

AVALIAÇÃO SIMULTÂNEA DE TÉCNICAS *IN VITRO* PARA SENSIBILIDADE DE LARVAS DO CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* AO AMITRAZ

LOPES, Amanda¹; AGUIAR, Cíntia Lidiane Guidotti¹; FORESTI, Laís Tortelli¹; PAPPEN, Felipe Geraldos¹; SANTOS, Tânia Regina Bettin dos¹

1- Universidade Federal de Pelotas
amandavet_lopes@hotmail.com

1 INTRODUÇÃO

Rhipicephalus (Boophilus) microplus é responsável por perdas diretas e indiretas, tais como: espoliação sanguínea, transmissão de patógenos, custos com carrapaticidas e mão de obra especializada para controle efetivo desse ixodídeo (CAMILLO et al., 2009).

O amitraz (imidina) é o princípio ativo mais utilizado no controle do carrapato *R. (B.) microplus* no Rio Grande do Sul, segundo Farias (1999) e Santos et al. (2008), apesar do grande número de descrições de resistência a essa molécula, estas ainda são consideradas pontuais e com lenta disseminação (Martins, 2004). Há uma tendência natural ao surgimento de novos casos de resistência causados pela exposição das populações de carrapatos a essa molécula, que aparentemente levariam a uma diminuição em sua utilização, porém Martins (2004) descreve a ocorrência de reversibilidade da resistência de algumas populações a esse carrapaticida. Esse fato torna relevante o estudo e a padronização de técnica *in vitro* para a avaliação da eficácia das imidinas e acompanhar o grau de suscetibilidade das populações a elas, já que o uso de acaricidas ainda é o principal método de controle do carrapato bovino.

As técnicas *in vitro* para testar a sensibilidade de *R.(B.) microplus* que utilizam larvas são vantajosas, pois necessitam de um menor número de teleóginas para a sua obtenção. O Teste do Pacote com Larvas modificado para Amitraz (TPL) (Miller et al., 2002) é uma técnica recomendada pela Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) no diagnóstico de resistência. Já o Teste de Imersão Larval (TIL) (Shaw, 1966), ainda não recomendado, é de fácil execução por requerer menor tempo e tecnologia para sua realização, assim como o teste descrito por Souza et al. (2008), que é uma nova proposta de teste de imersão de larvas, a partir da utilização de seringas plásticas descartáveis, denominado Teste de Imersão em Seringa (TIS).

Esse trabalho objetivou comparar simultaneamente três técnicas de sensibilidade larval (TPL, TIL e TIS), usando como princípio ativo o amitraz.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Sete populações de *R.(B.) microplus* foram coletadas na região sul do Rio Grande do Sul para que suas larvas, entre 10 e 20 dias de vida, fossem submetidas simultaneamente aos testes com amitraz nas seguintes diluições: 0; 0,01; 0,039; 0,0156; 0,0625; 0,25; 1%; e incubadas em estufa BOD (27°C e UR > 80%) por 24 horas, no Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Veterinária da UFPel.

Para a realização do TPL as larvas foram envelopadas em nylon impregnado com as diluições acima citadas. No TIL as larvas foram submersas em soluções nas mesmas concentrações, em microtubos tipo eppendorf, com auxílio de pincel, durante cinco minutos. Em seguida, retirou-se a umidade excessiva do pincel e das larvas em papel toalha e as mesmas foram envelopadas em papel filtro e incubadas.

Já no teste de Imersão em Seringa (TIS) as larvas foram submersas nas diluições a serem testadas, por cinco minutos, posicionando o êmbolo posteriormente a um orifício na seringa para permitir a saída de ar e assim o preenchimento total da mesma. Posteriormente, o excesso de líquido da extremidade do êmbolo foi absorvido em toalha de papel. Todos os testes foram realizados em triplicata. Após 24 horas, realizou-se a contagem de larvas vivas e mortas dos três testes, com auxílio de uma fonte luminosa, com lâmpada de 40 Watts de potência.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística pelo Teste t pareado com significância de $P < 0,05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos três testes mostram que os percentuais de mortalidade de larvas de *R.(B.) microplus* foram diretamente proporcionais ao aumento das concentrações de amitraz, estabelecendo curvas lineares (Figura 1). Esses dados indicam tendência positiva ao uso das técnicas futuramente, após suas padronizações, assim como o afirmado por Sabatini et al. (2001) para o TIL e Souza et al. (2008) para o Teste de Imersão em Seringa (TIS).

