

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E EFEITO
DE VÁRIAS DOSES DE IVERMECTINA SOBRE LARVAS DE
Dermatobia hominis (LINNAEUS JR., 1781)
(DIPTERA: CUTEREBRIDAE)

ALFREDO JOSÉ CORONADO FONSECA

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E EFEITO
DE VÁRIAS DOSES DE IVERMECTINA SOBRE LARVAS DE
Dermatobia hominis (LINNAEUS JR., 1781)
(DIPTERA: CUTEREBRIDAE)

ALFREDO JOSÉ CORONADO FONSECA

SOB ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR
GONZALO EFRAIN MOYA BORJA

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

ITAGUAÍ, RIO DE JANEIRO

OUTUBRO, 1989

TÍTULO DA TESE

ASPECTOS IMUNOLÓGICOS, ATIVIDADE ANTIBACTERIANA E EFEITO
DE VÁRIAS DOSES DE IVERMECTINA SOBRE LARVAS DE
Dermatobia hominis (LINNAEUS JR., 1781)
(DIPTERA: CUTEREBRIDAE)

AUTOR

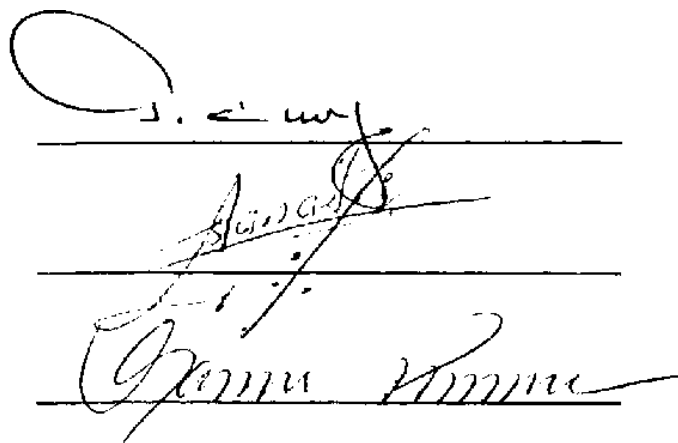
ALFREDO JOSÉ CORONADO FONSECA

TESE APROVADA EM: 10/10/1989

GONZALO EFRAIN MOYA BORJA

ARGEMIRO SANAVRIA

OSAMU KIMURA



The image shows three handwritten signatures, each written on a horizontal line. The top signature is a large, stylized cursive signature. The middle signature is a smaller, more compact cursive signature. The bottom signature is a long, flowing cursive signature.

A MINHA MULHER
A MINHAS FILHAS
AOS MEUS AMIGOS,
PELA TERNURA
PELA PALAVRA DE ALENTO
PELO ABRAÇO.

AGRADECIMENTO

Aos Drs. HAITY MOUSSATCHÉ e GONZALO MOYA, pelo exemplo e incentivo.

Aos Drs. JONAS PERALES e CHARLOTTE LANGENEGER pelo auxílio constante durante o trabalho.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ pela ajuda.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária pela colaboração.

Aos companheiros do Laboratório de Entomologia, com quem compartilhamos todo este tempo de aprendizagem e amizade.

BIOGRAFIA

ALFREDO JOSÉ CORONADO FONSECA, filho de Witremundo Coronado Medina e Ana Rebeca Fonseca Fergusson, natural de Falcón, Venezuela, nasceu a 10 de dezembro de 1950. Concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária em 1978, na Universidade Nacional de La Plata, Argentina.

No mesmo ano ingressou na Universidade Centro-Ocidental da Venezuela no Conselho de Pesquisas, na Área de Parasitologia.

Em 1980 fez estágio na Universidade de Illinois, no Colégio de Medicina Veterinária em culturas de hemoprotozoários e técnicas de imunodiagnóstico de doenças hemoparasitárias.

Em 1983 participou do III Curso Inter-Regional sobre Isótopos em Parasitologia Veterinária no ILRAD, Kenya, através do programa PNUD da ONU.

Atualmente exerce as funções de Professor Agregado com dedicação exclusiva na Cátedra de Parasitologia e Doenças Para-

sitárias da Escola de Ciências Veterinárias, na Universidade Centro-Ocidental da Venezuela.

