 <sup>a</sup>	57,85	0,071	± 0,032 <sup>a</sup>	52,97	± 6,11 <sup>a</sup>	2,90	± 0,30 <sup>a</sup>	
62,5	0,269	± 0,068 <sup>a</sup>	0,089	± 0,047 <sup>a</sup>	13,0	± 25,1	87,0	± 24,1	97272,47	± 197239,76 <sup>b</sup>	89,92	0,063	± 0,027 <sup>a</sup>	42,73	± 16,15 <sup>a</sup>	2,11	± 0,87 <sup>a</sup>	
125	0,296	± 0,081 <sup>a</sup>	0,108	± 0,053 <sup>a</sup>	8,6	± 21,1	91,4	± 20,2	66570,27	± 176413,64 <sup>b</sup>	93,10	0,084	± 0,038 <sup>a</sup>	45,60	± 16,15 <sup>a</sup>	2,33	± 0,67 <sup>a</sup>	
250	0,282	± 0,071 <sup>a</sup>	0,075	± 0,029 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,069	± 0,012 <sup>a</sup>	34,56	± 4,75 <sup>b</sup>	1,70	± 0,46 <sup>a</sup>
500	0,305	± 0,080 <sup>a</sup>	0,130	± 0,126 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,070	± 0,024 <sup>a</sup>	62,41	± 79,19 <sup>b</sup>	2,40	± 0,80 <sup>a</sup>
1000	0,272	± 0,065 <sup>a</sup>	0,081	± 0,036 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,071	± 0,032 <sup>a</sup>	40,55	± 18,91 <sup>b</sup>	2,20	± 0,40 <sup>a</sup>
2000	0,310	± 0,080 <sup>a</sup>	0,056	± 0,030 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,110	± 0,049 <sup>a</sup>	26,60	± 10,76 <sup>b</sup>	2,11	± 0,74 <sup>a</sup>
4000	0,304	± 0,086 <sup>a</sup>	0,066	± 0,029 <sup>a</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,081	± 0,024 <sup>a</sup>	27,71	± 9,43 <sup>b</sup>	2,11	± 0,57 <sup>a</sup>

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

#### **4.2.3 Terceira repetição**

Para este teste as teleóginas tiveram seus pesos no intervalo de 0,258g e 0,481g, e a média ficou em 0,328g. Os maiores pesos entre todos os tratamentos com o piriproxifen, porém as médias entre as concentrações ficaram equilibrados, e não apresentaram diferenças estatísticas entre eles (tabela 7).

As médias referentes ao peso das posturas comprovaram a tendência dos tratamentos anteriores, em que o aumento das concentrações leva a diminuição da produção dos ovos, somente as três primeiras concentrações não apresentaram diferença estatística em relação ao controle. No grupo controle (0,168g) o resultado foi 61,71% maior que a concentração máxima (0,066g) do teste (tabela 7).

A ecldibilidade observada apresentou a tendência de queda contínua nas concentrações de 15,62; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000, e 4000ppm, demonstrada respectivamente pelos resultados 66,9; 73,56; 37,9; 0,5; 0; 0; 0; 0; 0%. Que representou uma forte inibição da eclosão dos grupos tratados. Acompanhada pela queda das eficiências reprodutivas, que apresentou diferenças estatísticas a partir da concentração de 125 em relação ao grupo controle, e na concentração de 250 ppm e maiores apresentou resultado zero, demonstrando a ação do produto sobre a inibição do processo de formação dos ovos e desenvolvimento das larvas.

O peso das quenóginas após a postura se apresentou em constante elevação junto ao aumento das concentrações, e a partir da concentração de 125ppm passa a apresentar diferença estatística em comparação com o controle, associado a isso ocorreu a redução do índice de nutrição, que já apresentou diferença na concentração de 62.5ppm. As fêmeas dos grupos controle e das menores concentrações converteram melhor o alimento ingerido. Com o aumento das concentrações ocorre uma maior interferência do hormônio juvenil e redução da postura e aumento final do peso das quenóginas. A diferença entre o peso médio das quenóginas da maior concentração (0,113g), com o a do grupo controle (0,060g) foi de 88,34%, e a redução no índice de nutrição entre os mesmos grupos foi de 42,02%

O período de prépostura variou entre três e cinco dias, tendo como média final de 3,44 dias, sem apresentar diferenças estatísticas entre os grupos.

Tabela 7 Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões do terceiro teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de piriproxifen.

Concentração [ppm]	Peso TeleóGINA		Peso Postura		Eclodibilidade (%)		Inibição da eclosão (%)		Correção da Inibição da eclosão		Fator de Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Reprodutiva (%)		Peso das QuenóGINAS		Índice de nutrição		Período de pré oviposição	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Placebo	0,304	± 0,024 <sup>a</sup>	0,168	± 0,029 <sup>a</sup>	91,3	± 8,5	8,7	± 8,5	1006880,92	± 175360,27 <sup>a</sup>	0,060	± 0,013 <sup>a</sup>	68,34	± 5,92 <sup>a</sup>	3,70	± 0,46 <sup>a</sup>				
15,62	0,337	± 0,045 <sup>a</sup>	0,169	± 0,035 <sup>a</sup>	66,9	± 31,6	33,1	± 31,6	26,7	691244,30	± 342512,56 <sup>a</sup>	31,35	0,065	± 0,010 <sup>a</sup>	61,75	± 6,29 <sup>a</sup>	3,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
31,25	0,318	± 0,030 <sup>a</sup>	0,139	± 0,051 <sup>a</sup>	73,6	± 17,8	26,4	± 27,8	19,4	648966,36	± 288527,49 <sup>a</sup>	35,55	0,084	± 0,041 <sup>a</sup>	56,90	± 19,96 <sup>a</sup>	3,11	± 0,57 <sup>a</sup>		
62,5	0,320	± 0,042 <sup>a</sup>	0,138	± 0,036 <sup>a</sup>	37,9	± 33,3	62,1	± 33,3	58,5	376298,15	± 344964,22 <sup>a</sup>	62,63	0,072	± 0,011 <sup>a</sup>	55,72	± 10,83 <sup>b</sup>	3,60	± 0,66 <sup>a</sup>		
125	0,323	± 0,036 <sup>a</sup>	0,093	± 0,018 <sup>b</sup>	0,5	± 1,5	99,5	± 1,5	99,5	4184,62	± 12553,85 <sup>b</sup>	99,58	0,094	± 0,027 <sup>b</sup>	40,76	± 5,78 <sup>b</sup>	3,50	± 0,50 <sup>a</sup>		
250	0,365	± 0,055 <sup>a</sup>	0,090	± 0,015 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,109	± 0,019 <sup>b</sup>	35,63	± 5,53 <sup>b</sup>	3,20	± 0,40 <sup>a</sup>		
500	0,347	± 0,046 <sup>a</sup>	0,084	± 0,014 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,097	± 0,017 <sup>b</sup>	33,56	± 3,76 <sup>b</sup>	3,40	± 0,49 <sup>a</sup>		
1000	0,334	± 0,045 <sup>a</sup>	0,074	± 0,025 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,109	± 0,029 <sup>b</sup>	34,48	± 15,41 <sup>b</sup>	3,30	± 0,64 <sup>a</sup>		
2000	0,321	± 0,035 <sup>a</sup>	0,077	± 0,014 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,086	± 0,014 <sup>a</sup>	32,81	± 4,66 <sup>b</sup>	3,40	± 0,49 <sup>a</sup>		
4000	0,326	± 0,045 <sup>a</sup>	0,066	± 0,024 <sup>b</sup>	0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00 <sup>b</sup>	100,00	0,113	± 0,054 <sup>b</sup>	28,72	± 10,47 <sup>b</sup>	3,56	± 0,50 <sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

#### **4.2.4 Médias dos resultados do Piriproxifen**

De forma a entender melhor os resultados apresentados para o piriproxifen foi calculado as médias das três tomadas de tempo, apresentado na tabela 8.

A média dos pesos das teleóginas não apresentou diferenças estatísticas significativas entre os grupos e o controle. As médias foram semelhantes entre si e bem próximas do estabelecido por Drummond (1973) que considera a média do peso de *D. nitens* 0,291g ficando entre os valores de 0,180-0,356g, e dentro do intervalo proposto por Da Silva Rodrigues et al (2016) com valores de 0,105-0,427g.

Para o peso médio das posturas o aumento das concentrações influenciou nos valores finais. As quatro maiores concentrações (500; 1000; 2000; e 4000ppm) apresentaram diferenças estatísticas significantes (0,099; 0,074; 0,063; 0,061g) quando comparadas com o grupo controle (0,141g) (tabela 8). O piriproxifen também tem sua ação no desenvolvimento ovariano das teleóginas diminuindo a sua oviposição.

É possível notar a ação do piriproxifen inibindo fortemente a eclosão das larvas de *D. nitens* mesmo nas menores concentrações (tabela 8). A partir de 500ppm ja ocorreram as inibições mais fortes com 95,9%. Nas concentrações seguintes 1000; 2000; e 4000ppm os resultados foram de 100% para todas elas. Para Ribeiro (2010) a inibição da eclosão para *R. sanguineus* obtida em coelhos tratados com piriproxifen nas concentrações de 1; 1,5; e 2% foi de 60,03; 71,22; 76,25% respectivamente, apresentando moderada eficácia de inibição da eclosão das larvas. Um dado relatado por Ribeiro (2010) também foi notado no presente trabalho, ocorreram alterações na coloração da massa de ovos das teleóginas provenientes dos grupos tratados que se apresentava mais escurecida com aparência ressecada e esfarelada quando comparada a postura proveniente das fêmeas ingurgitadas grupo controle.

Para a eclodibilidade, que caminha junto com a inibição de eclosão, a média da concentração de 500ppm foi de 4,1% de eclodibilidade, enquanto que as concentrações acima disso ficaram em zero (tabela 8). Diferente do que aconteceu com Avelar (2018), que trabalhando com *R. microplus* em concentrações próximas deste estudo não alcançou resultados semelhantes, sua eclodibilidade nas maiores concentrações 500; 1000; 2000; e 4000ppm foi de 53; 24,08; 32,27; e 19,33% de eclodibilidade respectivamente. Demonstrando a excelente inibição da formação de larvas que o piriproxifen exerceu sobre o *D. nitens*. Essa ação estava associada com o fato desse análogo do hormônio juvenil penetrar nos ovos ainda em formação e impedir a embriogênese.

Na eficiência reprodutiva ocorreu diferença estatística significante em relação ao grupo controle para seis das nove médias dos grupos tratados. Para as quatro maiores concentrações, como ja era esperado, e para 62,5 e 125ppm.

