**Resistência a Ivermectina, Cipermetrina, Amitraz e Fipronil em populações de Rhipicephalus microplus no semiárido da Paraíba**

LIMA, E. F. (IFPB, CAMPUS SOUSA), FERREIRA, L. C. (UFCG, CAMPUS PATOS) SILVA, A. L. P. (IFPB, CAMPUS SOUSA), OLIVEIRA, C. S. M. (IFPB, CAMPUS SOUSA), SOUSA, L. C. (IFPB, CAMPUS SOUSA), VILELA, V. L. R. (IFPB, CAMPUS SOUSA)

**Emails:**estefany.ferreira@academico.ifpb.edu.br,larissa.cladino@academico.ifpb.edu.br,luzia.peixoto@academico.ifpb.edu.br, clarisse.menezes@academico.ifpb.edu.br**,**luana.carneiro@academico.ifpb.edu.br, vinicius.vilela@ifpb.edu.br.

**Área de conhecimento:(Tabela CNPq)**: 5.00.00.00-4 Ciências Agrárias

**Palavras-Chave**: acaricida; carrapato; larvas.

1. **Introdução**

*Rhiphicephalus microplus* é um ectoparasito hematófago que teve origem na Ásia, e é extremamente prevalente em regiões tropicais e subtropicais. Esta espécie de carrapato é responsável por grandes perdas do rebanho bovino, por causar prejuízos no rendimento da carcaça, diminuição na produção de leite, redução nas taxas de fertilidade e desvalorização do couro. Estima-se que há uma perda de cerca de 3,24 bilhões de dólares/ano em decorrência do impacto do parasitismo no gado do Brasil (GRISI et al., 2014).

A resistência de *R. microplus* aos acaricidas é causada principalmente pelo uso contínuo dos compostos químicos das classes: Lactona Macrocíclica, Organofosforados, Formamididas, Fenilpirazóis e Piretróides Sintéticos. Com sua ampla distribuição geográfica, e sendo um dos principais ectoparasitas que acomete o gado, a tentativa rotineira de controlar as infestações de carrapatos tem desencadeado condições para o desenvolvimento de resistência do parasita. Carrapatos resistentes foram descritos em vários Estados do Brasil, ao serem testados acaricidas: no Rio Grande do Sul, ao amitraz, por Martins e Furlong (2001); em São Paulo, à cipermetrina, deltametrina e clorpirifós, por Mendes et al. (2011); múltipla resistência foi detectada no Mato Grosso do Sul, por Gomes et al. (2011); na Bahia, a organofosforados, piretróides e a suas associações, por Raynal et al. (2013). No Rio Grande do Sul, Reck et al. (2014) encontraram uma população de carrapatos resistentes a seis classes de acaricidas (organofosforados, formamidinas, piretróides sintéticos, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis, benzoilfeniluréias). Na região semiárida do Nordeste brasileiro, Vilela et al. (2020) observaram altas taxas de multiresistência por *R. microplus* em 26 rebanhos a organofosforados, formamidinas, piretróides sintéticos e lactonas macrocíclicas, porém não foi relatado resistência a fenilpirazóis. Sendo assim, objetivou-se realizar testes de eficácia por bioensaios larvais in vitro em uma propriedade com suspeita de resistência a Fipronil, além de avaliar outras quatro classes de compostos: organofosforados, lactona macrocíclicas, formamidinas e piretróides sintéticos, no Semiárido Paraibano.

1. **Materiais e Métodos**

Efetuou-se a elaboração de questionário abordando os seguintes itens: população bovina, raça dos animais, sistema produtivo (intensivo, extensivo ou semi-intensivo), principal aptidão (gado leiteiro ou de corte), área de pastejo para os animais, acaricidas utilizados nos últimos dois anos, acaricida utilizado no último tratamento, intervalo entre tratamentos, realização dos tratamentos de acordo com as recomendações dos fabricantes, método de aplicação (pulverização, formulações injetáveis ou *Pour-on*) e influência para a escolha de um acaricida específico: por indicação do Médico Veterinário, vendedores de farmácias veterinárias, indicação de vizinhos/ cooperativas ou preço do produto. O questionário foi aplicado em fazenda no município de São Domingos, região Semiárida da Paraíba