ÍNDICE

	Páginas
1. INTRODUÇÃO	1.
2. RESPOSTA IMUNE HUMORAL EM BOVINOS INFECTADOS COM <i>Dermatobia hominis</i> (L. Jr., 1781) (DIPTERA: CUTEREBRIDAE) E TRATADOS COM IVERMECTINA	3.
2.1. Revisão da Literatura	3.
2.2. Material e Métodos	4.
2.3. Resultados e Discussão	8.
3. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA HEMOLINFA DAS LARVAS DE <i>Dermatobia hominis</i> L. Jr.	12.
3.1. Revisão de Literatura	12.
3.2. Material e Métodos	13.
3.3. Resultados e Discussão	14.
4. CONCLUSÕES	19.
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20.

ÍNDICE DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1. Níveis de anticorpos em bovinos infestados experimentalmente com <i>Dermatobia hominis</i> detectados por imunodifusão dupla em diferentes períodos pós-infestação	9.
TABELA 2. Efeito de diferentes doses de ivermectina em bovinos contra larvas do segundo ínstar de <i>Dermatobia hominis</i>	11.
TABELA 3. Atividade antibacteriana da hemolinfa de larvas de <i>Dermatobia hominis</i> contra bactérias dos gêneros <i>Staphylococcus</i> e <i>Streptococcus</i> incubadas a 37°C por 24 horas	17.

ÍNDICE DE FIGURAS

	Páginas
FIGURA 1. Reação de imunodifusão dupla em placa 1 - Antígeno	7.
FIGURA 2. Efeito inibitório da hemolinfa de <i>Derma-</i> <i>tobia hominis</i> contra <i>Streptococcus</i> sp.	15.
FIGURA 3. Efeito inibitório da hemolinfa de <i>Derma-</i> <i>tobia hominis</i> contra <i>Staphylococcus epi-</i> <i>dermidis</i>	16.

RESUMO

Foi avaliado o comportamento imunogênico das larvas de *Dermatobia hominis* em bovinos, bem como o efeito de diferentes doses de ivermectina contra as larvas desse parasita. Igualmente foi avaliada a capacidade antibacteriana da hemolinfa das larvas de *D. hominis* frente às bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*.

Os bovinos infestados apresentaram um incremento nos níveis de anticorpos doze dias após a infestação, detectado pela técnica de imunodifusão dupla. A ivermectina, injetada nas doses de 100, 50, 25 e 12,5 µg por kilograma de peso vivo mostrou uma eficácia de 100% de controle contra as larvas de *D. hominis* em todos os grupos tratados.

A hemolinfa extraída de *D. hominis* mostrou um efeito antibacteriano *in vitro* contra *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. caprae* e *Streptococcus* sp.

SUMMARY

The immunogenic behaviour and the susceptibility of larvae of *D. hominis* to ivermectin in experimentally infected bovines were analysed at the Federal Rural University of Rio de Janeiro. The haemolymph activity against bacteria belonging to genera *Staphylococcus* and *Streptococcus* were evaluated too. Infected bovines showed an increase in antibody titers, detected by the double diffusion test against *D. hominis*. Bovines artificially infested with *Dermatobia* larvae were treated subcutaneously by infection of ivermectin at 100, 50, 25 e 12,5 µg/kg of body weight. All dosages provided 100 per cent control.

1. INTRODUÇÃO

O ciclo evolutivo de *Dermatobia hominis* compreende as fases de ovo, larva, pupa e adulto. A fase larval é estritamente parasitária e ocorre no tecido subcutâneo de vertebrados mamíferos, produzindo uma miíase primária de tipo furunculosa.

Entre os hospedeiros conhecidos da fase larval de *D. hominis* destacam-se bovinos, caninos, caprinos, suínos e equinos (NEIVA, 1910). O homem também pode ser eventualmente afetado, podendo ocasionar dano irreversível ao cérebro e levar à morte (ROSSI & ZUCOLOTO, 1973).