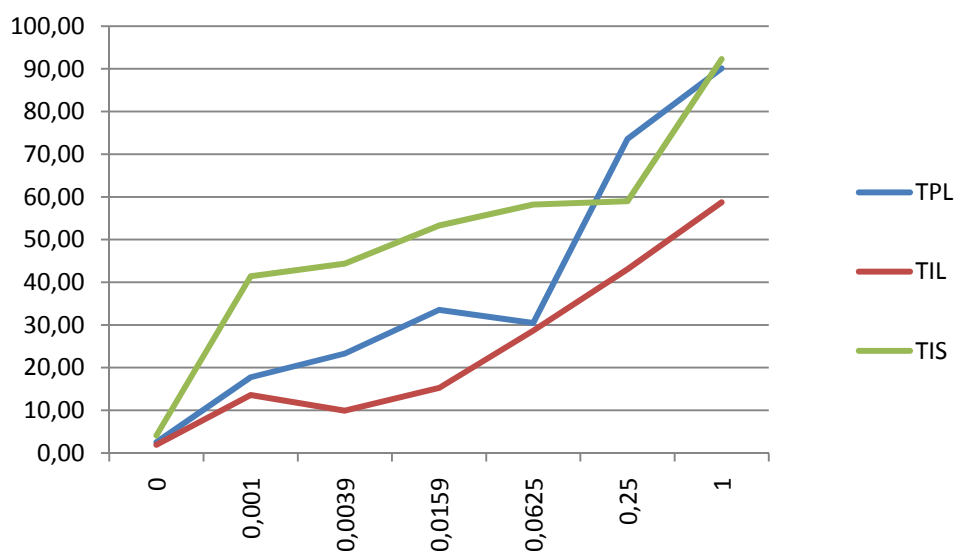


Figura 1: Médias percentuais de mortalidade larval em sete populações de *R.(B.) microplus* ao amitraz utilizado em seis concentrações diferentes, e três técnicas simultaneamente.

O teste adotado como padrão foi o Teste do Pacote com Larvas modificado para Amitraz (TPL) (Miller et al., 2002) por ser reconhecido pela FAO. No presente trabalho os grupos controle (concentração 0) tiveram média de mortalidade inferior a 5% em todos os testes (TPL, TIL e TIS), o que é pré-requisito para testes com larvas. Entre as concentrações 0,0159% e 0,0625%, houve um decréscimo na média das mortalidades, que podem ser explicadas pelo acaso (Souza et al., 2008) e observa-se que a maior mortalidade larval (92,3%) é observada na maior diluição testada (1%), para os testes TPL e TIS mantendo a tendência linear da curva.

Pela análise linear os três testes tiveram alta correlação, indicando que os dados são realmente em função da diluição testada, e sendo maior, teve menos interferência de fatores externos, como por exemplo, erro experimental.

Pelo test-t pareado foi possível identificar diferenças significativas de: $p=0,0032$ entre o Teste Padrão (TPL) e o Teste de Imersão Larval e de $p=0.0057$ entre o TPL e o Teste de Imersão em Seringa.

4 CONCLUSÕES

Nas sete populações estudadas, apesar de haver uma diferença estatística significativa entre o teste padrão e os demais, reforça-se a tendência linear das curvas demonstrando que as demais técnicas são promissoras, principalmente o Teste de Imersão em Seringa que obteve mortalidade acima de 90% na mais alta concentração assim como o teste padrão.

5 REFERÊNCIAS

CAMILLO, G.; VOGEL, F. F.; SANGIONI, L. A.; CADORE, G. C.; FERRARI, R. Eficiência in vitro de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**. v. 39, n. 2, p. 490-495, 2009.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*. Laboratory tests of insecticides. **Jour. Econ. Entom.** n. 66, p. 130-133, 1973.

FAO. 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, pp. 53, 2004.

FARIAS, N. A. R. Situación de la resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* em la región sur de Rio Grande Del Sur, Brazil. In: IV SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL. **Anais...** outubro, p. 25 – 30, 1999.

MILLER, R.J.; DAVEY, R.B.; GEORGE, J.E. Modification of the Food and Agriculture Organization Larval Packet Test to Measure Amitraz-Susceptibility Against Ixodidae. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 645-651, 2002.

SABATINI, G.A.; KEMP, D.H.; HUGHES, S; NARI, A.; HANSEN, J. Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, n. 1, p. 53-62, 2001.

SHAW, R.D., 1966. Culture of a organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance apectrum. **Bull. Entomol. Res.** 56, 389–405.

SOUZA, A.P.; VEIGA, L.P.H.N.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; CARDOSO, C.P.; NUNES, A.P.O. Proposta para teste carrapaticida por imersão de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: avaliação em cipermetrina e amitraz. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria**, v. 17, n. 4, p. 242-245, 2008.