

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

**TESE**

**Atividade do Fluazuron Administrado por Via Oral no Controle de**  
***Rhipicephalus sanguineus* em Cães**

**Vanessa Paulino da Cruz Vieira**

**2012**



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

**ATIVIDADE DO FLUAZURON ADMINISTRADO POR VIA  
ORAL NO CONTROLE DE *Rhipicephalus sanguineus* EM CÃES**

**VANESSA PAULINO DA CRUZ VIEIRA**

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

*e Co-orientação da Professora*  
**Katherina Coumendouros**

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

Seropédica, RJ  
Março de 2012

636.7089696

V658a

T

Vieira, Vanessa Paulino da Cruz, 1980-  
Atividade do Fluzaron administrado por  
via oral no controle de *Rhipicephalus*  
*sanguineus* em cães / Vanessa Paulino da  
Cruz Vieira - 2012.

56 f.: il.

Orientador: Fabio Barbour Scott.

Tese(doutorado) - Universidade Federal  
Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-  
Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 47-56.

1. Cão - Parasito - Teses. 2. Carrapato  
- Controle - Teses. 3. Benzoilfenil uréias  
- Teses. I. Scott, Fabio Barbour, 1966-.  
II. Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias. III. Título.

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

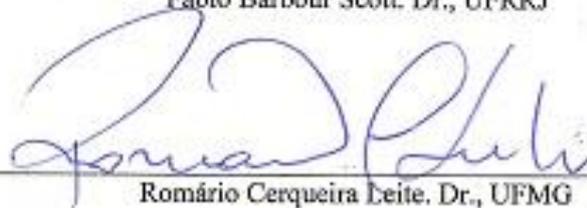
VANESSA PAULINO DA CRUZ VIEIRA

Tese submetida ao Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, em 29 de março de 2012.

TESE APROVADA EM 29/03/2012



Fabio Barbour Scott. Dr., UFRRJ



Romário Cerqueira Leite. Dr., UFMG



Márcia Cristina de Azevedo Prata. Dr<sup>a</sup>., EMBRAPA



Isabella Vilhena Freire Martins. Dr<sup>a</sup>., UFES



Ian Philippo Tancredi. Dr., UFMT



João Luiz Horácio Facetti. Dr., UFRRJ

*A Deus,  
A família,  
Aos amigos,  
Aos animais,  
Dedico*

*“Entrega o teu caminho ao  
Senhor, confia nEle e Ele tudo fará.”*

Salmos 37:5

*"Deus não escolhe os capacitados...  
Ele capacita os escolhidos."*

Vera Lúcia Paulino

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela bênção da vida.

À minha família que sempre me acompanhou.

Ao meu marido YOUNG GUIMARÃES RODRIGUES, pelo amor e companheirismo.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) juntamente com o Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela formação.

Ao meu orientador e padrinho FABIO BARBOUR SCOTT, pela oportunidade.

À co-orientadora e madrinha KATHERINA COUMENDOUROS, pela amizade.

Aos amigos do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pelas experiências diárias e contribuição neste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Apoio a Pesquisa da Universidade Rural (Fapur), pelo apoio financeiro.

Aos amigos da vida, que são a família que podemos escolher.

Aos animais, o motivo de toda minha dedicação.

E aqueles que fizeram parte desse todo.

Muito obrigada!

## BIOGRAFIA

Vanessa Paulino da Cruz Vieira, filha de Paulo Célio Vieira e Vera Lúcia Paulino, nasceu ao dia 06 de abril de 1980, no Município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro. cursou o Ensino Fundamental na Escola Municipal Cleuza Fortes de Pinho Jordão, em Angra dos Reis – R.J., e na Escola Estadual José Augusto Ferreira, em Caratinga – M.G. Concluiu o Ensino Médio no ano de 1998, tendo estudado na Escola Estadual Princesa Isabel (cursando o magistério), e concomitantemente na Escola Estadual José Augusto Ferreira (cursando o científico), ambas em Caratinga –M.G. Em 2001 ingressou no curso de Zootecnia, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, (UFRRJ). Em 2003, através de transferência interna, ingressou no Curso de Medicina Veterinária da mesma Instituição, graduando-se em 05 de março de 2007. Durante a graduação foi estagiária do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, no período de junho de 2004 a agosto de 2005, desenvolvendo atividades de pesquisa. Foi monitora da Disciplina Parasitologia Animal II, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e, posteriormente, foi bolsista de Iniciação Científica do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (PIBIC-CNPq/UFRRJ). Ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – área de concentração: Parasitologia Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em nível de Mestrado. Foi bolsista CNPq, de março de 2007 a fevereiro de 2009, sob a orientação do professor Gonzalo Efraín Moya Borja e co-orientação do professor Fabio Barbour Scott. Foi aprovada no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias – área de concentração: Parasitologia Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em nível de Doutorado, sendo bolsista CNPq, de março de 2009 a julho de 2011, sob a orientação do professor Fabio Barbour Scott e co-orientação da professora Katherina Coumendouros. Em março de 2011, foi aprovada em primeiro lugar no Concurso Público para Professor Assistente da área de Parasitologia Veterinária, da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia (EMVZ), da Universidade Federal do Tocantins (UFT), Campus Araguaína. Atualmente, faz parte do corpo docente da UFT, ministrando aulas de Parasitologia Veterinária II e Doenças Parasitárias, para o curso de Medicina Veterinária e Parasitologia para o curso de Zootecnia.

## RESUMO

VIEIRA, Vanessa Paulino da Cruz. **Atividade do Fluazuron Administrado por Via Oral no Controle de *Rhipicephalus sanguineus* em Cães.** 2012. 56p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo avaliar a atividade do fluazuron administrado por via oral no controle de *R. sanguineus* em cães. Foram utilizados 12 cães da raça Beagle, que, no dia 0, dia do tratamento, foram divididos em dois grupos: Grupo 1. Seis cães tratados com formulação oral de fluazuron na dosagem de 20 mg/Kg de peso corporal e Grupo 2. Seis cães mantidos como controle, sem tratamento. No mesmo dia, dispositivos para contenção de ixodídeos de pano brim foram aderidos com cola ao dorso tricotomizado dos cães. Após esse procedimento, foram realizados três desafios, nos dias +1, +20 e +40, onde os animais dos dois grupos receberam infestações com as três fases do carrapato *R. sanguineus*: aproximadamente 2.500 larvas, 200 ninfas e 25 casais de adultos. Foi utilizada câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio, tipo BOD, a uma temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $80 \pm 10\%$ . Do quarto ao décimo dia após cada desafio, os dispositivos foram abertos diariamente para a coleta das fases ingurgitadas. As larvas e as ninfas foram contadas e separadas em seringas para a avaliação da muda. As fêmeas ingurgitadas foram coletadas e fixadas em placas de petri para realização da postura que foi pesada e colocada em seringas, vedadas com algodão, para o cálculo da eclodibilidade. A eficácia do fluazuron sobre a recuperação de larvas de *R. sanguineus* em cães foi de 84,3% para o desafio do dia +20 e 36% para o dia +40. Com relação à recuperação de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* em cães, o fluazuron obteve uma eficácia de 82,4% e 51,7% nos dias +20 e +40. Houve diferença estatística entre os números médios de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas nos dias +20 e +40 ( $p \leq 0,05$ ). A eficácia do fluazuron sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas foi inferior a 30,3% durante todo o período experimental. A eficácia do tratamento sobre a eficiência reprodutiva de *R. sanguineus* se apresentou inferior a 12,4% nos três dias de desafio. Na inibição da muda ou ecdise de larvas para ninfas, o fluazuron apresentou uma eficácia de 0%, 96,9% e 45,0% para os dias +1, +20 e +40, respectivamente. No dia +20, observou-se diferença estatística significativa entre as médias de larvas ingurgitadas que realizaram muda para ninfas ( $p \leq 0,05$ ). A eficácia do fluazuron sobre a inibição da muda ou ecdise de ninfas para adultos foi de 0%, 99,5% e 63,5% para os dias +1, +20 e +40, respectivamente, havendo diferença estatística significativa entre as médias dos grupos controle e tratado nos dias +20 e +40 ( $p \leq 0,05$ ). O regulador de crescimento de artrópodes fluazuron é eficaz no auxílio do controle de larvas e ninfas de *R. sanguineus*, quando administrado oralmente em cães, na dose de 20mg/Kg. Na mesma dose e via de administração, não apresenta efeito negativo significativo na reprodução de fêmeas de *R. sanguineus*.