Em bovinos, *D. hominis* representa uma ameaça à pecuária, deixando sentir seu efeito na produção de couros (MARDSEN *et al.*, 1979). Levantamentos realizados na América Latina, área de dispersão de *D. hominis* estimaram as perdas causadas por esse parasito em 200 milhões de dólares por ano (GUIMARÃES & PAPAVERO, 1966).

O método convencional de controle de *D. hominis* é baseado exclusivamente na aplicação de inseticidas, destacando-se

entre eles a ivermectina com alto nível de efetividade (LOMBAR-
DERO et al., 1983). Outros métodos de controle têm sido propos-
tos, destacando-se entre eles a esterilização de machos por ra-
diações ionizantes (JOBSEN, 1976) e a utilização de antígenos
larvais (MARIN, 1975; MOTA et al., 1980).

O surgimento de indivíduos com resistência aos inseti-
cidas químicos impõe a necessidade de procurar cada vez mais
os métodos alternativos de controle (BROWN & PAL, 1971; WHAR-
TON, 1976). Nesse sentido, a indução artificial da resistência
do hospedeiro contra o parasito merece uma consideração espe-
cial na integração de esquemas de controle (WIKEL, 1984).

A flora bacteriana associada à *D. hominis* tem sido bem
caracterizada (SANCHO et al., 1986), porém, a contaminação se-
cundária por larvas de outros dípteros é excepcional (MOYA,
1982).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o comportamen-
to imunogênico das larvas de *D. hominis* em bovinos infestados
experimentalmente, bem como efeito de diferentes doses de iver-
mectina contra larvas desse parasita. Avaliou-se ainda, o efei-
to antibacteriano da hemolinfa das larvas do terceiro ínstar de
D. hominis contra bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Strep-
tococcus* isoladas de caprinos.

2. RESPOSTA IMUNE HUMORAL EM BOVINOS INFECTADOS COM
Demortobia hominis (L. Jr. 1781) (DIPTERA:
CUTEREBRIDAE) E TRATADOS COM IVERMECTINA

2.1. Revisão de Literatura

A antigenicidade dos extratos obtidos de larvas de *Dermatobia hominis* foi demonstrado inicialmente por MARIN (1975) e MOTA *et al.* (1980). Nesses trabalhos, o imunôgeno foi preparado a partir do antígeno somático obtido da centrifugação do extrato homogeneizado das larvas do segundo e terceiro ínstar de *D. hominis*. Esse antígeno, quando injetado em coelhos foi capaz de provocar uma resposta imune humoral detectada pelas técnicas de imunodifusão dupla e hemaglutinação passiva. Uma dose de reforço desse antígeno somático provocou uma resposta imune secundária com títulos máximos de anticorpos uma semana após a inoculação do mesmo (MOTA *et al.*, 1980). PERAÇOLI *et al.* (1980) utilizando coelhos previamente imunizados com antígenos somáticos e infestados com larvas de *D. hominis* mostraram um incremento desses títulos três semanas após a infestação, decrescendo em seguida.

Esses mesmos autores, quando infestaram coelhos sem imunização prévia, detectaram o aparecimento de uma resposta imune muito baixa e de curta duração.

A ivermectina, um produto do metabolismo secundário da bactéria *Streptomyces avermitilis* exibe um amplo espectro de ação contra o parasito, bloqueando a transmissão pós-sináptica do impulso nervoso (CAMPBELL, 1981).

Em bovinos, a ivermectina mostrou-se 100% eficaz contra *D. hominis* quando injetada na dose de 200 ug por kilograma de peso vivo ($\mu\text{g}/\text{kpv}$) (LOMBARDERO et al., 1983; LEITE & LIMA, 1984). SANAVRIA & MOYA (1985) encontraram um período residual de 10 a 14 dias em bovinos tratados à dose de 200 $\mu\text{g}/\text{kpv}$.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar o comportamento imunogênico das larvas de *D. hominis* em bovinos infestados experimentalmente bem como o efeito das diferentes doses da ivermectina contra larvas desse parasito.

2.2. Material e Métodos

Animais: Foram utilizados dez bovinos mestiços com peso médio de 136 kg, divididos em cinco grupos de dois animais. Eles foram mantidos nos estábulos da Estação de Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz da UFRRJ, Itaguaí, RJ.