Quando se olha as médias dos pesos das quenóginas dos grupos tratados com o piriproxifen apenas as duas últimas concentrações sofreram a influência do produto (tabela 8). A concentração de 4000 ppm (0,092g) apresentou um peso 35,29% maior que o grupo controle (0,068g), ou seja, sua conversão alimentar foi bem menor que as teleóginas do grupo controle que não entraram em contato com o produto.

Na média dos índices de conversão alimentar é possível notar na tabela 8, que somente as três menores concentrações não apresentaram diferenças estatísticas significativas em relação ao grupo controle, todas as outras foram influenciadas pela ação do piriproxifen que age nas primeiras fases da embriogênese e diminui a produção dos ovos pelas fêmeas ingurgitadas.

Como aconteceu com o fluazuron a ação do piriproxifen não influenciou no período de prépostura dos grupos tratados, todos estiveram concentrados na média de três dias, e isso

concorda com Drummond et al. (1969) que usa a média de quatro dias (três a cinco dias), e Da Silva Rodrigues com o intervalo de três a seis dias)

Quando foram realizados as análises estatísticas pelo Probit o piriproxifen apresentou um slope de 1,561 com erro padrão de  $\pm 0,036$ . A CL<sub>50</sub> foi de 50,029ppm com limite inferior de 36,263ppm, e limite superior de 65,678ppm. A CL<sub>90</sub> de 331,441ppm, com o limite inferior de 228,945ppm, e o limite superior de 567,164ppm. E o R<sup>2</sup> linear de 0,972. E quando se analisou comparativamente a potência relativa do fluazuron com o piriproxifen o resultado foi que o piriproxifen se apresenta 3,057 vezes mais potente que o fluazuron.

#### 4.2.4.1 Eficácia sobre a eficiência reprodutiva das teleóginas tratadas com piriproxifen

Para as médias das eficárias as quatro maiores concentrações apresentaram os maiores resultados, para 500; 1000; 2000; e 4000ppm, foram respectivamente 95,14; 100; 100; e 100% (Tabela 8) Resultados que demonstram a excelente capacidade do piriproxifen de inibir a eficiência reprodutiva do *D. nitens*. Mesmo em menores concentrações a partir de 62,2ppm apresentaram resultados maiores que 50% de eficácia. Para outros trabalhos os resultados não foram os mesmos.

Avelar (2018) apresentou para as mesmas concentrações (500; 1000; 2000; e 4000ppm) as eficárias de 53,9; 81,1; 75,6; e 85,7 %, demonstrando somente uma moderada eficácia da inibição da eficiência reprodutiva para teleóginas de *R. microplus*. Evidenciando a necessidade de se fazer testes individuais com as espécies diferentes de carapato, já que uma moderada eficácia do produto sobre um ixodídeo pode não apresentar o mesmo resultado para outro.

Em concordância com Avelar (2018), Ribeiro (2010) Apresentou moderada a boa eficácia sobre *R sanguineus* quando tratou por via tópica coelhos com três grupos com as concentrações 1; 1,5; e 2% de piriproxifen, seus resultados foram 68,13; 74,92; e 80,71%. Deve se levar em consideração os resultados apresentados pro Ribeiro (2010) o fato do autor ter usado uma espécie animal que apresenta sua gordura corporal diferente e diferente deposição do produto, o metabolismo do piriproxifen é diferente assim como a sua mobilização ao longo do tempo decorrido do tratamento.

No trabalho apresentado por Aboelhadid et al (2018) apresentou resultados com baixa eficácia quando tratou teleóginas de *R annulatus* com cinco concentrações de piriproxifen (0,09; 0,18; 0,36; 0,72; e 1,44mg/ml) com resultados de 33,3; 32,2; 21,1; 23,9% de eficácia quando comparadas ao grupo controle, e as três maiores apresentaram diferenças estatísticas em relação ao grupo controle. Resultados muito abaixo do que seriam o ideal para o tratamento, não podendo ser considerado uma alternativa para o controle das infestações por *R. annulatus*.

Sendo levado em consideração os resultados apresentados pelo presente trabalho o piriproxifen tem um potencial muito grande de ser um excelente produto para o controle de *D nitens*. Como esse carapato é de ciclo monoxeno não é possível avaliar *in vitro* a ação do produto sobre a muda de larvas e ninfas ingurgitadas. O ideal seriam teste realizados em equídeos para se comprovar a ação desse IGR para o controle desse parasito

Tabela 8 Peso médio das teleóginas e das posturas, porcentagem média da eclodibilidade e da eficiência reprodutiva fator de correção da mortalidade, média da eficiência reprodutiva e porcentagem média da eficácia, médias dos pesos das quenóginas e do índice nutricional e média do período de préoviposição, com seus respectivos desvios padrões da média das três tomadas de tempo do teste de imersão de adultos de *Dermacentor nitens*, em diferentes concentrações de piriproxifen.

Concentração [ppm]	Peso TeleóGINA				Peso Postura				Eclodibilidade (%)				Inibição da eclosão (%)		Correção da Inibição da eclosão	Fator de Eficiência Reprodutiva		Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)				Peso das QuenóGINAS		Índice de nutrição		Período de pré-oviposição															
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP																
Placebo	0,286	± 0,051	<sup>a</sup> 0,141	± 0,055	<sup>a</sup> 85,7	± 22,2	14,3	± 24,7	0,0	892433,75	± 319831,62	<sup>a</sup>	0,00	0,068	± 0,031	<sup>a</sup> 61,41	± 18,05	<sup>a</sup> 3,42	± 0,51	<sup>a</sup>	15,62	0,295	± 0,059	<sup>a</sup> 0,138	± 0,039	<sup>a</sup> 63,9	± 27,3	36,1	± 27,3	25,6	633972,87	± 292337,66	<sup>a</sup>	28,83	0,062	± 0,015	<sup>a</sup> 58,40	± 8,08	<sup>a</sup> 3,33	± 0,43	<sup>a</sup>
31,25	0,292	± 0,057	<sup>a</sup> 0,124	± 0,043	<sup>a</sup> 57,6	± 24,9	42,4	± 28,3	33,2	512061,35	± 287969,71	<sup>a</sup>	41,76	0,072	± 0,030	<sup>a</sup> 55,00	± 12,52	<sup>a</sup> 3,40	± 0,42	<sup>a</sup>	62,5	0,283	± 0,065	<sup>a</sup> 0,118	± 0,049	<sup>a</sup> 37,2	± 31,1	62,8	± 30,7	56,0	347892,14	± 305996,29	<sup>b</sup>	57,25	0,066	± 0,019	<sup>a</sup> 53,14	± 14,66	<sup>a</sup> 3,37	± 0,68	<sup>a</sup>
125	0,291	± 0,061	<sup>a</sup> 0,102	± 0,043	<sup>a</sup> 19,5	± 20,0	80,5	± 19,7	76,0	185940,83	± 188425,14	<sup>b</sup>	74,55	0,080	± 0,027	<sup>a</sup> 46,02	± 13,80	<sup>b</sup> 3,34	± 0,52	<sup>a</sup>	250	0,308	± 0,067	<sup>a</sup> 0,095	± 0,031	<sup>a</sup> 16,2	± 10,2	83,8	± 10,2	79,9	133397,09	± 91191,72	<sup>a</sup>	81,10	0,081	± 0,017	<sup>a</sup> 41,25	± 6,61	<sup>b</sup> 3,03	± 0,42	<sup>a</sup>
500	0,302	± 0,067	<sup>a</sup> 0,099	± 0,060	<sup>b</sup> 4,1	± 5,9	95,9	± 5,9	94,9	34326,07	± 49879,89	<sup>b</sup>	95,14	0,075	± 0,021	<sup>a</sup> 45,60	± 31,19	<sup>b</sup> 3,30	± 0,53	<sup>a</sup>	1000	0,290	± 0,053	<sup>a</sup> 0,074	± 0,027	<sup>b</sup> 0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00	<sup>b</sup>	100,00	0,082	± 0,027	<sup>a</sup> 36,32	± 13,15	<sup>b</sup> 3,23	± 0,48	<sup>a</sup>
2000	0,298	± 0,061	<sup>a</sup> 0,063	± 0,022	<sup>b</sup> 0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00	<sup>b</sup>	100,00	0,00	± 0,00	<sup>b</sup> 30,04	± 6,75	<sup>b</sup> 3,27	± 0,56	<sup>a</sup>	4000	0,298	± 0,062	<sup>a</sup> 0,061	± 0,022	<sup>b</sup> 0,0	± 0,0	100,0	± 0,0	100,0	0,00	± 0,00	<sup>b</sup>	28,63	± 8,35	<sup>b</sup>	3,32	± 0,51	<sup>a</sup>		

DP= Desvio Padrão

ab- Letras minúsculas iguais entre médias da mesma coluna não diferem significativamente entre si ( $p>0,05$ ).

## **5 Conclusão**

Com a finalização dos resultados se conclui que o uso do fluazuron apresenta elevada eficácia para controle de *D. nitens* apresentada em testes *in vitro*.

O piriproxifen apresenta uma excelente eficácia para controle de *D. nitens* quando se usa os testes *in vitro*, E que apresenta uma potência relativa 3,057 vezes maior que o fluazuron.

## **6 Considerações Finais**

O uso racional dos produtos carrapaticidas presentes no mercado deve sempre ser considerado quando se pretende levar os resultados obtidos em laboratório para os animais a campo.

Algumas moléculas que apresentam mecanismos de ação semelhantes a outras podem ter potencial para serem usadas nos rebanhos que se apresentam com ectoparasitos multirresistentes aos fármacos a que já tiveram contato. Até o momento ainda não foi relatado populações de *D. nitens* resistentes a várias categorias de carrapaticidas, mesmo sendo usados apenas os piretróides para seu controle.

Devido a característica dos equídeos serem mais sensíveis a uma grande variedade de fármacos, que outras espécies animais, é necessário que o teste com o carapato que leva a muitos prejuízos as criações sejam iniciadas o quanto antes. Para que no momento em que for necessário o uso de novos medicamentos esses resultados possam ser levados em consideração.

Como os reguladores de crescimento apresentam resultados a longo prazo apresentam um potencial considerável para o controle dos carrapatos dos equídeos. O fluazuron já se encontra no mercado e apresenta indicação para o uso em uma espécie de parasito que pode vir a parasitar o cavalo também, o *R. microplus*. Quando se associa isso aos resultados obtidos no presente trabalho o fluazuron tem um abundante potencial para o controle de *D. nitens* em cavalos.