Palavras-chave: benzoilfeniluréias, quitina, carrapatos

## ABSTRACT

VIEIRA, Vanessa Paulino da Cruz. **Growth Regulatory Activity of Arthropods Fluazuron Oral Dogs in the Control of *Rhipicephalus sanguineus***. 2012. 56p. Thesis (Doctor of Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

This study was conducted to evaluate the activity of fluazuron administered orally in the control of *R. sanguineus* in dogs. A total of 12 beagle dogs which, on day 0, treatment day, were divided into two groups: Group 1. Six animals treated with oral formulation fluazuron at a dose rate of 20 mg / kg body weight and Group 2. Six dogs kept as control without treatment. On the same day, containment devices for ticks denim cloth were attached with glue to the back trichotomized dogs. After this procedure, three challenges were performed on days +1, +20 and +40, where the animals of both groups received infestations with the three stage of the tick *R. sanguineus*: approximately 2.500 larvae, 200 nymphs and 25 adult couples. Were used a climatic chamber with biochemical oxygen demand, BOD, at a temperature of  $27 \pm 1$  ° C and relative humidity of  $80 \pm 10\%$ . From the fourth to tenth day after each challenge, the devices were opened daily to the collection of engorged stages. Larvae and nymphs were counted and divided into syringes for evaluating the changes. The engorged females were collected and fixed in petri dishes to perform the posture that was weighed and placed in syringes, sealed with cotton, to calculate the hatchability. The efficacy of recovery fluazuron on larvae of *A. sanguineus* in dogs was 84.3% for day of challenge of the day +20 and 36% for the day +40. With regard to the recovery of engorged nymphs of *R. sanguineus* in dogs fluazuron achieved an efficacy of 82.4% and 51.7% on days +20 and +40. There was statistical difference between the mean number of engorged nymphs of *R. sanguineus* recovered on days +20 and +40 ( $p \leq 0.05$ ). The efficacy of recovery of the fluazuron engorged females was lower than 30.3% over the whole experimental period. The efficacy of treatment on reproductive performance of *R. sanguineus* was less than 12.4% in the three days of challenge. In inhibiting the change of larvae or nymphs ecdysis, fluazuron showed the effectiveness of 0%, 96.9% and 45.0% for days +1, +20 and +40, respectively. On day +20, there was a statistically significant difference between the mean engorged larvae to nymphs who underwent changes ( $p \leq 0.05$ ). The effectiveness of fluazuron on the inhibition of molting or ecdysis of nymphs to adults was 0%, 99.5% and 63.5% for days +1, +20 and +40, respectively, a statistically significant difference between mean the control and treated groups on days +20 and +40 ( $p \leq 0.05$ ). The growth regulator arthropod fluazuron is effective in helping control larvae and nymphs of *R. sanguineus*, when administered orally to dogs at a dose of 20mg/Kg. The same dose and route of administration, has no significant negative effect on female reproductive *R. sanguineus*.

Keywords: benzoilfenylureas, chitin, ticks

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Dados dos animais utilizados no procedimento experimental.....	23
<b>Tabela 2.</b> Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de larvas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , referente aos três dias de desafio.....	28
<b>Tabela 3.</b> Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de ninfas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , referente aos três dias de desafio.....	30
<b>Tabela 4.</b> Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , referente aos três dias de desafio.....	33
<b>Tabela 5.</b> Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a eclodibilidade de larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , referentes aos três dias de desafio.....	37
<b>Tabela 6.</b> Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , referente aos três dias de desafio.....	40
<b>Tabela 7.</b> Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , referentes aos três dias de desafio.....	43

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sequência numérica que demonstra a metodologia experimental da colocação do dispositivo.....	24
<b>Figura 2.</b> Metodologia de recuperação das fases ingurgitadas.....	25
<b>Figura 3.</b> Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	29
<b>Figura 4.</b> Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	31
<b>Figura 5.</b> Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	34
<b>Figura 6.</b> Fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> ainda dentro do capuz.....	34
<b>Figura 7.</b> Fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas do interior do capuz. Notar a presença de ninfas ingurgitadas da mesma espécie (seta).....	34
<b>Figura 8.</b> Postura de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> alimentadas em cães sem tratamento (A) e tratados com fluazuron (B). Notar que as características das posturas são semelhantes.....	35
<b>Figura 9.</b> Larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> oriundas de ovos de fêmeas alimentadas em cães sem tratamento (A). Larvas da mesma espécie oriundas de ovos de fêmeas alimentadas em cães tratados com fluazuron. Notar a presença de ovos cujas larvas não eclodiram (seta).....	36
<b>Figura 10.</b> Eficiência do tratamento com fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	38
<b>Figura 11.</b> Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de larvas para ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	41
<b>Figura 12.</b> Larvas do grupo controle (A) e tratado com fluazuron (B). Notar o aspecto desidratado (B).....	41
<b>Figura 13.</b> Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de ninfas para adultos de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	44
<b>Figura 14.</b> Ninfa ingurgitada de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> alimentada em cão tratado com fluazuron. Notar o ressecamento (A). Adulto da mesma espécie, oriundo de ninfa alimentada em cão sem tratamento (B).....	44
<b>Figura 15.</b> Espécime adulto de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> apresentado a cutícula da fase evolutiva anterior aderida à nova cutícula.....	44

## LISTA DE ABREVIACOES, SIGLAS OU SÍMBOLOS

RCI.....	Regulador de Crescimento de Insetos
RCA.....	Regulador de Crescimento de Artrópodes
BFU.....	Benzoilfeniluria
mm.....	Milímetro
mg.....	Miligrama
mL.....	Mililitro
µg.....	Micro litro
Kg.....	Quilograma
%.....	Por cento
DDT.....	Dicloro-Difenil-Tricloroetano
GABA.....	cido Gama Amino Butírico
C.....	Graus Celsius
CME.....	Concentração Mínima Efetiva
PV.....	Peso Vivo
LQEPV.....	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
DPA.....	Departamento de Parasitologia Animal
IV.....	Instituto de Veterinária
UFRRJ.....	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
B.O.D. ....	“Biological Oxygen Demand”- Demanda Biológica de Oxignio
EVA.....	Etil Vinil Acetato
DL50.....	Dose Letal 50
EMEA.....	Agência Européia de Medicamentos
EP.....	Eficácia do Produto
ER.....	Eficiência Reprodutiva
CNPq.....	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
Fapur.....	Fundação de Apoio  Pesquisa da Universidade Rural
CPGCV.....	Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias
RJ.....	Rio de Janeiro
et al. ....	<i>et alli</i> – e colaboradores
UR.....	Umidade Relativa
x.....	Veze