Obtenção das larvas: Larvas do terceiro ínstar de *D. hominis* foram extraídas de bovinos abatidos no matadouro de

Nilópolis, Estado do Rio de Janeiro. Em seguida, apenas as larvas com pesos superiores à 400 mg foram incubadas sob serragem umidecida em condições de laboratório para obtenção dos adultos. Esses adultos eram colocados imediatamente em gaiolas juntamente com exemplares de *Musca domestica* para eles servirem de foréticos para os ovos de *D. hominis*.

Em seguida, os vectores eram capturados e colocados em BOD a temperatura de 25°C e 60-70% de umidade. Após 6 dias, as larvas foram estimuladas à eclosão, colocando-se a massa de ovos sobre a palma da mão. Nove larvas do primeiro instar foram colocadas sobre a pele dos bovinos com ajuda de um estilete.

Obtenção dos soros: Amostras de 5 ml de sangue jugular foram coletadas aos 0, 12, 19, 26 e 33 dias após a infestação. Os soros eram separados logo e mantidos a -10°C até o momento de serem utilizados.

Tratamento: Doze dias após a infestação, os animais foram revisados para determinar o número de larvas viáveis. A seguir, os animais foram pesados e tratados com ivermectina (22,23-dihidro avermectin B₁ Merck, Sharp & Dohme) por via subcutânea segundo o seguinte esquema:

Grupo	µg / k p v
A	1 0 0 , 0
B	5 0 , 0

C	25,0
D	12,5
E	-

Período residual: Duas semanas após o tratamento, os animais do grupo D foram reinfestados com 10 larvas do primeiro ínstar de *D. hominis*.

Obtenção dos antígenos: Larvas do terceiro ínstar de *D. hominis* eram colocadas em placas de Petri contendo 5 ml de solução de NaCl 0,15 M e mantidas em estufa a 34°C. Após 24 horas de incubação, o líquido sobrenadante nas placas era centrifugado e congelado a -10°C até o momento de ser utilizado.

Detecção de anticorpos: Os anticorpos circulantes nos soros dos dez bovinos, foram determinados pela técnica de imunodifusão dupla, Utilizando placas de Petri de 5 cm de diâmetro contendo 5 ml de ágar a 1% em solução de NaCl 1,4 M (Fig. 1). Os orifícios de 6 mm de diâmetro eram preenchidos com 40 µl dos soros a serem testados. No orifício central era colocado o antígeno à concentração de 2 mg/ml. Os soros foram testados em diluições sucessivas de razão 2, a partir de soro sem diluir até uma diluição de 1:64. Soro fetal bovino foi usado como controle negativo.



FIGURA I. Reação de imunodifusão dupla em placa. 1 - Antígeno.

2.3. Resultados e Discussão

Resposta Imune:

Nove dos dez animais apresentavam anticorpos contra *D. hominis* antes da infestação experimental. Os títulos desses anticorpos aumentaram até 64 vezes em relação ao título inicial doze dias após a infestação (Tab. 1). Esses resultados confirmam a antigenicidade das larvas de *D. hominis*, capazes de provocar uma resposta imune secundária em bovinos.

A utilização de um antígeno obtido "in vitro" a partir de secreções e/ou excreções das larvas do terceiro íntar de *D. hominis* capaz de detectar anticorpos no soro dos bovinos infectados, sugere a possibilidade de ser esse antígeno metabólico mais eficiente do que aquele obtido pela maceração das larvas (antígeno somático) em provocar a resposta imune sob condições naturais. O revestimento quitinoso das larvas não seria então um obstáculo para o acesso das substâncias antigênicas ao sistema imunitário do hospedeiro como propõe PERAÇOLI et al. (1980), toda vez que esse antígeno é produzido pelas larvas vivas, provavelmente durante o processo de alimentação.

O emprego desse antígeno metabólico em nossos experimentos, em lugar de um antígeno somático, poderia explicar o aparecimento de altos títulos de anticorpos em bovinos após a infestação com larvas de *D. hominis* e sem necessidade de uma imunização prévia com extratos larvais.

TABELA 1. Níveis de anticorpos em bovinos infestados experimentalmente com *D. hominis* detectados por imunodifusão dupla em diferentes períodos pós-infestação.