Já no caso do piriproxifen a sua recomendação é para o controle de insetos. Porém os resultados apresentados aqui neste trabalho apontam para um potencial excelente para o controle dos carrapatos dos equídeos. Pode ser visto pelas concentrações mais baixas apresentarem resultados muito bons, isso aponta para obtenção dos resultados desejados com doses menores de produto diminuindo as chances de efeitos colaterais nos animais.

Tudo isso só poderá ser concretizado com os testes em animais, em que poderá se obter o resultado desejado e concretizar o fluazuron e o piriproxifen como alternativas viáveis para o controle das populações de *D. nitens* nos equídeos.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOELHADID, S. M.; ARAFA, W. M.; WAHBA, A. A.; MAHROUS, L. N.; IBRAHIUM, S. M.; HOLMAN, P. J. Effect of high concentrations of lufenuron, pyriproxyfen and hydroprene on *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. **Veterinary parasitology**, v. 256, p. 35-42, 2018.
- ANDERSON, J. F. The natural history of ticks. **Medical Clinics**, v. 86, n. 2, p. 205-218, 2002.
- ANDERSON, J. F. A.; MAGNARELLI, L. A. Biology of Ticks. **Infectious Disease Clinics of North America**. V. 22, p. 195-215. 2008.
- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. D. Notas de ixodologia: VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira: notas de ixodologia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 59, n. 2, p. 115-129. 1961.
- AVELAR, B. R. de. **Uso de diferentes Reguladores de Crescimento como alternativa no controle de *Rhipicephalus microplus***. 119f. Tese (Doutorado) Seropédica: Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2018.
- BACCI, L.; LUPI, D.; SAVOLDELLI, S.; ROSSARO B., A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. **Journal of Entomological and Acarological Research**. v 48:5653, p 40-52. 2016.
- BARBOZA, H. T. G.; NASCIMENTO, X. P. R.; FREITAS-SILVA, O.; SOARES, A. G.; DACOSTA, J. B. N. Compostos organofosforados e seu papel na agricultura. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 1, 2018.
- BASTOS, K. M. S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.; DA CUNHA, D. W. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a fase não parasitárias de *Dermacentor (Anocentor) nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório. **Rev. Bras. Parasitol. Vet**, v. 5, n. 1, p. 29-32, 1996.
- BATISTA, L. C. de S. O.; VIEIRA, V. P. DA C.; CORREIA, T. R.; SANTOS, E. C. F. dos; FAZIO JUNIOR, P. I.; FLORENCIO, C. do N.; CARNEIRO, M. B.; SCOTT, F. B.; COUMENDOUROS, K. Eficácia *In vitro* de uma Formulação Aerossol de Piriproxifen e Ciflutrina no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae). **Revista Brasileira Medicina Veterinária**. v.34; n.1, p.41-45, 2012.
- BELLO, A. C. P. D. P.; DA CUNHA, A. P.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; RIBEIRO, C. C.; DOMINGUES, L. N.; DALLA ROSA, R. C. Controle de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897)(Acari: Ixodidae) em equinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 59-63. 2008.
- BELOZEROV, V. N. Effects of Juvenoids and Retinoic Acid on Development of Larvae and Nymphs in the Tick *Ixodes ricinus* L. (Acari, Ixodidae) and Regeneration of Haller's Organ during Metamorphosis. **Russian Journal of Developmental Biology**. v.34, n. 1, p.42–50, 2003.
- BENNET, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acari: Ixodidae) 1. Influence

of Tick Size on Egg Production. **Acarologia**, vol. 16, no. 1, pp. 52–61, 1974.

BLAGBURN, B. L.; DRYDEN, M. W. Biology, treatment, and control of flea and tick infestations. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, p. 1173-1200, 2009.

BORGES, L. M. F.; OLIVEIRA, P. R.; LISBOA, C. L. M.; RIBEIRO, M. F. B. Hoarse resistance to natural infestations of *Anocentor nitens* and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 104, p. 265-273, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Revisão do Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. Brasília. 2016.

BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging infectious diseases**, v. 4, n. 4, p. 605, 1998.

BULL, M. S.; SWINDALE, S.; OVEREND, D.; HESS, E. A. Suppression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron—an acarine growth regulator. **Australian veterinary journal**, v74, n. 6, p. 468-470. 1996.

COELHO, C. N.; COUMENDOUROS, K.; CORREIA, T. R.; OLIVEIRA, G. F.; TAVEIRA, M. M.; CALADO, S. B.; AVELAR, B. R.; NASCIMENTO, C. G.; SCOTT, F. B. Associação de abamectina com fluazuron no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus* em bovinos naturalmente infestados. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 37, n. 1, p. 51-54, 2015.

CORREIA, T. R. Eficácia do Inibidor de Crescimento de Insetos Pyriproxyfen Associado ao Piretróide D-phenotrina no Controle de *Ctenocephalides felis felis* (BOUCHÉ, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) em Cães, Gatos e no Ambiente. 2003, 52f. Dissertação (Mestrado): Seropédica: Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2003.

DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 14, n. 1, p. 30-46. 2009.

DA SILVA RODRIGUES, V.; GARCIA, M. V.; CRUZ, B. C.; MACIEL, W. G.; ZIMMERMANN, N. P.; KOLLER, W. W.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 8, n. 3, p. 379-384, 2017.

DESPINS, J. L. Effects of temperature and humidity on ovipositional biology and egg development of the tropical horse tick, *Dermacentor (Anocentor) nitens*. **Journal of medical entomology**, v. 29, n. 2, p. 332-337, 1992.

DE LA FUENTE, J., ESTRADA-PENA, A., VENZAL, J. M., KOCAN, K. M., & SONENSHINE, D. E. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Front Biosci**, v. 13, n. 13, p. 6938-6946. 2008.

DE LA FUENTE J., KOCAN K.M & CONTRERAS, M. Prevention and control strategies for ticks and pathogen transmission. **Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)**, v. 34, n. 1, p. 249-264, 2015.

DHADIALLA, T. S.; CARLSON, G. R.; LE, D. P. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. **Annual review of entomology**, v. 43, n. 1, p. 545-569, 1998.

DONAHUE, W. A.; TEEL, P. D.; STREY, O. F.; MEOLA, R. W. Pyriproxyfen effects on newly engorged larvae and nymphs of the lone star tick (Acaris: Ixodidae). **Journal of medical entomology**, v. 34, n. 2, p. 206-211, 1997.

DOUCET, D.; RETNAKARAN, A. Insect chitin: metabolism, genomics and pest management. In **Advances in insect physiology**, vol. 43, 437-511. Academic Press. 2012.

DRUMMOND, R. O.; WHETSTONE, T. M.; ERNST, S. E.; GLADNEY, W. J. Laboratory study of *Anocentor nitens* (Neumann) (Acarina: Ixodidae), the tropical horse tick. **Journal of medical entomology**, v. 6, n. 2, p.150-154, 1969.

DRUMMOND, R. O.; GLADNEY, W. J.; WHETSTONE, T. M.; ERNST, S. E. Testing of insecticides against the tropical horse tick in the laboratory. **Journal of economic entomology**, v. 64, n. 5, p. 1164-1166, 1971.

DRUMMOND, R. O.; CRUST, S. F.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n. 1, p.130–133, 1973.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A. Biology and Control of Ticks Infesting Dogs and Cats in North America, **Veterinary Therapeutics**, v.5, n. 2, p. 139-154, 2004.

DRYDEN, M. W. Flea and tick control in the 21st century: challenges and opportunities. **Veterinary dermatology**, v. 20, n. 5-6, p. 435-440, 2009.

FAUSTINO, M.; RAMOS, J.; OLIVEIRA, M. Estudo comparativo de dados bioecológicos da fase não parasitária de *Anocentor nitens* (Acaris: Ixodidae) (Neumann, 1897) em dois ambientes experimentais no Recife-PE. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 8, n. 1, p. 43-52, 2005.

FILAZI, A.; YURDAKOK-DIKMEN, B. Amitraz. In: **Veterinary Toxicology**. Academic Press, 2018. p. 525-531.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico-veterinária**. NBL editora, 3<sup>a</sup> ed. 1985.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 1998 Residues of some veterinary drugs in animals and foods: Fluazuron. Rome. 1999

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 2004. Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants – Guidelines, Module 1 – Ticks: Acaricide Resistance: Diagnosis, Management and Prevention. Food And Agriculture Organization, Animal Production And Health Division, Rome, p. 25–77. 2014.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), 2011 Specifications and Evaluations for Agricultural Festicides: Pyriproxyfen. Rome. 2011

GAUDÊNCIO, F. N.; CORDEIRO, M. D.; RODRIGUES, J. D. A. V.; BAÊTA, B. A.; BITTENCOURT, V. R. E. P.; DA FONSECA, A. H; ANGELO, I. C.; PINHEIRO, J. Effects of fluazuron on the biological parameters of engorged females of *Rhipicephalus microplus*. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 39, n. 04, p. 231-238, 2017.

GEORGE, J. E.; POUND, J. M.; DAVEY, R. B. Chemical control of ticks on cattle and the resistance of these parasites to acaricides. **Parasitology**, v. 129, n. S1, p. S353-S366, 2004.

GINJUPALLI, G. K.; BALDWIN, W. S. The time-and age-dependent effects of the juvenile hormone analog pesticide, pyriproxyfen on *Daphnia magna* reproduction. **Chemosphere**, v. 92, n. 9, p. 1260-1266, 2013.

GRAF, J. F. The role of Insect Growth Regulators in Arthropod Control. **Parasitology Today**, v. 9, n. 12, p. 471-474, 1993.

GRAF, J. F.; GOGOLEWSKI, R.; LEACH-BING, N.; SABATINI, G. A.; MOLENTO, M. B.; BORDIN, E. L.; ARANTES, G. J. Tick control: an industry point of view. **Parasitology**, 129, S427-S442, 2004.

GUERRERO, F. D.; PÉREZ DE LEÓN, A. A.; RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; JONSSON, N.; MILLER, R. J.; ANDREOTTI, R. Acaricide research and development, resistance and resistance monitoring. **Biology of ticks**, v. 2, p. 353e381, 2014.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, n. S1, p. S3-S14, 2004.

KAUFMAN, W. R. Tick-host interaction: A synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, v.5, n.1, p.47–56, 1989.

KERBER, C. E.; LABRUNA, M. B.; FERREIRA, F.; DE WAAL, D. T.; KNOWLES, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p1-8. 2009.

KOLLER, W.; RODRIGUES, V. D. S.; GARCIA, M.; BARROS, J.; SILVA, R. Biologia e controle de *Dermacentor nitens*: o carapato-da-orelha-do cavalo. **Embrapa Gado de Corte-Documentos (INFOTECA-E)**. 2017.