Foi realizada a coleta de 100 teleóginas ingurgitadas, retiradas diretamente dos bovinos infestados (Figura 1a) tratados há pelo menos 30 dias com o acaricida tópico ou 45 dias com o acaricida injetável, e transportadas ao Laboratório de Parasitologia Veterinária do IFPB, para a ovoposição. Após chegada ao laboratório, as teleóginas foram higienizadas com água destilada e secas em toalhas de papel, sendo posteriormente incubadas em placas de Petri de plástico (9 cm diâmetro × 2 cm altura) e mantidas em câmaras ambientais de Demanda Biológica de Oxigênio (BOD), no escuro, a temperaturas entre 27 e 28 ° C, com umidade relativa do ar entre 85 e 90%. Os carrapatos fêmeas ficaram por duas semanas na câmara ambiental do BOD, para a postura dos ovos (10 dias). Após a ovoposição, esses ovos foram homogeneizados em uma placa de Petri (Figura 1b) e em seguida separados em tubos Falcon 15ml tampados por um chumaço de algodão, mantendo a troca gasosa e impedindo a saída das larvas eclodidas. Após aproximadamente 30 dias do início da ovoposição das teleóginas, as larvas eclodiram. Entre 15 e 45 dias após a eclosão, as larvas foram utilizadas para a realização do Teste de Imersão de Larvas (TIL) com os fármacos Fipronil e Ivermectina (Klafke et al., 2012), e o Teste de Pacote de Larvas (TPL) com Amitraz, Clorpirifós e Cirpermetrina (FAO, 2004) para avaliação do status de resistência dos carrapatos.

 

Figura 1. A: Coleta de teleóginas dos bovinos infestados com carrapatos. B: Homogeneização dos ovos para posteriormente serem separados em tubos Falcon e postos na BOD para que ocorra a eclosão das larvas.

Para a realização TIL, foi preparado diluentes com acaricidas e diluente sem acaricida para o grupo controle. O volume de 500μl de cada solução foi adicionado em três microtubos de 1,5 ml para a imersão das larvas (Figura 2a). Utilizando pincel Nº 2, aproximadamente 100 larvas foram transferidas para cada tubo, que foi posteriormente fechado e agitado vigorosamente para garantir o afundamento das larvas. Após 10 min de imersão, as larvas foram removidas dos tubos com pinceis limpos e colocadas para secar em um pedaço de papel toalha, antes de serem transferidas para papeis dobrados ao meio e selados com clipes metálicos nas laterais. Após adicionado as larvas, um terceiro clipe metálico foi colocado nos papeis e incubados em câmara ambiental tipo BOD a 27-28ºC e umidade relativa do ar 85-90%, no escuro. Após 24 horas, a mortalidade das larvas foi determinada pela contagem de indivíduos mortos e vivos. Larvas que estavam paralisadas ou movendo apenas as patas sem a capacidade de andar foram consideradas mortas. Para o TPL, 700μl das diluições preparadas foram utilizadas para a impregnação dos papeis (Figura 2b). Após secos, aproximadamente 100 larvas foram liberadas nos pacotes, com o auxílio de um pincel, selados com os clipes metálicos e em seguida levados a câmara ambiental tipo BOD, para que com 24h seja determinada a contagem de larvas mortes e vivas, assim como feito no TIL.

 

Figura 2. A: Processo de imersão das larvas nos microtubos, no Teste de Imersão de larvas (TIL), B: Processo de impregnação dos papéis para posteriormente realizar o empacotamento das larvas no Teste de Pacote de Larvas (TPL).

1. **Resultados e Discussão**

A propriedade tinha como principal aptidão a produção de leite, possuindo animais das raças Girolando e Holandês, e de acordo com estudos realizados por Veríssimo et al. (2002) no Brasil, de acordo com a raça, pode-se constatar uma maior suscetibilidade dos bovinos a carrapatos, sendo a Gir mais resistente e a Holandesa mais suscetível, assim como suas mestiças. Pelo rebanho apresentar animais dessas raças, seria este um agravante para a alto grau de infestação de carrapatos nesses animais. Para o controle desses carrapatos, a fazenda utilizou nos últimos dois anos a pulverização com acaricidas, assim como utilização de pour-on e injetável, sendo a pulverização a forma mais utilizada para controlar temporariamente os carrapatos, conforme relatado pelo proprietário. O Amitráz foi o fármaco mais utilizado no controle atual, porém tinham histórico de uso com Fipronil, Ivermectina e Cipermetrina.

Nos bioensaios realizados, percebeu-se uma maior eficácia e morte das larvas dessa população com os fármacos amitraz, cipermetrina e clorpirifós, respectivamente. Enquanto que, com o fipronil e ivermectina, notou-se uma menor mortalidade, sendo este um indicativo de resistência.