Grupo	Animal nº	Dias pós-infestação				
		0	12	19	26	33
A	161	1:8	1:32	1:8	1:16	1:16
	162	-	1:64	1:32	1:8	1:8
B	151	1:8	1:64	1:8	1:8	1:8
	163	1:16	1:64	1:8	1:8	1:8
C	160	1:8	1:16	1:16	1:16	1:8
	180	1:8	1:32	1:8	1:16	1:8
D	146	1:8	1:64	1:8	1:8	1:8
	150	1:16	1:64	-	1:8	1:8
E	147	1:8	1:64	1:8	1:8	1:8
	158	1:16	1:16	1:8	1:8	1:8

Controle químico:

O tratamento com ivermectina em todas as doses testadas eliminou o 100% das larvas de *D. hominis* (Tab. 2). Esses resultados concordam com aqueles obtidos por DRUMMOND (1984) empregando doses de 0,2 µg/kpv em bovinos infestados com *Hypoderma lineatum* e igualmente com os resultados de TASSI *et al.* (1987) utilizando 50 µg/kpv no controle de *Przhevalskiana silenus* em caprinos, sendo obtidos em ambos trabalhos uma eficácia de 100%.

O período residual observado no presente trabalho no grupo tratado à dose de 12,5 µg/kpv foi similar ao observado por SANAVRIA & MOYA (1985) utilizando 200 µg/kpv. Assim, não houve desenvolvimento das larvas do primeiro ínstar colocadas na pele dos animais duas semanas após terem sido tratados com ivermectina, o que indica um período residual de, ao menos 14 dias.

TABELA 2. Efeito de diferentes doses de ivermectina em bovinos contra larvas do segundo instar de *D. hominis*.

Dose µg/kpv	Animal nº	<u>Nº de larvas viáveis</u>		% Eficácia
		Dia 0	Dia 14	
100,0	161	8	0	100
	162	7	0	100
50,0	151	8	0	100
	163	8	0	100
25,0	160	8	0	100
	180	7	0	100
12,5	146	8	0	100
	150	7	0	100
0,0	147	9	9	-
	158	6	6	-

3. ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DA HEMOLINFA DAS LARVAS DE *Dermatobia hominis* L. Jr.

3.1. Revisão da Literatura

O efeito antibacteriano de homogenados de intestino e de cutícula de larvas de *D. hominis* contra estafilococos de origem humana e bovina foi demonstrado por PICADO (1935). O mesmo autor assinala a ausência de infecção bacteriana ativa no local da penetração e desenvolvimento das larvas de *D. hominis*.

SANCHO *et al.* (1986) caracterizaram a flora bacteriana associada a *D. hominis*, indicando o fato de não serem observados processos bacterianos secundários como resultado do parasitismo por *D. hominis*.

BENNETT (1955) assinala a ausência de contaminação bacteriana ao redor das larvas de *Cuterebra emasculator*, parasita de roedores selvagens.

LANDI (1960) utilizando hemolinfa de larvas dos gêneros *Cuterebra*, *Cephenemyia*, *Oestrus*, *Gasterophilus* e *Hypoderma*, demonstrou um efeito bacteriostático contra várias espécies de *Sar-*

cina e Micrococcus.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antibacteriana da hemolinfa de *D. hominis* contra bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*.

3.2. Material e Métodos

Hemolinfa: larvas do terceiro instar de *D. hominis* eram lavadas em álcool 70° e 90° e seguidamente em água destilada estéril. A hemolinfa era coletada das larvas através de uma incisão da cutícula e recolhida em tubos plásticos estéreis (tipo Eppendorf). A oxidação da hemolinfa era impedida acrescentando-se fenil-tio urea (concentração final aproximada 0,1%). A hemolinfa era centrifugada por 10 min. e o sobrenadante colocado em vidros com capacidade para 2 ml e mantida a -10°C até utilização.

Bactérias: foram fornecidas pela Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesquisa em Saúde Animal (UAPNPSA) da EMBRAPA, Seropédica, RJ. As bactérias foram isoladas da pele (*Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*) e de leite (*Staphylococcus caprae* e *Streptococcus* sp.) de caprinos respectivamente.