KRYGER, U.; DESCHODT, C.; SCHOLTZ, C. H. Effects of fluazuron and ivermectin treatment of cattle on the structure of dung beetle communities. **Agriculture, ecosystems & environment**, v. 105, n. 4, p. 649-656, 2005.

LABRUNA, M. B.; KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L. H. DE WAAL, D. T.; GENNARI, S. M. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 97(1), 1-14. 2001.

LABRUNA, M. B.; AMAKU, M. Rhythm of engorgement and detachment of *Anocentor nitens* females feeding on horses **Veterinary Parasitology**, 137, 316-332, 2006.

MAHARAJAN, K.; MUTHULAKSHMI, S.; NATARAJ, B.; RAMESH, M.; KADIRVELU, K. Toxicity assessment of pyriproxyfen in vertebrate model zebrafish embryos (*Danio rerio*): A multi biomarker study. **Aquatic Toxicology**, v. 196, p. 132-145, 2018.

MELO, R. M. P. S. **Morfologia e biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodidae) submetido ao regulador de crescimento de artrópodes fluazuron.** 2007, 43f. Dissertação (Mestrado): Seropédica: Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.

MILLER, R. J.; GEORGE, J. E.; GUERRERO, F.; CARPENTER, L.; WELCH, J. B. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center Panama. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 2, p. 298–301, 2001.

MURRELL, A.; CAMPBELL, N. J. H.; BARKER, S. C. A total-evidence phylogeny of ticks provides insights into the evolution of life cycles and biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 21, n. 2, p. 244-258, 2001.

OBENCHAIN, F. D.; GALUN, R. (Ed.). **Physiology of ticks: current themes in tropical science.** Elsevier, 2013.

OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018 – CHAPTER 2.5.8-Equine Piroplasmosis. Disponível em <http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/> Acesso em 10/12/2018.

OLIVEIRA, P. R.; CALLIGARIS, I. B.; ROMA, G. C.; BECHARA, G. H.; PIZARO, M. A.; MATHIAS, M. I. C. Potential of the insect growth regulator, fluazuron, in the control of *Rhipicephalus sanguineus* nymphs (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): Determination of the LD<sub>95</sub> and LD<sub>50</sub>. **Experimental Parasitology**, v.131, p.35–39, 2012.

OLIVEIRA, P. R.; CALLIGARIS, I. B.; NUNES, P. H.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Fluazuron-induced morphological changes in *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acari: Ixodidae) nymphs: An ultra-structural evaluation of the cuticle formation and digestive processes. **Acta tropica**, v. 133, p. 45-55. 2014.

PETER, R. J.; VAN DEN BOSSCHE, P.; PENZHORN, B. L.; SHARP, B., Tick, fly, and mosquito control—lessons from the past, solutions for the future. **Veterinary Parasitology**, v. 132, n. 3-4, p. 205-215, 2005.

RECK, J.; KLAFKE, G. M.; WEBSTER, A.; DALL'AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U. A.; CORASSINI, V. B.; VARGAS, R.; SANTOS, J. S.; DE SOUZA MARTINS, J. R. First report of fluazuron resistance in *Rhipicephalus microplus*: a field tick population resistant to six classes of acaricides. **Veterinary parasitology**, v. 201, n. 1-2, p. 128-136. 2014.

RIBEIRO, F. A. **Ação do regulador de crescimento de Artrópodes, Piriproxifen sobre *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), em infestações artificiais, em coelhos.** 2010,

65f. Dissertação (Mestrado): Seropédica: Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2010.

SANAVRIA, A.; PRATA, M. C. A. Ensaio metodológico para estudo do ciclo biológico do Anocentor nitens (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em eqüinos experimentalmente infestados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, n. 2, p. 91-93, 1996.

SÁNCHEZ-BAYO, F. Ecological Impacts of Insecticides. **Insecticides-Advances in Integrated Pest Management**. P 31-90, 2012.

SANTOS, M. D.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides—uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, 2008.

SCHWINT, O. N.; KNOWLES, D. P.; UETI, M. W.; KAPPMEYER, L. S.; SCOLES, G. A. Transmission of *Babesia caballi* by *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae) is restricted to one generation in the absence of alimentary reinfection on a susceptible equine host. **Journal of medical entomology**, v.45n. 6, p. 1152-1155. 2008.

SCOLES, G. A.; UETI, M. W. Vector ecology of equine piroplasmosis. **Annual review of entomology**, v. 60, p. 561-580. 2015.

SCOTT, F. B.; MARTINS, V. F.; SOUZA, C. P.; CORREIA, T. R., Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. **A Hora Veterinária**, v. 21, n. 125, p. 13-18, 2002.

SERRA-FREIRE, N. M.; MIZIARA, S. R. Influência do Hospedeiro no Ciclo e Comprovação do Ciclo Heteroxeno de *Anocentor nitens* (NEUMANN, 1897). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, n. 4, p. 213-218, 1989.

SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. **Biology of Ticks**. Volume 1. 2ºed. Cidade. Editora Oxford University Press. 2014. p.540.

STAAL, G. B. Insect growth regulators with juvenile hormone activity. **Annual review of entomology**, v. 20, n. 1, p. 417-460, 1975.

TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasiticides. **The Veterinary Journal**, v.161, p.253–268, 2001.

TURBERG, A. Ectoparasiticides: Inhibitors of Arthropod Development. **Encyclopedia of Parasitology**, p. 1-7, 2014.

USDA-APHIS, 2010. **A Literature Review of Equine Piroplasmosis**. Acesso 14 de agosto, 2018.

[https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/animal\\_diseases/piroplasmosis/downloads/ep\\_literature\\_review\\_september\\_2010.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/animal_diseases/piroplasmosis/downloads/ep_literature_review_september_2010.pdf)

VASCONCELOS, V. O.; COSTA, E. G. L.; MOREIRA, V. R.; MORAIS-COSTA, F.; DUARTE, E. R. Efficacy of plants extracts from the Cerrado against adult female of *Dermacentor nitens* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 4, p. 419-427, 2018

VIEIRA, V. P. C. **Atividade do fluazuron administrado por via oral no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães.** 2012, 56f. Dissertação (Mestrado): Seropédica: Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.

WISE, L. N.; KAPPMEYER, L. S.; MEALEY, R. H.; KNOWLES, D. P. Review of equine piroplasmosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 6, p. 1334-1346. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Chemical Methods for the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance. 1997

## ANEXOS

### ANEXO A



**UFRRJ**  
Universidade Federal Rural  
do Rio de Janeiro

Comissão de Ética no  
Uso de Animais  
Instituto de Veterinária



### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Morfologia e Biologia de Dermacentor (Anocentor) nitens Submetido ao Regulador de Crescimento de Artrópodes Fluazuron", protocolada sob o CEUA nº 8808260617 (nº 00098), sob a responsabilidade de **Fabio Barbour Scott** e equipe; Rosângela Rodrigues dos Santos - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 07/06/2018.

We certify that the proposal "Morphology and Biology of Dermacentor (Anocentor) nitens Submitted to Arthropod Growth Regulator Fluazuron", utilizing 12 Equines (males and females), protocol number CEUA 8808260617 (nº 00098), under the responsibility of **Fabio Barbour Scott and team; Rosângela Rodrigues dos Santos** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 06/07/2018.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **06/2018** a **12/2018**

Área: **Parasitologia Animal**

Origem: **Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O.Neitz, DPA/IV/UFRRJ**

Espécie: **Equídeos**

Sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **07 a 28 meses**

N: **12**

Linhagem: **Mini ponei**

Peso: **100 a 300 kg**

Local do experimento: O ensaio será realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária e na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O Neitz do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Br 465, Km 7, Seropédica, RJ

Seropédica, 02 de abril de 2019

*Fabio B. Scott*

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

*Carlos Alexandre Rey Matias*

Vice-Cordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

**ANEXO B.** Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de ecldobilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de pré-oviposição para fluazuron no primeiro ensaio.

Concentração [ppm]	Peso da TeleóGINA (g)	Peso da Postura (g)	Percentual de EclodibilidAdE (%)	Percentual de Mortalidade	EficiêNCIA Reprodutiva	Peso das QuenóGINAS	Indice de nutrição	Periodo de pré oviposião
15,62	0,392	0,235	98	2	1175000	0,086	76,79738562	3
	0,268	0,261	98	2	1908805,97	0,055	122,5352113	4
	0,277	0,172	98	2	1217039,711	0,056	77,8280543	4
	0,277	0,174	100	0	1256317,69	0,051	76,99115044	4
	0,281	0,176	99	1	1240142,349	0,055	77,87610619	4
	0,28	0,167	88	12	1049714,286	0,049	72,29437229	4
	0,26	0,148	67	33	762769,2308	0,053	71,49758454	5
	0,29	0,14	66	34	637241,3793	0,054	59,3220339	4
	0,252	0,138	94	6	1029523,81	0,049	67,98029557	4
	0,296	0,165	96	4	1070270,27	0,058	69,32773109	4
31,25	0,275	0,173	94	6	1182690,909	0,045	75,2173913	3
	0,273	0,158	98	2	1134358,974	0,05	70,85201794	4
	0,268	0,158	27	73	318358,209	0,05	72,47706422	4
	0,3	0,138	97	3	892400	0,094	66,99029126	4
	0,254	0,155	97	3	1183858,268	0,049	75,6097561	4
	0,32	0,199	96	4	1194000	0,067	78,65612648	4
	0,29	0,17	85	15	996551,7241	0,053	71,72995781	3
	0,259	0,138	92	8	980386,1004	0,047	65,09433962	3
	0,256	0,112	59	41	516250	0,092	68,29268293	5
	0,296	0,154	99	1	1030135,135	0,061	65,53191489	4
62,5	0,272	0,15	27	73	297794,1176	0,051	67,87330317	4
	0,317	0,192	27	73	327066,2461	0,061	75	4
	0,289	0,174	95	5	1143944,637	0,043	70,73170732	4
	0,343	0,206	79	21	948921,2828	0,046	69,36026936	3
	0,258	0,149	35	65	404263,5659	0,05	71,63461538	5
	0,271	0,148	62	38	677195,572	0,043	64,9122807	5
	0,254	0,129	4	96	40629,92126	0,073	71,27071823	4
	0,354	0,2	24	76	271186,4407	0,063	68,72852234	3
	0,305	0,171	83	17	930688,5246	0,058	69,23076923	4
	0,323	0,1	12	88	74303,40557	0,068	39,21568627	4
125	0,264	0,148	7	93	78484,84848	0,059	72,19512195	4
	0,323	0,18	5	95	55727,55418	0,073	72	3
	0,368	0,222	64	36	772173,913	0,071	74,74747475	3
	0,319	0,169	6	94	63573,66771	0,079	70,41666667	4
	0,306	0,181	9	91	106470,5882	0,057	72,69076305	3
	0,254	0,146	1	99	11496,06299	0,05	71,56862745	6
	0,365	0,202	2	98	22136,9863	0,072	68,94197952	4
	0,408	0,201	1	99	9852,941176	0,111	67,67676768	3
	0,377	0,219	3	97	34854,11141	0,079	73,48993289	3
	0,322	0,191	4	96	47453,41615	0,064	74,03100775	4
250	0,25	0,145	2	98	23200	0,048	71,78217822	4
	0,253	0,142	1	99	11225,29644	0,048	69,26829268	3
	0,333	0,182	1	99	10930,93093	0,066	68,16479401	4
	0,308	0,172	0	100	0	0,057	68,52589641	4
	0,323	0,195	5	95	60371,51703	0,057	73,30827068	4
	0,368	0,222	0	100	0	0,061	72,31270358	3
	0,317	0,187	0	100	0	0,057	71,92307692	4
	0,417	0,242	10	90	116067,1463	0,081	72,02380952	4
	0,307	0,181	1	99	11791,53094	0,063	74,18032787	4
	0,261	0,144	0	100	0	0,069	75	4
500	0,247	0,144	0	100	0	0,054	74,61139896	4
	0,364	0,237	1	99	13021,97802	0,06	77,96052632	4
	0,299	0,175	1	99	11705,68562	0,062	73,83966245	4
	0,336	0,191	11	89	125059,5238	0,073	72,62357414	4
	0,303	0,096	0	100	0	0,099	47,05882353	4
	0,267	0,155	0	100	0	0,046	70,13574661	4
	0,32	0,186	0	100	0	0,052	69,40298507	4
	0,309	0,188	0	100	0	0,052	73,15175097	4
	0,27	0,16	0	100	0	0,047	71,74887892	4
	0,287	0,157	0	100	0	0,063	70,08928571	4