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
2.1 O carrapato <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	2
2.1.1 Biologia.....	2
2.1.2 Importância Médico Veterinária e em Saúde Pública.....	5
2.2 Controle.....	6
2.3 Desenvolvimento de Parasiticidas.....	8
2.4 Resistência.....	9
2.5 Classificação dos Acaricidas com Importância Veterinária.....	11
2.6 Novas Moléculas para o Controle de Artrópodes.....	12
2.7 Reguladores de Crescimento de Artrópodes (RCA's).....	12
2.7.1 Análogos do Hormônio Juvenil.....	13
2.7.2 Inibidores da Deposição de Quitina.....	14
2.7.3 Inibidores da Síntese de Quitina – Derivados dos Benzoilfeniluréias (BFU's).....	15
2.7.3.1 Fluazuron.....	17
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
3.1 Animais.....	22
3.2 Ixodídeos.....	22
3.3 Tratamento.....	23
3.4 Infestações.....	23
3.5 Recuperação das Fases Ingurgitadas.....	24
3.6 Avaliação da Muda ou Ecdise.....	26
3.7 Análise Estatística.....	26
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	26
4.1 Inibição da Recuperação de Larvas Ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	27
4.2 Inibição da Recuperação de Ninfas Ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	29
4.3 Inibição da Recuperação de Fêmeas Ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	31
4.4 Percentual de Eclodibilidade e Eficiência do Tratamento com Fluazuron sobre <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	34
4.5 Avaliação do Percentual de Muda ou Ecdise das Fases Evolutivas Ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> Recuperadas Após o Tratamento.....	38
4.5.1 Avaliação do Percentual de Muda ou Ecdise de Larvas Ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	38
4.5.2 Avaliação do Percentual de Muda ou Ecdise de Ninfas Ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	41
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	45
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	46
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47

# 1 INTRODUÇÃO

Historicamente, agentes patogênicos transmitidos por artrópodes em medicina veterinária têm sido considerados de grande importância, principalmente por causa dos prejuízos que causam aos animais de produção, que pode alcançar dois bilhões de dólares por ano, de acordo com Grisi et al. (2002). Mais recentemente, porém, os agentes patogênicos transmitidos por artrópodes para cães e gatos têm atraído o interesse crescente do público em geral e da comunidade científica, não só devido à sua patogenicidade para os animais infectados, mas também porque muitos acometem seres humanos, causando um grande impacto na saúde pública, particularmente em países em desenvolvimento, pela quantidade exacerbada de animais de companhia e sua associação com seres humanos.

Segundo a Organização Mundial da Saúde, as doenças que surgem através dos agentes patogênicos transmitidos por artrópodes têm um grande impacto sobre os animais e a saúde humana, e são responsáveis por cerca de 17% dos casos de doenças infecciosas do homem no mundo.

O carrapato ixodídeo *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806, comumente conhecido como “carrapato dos cães” ou “carrapato marrom dos cães”, é cosmopolita e provavelmente a mais frequente das espécies de ixodídeos em cães, sendo amplamente distribuído nas Américas, Europa, África, Ásia e Austrália. O cão é considerado o hospedeiro natural de *R. sanguineus*, mas essa espécie já foi relatada parasitando gatos, coelhos, camelos, bovinos, cabras, cavalos, ovelhas, morcegos, répteis, pássaros e humanos.

Devido ao íntimo contato entre homens e seus animais de estimação, além da existência de baixa especificidade parasitária de *R. sanguineus*, os seres humanos acabam por tornarem-se hospedeiros acidentais destes ectoparasitos, podendo ser acometidos por diversas doenças oriundas de agentes patogênicos transmitidos por estes artrópodes.

O controle dos carrapatos sempre foi uma tarefa que demanda cuidados, uma vez que a má utilização dos produtos para combatê-los pode gerar uma seleção de populações de artrópodes resistentes, fazendo com que estes apresentem resultados limitados. Dentre as substâncias químicas até então empregadas, destacam-se os organofosforados, amidinas, piretróides, fenilpirazoles e lactonas macrocíclicas.

É provável que, abordagens que tentem reduzir a abundância de artrópodes vetores de doenças, realizando tratamentos quimioterápicos, não sejam eficazes a longo prazo, por causa da seleção de populações resistentes. A abordagem mais adequada para o controle desses vetores, embora seja a opção mais difícil, envolve a utilização de várias das ferramentas disponíveis em um programa de manejo integrado.

A associação de produtos já existentes vêm sendo realizadas, simplificando o tratamento e aumentando a segurança pessoal e ambiental. Nesse contexto, estão sendo explorados os reguladores do crescimento de insetos (RCI's), atualmente conhecidos como reguladores de crescimento de artrópodes (RCA's) que agem nas formas imaturas dos artrópodes, atuando como aliados no controle integrado desses ectoparasitos.

Os RCA's englobam os benzilfeniluréias (BFU's) (inibidores de síntese de quitina), um grupo totalmente distinto dos neurotóxicos usados habitualmente, pois, ao invés de interferirem no sistema nervoso central dos artrópodes, afetam sua habilidade em produzir quitina e, conseqüentemente, formar cutícula, que é uma parte vital de seu exoesqueleto. Isso confere a essa substância, atoxicidade para mamíferos, uma

característica importantíssima, garantindo um alto nível de segurança para os animais e seus proprietários, durante sua utilização.

Justamente por isso, é que se enfatiza no presente estudo, o fluazuron, que se trata de um BFU já consagrado no controle do carrapato do boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, mas que ainda é precariamente explorado contra carrapatos da espécie *R. sanguineus*.

O presente trabalho foi realizado com o objetivo avaliar a atividade do fluazuron administrado por via oral no controle de *R. sanguineus* em cães.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O Carrapato *Rhipicephalus sanguineus*

Na Grécia Antiga o carrapato era conhecido pelo nome de Croton, ou seja, semelhante à mamona, e, pela mesma razão também foi denominado na Antiga Roma com o nome de Ricinus. Existem relatos sobre o carrapato desde o ano 77 d.C., onde foi citado, por Plínio, como hematófago em sua *Historia Naturalis* (PEREIRA, 1982).

Os carrapatos considerados de importância pública são artrópodes da Classe Arachnida, Ordem Acari e Famílias Ixodidae e Argasidae. Todas as espécies necessitam de sangue de vertebrado para concluir a alimentação, podendo parasitar o homem (MASSARD; FONSECA, 2004).

Membro da família Ixodidae, *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806), vulgarmente conhecido como carrapato marrom do cão, é um carrapato originário da região Afrotropical, com ampla distribuição geográfica entre os paralelos 50° Norte e 35° Sul (BELLATO, 1995).

O carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, além de ser um dos principais problemas parasitários enfrentados por proprietários de canis, vem se destacando cada vez mais no ambiente domiciliar e peridomiciliar do homem que convive com o principal hospedeiro urbano deste ectoparasito, o cão doméstico *Canis familiares*. Com frequência, torna-se uma importante praga urbana que começa a requerer atenção dos organismos de saúde pública, sendo ainda, motivo de constante preocupação entre os profissionais veterinários em seus locais de atendimento (PAZ et al. 2008).

Muitas investigações vêm sendo realizadas com carrapatos, principalmente enfocando aspectos bioeconômicos, ecológicos além de anatômicos (morfologia externa), com vistas à taxonomia (OLIVEIRA et al. 2009).

#### 2.1.1 Biologia

O ciclo biológico de *R. sanguineus* é constituído de quatro estágios, que incluem: ovo, larva, ninfa e adulto, podendo levar de 104 a 110 dias, em uma situação onde temperatura e umidade estão controladas (SANTOS-SILVA; FILIPE, 1998).

Considerada de baixa especificidade parasitária, esta espécie necessita de três hospedeiros para completar seu ciclo biológico, sendo encontrada principalmente nas áreas urbanas, sobre o corpo de canídeos domésticos (FERNANDES, 2000).

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* é comumente encontrado no cão, mas pode parasitar outros mamíferos, tais como capivaras, coelhos domésticos, búfalos, camelos, gatos, bovinos, cervos, caprinos, ovinos, leões, zebras e lebres. Pode ainda parasitar aves que se alimentam no solo, bem como o próprio homem, no qual as formas

imaturas alimentam-se mais freqüentemente do que previamente se supunha (BELLATO, 1995; FERNANDES, 2000; GUIMARÃES et al., 2001; MILLER et al., 2001; MASSARD; FONSECA, 2004).

Uma vez no hospedeiro, os carrapatos tendem a se fixar na cabeça, pescoço, dorso, orelhas e espaços interdigitais (ROMANO et al., 1998; LABRUNA, 2004). Porém, larvas, ninfas e adultos podem ser encontradas em qualquer região do corpo (FLECHTMANN, 1985).

Os adultos iniciam a cópula logo após a alimentação. As fêmeas ingurgitadas desprendem-se do hospedeiro indo ao ambiente, onde procuram abrigo, como pedras ou material vegetal seco, tábuas de madeira e frestas nas paredes, para realização de uma única postura, por um período de 12 a 14 dias (SANTOS-SILVA; FILIPE, 1998; LABRUNA; PEREIRA, 2001). É necessária temperatura e umidade ótimas para a viabilidade dos ovos, uma vez que estes são extremamente sensíveis à desidratação (GUIMARÃES et al., 2001; COELHO, 1993).

Em virtude da temperatura e umidade, a eclosão das larvas ocorre por um período variável de tempo. As larvas, que possuem apenas três pares de patas, permanecem inativas até o endurecimento da cutícula. Elas não se locomovem por grandes distâncias e aguardam a presença de um hospedeiro, agrupadas com as demais larvas. A partir de um quimiorreceptor (Órgão de Haller) presente no primeiro par de patas, elas identificam a distância seu hospedeiro e preparam-se para que, no momento da passagem, elas possam iniciar sua fixação. Uma vez no hospedeiro, os carrapatos procuram lugares onde a pele é mais fina e com ampla cobertura pilosa para sua proteção. A fixação e alimentação dos carrapatos pode durar em torno de 11 dias. As larvas, uma vez alimentadas, vão ao ambiente para realização da ecdise, mudando para o estágio seguinte: ninfas, que já apresentam quatro pares de patas, porém não apresentam dimorfismo sexual. O período compreendido entre a alimentação das larvas e a muda para ninfas é longo, podendo levar de 38 a 40 dias, desde que as condições climáticas sejam favoráveis (ROMANO et al., 1998; SANTOS-SILVA; FILIPE, 1998).

As ninfas aguardam a passagem do hospedeiro para fixação e alimentação, retornando ao ambiente para realização de uma nova ecdise, período este que leva em torno de 11 a 13 dias, para chegar então, ao estágio de adultos, que possuem também quatro pares de patas, porém com claro dimorfismo sexual (SANTOS-SILVA; FILIPE, 1998).

Todos os vertebrados superiores estão sujeitos ao ataque desse e de outros carrapatos. Entretanto, devido à endotermia, os mamíferos são os hospedeiros principais. No caso do carrapato *R. sanguineus* o cão é o seu hospedeiro mais freqüente (GROSSCURT et al., 1988).

A biologia de *R. sanguineus* tem sido objeto de estudos por vários autores de diferentes países (SARTOR et al., 1996; BELLATO; DAEMON, 1997; SANTOS - SILVA; FILIPE, 1998), a maior parte dos estudos envolve o desenvolvimento desse ixodídeo em diferentes condições térmicas.

Coelho (1993) estudou no estado do Rio de Janeiro três gerações de *R. sanguineus* obtidas a partir de infestações em coelhos sem infestação prévia por ixodídeos e observou que a média geral do índice de eficiência reprodutiva da primeira geração foi 64,50%, da segunda 62,83% e da terceira 65,24%. A média geral do índice de eficiência nutricional na primeira geração foi de 79,22%, na segunda 79,00% e na terceira 77,32. Observou ainda, que nos primeiros sete dias foram ovipostos 89,54% do total de ovos na primeira geração, 81,33% na segunda e 89,13% na terceira. O autor verificou que a duração do período de pré-postura foi maior e o percentual de eclosão foi menor para *R. sanguineus* obtidos de hospedeiros reinfestados. Constatou, ainda, que

o desempenho biológico das fêmeas provenientes de coelhos foi superior ao das provenientes de cães.

Sartor (1994) desenvolveu uma pesquisa no Rio de Janeiro com o objetivo de estudar aspectos do ciclo parasitário e não parasitário de larvas e ninfas e do ciclo parasitário de fêmeas de *R. sanguineus* em coelhos sem infestação prévia e em coelhos e cães infestados sucessivamente. Concluiu que em coelhos sem infestação prévia, o ciclo parasitário foi de 17 dias e o não parasitário de 27 dias e em coelhos com sucessivas infestações, o ciclo foi de aproximadamente 21 dias e o não parasitário de 28 dias. Afirmou ainda que a população estudada adaptou-se com sucesso a coelhos, os quais podem ser utilizados como hospedeiros alternativos, ao contrário do observado para cães e que para manutenção de colônia de *R. sanguineus*, o coelho pode ser utilizado por até uma infestação seqüencial por larvas, ninfas e adultos.

Bellato (1995) estudou no estado do Rio de Janeiro o efeito de três temperaturas de manutenção da fase não parasitária sobre a duração do período parasitário e percentual de recuperação de larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*. O autor reportou que à temperatura de 27° C,  $\pm 1$  e umidade relativa de 80  $\pm$  10% verificaram período de muda para larvas e ninfas de sete a 10 dias e 11 a 13 dias, respectivamente; já os percentuais de ecdise foram de 80 a 100 para ambas. Os períodos parasitários e percentuais de recuperação de larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas foram de três a oito dias, 44,8 a 88,4%; quatro a oito dias, 83,0 a 96,5% e sete a 18 dias, 66,7 a 93,3% respectivamente. Os parâmetros de fase não parasitária das fêmeas foram os seguintes: peso inicial de 128,5 a 236,0; o período de pré-postura de dois a quatro dias; período de postura de nove a 18 dias; peso da massa de ovos de 67,4 a 156,0 mg e índice de eficiência reprodutiva 50,9 a 67,6. Os parâmetros biológicos referentes à incubação dos ovos, período de eclosão e percentual de eclosão foram de 18 a 20 dias; sete a 12 dias e 99,0% respectivamente.