Placas de petri contendo meio de cultura foram semeadas com bactérias, utilizando-se duas placas para cada espécie de bactéria utilizada. A semeadura era feita com ajuda de "swabs" estéreis. Em seguida, 10 µl da hemolinfa (diluições de 1:1

até 1:16) eram colocadas em cada placa. As placas eram mantidas na geladeira (8-10°C) por 60 min. para permitir a difusão da hemolinfa e logo em seguida colocadas em estufa à 37°C por 24 horas. Após esse período, era feita a leitura dos resultados baseando-se no halo de inibição em volta da amostra aplicada (Fig. 2 e 3).

3.3. Resultados e Discussão

A tabela 3 mostra os resultados obtidos. A hemolinfa das larvas de *D. hominis* mostrou um efeito inibidor no crescimento de *S. aureus* e *S. epidermidis*, espécies bacterianas mais comuns na pele dos animais e do homem. A espécie *S. aureus* é responsável pela contaminação em feridas da pele, sendo o microrganismo mais frequentemente isolado de abscessos e outros processos bacterianos secundários ativos (SIMMONS, 1935). Outrossim, ambas as espécies fazem parte da flora bacteriana associada de *D. hominis*, representando 34% (*S. aureus*) e 12,5% (*S. epidermidis*) (SANCHO et al., 1986). LANDI (1960) não encontrou qualquer efeito na hemolinfa das larvas dos gêneros *Cuterebra*, *Cephenemyia*, *Oestrus*, *Gasterophilus* e *Hypoderma* contra *S. aureus*, embora tenha encontrado algum efeito contra *Staphylococcus citreus*.

SANCHO et al. (1989)* sugere a possibilidade da exis-

* Comunicação escrita, 28/08/89.

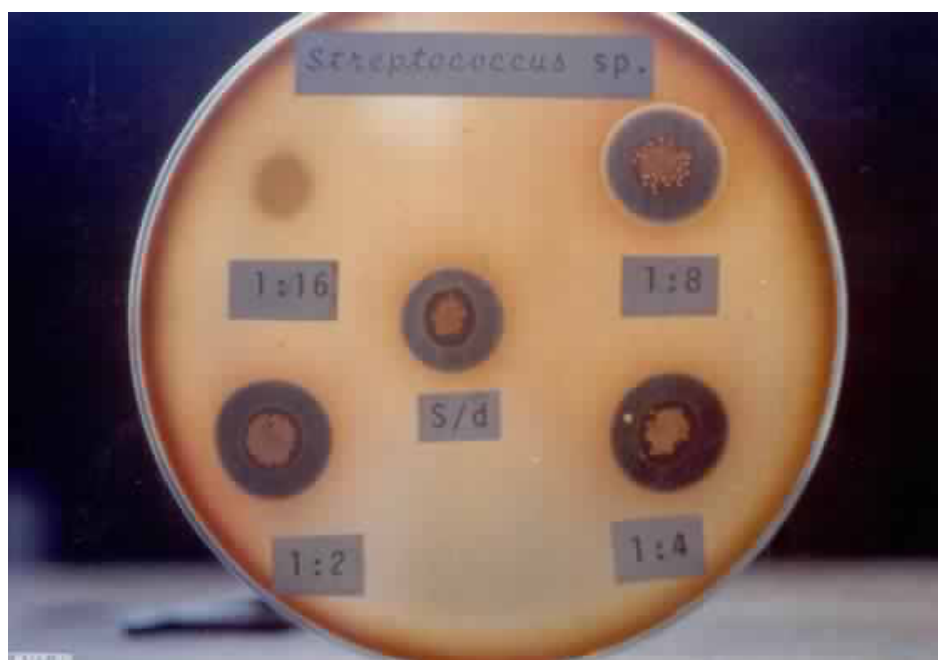


FIGURA 2. Efeito inibitório da hemolinfa de *D. hominis* contra *Streptococcus* sp.