## ANEXO B. Continuação

1000	0,341	0,203	0	100	0	0,066	73,81818182	4
	0,342	0,201	0	100	0	0,065	72,5631769	3
	0,318	0,138	0	100	0	0,076	57,02479339	4
	0,278	0,172	1	99	12374,10072	0,061	79,26267281	4
	0,252	0,151	0	100	0	0,061	79,05759162	5
	0,308	0,192	0	100	0	0,066	79,33884298	4
	0,32	0,204	37	63	471750	0,061	78,76447876	4
	0,343	0,19	0	100	0	0,086	73,92996109	3
	0,251	0,135	0	100	0	0,053	68,18181818	4
	0,298	0,173	0	100	0	0,063	73,61702128	4
2000	0,343	0,195	0	100	0	0,061	69,14893617	4
	0,335	0,192	0	100	0	0,065	71,11111111	3
	0,253	0,127	0	100	0	0,049	62,25490196	4
	0,3	0,169	0	100	0	0,055	68,97959184	4
	0,33	0,19	4	96	46060,60606	0,071	73,35907336	3
	0,305	0,152	0	100	0	0,077	66,66666667	4
	0,317	0,184	0	100	0	0,054	69,96197719	4
	0,285	0,14	0	100	0	0,06	62,22222222	4
	0,257	0,142	0	100	0	0,047	67,61904762	4
	0,265	0,15	0	100	0	0,058	72,46376812	4
4000	0,307	0,172	0	100	0	0,06	69,63562753	4
	0,284	0,152	0	100	0	0,055	66,37554585	4
	0,315	0,19	0	100	0	0,063	75,3968254	4
	0,368	0,144	0	100	0	0,07	48,32214765	4
	0,278	0,156	0	100	0	0,052	69,02654867	5
	0,37	0,229	0	100	0	0,07	76,33333333	3
	0,274	0,153	0	100	0	0,043	66,23376623	3
	0,26	0,132	0	100	0	0,057	65,02463054	4
	0,287	0,167	0	100	0	0,059	73,24561404	4
	0,318	0,18	0	100	0	0,052	67,66917293	3
Placebo	0,317	0,188	100	0	1186119,874	0,068	75,50200803	4
	0,36	0,196	98	2	1067111,111	0,08	70	4
	0,245	0,128	100	0	1044897,959	0,047	64,64646465	4
	0,225	0,082	90	10	656000	0,088	59,8540146	5
	0,29	0,163	94	6	1056689,655	0,058	70,25862069	4
	0,266	0,148	97	3	1079398,496	0,063	72,90640394	4
	0,3	0,178	100	0	1186666,667	0,058	73,55371901	4
	0,291	0,176	99	1	1197525,773	0,06	76,19047619	5
	0,33	0,202	99	1	1212000	0,059	74,53874539	4
	0,289	0,152	100	0	1051903,114	0,056	65,2360515	4

**ANEXO C.** Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de ecldobilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de pré-oviposição para fluazuron no segundo ensaio.

Concentração [ppm]	Peso da Teleóquina (g)	Peso da Postura (g)	Percentual de Ecdobilidade (%)	Percentual de Mortalidade	Eficiência Reprodutiva	Peso das Quenóginas	Indice de nutrição	Periodo de pré oviposião
15,62	0,275	0,046	0	100	0	0,092	25,13661202	4
	0,231	0,11	97	3	923809,5238	0,053	61,79775281	3
	0,42	0,261	100	0	1242857,143	0,073	75,21613833	2
	0,331	0,195	98	2	1154682,779	0,053	70,14388489	2
	0,264	0,151	94	6	1075303,03	0,047	69,58525346	2
	0,389	0,22	79	21	893573,2648	0,085	72,36842105	2
	0,364	0,192	96	4	1012747,253	0,09	70,0729927	2
	0,276	0	0	100	0	0,151	0	0
	0,34	0,208	92	8	1125647,059	0,056	73,23943662	2
	0,192	0,103	94	6	1008541,667	0,043	69,12751678	3
33,25	0,329	0,186	96	4	1085471,125	0,059	68,88888889	3
	0,301	0,181	97	3	1166578,073	0,055	73,57723577	2
	0,16	0,083	98	2	1016750	0,03	63,84615385	2
	0,353	0,223	100	0	1263456,091	0,059	75,85034014	2
	0,287	0,167	97	3	1128850,174	0,045	69,00826446	3
	0,323	0,174	97	3	1045077,399	0,057	65,41353383	2
	0,245	0,127	95	5	984897,9592	0,05	65,12820513	1
	0,316	0,174	96	4	1057215,19	0,05	65,41353383	3
	0,303	0,168	79	21	876039,604	0,063	70	3
	0,265	0,151	96	4	1094037,736	0,054	71,56398104	3
66,5	0,399	0,204	97	3	991879,6992	0,068	61,63141994	3
	0,403	0,258	97	3	1241985,112	0,067	76,78571429	1
	0,423	0,265	97	3	1215366,43	0,07	75,07082153	3
	0,384	0,226	95	5	1118229,167	0,076	73,37662338	2
	0,245	0,122	99	1	985959,1837	0,045	61	3
	0,285	0,168	97	3	1143578,947	0,045	70	3
	0,31	0,181	98	2	1144387,097	0,052	70,15503876	3
	0,23	0,121	97	3	1020608,696	0,042	64,36170213	2
	0,355	0,205	96	4	1108732,394	0,073	72,69503546	4
	0,161	0,077	94	6	899130,4348	0,042	64,70588235	3
125	0,234	0,091	86	14	668888,8889	0,079	58,70967742	3
	0,482	0,275	95	5	1084024,896	0,105	72,94429708	2
	0,306	0,129	77	23	649215,6863	0,087	58,90410959	2
	0,295	0,175	98	2	1162711,864	0,05	71,42857143	3
	0,433	0,235	98	2	1063741,339	0,097	69,94047619	2
	0,234	0,108	88	12	812307,6923	0,043	56,54450262	3
	0,199	0,102	89	11	912361,809	0,036	62,57668712	3
	0,285	0,158	77	23	853754,386	0,051	67,52136752	3
	0,366	0,218	85	15	1012568,306	0,066	72,66666667	4
	0,353	0,188	79	21	841473,0878	0,061	64,38356164	2
250	0,33	0,191	73	27	845030,303	0,05	68,21428571	3
	0,432	0,251	79	21	918009,2593	0,078	70,9039548	2
	0,4	0,213	0	100	0	0,071	64,74164134	3
	0,299	0,163	29	71	316187,291	0,053	66,2601626	1
	0,29	0,164	85	15	961379,3103	0,05	68,33333333	2
	0,271	0,201	82	18	1216383,764	0,068	99,01477833	3
	0,359	0,214	89	11	1061058,496	0,06	71,57190635	2
	0,45	0,273	55	45	667333,3333	0,085	74,79452055	3
	0,27	0,158	93	7	1088444,444	0,05	71,81818182	3
	0,291	0,087	0	100	0	0,045	35,36585366	3
500	0,295	0,165	33	67	369152,5424	0,051	67,62295082	3
	0,232	0,126	0	100	0	0,046	67,74193548	3
	0,336	0,07	0	100	0	0,07	26,31578947	3
	0,357	0,204	65	35	742857,1429	0,063	69,3877551	1
	0,429	0,249	45	55	522377,6224	0,081	71,55172414	3
	0,353	0,214	86	14	1042719,547	0,063	73,79310345	2
	0,273	0,164	3	97	36043,95604	0,05	73,5426009	3
	0,392	0,234	62	38	740204,0816	0,067	72	2
	0,42	0,229	86	14	937809,5238	0,079	67,15542522	1
	0,192	0,035	18	82	65625	0,059	26,31578947	3