Sartor et al. (1996), realizou estudos com larvas, ninfas e adultos a partir de uma segunda geração de *R. sanguineus* mantida em coelhos sob condições controladas em estufa incubadora tipo B.O.D. regulada a 27  $\pm$  1°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase. O autor observou período parasitário médio para larvas, ninfas e fêmeas de 3,70; 5,20 e 8,80 dias, respectivamente, enquanto, os percentuais de recuperação dos instares ingurgitados foram de 48,06; 46,40 e 65%. O peso médio de fêmeas foi de 166,02 mg. Os períodos médios de pré-ecdise e ecdise foram de 8,40 e 2,40 dias para larvas e 13,80 e 2,40 para ninfas, com percentuais de ecdise de 92,07 e 97,04%, respectivamente.

Santos - Silva e Filipe (1998) determinaram os períodos decorrentes de cada fase do ciclo evolutivo de algumas espécies de ixodídeos da fauna nacional entre elas *R. sanguineus*. Durante o período não parasitário os ixodídeos foram mantidos a uma temperatura média de 24 °C, fotoperíodo de 16:00 e 8:00 horas (luz-escuro) e umidade relativa de 80 a 85%. Eles reportaram para larvas, ninfas e adultos períodos de pré-alimentação de 24, cinco e 12 dias; período de alimentação de quatro a cinco dias, seis a oito dias e oito dias, respectivamente. O período de ecdise para larvas foi de 10 a 11 dias e para ninfas foi de 12 dias. O período de pré-oviposição foi de quatro dias e de oviposição variou entre oito e 10 dias. Os períodos de pré-eclosão e eclosão das larvas foram de oito e três respectivamente.

De acordo com os estudos realizados por Giga (1987), os carrapatos de maneira geral possuem extraordinária capacidade de atuar como vetores de vírus, bactérias, rickettsias e protozoários, provocando doenças nos hospedeiros, os quais podem ser: animais domésticos, silvestres, aves e até mesmo o homem, devido ao fato de apresentarem as seguintes características biológicas:

- hematofagismo observado em todas as fases do desenvolvimento, o que aumenta a sua efetividade como vetor;
- fixação profunda do hipostômio nos hospedeiros, o que causa dificuldades na sua remoção e facilita a dispersão por aves e mamíferos;
- ingurgitamento lento, propiciando tempo necessário para aquisição e inoculação de patógenos;
- adaptação a diferentes hospedeiros, possibilitando a veiculação de patógenos entre as diferentes espécies;
- longevidade presente nos diversos estágios de vida, propiciando tempo para localização de seus hospedeiros ideais e para a multiplicação dos patógenos;
- transmissão transovariana de microrganismos, permitindo a geração sucessiva de indivíduos com potencial de transmití-los e funcionar como eficientes reservatórios;
- poucos inimigos naturais, pela eficiente adaptação ao ambiente;
- grande esclerotização da cutícula, propiciando resistência a adversidade climática, e;
- grande potencial biótico, possibilitando a perpetuação da espécie.

A fixação do carrapato no hospedeiro ocorre quando ele penetra o seu hipostômio na pele do mesmo, como consequência da ação combinada entre as quelíceras e a saliva. A digestão dos tecidos ao redor do canal de penetração do hipostômio causa ruptura dos capilares e dos vasos linfáticos do hospedeiro. O processo de alimentação ocorre por sucção do sangue do hospedeiro, alternada com a eliminação da saliva produzida pelas glândulas salivares. Grande volume de saliva é eliminado no final do processo de ingurgitamento, causando o aumento da permeabilidade vascular do hospedeiro e, conseqüentemente aumentando o fluxo de sangue para o interior do carrapato (FARIAS et al., 2008).

Embora a extensão da lesão no hospedeiro e a capacidade de ingestão de sangue pelo carrapato variem independentemente da fase de desenvolvimento do indivíduo, as peças bucais das larvas, das ninfas e dos adultos de determinadas espécies penetram na pele do hospedeiro na mesma profundidade (TATCHELL; MOORHOUSE, 1970).

### 2.1.2 Importância médico-veterinária e em saúde pública

Além dos danos causados pela espoliação sanguínea e lesões cutâneas, assim como o desconforto causado pelo parasitismo, *R. sanguineus*, quando em infestações maciças, pode causar anemia e anorexia (MARRA et al., 1999).

O carrapato marrom do cão, *R. sanguineus* é uma espécie de carrapato considerada de grande importância médico-veterinária, pois além de causar grandes perdas de sangue nos animais que ataca (hospedeiros), ainda está envolvido na transmissão de inúmeros agentes patogênicos, tais como: *Babesia canis*, *B. gibsoni*, *B. merionis*, *B. equi*, *Haemobartonella canis*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon spp.*, *Rickettsia canis*, *R. conori*, *R. rickettsii* e *Coxiella burnetti*. Destes, a espécie *Babesia canis*, ataca um grande número de glóbulos vermelhos causando a babesiose ou "nambiuvu" (BELLATO, 1995; O'DWYER et al., 2001; PALUDO et al., 2003; MASSARD; FONSECA, 2004).

Na babesiose, o cão apresenta como sinais clínicos: perda de apetite, desânimo, letargia, icterícia (amarelão) ou palidez nas mucosas (gengivas e conjuntiva) (FLECHTMANN, 1973). Aliado a isso, *R. sanguineus* ainda é o vetor do *Hepatozoon canis* causando a hepatozoonose em cães na América do Sul (VICENT-JOHNSON et al., 1997; O'DWYER et al., 2001). A transmissão para cães ocorre após a ingestão de carrapatos contendo oocistos maduros de *H. canis* (MARTINS, 2004). Este ixodídeo pode transmitir também a erlichiose, que ataca as células de defesa (leucócitos) do

organismo do cão, a partir de um carrapato que tenha sugado o sangue de um cão contaminado. Através de sua saliva, o carrapato infectado transmite a doença, injetando as ehrlichias para dentro da corrente sanguínea do cão (FLECHTMANN, 1973; DAVOUST et al., 2003). Em humanos, registros indicam que ele pode também transmitir a bactéria *Francisella tularensis* causando a tularemia. Os sintomas dessa patologia começam de 1 a 10 dias (geralmente 2 a 4 dias) após o contato com a bactéria e incluem a cefaléia, a náusea, o vômito, a febre de até 40 °C e o intenso esgotamento (GROSSCURT et al., 1988).