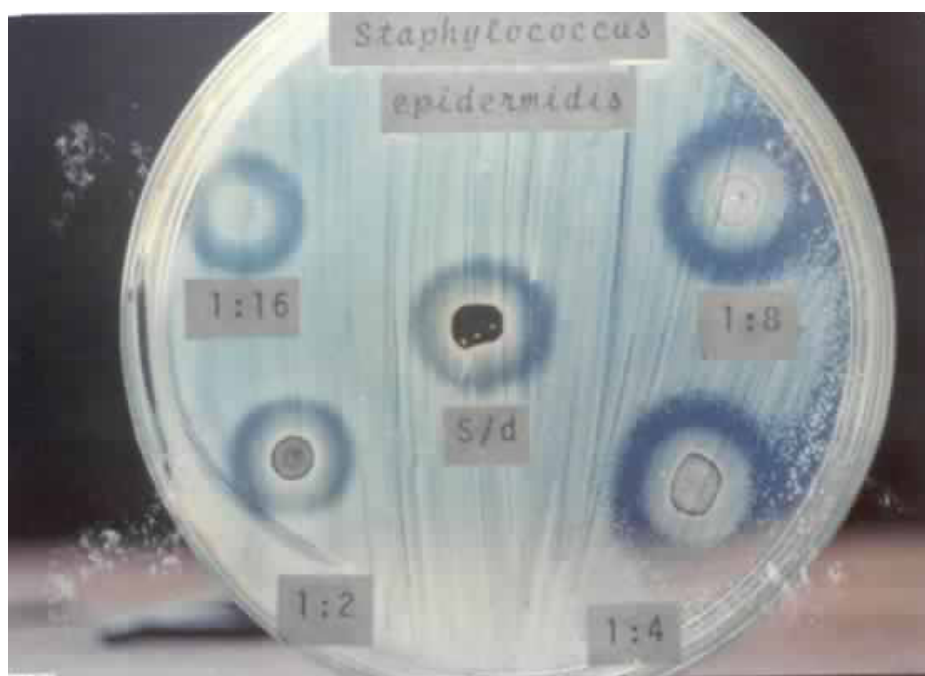


FIGURA 3. Efeito inibitório da hemolinfa de *D. hominis* contra *Staphylococcus epidermidis*.

TABELA 3. Atividade antibacteriana da hemolinfa de larvas de *D. hominis* contra bactérias dos gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus* incubadas a 37°C por 24 horas.

Bactérias	Hemolinfa (diluições)				
	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	+	+	+	+	+
<i>Staphylococcus caprae</i>	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus</i> sp.	+	+	+	+	-

+ Inibição.

- Crescimento.

tência de dois fatores os quais, juntos ou isoladamente, poderiam explicar a ausência de processos bacterianos ativos associados a *D. hominis*. O primeiro seria um fator imunológico associado à pele bovina que inibiria o desenvolvimento bacteriano. O segundo fator seria algum produto da larva com atividade anti-bacteriana.

Os nossos resultados, sem restar importância de algum processo imunológico a nível da pele, apontam para a existência de alguma substância presente na hemolinfa com demonstrada atividade antibacteriana. Possivelmente, essa substância tenha acesso ao tubo digestivo da larva de *D. hominis* e seja excretada durante o processo alimentar, inibindo o crescimento bacteriano da flora presente na lesão onde se aloja a larva de *D. hominis*.

4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho com *Dermatobia hominis* pode-se concluir:

1. A presença de larvas de *D. hominis* em bovinos provoca uma resposta imune humoral com incrementos de até 64 vezes os valores iniciais dos anticorpos circulantes detectados pela técnica de imunodifusão dupla;

2. A dose de ivermectina pode ser diminuída até 12,5 µg/kpv sem interferir na sua efetividade contra *D. hominis*, possibilitando um controle mais econômico;

3. A presença de compostos com atividade antibacteriana na hemolinfa das larvas de *D. hominis* é responsável pelo controle na flora bacteriana associada à lesão causada pelo parasito.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENNETT, G.F. 1955. Studies on *Cuterebra emasculator* (Diptera: Cuterebridae) and a discussion of the status of the genus *Cephenemyia*. Can. J. Zool., 33:75-98.
- BROWN, A.W.A. & PAL, R. 1971. Insecticide resistance in arthropods. W.H.O., Monogr. Ser., 38:1-491.
- CAMPBELL, W.C. 1981. An introduction to the avermectins. N.Z. Vet. J., 29:174-178.
- DRUMMONDI, R.O. 1984. Control of larvae of the common cattle grub with animal systemic insecticides. J. Econ. Entomol., 77:402-406.
- GUIMARÃES, J.H. & PAPAVERO, N. 1966. A tentative annotated bibliography of *Dermatobia hominis*. Arqos. Zool., S. Paulo, 14(4):223-294.