## **ANEXO C. Continuação**

1000	0,341	0,206	20	80	241642,2287	0,063	74,10071942	3
	0,262	0,136	0	100	0	0,039	60,98654709	3
	0,325	0,188	0	100	0	0,052	68,86446886	2
	0,34	0,161	0	100	0	0,066	58,75912409	3
	0,308	0,166	0	100	0	0,053	65,09803922	2
	0,221	0,121	10	90	109502,2624	0,036	65,40540541	1
	0,426	0,248	4	96	46572,76995	0,074	70,45454545	1
	0,349	0,202	5	95	57879,65616	0,054	68,47457627	4
	0,31	0,152	0	100	0	0,069	63,07053942	2
	0,275	0,134	0	100	0	0,063	63,20754717	2
2000	0,337	0,192	19	81	216498,5163	0,055	68,08510638	1
	0,255	0,141	33	67	364941,1765	0,046	67,46411483	1
	0,367	0,189	0	100	0	0,063	62,17105263	3
	0,363	0,215	35	65	414600,551	0,06	70,95709571	1
	0,351	0,198	5	95	56410,25641	0,06	68,04123711	1
	0,236	0,137	1	99	11610,16949	0,038	69,19191919	2
	0,315	0,169	0	100	0	0,045	62,59259259	2
	0,3	0,158	0	100	0	0,043	61,47859922	2
	0,168	0,066	0	100	0	0,054	57,89473684	2
	0,273	0,073	0	100	0	0,139	54,47761194	2
4000	0,34	0,21	1	99	12352,94118	0,067	76,92307692	2
	0,412	0,255	1	99	12378,64078	0,076	75,89285714	2
	0,352	0,205	1	99	11647,72727	0,065	71,42857143	2
	0,298	0,189	0	100	0	0,051	76,51821862	3
	0,324	0,196	2	98	24197,53086	0,065	75,67567568	1
	0,338	0,192	1	99	11360,94675	0,078	73,84615385	2
	0,308	0,15	0	100	0	0,043	56,60377358	4
	0,23	0,118	0	100	0	0,043	63,10160428	1
	0,297	0,178	0	100	0	0,057	74,16666667	2
	0,201	0,113	0	100	0	0,042	71,06918239	4
Placebo	0,38	0,186	96	4	939789,4737	0,072	60,38961039	1
	0,363	0,23	95	5	1203856,749	0,063	76,66666667	4
	0,219	0,114	92	8	957808,2192	0,05	67,4556213	2
	0,273	0,172	99	1	1247472,527	0,062	81,51658768	4
	0,302	0,215	98	2	1154520,548	0,063	71,19205298	1
	0,245	0,147	96	4	1152000	0,043	72,77227723	2
	0,309	0,178	99	1	1140582,524	0,058	70,91633466	1
	0,259	0,132	93	7	947953,668	0,06	66,33165829	2
	0,301	0,18	100	0	1196013,289	0,059	74,38016529	3
	0,281	0,133	92	8	870889,6797	0,093	70,74468085	3

**ANEXO D.** Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de ecldobilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de pré-oviposição para fluazuron no terceiro ensaio.

Concentração [ppm]	Peso da TeleóGINA (g)	Peso da Postura (g)	Percentual de Eclodibilidade (%)	Percentual de Mortalidade	Eficiência Reprodutiva	Peso das QuenóGINAS	Indice de nutrição	Periodo de pré oviposião
15,62	0,184	0,092	87	13	870000	0,032	60,52631579	3
	0,203	0,118	98	2	1139310,345	0,043	73,75	4
	0,355	0,205	98	2	1131830,986	0,069	71,67832168	4
	0,183	0,097	93	7	985901,6393	0,045	70,28985507	4
	0,347	0,224	99	1	1278155,62	0,061	78,32167832	4
	0,218	0,122	97	3	1085688,073	0,041	68,926555367	4
	0,283	0,168	97	3	1151660,777	0,053	73,04347826	4
	0,279	0,152	98	2	1067813,62	0,053	67,25663717	5
	0,252	0,154	90	10	1100000	0,051	76,61691542	5
	0,24	0,143	98	2	1167833,333	0,044	72,95918367	4
31,25	0,22	0,09	89	11	728181,8182	0,059	55,90062112	4
	0,225	0,119	96	4	1015466,667	0,044	65,74585635	4
	0,26	0,121	99	1	921461,5385	0,045	56,27906977	4
	0,26	0,153	98	2	1153384,615	0,041	69,8630137	5
	0,173	0,093	98	2	1053641,618	0,032	65,95744681	4
	0,283	0,161	95	5	1080918,728	0,058	71,55555556	4
	0,183	0,093	8	92	81311,47541	0,044	66,90647482	4
	0,297	0,188	97	3	1228013,468	0,051	76,42276423	4
	0,22	0,115	63	37	658636,3636	0,049	67,25146199	5
	0,254	0,144	88	12	997795,2756	0,06	74,22680412	5
62,5	0,3	0,179	90	10	1074000	0,056	73,36065574	4
	0,175	0,09	83	17	853714,2857	0,029	61,64383562	4
	0,259	0,15	93	7	1077220,077	0,045	70,09345794	4
	0,354	0,11	6	94	37288,13559	0,075	39,4265233	4
	0,263	0,132	90	10	903422,0532	0,055	63,46153846	5
	0,307	0,172	74	26	829185,6678	0,054	67,98418972	4
	0,25	0,13	79	21	821600	0,053	65,98984772	4
	0,229	0,095	13	87	107860,262	0,049	52,77777778	5
	0,226	0,118	82	18	856283,1858	0,037	62,43386243	5
	0,248	0,136	88	12	965161,2903	0,045	66,99507389	4
125	0,29	0,137	86	14	812551,7241	0,071	62,55707763	5
	0,247	0	0	100	0	0,129	0	0
	0,217	0,113	96	4	999815,6682	0,046	66,08187135	4
	0,187	0,109	87	13	1014224,599	0,034	71,24183007	4
	0,301	0,153	69	31	701461,794	0,056	62,44897959	4
	0,314	0,191	92	8	1119235,669	0,059	74,90196078	4
	0,158	0,071	6	94	53924,05063	0,035	57,72357724	4
	0,335	0,203	63	37	763522,3881	0,061	74,08759124	4
	0,202	0,107	97	3	1027623,762	0,049	69,93464052	5
	0,302	0,18	93	7	1108609,272	0,053	72,28915663	4
250	0,303	0,171	70	30	790099,0099	0,06	70,37037037	4
	0,309	0,185	93	7	1113592,233	0,055	72,83464567	4
	0,176	0,076	80	20	690909,0909	0,05	60,31746032	4
	0,202	0,111	34	66	373663,3663	0,049	72,54901961	4
	0,293	0	0	100	0	0,164	0	0
	0,278	0,162	63	37	734244,6043	0,056	72,97297297	4
	0,328	0,197	40	60	480487,8049	0,064	74,62121212	4
	0,3	0,197	80	20	1050666,667	0,054	80,08130081	5
	0,19	0,094	5	95	49473,68421	0,052	68,11594203	4
	0,339	0,138	6	94	48849,55752	0,044	46,77966102	5
500	0,354	0,143	0	100	0	0,053	47,50830565	4
	0,329	0,203	86	14	1061276,596	0,064	76,60377358	4
	0,283	0,158	73	27	815123,6749	0,058	70,22222222	5
	0,226	0,133	1	99	11769,9115	0,052	76,43678161	5
	0,291	0,179	3	97	36907,21649	0,059	77,15517241	5
	0,221	0,127	7	93	80452,48869	0,047	72,98850575	4
	0,292	0	0	100	0	0,055	0	0
	0,175	0,091	6	94	62400	0,04	67,40740741	4
	0,229	0,124	0	100	0	0,051	69,66292135	4
	0,258	0,151	82	18	959844,9612	0,053	73,65853659	4

## ANEXO D. Continuação

	0,213	0,12	2	98	22535,21127	0,045	71,42857143	4
	0,331	0,208	6	94	75407,85498	0,073	80,62015504	4
	0,277	0,164	1	99	11841,15523	0,054	73,5426009	4
	0,22	0,11	1	99	10000	0,057	67,48466258	4
1000	0,188	0,104	0	100	0	0,048	74,28571429	4
	0,238	0,135	0	100	0	0,048	71,05263158	5
	0,281	0,143	0	100	0	0,061	65	5
	0,272	0,156	1	99	11470,58824	0,049	69,95515695	4
	0,252	0,14	1	99	11111,11111	0,049	68,96551724	5
	0,304	0,173	6	94	68289,47368	0,057	70,04048583	5
	0,217	0,114	0	100	0	0,039	64,04494382	3
	0,264	0,138	0	100	0	0,043	62,44343891	4
	0,273	0,096	0	100	0	0,064	45,93301435	4
	0,336	0,187	0	100	0	0,068	69,7761194	4
2000	0,323	0,191	21	79	248359,1331	0,06	72,62357414	5
	0,171	0,082	0	100	0	0,033	59,42028986	5
	0,204	0,102	0	100	0	0,038	61,44578313	5
	0,317	0,176	0	100	0	0,059	68,21705426	5
	0,302	0,09	0	100	0	0,069	38,62660944	5
	0,198	0,099	0	100	0	0,042	63,46153846	4
	0,289	0,164	0	100	0	0,059	71,30434783	4
	0,348	0,198	0	100	0	0,061	68,98954704	4
	0,314	0,174	0	100	0	0,05	65,90909091	4
	0,228	0,129	0	100	0	0,043	69,72972973	4
4000	0,271	0,156	0	100	0	0,046	69,33333333	4
	0,198	0,071	0	100	0	0,057	50,35460993	4
	0,217	0,128	0	100	0	0,038	71,50837989	3
	0,183	0,097	0	100	0	0,042	68,79432624	4
	0,229	0,122	0	100	0	0,04	64,55026455	4
	0,27	0,135	0	100	0	0,063	65,2173913	3
	0,441	0,268	97	3	1178956,916	0,084	75,07002801	4
	0,29	0,16	96	4	1059310,345	0,052	67,22689076	5
	0,309	0,134	99	1	858640,7767	0,075	57,26495726	5
	0,234	0,139	94	6	1116752,137	0,041	72,02072539	4
Placebo	0,242	0,2	95	5	1101449,275	0,063	70,92198582	4
	0,24	0,124	99	1	1023000	0,042	62,62626263	5
	0,3	0,181	95	5	1146333,333	0,053	73,27935223	4
	0,211	0,115	89	11	970142,1801	0,036	65,71428571	4
	0,297	0,173	98	2	1141683,502	0,048	69,47791165	4
	0,197	0,087	94	6	830253,8071	0,03	52,09580838	4

**ANEXO E.** Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de ecldibilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de pré-oviposição para Piriproxifen no primeiro ensaio.