Apesar de estar sendo utilizado no rebanho, o amitraz apresentou resultados satisfatórios. Neste trabalho, a maior concentração utilizada para firponil (8% de acaricida de grau técnico) no TIL, 214 (92,24%) das 232 larvas utilizadas nessa concentração do fármaco estavam vivas. Cepas de *R. microplus* resistentes ao fipronil já foram detectadas no Brasil, como no trabalho realizado por Castro-Janer et al. (2010), que utilizou o TIL, confirmou a resistência ao fipronil de cepas procedentes do Mato Grosso do Sul, São Paulo e Rio Grande do Sul, sendo os resultados existentes voltados para a região sul e sudeste do País. Considerando que não existem outros trabalhos científicos sobre tal resultado nessa Região, este é o primeiro relato de resistência de *R. microplus* ao fipronil.

1. **Considerações Finais**

O percentual de resistência revelado pelo fipronil foi elevado, sendo o primeiro relato dessa resistência no Nordeste do Brasil. Acredita-se que a falta de informação técnica sobre o controle dos carrapatos pelo produtor seja o principal ponto para o mal uso dos carrapaticidas, favorecendo a resistência dos carrapatos e demais ectoparasitas aos acaricidas.

**Agradecimentos**

Agradeço o apoio financeiro recebido pelo Instituto Federal da Paraíba (IFPB) através do Programa de Apoio a Projetos de Pesquisa, Inovação, Desenvolvimento Tecnológico e Social- Interconecta.

**Referência**

CASTRO-JANER, E.; MARTINS, J.R.; MENDES, M.C. et al. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks Riphicephalus (Boophilus) microplus using in vitro larval bioassays. Vet. Parasitol., v.173, p. 300-306, 2010.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2004). Guidelines resistance management and integrated parasite control in ruminants: module 1. Tickes: Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention. Rome: FAO, p. 25-77.

GOMES, A.; KOLLER, W.W.; BARROS, A.T.M. Suscetibilidade de Rhipicephalus (Boophilus) microplus a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul, Brasil. Ciência Rural, v.41, p. 1447-1452, 2011.

GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.; BARROS, A.T.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P.H.; LEÓN, A.A.; PEREIRA,J.B.; VILLELA, H.S.Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 23, 150–156, 2014.

Klafke, G.M,; Castro-Janer, E.; Mendes, M.C.; Namindome, A.; Schumaker, T.T.S. Applicability of in vitro bioassays for the diagnosis of ivermectin resistance in Rhipicephalus microplus (Acari: ixodidae). Vet Parasitol., v. 184, p. 212-220, 2012.

MARTINS, J.R.; FURLONG, J. Avermectin resistance of Boophilus microplus in Brazil. Veterinary Record, v. 149, n.2, p. 64, 2001.

MENDES, M.C.; LIMA, C.K.P.; NOGUEIRA, A.H.C.; YOSHIHARA, E.; CHIEBAO, D.P.; GABRIEL, F.H.L. Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyriphos in populations of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) from small farms of the State of São Paulo, Brazil. Vet. Parasitol., v. 178, p. 238-388, 2011.

RAYNAL, J.T. SILVA, A.A.B. SOUSA, T.J. BAHIENSE, T.C. MEYER, R. PORTELA, R.W. Acaricides efficiency on Rhipicephalus (Boophilus) microplus from Bahia state North-Central region. Rev. Bras. Parasitol. Vet. v. 22, p. 71-77, 2013.

RECK, J.; KLAFKE, G.M.; WEBSTER, A.; DALL’AGNOL, B.; SCHEFFER, R.; SOUZA, U.A.; CORASSINI, V.B.; VARGAS, R.; SANTOS, J.S. First report of fluazuron resistance in Rhipicephalus microplus: A field tick population resistant to six classes of acaricides. Veterinary Parasitology, v. 201, p. 128–136, 2014.

VERÍSSIMO, C.J.; OTZUK, I.P.; DEODATO, A P.; LARA, M. A C.; BECHARA, G.H. Número de mastócitos dérmicos na pele de bovinos europeus zebuínos e mestiços e infestação pelo carrapato Boophilus microplus. XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Rio de Janeiro, 2002. Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Anais., Rio de Janeiro, 2002.

VILELA, V.R.L.; FEITOSA, T.F.; BEZERRA, R. A.; KLAFKE, G. M.; CORREA, F. Multiple acaricide-resistant Rhipicephalus microplus in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. Ticks and tick-borne diseases, v. 11, n. 4, p. 101413, 2020.