Os carrapatos têm grande importância na transmissão de patógenos para os animais e seres humanos. Além disso, essas doenças provocadas por esses patógenos são responsáveis por elevados custos na produção animal e alta morbidade nas pessoas acometidas (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

## 2.2 Controle

Infestações por *R. sanguineus* são de difícil controle, pois esta espécie necessita de três hospedeiros para completar seu ciclo biológico, apresentando para cada fase de desenvolvimento, uma fase parasitária e outra fase de vida livre, onde realiza a muda em locais seguros e escondidos (MILLER et al., 2001). Apenas 5% da população total de carrapatos está parasitando o animal, no caso, sobre o hospedeiro. O restante encontra-se no ambiente, nas fases de vida livre, o que dificulta seu controle principalmente em lugares onde o manejo do animal e ambiente não são considerados satisfatórios (LABRUNA, PEREIRA, 2001; ROMANO et al., 1998).

Em se tratando do controle do carrapato *R. sanguineus* estratégias de controle integrado são necessárias para reduzir sua população, tanto nos cães quanto no ambiente. Essa estratégia de controle integrado significa que todas as ferramentas técnicas e tecnológicas são utilizadas, proporcionando uma efetiva diminuição da população de carrapatos. Isso inclui o uso de estratégias químicas e não químicas. No controle químico, os cães e o ambiente são tratados com diversos produtos acaricidas existentes no mercado, que atuam no controle de *R. sanguineus*. O uso de acaricidas em cães, é usualmente efetivo para eliminar suas infestações de carrapatos e prevenir reinfestações por um certo período de tempo. A frequência do tratamento depende do nível de infestação e do período residual de cada produto (DANTAS-TORRES, 2008).

No desenvolvimento de abordagens que permitam gestão eficaz das populações de ectoparasitos, deve-se tentar minimizar os efeitos colaterais e preservar a disponibilidade dos parasiticidas existentes, sendo essencial desenvolver mais plenamente o uso de programas integrados. Em tais abordagens, muitos métodos de gerenciamento podem ser implantadas como e quando necessário, com parasiticidas disponíveis com apenas um componente, para ser usado em circunstâncias adequadas. A adoção de tais abordagens, no entanto, vai exigir mudanças substanciais no modo de pensar dos produtores, proprietários e da indústria (SOUZA, 2010; WILLIAMS, 1967).

Uma grande variedade de novas ferramentas estão se tornando disponíveis para auxiliar neste objetivo. Estes incluem técnicas moleculares, que estão fornecendo uma amplitude nas possibilidades de diagnóstico (OTRANTO; WALL, 2008) e re-interpretação de taxonomia e epidemiologia do parasito (OTRANTO et al., 2005; MENDONÇA, 2010). Repelentes botânicos, (JAENSON et al., 2006), o uso de cepas de hospedeiros resistentes e uma compreensão mais ampla dos efeitos de uma melhor nutrição, são também importantes contribuintes. Infelizmente, a busca de novas vacinas para o controle de ectoparasitos ainda permanece ilusória (NISBET; HUNTLEY, 2006).

Estudos mais avançados têm aberto a perspectiva para o controle imunológico por meio da identificação, isolamento e síntese de antígenos que possam causar resposta imune protetora (produção de anticorpos), permitindo assim o desenvolvimento de vacinas contra esses carrapatos. A esse respeito, cabe salientar que para o desenvolvimento de vacinas anticarrapato, não é suficiente apenas o conhecimento da biologia do ácaro, da relação parasito-hospedeiro e dos mecanismos de resistência do carrapato. Pesquisas sobre aspectos morfo-funcionais de tecidos e de órgãos isolados de carrapatos são cruciais para a descoberta de sítios produtores de potenciais antígenos para a produção de vacinas contra esse parasito (WILLADSEN, 2006).

Consideráveis recursos e esforços de pesquisadores foram investidos nas últimas décadas com a intenção de se desenvolver uma vacina eficaz contra carrapatos e que fosse de amplo uso, não obstante os complexos mecanismos envolvidos na resposta imune. Duas vacinas foram registradas (TickGard® e Gavac®) e disponíveis comercialmente em alguns países. No Brasil estão sendo comercializadas e colocadas à disposição dos bovinocultores, com registros de licenciamento, e, inicialmente vêm sendo utilizadas, associadas com o controle químico. Certamente, com a justificativa econômica de seu uso e de uma eficácia comprovada contra carrapatos nas nossas condições, estes antígenos deverão ser progressivamente incorporados e auxiliar no controle dos carrapatos (WILLADSEN, 2001).

Por outro lado, linhas de pesquisa em fungos patogênicos tem apresentado resultados extremamente promissores, inclusive com recentes experimentos à campo (MASSARD; FONSECA, 2004; BITTENCOURT et al. 2003), limitação que sempre foi questionada quanto ao uso prático dos resultados laboratoriais.

Embora as vacinas e o controle biológico sejam considerados possíveis medidas estratégicas contra os parasitos, estas, ainda em fase de desenvolvimento, poderão em futuro próximo competir, no mercado, com a terapêutica convencional. Assim, os quimioterápicos, no momento, mesmo diante do aparecimento de estirpes de parasitos resistentes, constituem a arma mais eficaz no tratamento antiparasitário (COSTA, 2004).

Ainda que estudos da biologia de *R. sanguineus* sejam frequentes, a literatura que trata de seu controle em condições naturais de infestação é escassa, destacando-se os trabalhos que avaliam a eficácia de colares impregnados com acaricidas e produtos de uso tópico em cães infestados experimentalmente com este carrapato. Na literatura, apenas os trabalhos de Labruna (2004) abordam aspectos da ecoepidemiologia deste carrapato no Brasil, que são importantes para o direcionamento das medidas de controle de *R. sanguineus* (PAZ et al. 2008).

Em bovinos, métodos para o controle de carrapatos estão sendo investigados e incluem o uso de vacinas, acaricidas sprays e de uso tópico (BECHARA et al., 1995), o uso de predadores naturais como a garça vaqueira *Egretta ibis* (FARIAS et al., 2008), de parasitas como bactérias (*Escherichia coli*, *Cedecea lapagei* e *Enterobacter agglomerans*), já normalmente encontradas no aparelho reprodutor feminino do carrapato e de fungos (como o *Metarhizium anisopliae*), o uso de feromônios, e no caso do combate aos carrapatos presentes em bovinos, antigamente se utilizava a rotação de pastagens. Também está sendo utilizado o controle climático, por meio de manutenção de temperaturas abaixo de 17,5 °C, precipitações pluviométricas anuais abaixo de 400mm e umidade relativa abaixo de 70%, e o cruzamento genético de diferentes raças de gado (hospedeiro) visando aumentar naturalmente a resistência do animal (SOUZA, 2010).

Miller et al., (2001) enfatizam que os carrapatos possuem um elevado potencial biótico e grande capacidade de suportar jejum, podendo as larvas sobreviver por 60

dias, machos adultos por 200 dias e fêmeas por 220 dias, servindo como fonte de contaminação, o que torna mais difícil seu controle. Com esta observação, Labruna e Pereira (2001) citam a importância de se tratar o ambiente, principalmente nos locais onde os animais permanecem por mais tempo, não esquecendo das paredes, uma vez que esta espécie tem geotropismo negativo.

Os compostos ativos contra ectoparasitos podem ser categorizados em larvicidas (controle ambiental) e adulticidas (controle no hospedeiro). Alguns compostos também podem possuir ambas as propriedades (LABRUNA; PEREIRA, 2001).

O carrapato *R. sanguineus* tem hábitos nidícolas, além de possuir geotropismo negativo, características importantes para implantação de um efetivo sistema de controle (FERNANDES et al. 2010).