Concentração [ppm]	Peso da Teleóquina (g)	Peso da Postura (g)	Percentual de Ecldibilidade (%)	Percentual de Mortalidade	Eficiência Reprodutiva	Peso das Quenóginas	Indice de nutrição	Periodo de pré oviposião
15,62	0,305	0,177	96	4	1114229,508	0,05	69,41176471	4
	0,197	0,058	0	100	0	0,038	36,47798742	4
	0,249	0,083	0	100	0	0,05	41,70854271	4
	0,333	0,091	0	100	0	0,092	37,7593361	4
	0,211	0,098	72	28	668815,1659	0,046	59,39393939	4
	0,337	0,18	80	20	854599,4065	0,075	68,70229008	4
	0,203	0,096	84	16	794482,7586	0,045	60,75949367	5
	0,277	0,148	82	18	876245,4874	0,063	69,1588785	4
	0,347	0,174	78	22	782247,8386	0,084	66,15969582	4
	0,243	0,061	0	100	0	0,089	39,61038961	5
31,25	0,343	0,087	54	46	273935,8601	0,072	32,10332103	4
	0,294	0,101	0	100	0	0,067	44,49339207	4
	0,361	0,188	94	6	979058,1717	0,083	67,62589928	4
	0,276	0,108	58	42	453913,0435	0,054	48,64864865	4
	0,336	0,161	58	42	555833,3333	0,075	61,68582375	4
	0,176	0,079	80	20	718181,8182	0,043	59,39849624	5
	0,35	0,184	78	22	820114,2857	0,078	67,64705882	4
	0,171	0,087	67	33	681754,386	0,037	64,92537313	4
	0,16	0,055	3	97	20625	0,034	43,65079365	5
	0,234	0,104	34	66	302222,2222	0,064	61,17647059	4
62,5	0,379	0,2	91	9	960422,1636	0,067	64,1025641	4
	0,36	0,188	76	24	793777,7778	0,075	65,96491228	4
	0,148	0,052	1	99	7027,027027	0,035	46,01769912	5
	0,168	0,068	0	100	0	0,06	62,96296296	5
	0,127	0,013	63	37	128976,378	0,062	20	5
	0,278	0,115	87	13	719784,1727	0,105	66,47398844	4
	0,309	0,166	83	17	891779,9353	0,049	63,84615385	4
	0,231	0,113	81	19	792467,5325	0,068	69,32515337	4
	0,348	0,181	95	5	988218,3908	0,051	60,94276094	4
	0,258	0,18	30	70	418604,6512	0,058	90	5
125	0,26	0,132	19	81	192923,0769	0,061	66,33165829	4
	0,287	0,144	85	15	852961,6725	0,064	64,57399103	4
	0,331	0,165	77	23	767673,7116	0,082	66,26506024	4
	0,284	0,135	73	27	694014,0845	0,062	60,81081081	4
	0,21	0,099	88	12	829714,2857	0,048	61,11111111	4
	0,215	0,034	0	100	0	0,059	21,79487179	5
	0,36	0,199	89	11	983944,4444	0,069	68,38487973	4
	0,259	0,019	0	100	0	0,089	11,17647059	4
	0,113	0,03	1	99	5309,734513	0,035	38,46153846	5
	0,237	0,104	62	38	544135,0211	0,058	58,10055866	4
250	0,349	0,168	66	34	635415,4728	0,087	64,1221374	4
	0,359	0,148	7	93	57715,87744	0,093	55,63909774	4
	0,341	0,16	86	14	807038,1232	0,084	62,25680934	4
	0,361	0,186	0	100	0	0,084	67,14801444	4
	0,28	0,131	76	24	711142,8571	0,045	55,74468085	4
	0,123	0,033	11	89	59024,39024	0,036	37,93103448	5
	0,211	0,08	74	26	561137,4408	0,048	49,0797546	4
	0,291	0,125	37	63	317869,4158	0,057	53,41880342	4
	0,224	0,062	70	30	387500	0,057	37,1257485	5
	0,217	0,087	58	42	465069,1244	0,053	53,04878049	4
500	0,337	0,061	0	100	0	0,099	25,6302521	4
	0,236	0,073	0	100	0	0,045	38,21989529	4
	0,26	0,103	39	61	309000	0,056	50,49019608	4
	0,151	0,033	1	99	4370,860927	0,036	28,69565217	4
	0,207	0,072	5	95	34782,6087	0,057	48	4
	0,389	0,172	41	59	362570,6941	0,086	56,76567657	4
	0,266	0,098	0	100	0	0,036	42,60869565	4
	0,303	0,078	0	100	0	0,072	33,76623377	4
	0,134	0,031	0	100	0	0,031	30,09708738	5
	0,276	0,119	37	63	319057,971	0,056	54,09090909	4

## **ANEXO E. Continuação**

1000	0,264	0,061	0	100	0	0,076	32,44680851	4
	0,235	0,047	0	100	0	0,049	25,2688172	4
	0,19	0,042	0	100	0	0,048	29,57746479	5
	0,203	0,054	0	100	0	0,038	32,72727273	5
	0,279	0,097	0	100	0	0,06	44,29223744	4
	0,221	0,055	0	100	0	0,041	30,55555556	4
	0,357	0,093	0	100	0	0,084	34,06593407	4
	0,269	0,058	0	100	0	0,095	33,33333333	4
	0,305	0,08	0	100	0	0,087	36,69724771	4
	0,309	0,09	0	100	0	0,085	40,17857143	4
2000	0,267	0,061	0	100	0	0,057	29,04761905	5
	0,402	0,098	0	100	0	0,102	32,66666667	4
	0,325	0,074	0	100	0	0,112	34,74178404	4
	0,282	0,059	0	100	0	0,109	34,10404624	4
	0,129	0,024	0	100	0	0,035	25,53191489	5
	0,205	0,02	0	100	0	0,118	22,98850575	5
	0,221	0,051	0	100	0	0,066	32,90322581	4
	0,299	0,068	0	100	0	0,104	34,87179487	4
	0,239	0,04	0	100	0	0,068	23,39181287	4
	0,27	0,062	0	100	0	0,102	36,9047619	4
4000	0,383	0,083	0	100	0	0,128	32,54901961	4
	0,285	0,062	0	100	0	0,083	30,69306931	5
	0,202	0,042	0	100	0	0,06	29,57746479	4
	0,335	0,058	0	100	0	0,148	31,01604278	4
	0,21	0,049	0	100	0	0,074	36,02941176	5
	0,256	0,046	0	100	0	0,059	23,35025381	4
	0,23	0,06	0	100	0	0,059	35,0877193	4
	0,226	0,043	0	100	0	0,059	25,74850299	4
	0,278	0,033	0	100	0	0,1	18,53932584	5
	0,23	0,053	0	100	0	0,065	32,12121212	4
Placebo	0,308	0,138	92	8	824415,5844	0,064	56,55737705	4
	0,23	0,037	0	100	0	0,059	21,6374269	4
	0,205	0	0	100	0	0,127	0	0
	0,222	0,024	70	30	151351,3514	0,044	13,48314607	4
	0,278	0,162	95	5	1107194,245	0,057	73,30316742	4
	0,24	0,124	97	3	1002333,333	0,051	65,60846561	5
	0,325	0,151	86	14	799138,4615	0,075	60,4	5
	0,288	0,157	98	2	1068472,222	0,061	69,16299559	4
	0,268	0,147	93	7	1020223,881	0,061	71,01449275	4
	0,328	0,189	94	6	1083292,683	0,066	72,13740458	4

**ANEXO F.** Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de ecloabilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de pré-oviposição para Piriproxifen no segundo ensaio.

Concentração [ppm]	Peso da Teleóquina (g)	Peso da Postura (g)	Percentual de Ecloabilidade (%)	Percentual de Mortalidade	Eficiência Reprodutiva	Peso das Quenóginas	Índice de nutrição	Período de pré-oviposição
15,62	0,296	0,113	92	8	702432,4324	0,086	53,80952381	3
	0,39	0,172	59	41	520410,2564	0,065	52,92307692	2
	0,408	0,191	71	29	664754,902	0,078	57,87878788	3
	0,234	0,119	83	17	844188,0342	0,046	63,29787234	2
	0,142	0,065	80	20	732394,3662	0,034	60,18518519	3
	0,235	0,1	62	38	527659,5745	0,036	50,25125628	3
	0,198	0,094	80	20	759595,9596	0,049	63,08724832	2
	0,316	0,164	79	21	820000	0,055	62,83524904	3
	0,299	0,143	69	31	660000	0,059	59,58333333	2
	0,256	0,124	81	19	784687,5	0,054	61,38613861	3
31,25	0,371	0,168	76	24	688301,8868	0,08	57,73195876	3
	0,228	0,098	45	55	386842,1053	0,039	51,85185185	3
	0,299	0,144	78	22	751304,3478	0,066	61,80257511	3
	0,384	0,161	59	41	494739,5833	0,071	51,43769968	3
	0,224	0,078	0	100	0	0,055	46,15384615	3
	0,259	0,126	64	36	622702,7027	0,055	61,76470588	3
	0,34	0,132	41	59	318352,9412	0,076	50	2
	0,229	0,1	72	28	628820,9607	0,044	54,05405405	3
	0,355	0,105	24	76	141971,831	0,159	53,57142857	3
	0,197	0,055	6	94	33502,53807	0,064	41,35338346	3
62,5	0,153	0,043	0	100	0	0,029	34,67741935	3
	0,338	0,127	1	99	7514,792899	0,072	47,7443609	3
	0,242	0	0	100	0	0,018	0	0
	0,158	0,054	0	100	0	0,043	46,95652174	3
	0,361	0,163	43	57	388310,2493	0,079	57,80141844	1
	0,285	0,077	0	100	0	0,101	41,84782609	2
	0,23	0,067	0	100	0	0,048	36,81318681	3
	0,303	0,102	0	100	0	0,106	51,77664975	1
	0,329	0,13	73	27	576899,696	0,072	50,58365759	1
	0,286	0,13	0	100	0	0,066	59,09090909	2
125	0,355	0,155	68	32	593802,8169	0,086	57,62081784	2
	0,382	0,174	0	100	0	0,075	56,67752443	2
	0,184	0,055	0	100	0	0,04	38,19444444	2
	0,382	0,145	3	97	22774,86911	0,097	50,87719298	3
	0,283	0,106	0	100	0	0,063	48,18181818	2
	0,32	0,131	6	94	49125	0,065	51,37254902	3
	0,414	0,161	0	100	0	0,103	51,76848875	1
	0,192	0,058	0	100	0	0,065	45,66929134	3
	0,221	0	0	100	0	0,184	0	0
	0,229	0,094	0	100	0	0,06	55,62130178	3
250	0,161	0,036	0	100	0	0,057	34,61538462	2
	0,235	0,068	0	100	0	0,065	40	2
	0,307	0,081	0	100	0	0,076	35,06493506	1
	0,387	0,122	0	100	0	0,069	38,36477987	1
	0,295	0,084	0	100	0	0,067	36,84210526	2
	0,297	0,075	0	100	0	0,067	32,60869565	2
	0,343	0,09	0	100	0	0,069	32,84671533	1
	0,215	0,032	0	100	0	0,082	24,06015038	2
	0,372	0,115	0	100	0	0,091	40,9252669	2
	0,21	0,05	0	100	0	0,045	30,3030303	2
500	0,389	0,118	0	100	0	0,088	39,20265781	2
	0,388	0,123	0	100	0	0,098	42,4137931	2
	0,342	0,088	0	100	0	0,089	34,7826087	3
	0,192	0,044	0	100	0	0,04	28,94736842	3
	0,208	0,5	0	100	0	0,041	299,4011976	3
	0,43	0,107	0	100	0	0,11	33,4375	1
	0,335	0,124	0	100	0	0,064	45,75645756	1
	0,272	0,063	0	100	0	0,068	30,88235294	3
	0,274	0,085	0	100	0	0,063	40,28436019	3
	0,216	0,051	0	100	0	0,04	28,97727273	3