- JOBSEN, J.A. 1974. Investigation into the application of the sterile male method in *Dermatobia hominis*. *Entomologische Berichten*, 34(1):1-8.
- LANDI, S. 1960. Bacteriostatic effect of haemolymph of larvae of various botflies. *Can. J. Microbiol.*, 6:115-119.
- LEITE, R.C. & LIMA, J.D. 1984. Eficácia do Ivermectin no controle de larvas de *Dermatobia hominis* em bovinos leiteiros puros. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 19, Belém, 1984. Resumos ... Belém, Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, s.d.p. 103 (Resumo, 68).
- LOMBARDERO, O.J.; MORIENA, R.A.; RACIOPPI, O. e DUTRA, J.C. 1983. Ivermectina, nuevo tratamiento preventivo de la "ura" (*Dermatobia hominis*) en la Provincia de Misiones. *Gaz. vet.*, Buenos Aires, 45(380):517-524.
- MARIN, R. 1975. Control inmunológico del tórsalo (*Dermatobia hominis*). *Rev. Lat-amer. Microbiol.*, 17:21-24.
- MARSDEN, P.D.; SHELLEY, A.J. & ARMITAGE, P. 1979. The number of *Dermatobia hominis* lesions in Zebu cow hides of different colours. *Trans of Royal Soc. of Trop. Med. and Hyg.*, 73(4):458-459.

- MOTA, N.; PERAÇOLI, M. & LELLO, E. 1980. Anticorpos circulantes em coelhos imunizados com antígenos obtidos de larvas de *Dermatobia hominis*. *Ciência e Cultura*, 32(4):453-457.
- MOYA, G.E. 1982. O berne: biologia, comportamento e controle. *Agroquímica Ciba-Geigy*, 17:19-26.
- NEIVA, A. 1910. Algumas informações sobre o Berne. *Chácaras e Quintais*, 2(1):3-8.
- PERAÇOLI, M.; LELLO, E. & MOTA, N. 1980. Comportamento da resposta imune-humoral em coelhos imunizados com antígenos de *Dermatobia hominis* frente às larvas desse parasita. *Ciência e Cultura*, 32(11):1537-1541.
- PICADO, C. 1935. Bactericidal principle, fly larvae. *Bull. Biol. France et Belg.*, 60:410-438.
- ROSSI, M.A. & ZUCOLOTO, S. 1973. Fatal cerebral myiasis caused by tropical warble fly, *Dermatobia hominis*. *Am. J. Vet. Hyg.*, 22(2):267-269.

SANAVRIA, A. & MOYA, G. 1985. Residual effectiveness of ivermectin in controlling *Dermatobia hominis* larvae on cattle. 11th Conference of WAAP. Assoc. Mundial de Parasitologia Veterinária. 5-9 agosto 1985, Rio de Janeiro.

SANCHO, E.; RODRIGUEZ, F.; TORRES, L. & BOCADOS, J. 1986. Flora bacteriana presente en la lesion producida por *Dermatobia hominis* en vacuno. Ciências Veterinárias, Costa Rica, 8(1):23.

SIMMONS, S.W. 1935. The bactericidal properties of excretions of the maggot of *Lucilia Sericata*. Bull. Entomol. Research, 26:559-563.

TASSI, P.; PUCCINI, V. & GIANGASPERO, A. 1987. Efficacy of ivermectin against goat warbles (*Przhevalskiana silenus* Brauer). Vet. Rec., 120:421.

WHARTON, R.H. 1976. Tick-borne livestock diseases and their vectors, 5. Acaricide resistance and alternative methods of tick control. World. Anim. Rev., 70:8-15.

WIKEL, S.K. 1984. Immunomodulation of host responses to ectoparasite infestation. An overview. Vet. Parasitol., 14: 321-339.