Com relação aos procedimentos para a utilização de produtos acaricidas, sempre deve ser seguida a recomendação do fabricante. O exato tempo necessário para o tratamento acaricida reduzir as populações de carrapatos é incerto. Exames físicos regulares de cães tratados podem servir como um indicador do progresso do programa de controle do carrapato, indicando falha ou sucesso desse tratamento (DANTAS-TORRES, 2008).

Devido ao fato dos carrapatos da espécie *R. sanguineus* serem considerados parasitos de grande importância médica e veterinária, estudos envolvendo sua biologia vem sendo desenvolvidos focados na busca de novas alternativas de controle. O controle químico que utiliza compostos acaricidas é ainda muito eficiente, a despeito de todos os inconvenientes relatados sobre sua utilização, como desenvolvimento de populações de carrapatos resistentes e contaminação ambiental (PEREIRA et al. 2011).

### 2.3 Desenvolvimento de Parasiticidas

Os artrópodes provavelmente evoluíram há cerca de 600 milhões de anos atrás, ou seja, 300 milhões de anos antes dos vertebrados de sangue quente. Como os vertebrados evoluíram, vários grupos de artrópodes foram capazes de começar a explorar as oportunidades criadas por este novo recurso (MARTINS, 2004).

Até o final do século XIX, as tentativas de controle de pragas e parasitos dependiam quase inteiramente de medidas de baixo custo, mas relativamente ineficientes, como rotação de pastagens, práticas de higiene, e o uso de inseticidas derivados de plantas naturais, enxofre, poeiras, óleos, e metais pesados altamente tóxicos. Moléculas orgânicas sintéticas começaram a aparecer no século XIX, mas sua utilização maciça na agricultura e saúde humana e animal começou apenas em meados do século XX, durante e imediatamente após a Guerra Mundial (SOUZA, 2010).

O primeiro inseticida comercial foi introduzido em 1843, quando o primeiro pó molhável contendo enxofre e foi comercializado. Na década de 1940, surgiram as neurotoxinas sintéticas, com custo relativamente baixo, facilidade e velocidade de aplicação e eficácia, que se tornaram a principal arma no arsenal, aplicadas contra ectoparasitos (GEARY; THOMPSON, 2003).

O órgão alvo principal era e ainda é o sistema nervoso, e as substâncias, portanto, muitas vezes são referidas como compostos neurotóxicos. Se considerarmos o número e tipos de inseticidas/ acaricidas introduzidos entre 1950 e 1990, é óbvio que a maioria deles tem atividade neurotóxica, embora a sua proporção tenha diminuído nos últimos anos. Um dos grandes problemas com estes compostos é que eles atuam em um número muito limitado de sítios: a acetilcolinesterase para organofosforados e carbamatos, o canal de sódio para o DDT e piretróides, os receptores de octopamina para as formamidinas, e os receptores GABA para ciclodienos e avermectinas. Isso é

preocupante, pois a direta e muitas vezes dramática consequência desse foco limitado de sítios de atuação, é o rápido desenvolvimento e propagação da resistência (SOUZA, 2010).

Esta realidade tem sido contrabalanceada pelo desenvolvimento de novos ativos, tais como os fenilpirazoles, inseticidas nicotínicos e o uso de compostos inibidores de crescimento de insetos e seus derivados. No entanto, está bem documentado que a taxa de desenvolvimento de novos ativos está reduzida, ao ponto que o lançamento de um novo produto é raro (GEARY; THOMPSON, 2003).

Outro aspecto do problema atual com inseticidas é a crescente demanda do público por tecnologias mais seguras, implicando em modos seletivos de ação, bem como redução dos riscos de efeitos colaterais, além de contaminação do meio ambiente. Cada vez mais, nos últimos anos, a preocupação com a saúde humana e contaminação ambiental, estão sendo a causa da retirada gradual e restrição em algumas áreas do mundo, de alguns dos mais velhos compostos neurotóxicos, como os organoclorados, organofosforados e piretróides (WILLIAMS, 1967).

Esses dois fatores (resistência e segurança) têm, eventualmente, levado a um aumento dos esforços na busca de mecanismos de diferentes modos de ação. Os reguladores de crescimento estão cumprindo esses requisitos, uma vez que eles se caracterizam pelo fato de não matar necessariamente os adultos, mas atuam interferindo no ciclo, com os seus processos de crescimento e desenvolvimento. Eles, portanto, atuam em sítios diferentes do sistema nervoso central, exibindo atividade seletiva, e assim, mostrando perfil melhor de segurança (SMITH et al., 1996).

Eles agem principalmente nas fases evolutivas, no desenvolvimento larval e ninfal, interferindo em sua metamorfose e na reprodução das fêmeas, e isso pode limitar a sua aplicação na prática, necessitando específicas e sofisticadas estratégias de controle com um melhor conhecimento dos conceitos referentes à biologia dos parasitos (SOUZA, 2010).

Atualmente alguns métodos de controle químicos usualmente utilizados, e que merecem especial destaque, incluem o emprego dos reguladores de crescimento associado a substâncias adulticidas com prolongado efeito residual (DRYDEN; PRESTWOOD, 1993; SMITH et al., 1996).

## **2.4 Resistência**

Desde princípios do século XX uma variedade de acaricidas químicos, incluindo panacéias em misturas de óleos, enxofre e querosene, tem sido empregada para controlar carrapatos em animais de produção e companhia. Banhos arsenicais, introduzidos em 1896 na Austrália e em 1911 nos EUA, foram utilizados por até 50 anos antes de aparecerem os primeiros problemas de resistência. Organoclorados e organofosforados começaram a substituir os arsenicais em 1940, sendo alguns utilizados até hoje. Amitraz e piretróides foram introduzidos em 1980 para controlar carrapatos resistentes aos organofosforados (OTRANTO; WALL, 2008).

Todavia, seu uso excessivo associado à falta de adequado conhecimento da ecobiologia dos ácaros levou ao desenvolvimento de resistência aos produtos, cedendo então espaço às endectocidas lactonas macrocíclicas (moxidectina e ivermectina), introduzidas no hemisfério norte em 1981. O primeiro caso de resistência a lactonas macrocíclicas no Brasil foi relatado em 2001. O emprego de fipronil, espinosade e fluazuron, e misturas acaricidas apresentando sinergismo (permetrina-amitraz), representam novas estratégias de manejo da resistência de carrapatos aos acaricidas. Fitoterápicos, especialmente do Brasil, Ásia e África, fungos e bactérias

entomopatogênicas, bem como imunobiológicos (vacinas) derivados de tecidos de carrapatos, tem sido pesquisados como potenciais novos produtos para controle do ácaro (BECHARA, 2011).

Os inseticidas sintéticos neurotóxicos proporcionaram mais de 50 anos de potente controle parasitário, sendo altamente eficazes, de fácil aplicação e relativamente baratos. No entanto, as vantagens que eles manifestam, historicamente, resultaram em um grau de complacência na forma como foram utilizados, levando a problemas de resistência contínua e preocupações sobre a contaminação ambiental e efeitos na saúde humana. Para preservar a disponibilidade desses compostos, é importante desenvolver programas de gestão do parasito, com base em uma multiplicidade de técnicas, em que o uso de inseticidas pode ser integrado racionalmente. O controle integrado pode ajudar a reduzir a frequência de tratamento inseticida e preservar refúgios, portanto, ajudando a retardar o desenvolvimento da resistência (OTRANTO et al., 2005).