## ANEXO F. Continuação

1000	0,352	0,115	0	100	0	0,077	41,81818182	3
	0,254	0,133	0	100	0	0,114	95	2
	0,304	0,084	0	100	0	0,047	32,6848249	2
	0,261	0,07	0	100	0	0,05	33,17535545	2
	0,192	0,051	0	100	0	0,038	33,11688312	2
	0,408	0,136	0	100	0	0,091	42,9022082	2
	0,266	0,074	0	100	0	0,065	36,8159204	2
	0,197	0,05	0	100	0	0,04	31,84713376	2
	0,275	0,08	0	100	0	0,049	35,39823009	2
	0,215	0,018	0	100	0	0,136	22,78481013	3
2000	0,374	0	0	100	0	0,209	0	0
	0,39	0,09	0	100	0	0,156	38,46153846	2
	0,401	0,105	0	100	0	0,109	35,95890411	1
	0,382	0,069	0	100	0	0,144	28,99159664	3
	0,308	0,057	0	100	0	0,125	31,14754098	3
	0,358	0,083	0	100	0	0,114	34,01639344	1
	0,215	0,031	0	100	0	0,058	19,74522293	3
	0,227	0,058	0	100	0	0,049	32,58426966	2
	0,279	0,036	0	100	0	0,09	19,04761905	2
	0,166	0,031	0	100	0	0,047	26,05042017	2
4000	0,29	0,069	0	100	0	0,082	33,17307692	2
	0,225	0,056	0	100	0	0,052	32,3699422	1
	0,312	0,072	0	100	0	0,08	31,03448276	2
	0,251	0,06	0	100	0	0,044	28,98550725	2
	0,417	0,106	0	100	0	0,098	33,22884013	2
	0,413	0,08	0	100	0	0,116	26,93602694	2
	0,191	0	0	100	0	0,096	0	0
	0,434	0,103	0	100	0	0,11	31,79012346	3
	0,303	0,067	0	100	0	0,078	29,77777778	2
	0,203	0,045	0	100	0	0,052	29,8013245	3
Placebo	0,175	0,09	93	7	956571,4286	0,049	71,42857143	3
	0,381	0,231	98	2	1188346,457	0,069	74,03846154	2
	0,326	0,197	93	7	1123987,73	0,059	73,78277154	1
	0,243	0,151	99	1	1230370,37	0,052	79,05759162	3
	0,285	0,151	88	12	822786,3777	0,11	70,89201878	3
	0,353	0	0	100	0	0,24	0	0
	0,417	0,251	99	1	1191798,561	0,08	74,48071217	2
	0,181	0,093	95	5	976243,0939	0,047	69,40298507	3
	0,155	0,087	96	4	1077677,419	0,03	69,6	2

**ANEXO G.** Tabela contendo os valores individuais de peso das teleóginas. Peso das posturas, percentual de ecldobilidade e de mortalidade, eficiência reprodutiva, peso das quenóginas, índice de nutrição e período de pré-oviposição para Piriproxifen no terceiro ensaio.

Concentração [ppm]	Peso da Teleóquina (g)	Peso da Postura (g)	Percentual de Ecdobilidade (%)	Percentual de Mortalidade	Eficiência Reprodutiva	Peso das Quenóginas	Índice de nutrição	Período de pré-oviposição
15,62	0,406	0,22	82	18	888669,9507	0,079	67,27828746	3
	0,29	0,147	88	12	892137,931	0,058	63,36206897	4
	0,286	0,14	79	21	773426,5734	0,06	61,94690265	3
	0,314	0,141	10	90	89808,9172	0,056	54,65116279	4
	0,341	0,198	96	4	1114838,71	0,063	71,22302158	3
	0,298	0,119	0	100	0	0,067	51,51515152	3
	0,34	0,188	83	17	917882,3529	0,062	67,62589928	3
	0,322	0,144	83	17	742360,2484	0,051	53,13653137	3
	0,426	0,224	77	23	809765,2582	0,08	64,73988439	3
	0,349	0,168	71	29	683553,0086	0,078	61,99261993	3
31,25	0,337	0,156	57	43	527715,1335	0,061	56,52173913	4
	0,308	0,159	83	17	856948,0519	0,086	71,62162162	3
	0,337	0,125	88	12	652818,9911	0,087	50	3
	0,268	0,137	64	36	654328,3582	0,061	66,18357488	4
	0,342	0,189	95	5	1050000	0,066	68,47826087	3
	0,347	0	0	100	0	0,201	0	0
	0,264	0,127	34	66	327121,2121	0,073	66,4921466	3
	0,302	0,139	82	18	754834,4371	0,061	57,67634855	3
	0,338	0,184	83	17	903668,6391	0,056	65,24822695	2
	0,341	0,171	76	24	762228,739	0,085	66,796875	3
62,5	0,291	0,137	60	40	564948,4536	0,057	58,54700855	3
	0,31	0,117	12	88	90580,64516	0,064	47,56097561	4
	0,314	0,152	16	84	154904,4586	0,066	61,29032258	3
	0,307	0,122	1	99	7947,882736	0,073	52,13675214	5
	0,262	0,118	57	43	513435,1145	0,059	58,12807882	4
	0,417	0,225	86	14	928057,554	0,093	69,44444444	3
	0,315	0,083	0	100	0	0,079	35,16949153	3
	0,287	0,146	74	26	752891,9861	0,07	67,28110599	4
	0,367	0,117	0	100	0	0,086	41,63701068	3
	0,325	0,167	73	27	750215,3846	0,072	66,00790514	4
125	0,319	0,097	0	100	0	0,09	42,3580786	4
	0,27	0,074	0	100	0	0,073	37,56345178	4
	0,35	0,103	0	100	0	0,094	40,234375	3
	0,38	0,082	0	100	0	0,157	36,77130045	3
	0,325	0,136	5	95	41846,15385	0,067	52,71317829	4
	0,352	0,104	0	100	0	0,134	47,70642202	4
	0,282	0,073	0	100	0	0,076	35,4368932	4
	0,314	0,08	0	100	0	0,09	35,71428571	3
	0,276	0,089	0	100	0	0,078	44,94949495	3
	0,357	0,093	0	100	0	0,085	34,19117647	3
250	0,367	0,1	0	100	0	0,127	41,66666667	3
	0,308	0,05	0	100	0	0,111	25,38071066	4
	0,353	0,099	0	100	0	0,102	39,44223108	3
	0,395	0,091	0	100	0	0,129	34,21052632	3
	0,314	0,09	0	100	0	0,085	39,30131004	3
	0,427	0,112	0	100	0	0,141	39,16083916	3
	0,356	0,091	0	100	0	0,107	36,54618474	3
	0,481	0,094	0	100	0	0,106	25,06666667	3
	0,357	0,094	0	100	0	0,108	37,75100402	4
	0,29	0,082	0	100	0	0,073	37,78801843	3
500	0,347	0,094	0	100	0	0,083	35,60606061	3
	0,352	0,058	0	100	0	0,106	23,57723577	4
	0,349	0,084	0	100	0	0,077	30,88235294	4
	0,331	0,077	0	100	0	0,111	35	3
	0,303	0,075	0	100	0	0,099	36,76470588	3
	0,457	0,111	0	100	0	0,134	34,36532508	3
	0,381	0,098	0	100	0	0,088	33,44709898	3
	0,303	0,073	0	100	0	0,082	33,03167421	4
	0,356	0,092	0	100	0	0,104	36,50793651	4
	0,287	0,075	0	100	0	0,081	36,40776699	3

## **ANEXO G. Continuação**

	0,363	0,071	0	100	0	0,083	25,35714286	3
	0,359	0,07	0	100	0	0,127	30,17241379	3
	0,332	0,025	0	100	0	0,098	10,68376068	3
	0,272	0,119	0	100	0	0,106	71,68674699	4
1000	0,327	0,069	0	100	0	0,183	47,91666667	4
	0,258	0,055	0	100	0	0,076	30,21978022	4
	0,382	0,065	0	100	0	0,116	24,43609023	3
	0,384	0,1	0	100	0	0,113	36,900369	4
	0,285	0,061	0	100	0	0,088	30,96446701	3
	0,378	0,1	0	100	0	0,104	36,49635036	2
	0,285	0,046	0	100	0	0,082	22,66009852	4
	0,315	0,074	0	100	0	0,109	35,9223301	3
	0,355	0,098	0	100	0	0,102	38,73517787	3
	0,354	0,08	0	100	0	0,104	32	4
2000	0,334	0,087	0	100	0	0,073	33,33333333	3
	0,288	0,079	0	100	0	0,064	35,26785714	3
	0,301	0,068	0	100	0	0,08	30,76923077	3
	0,387	0,082	0	100	0	0,084	27,06270627	4
	0,271	0,068	0	100	0	0,077	35,05154639	4
	0,324	0,088	0	100	0	0,088	37,28813559	3
	0,345	0,051	0	100	0	0,127	23,39449541	3
	0,403	0,091	0	100	0	0,129	33,21167883	3
	0,29	0,077	0	100	0	0,076	35,98130841	4
	0,406	0,078	0	100	0	0,141	29,43396226	3
4000	0,314	0,079	0	100	0	0,088	34,95575221	4
	0,267	0,068	0	100	0	0,065	33,66336634	4
	0,313	0,082	0	100	0	0,084	35,80786026	3
	0,277	0,064	0	100	0	0,096	35,35911602	4
	0,329	0,066	0	100	0	0,069	25,38461538	4
	0,315	0	0	100	0	0,256	0	0
	0,288	0,173	99	1	1189375	0,054	73,93162393	4
	0,331	0,195	82	18	966163,142	0,06	71,95571956	3
	0,317	0,172	97	3	1052618,297	0,054	65,39923954	4
	0,296	0,141	99	1	943175,6757	0,055	58,50622407	4
Placebo	0,229	0,167	93	7	1038862,876	0,058	69,29460581	4
	0,334	0,203	92	8	1118323,353	0,062	74,63235294	3
	0,277	0,159	99	1	1136534,296	0,049	69,73684211	4
	0,282	0,113	78	22	625106,383	0,097	61,08108108	4
	0,274	0,14	77	23	786861,3139	0,049	62,22222222	4
	0,341	0,213	97	3	1211788,856	0,063	76,61870504	3