A preocupação em torno desta questão é agravada pelo rápido desenvolvimento e disseminação da resistência a inseticidas (MARTINS, 2004). A resistência generalizada a inseticidas agora existe na maioria dos principais grupos de ectoparasitos (BROSSARD; WIKEL, 2004).

Essa resistência do parasito é um problema global em rápido crescimento, mas é particularmente grave na América, onde muitos países estão enfrentando uma severa resistência de diferentes grupos de parasitos, como helmintos, carrapatos e a mosca do chifre (BROSSARD; WIKEL, 2004).

Existem muitas alternativas que podem ser aplicadas para manter a eficácia da droga, como rotação de pastagens, que é o método não-químico mais eficaz para bovinos. O uso combinado de acaricidas e rotação de pastagem tem o objetivo de manter populações de carrapatos em refúgios, sendo expostos a baixos níveis de produtos químicos, mantendo um genótipo predominantemente suscetível. Como consequência, a droga mantém a sua toxicidade contra o carrapato nas suas gerações futuras (MARTINS, 2004).

O método mais eficaz de controle para populações de carrapato ainda é o químico, por meio da aplicação de acaricidas, visto que os controles imunológico e biológico ainda possuem função complementar. No entanto, o controle químico é dispendioso, devido ao alto custo com a aquisição de produtos, de instalações e de mão-de-obra adequada para a sua aplicação (PRUETT, 1999).

A resistência aos carrapaticidas comerciais surgiu como um problema em vários países, especialmente com relação aos carrapatos *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A utilização dos carrapaticidas é realizada majoritariamente através de pulverização e geralmente, esta não é efetuada convenientemente, sendo que a maioria dos países não dispõe de um programa oficial de controle de carrapatos. Em termos gerais, o uso de carrapaticidas é orientado basicamente pela pressão do mercado, havendo um grande vácuo em informação técnica com relação ao melhor uso dos mesmos e a informação sobre a bioecologia dos carrapatos (PRUETT, 1999).

A dependência do controle químico com os problemas de impacto ambiental, custos e surtos de resistência enfatiza a necessidade de pesquisa de alternativas viáveis de controle. O conhecimento da ecologia dos parasitos fornece uma base para o uso de outros instrumentos para melhorar o controle, como por exemplo, as melhores estratégias para tratamento em uma determinada região. Os fatores genéticos evolutivos que acompanham os parasitos independem da influência humana e, portanto, não estão ao alcance de uma interferência direta em sua evolução. Entretanto, o conhecimento da evolução da resistência e dos mecanismos que a deflagram pode auxiliar enormemente na sua prevenção. Por outro lado, aqueles fatores em que o lado humano é

desencadeador do processo (ou estimulador), como a seleção e aplicação do acaricida, frequência de aplicação, manejo dos animais, podem minimizar e adiar o surgimento e expansão do problema da resistência (MARTINS, 2004).

Sendo assim, novos acaricidas estão sendo testados no mercado, entre eles estão as lactonas macrocíclicas e o fipronil, que agem como bloqueadores da estimulação neural e o inibidor de desenvolvimento de carrapato, o fluazuron, (TAYLOR, 2001). Como são relativamente novos no mercado, somente poucos casos de resistência foram detectados, entretanto ainda não se conhece bem todas as suas consequências, as quais são úteis para o diagnóstico das intoxicações e para a instituição de tratamento específico (WALL, 2007).

Para um efetivo controle do *R. sanguineus*, é necessário o uso de acaricidas aos quais o carrapato seja sensível. No Brasil, não há estudos sobre a resistência deste carrapato com base em comparações com uma cepa sensível e mesmo mundialmente há poucos relatos. Miller et al. (2001) testaram uma cepa de *R. sanguineus* do Panamá e detectaram resistência a todos os produtos testados, com exceção do fipronil. Estrada-Pena (2005) avaliaram a resistência ao propoxur, à deltametrina e ao amitraz em 15 populações da Espanha. Foi observada resistência ao propoxur e à deltametrina e sensibilidade de todas as amostras em relação ao amitraz.

Substâncias conhecidas por serem eficazes no controle de pragas de insetos originalmente, principalmente a partir de moléculas naturais (rotenona, piretro, nicotina) e, posteriormente, a partir de inorgânicos (compostos principalmente de enxofre e sais de arsênio), já possuem relatos de resistência (SLOWICK et al., 2004).

De acordo com Dantas-Torres (2008) a má utilização dos produtos químicos por um longo período de tempo é um sério problema, tanto pela possibilidade de danos ambientais quanto de aparecimento de populações de parasitos resistentes. Os mecanismos envolvidos no desenvolvimento da resistência em *R. sanguineus* são pouco conhecidos e necessitam de pesquisas futuras para sua melhor compreensão.

## **2.5 Classificação dos Acaricidas com Importância Veterinária**

Os inseticidas com atividade acaricida são classificados de acordo com a ISO 1750:1981 – Nomes comuns para pesticidas e outros agroquímicos, (WOOD, 2008) da seguinte maneira:

Lactonas macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas), difenílicos, carbamatos, carbazatos, difenólicos, formamidínicos (amitraz), organoclorados, organofosforados (clorpirifós), organotínicos, fenilsulfamidínicos, fitalimidínicos, pirazólicos (fipronil), piretróides (cipermetrina), pirimidinamínicos, pirrólicos, quinoxalínicos, éster sulfínicos, ácido tetrínicos, tetrazínicos, tiazolidínicos, tiocarbamatos, tiouréia e reguladores de crescimento (fluazuron, diflubenzuron, lufenuron e novaluron). A maioria dos produtos veterinários comerciais contém dois ativos, inseticidas adulticidas como fipronil, imidaclopride, selamectina e reguladores de crescimento, como lufenuron e piriproxifen (COOP et al., 2002).

Vários grupamentos químicos, como os organofosforados e os carbamatos, atuam inibindo a ação da enzima acetilcolinesterase. Os carbamatos competem com a acetilcolina pelos sítios de ligação da acetilcolinesterase, causando uma constante estimulação nervosa, levando a morte do inseto por paralisia, entretanto o processo é reversível e os organofosforados provocam uma inibição irreversível da acetilcolinesterase, embora tenham o mecanismo de ação similar (MASON et al., 1984).

Os piretróides em suas quatro gerações deprimem a função nervosa e causam paralisia eventualmente, através de sua atuação nos canais de sódio. As lactonas

macrocíclicas (avermectinas e milbemicinas) inibem a transmissão de sinais nas junções neuromusculares. Dentre os fenilpirazoles, há o fipronil, cuja neurotoxina impede o transporte de íon de cloreto para o GABA (que está presente em pequenas quantidades nos mamíferos). É específico para invertebrados, matando carrapatos por um mês ou mais, pois se dissolve na oleosidade da pele e se acumula nos folículos pilosos e glândulas sebáceas, o que permite sua contínua liberação (MATTOS; BALTHAZAR, 2008).

Esses fármacos existem em diversos tipos de formulações e métodos de aplicação como sabonetes, xampus, pós molháveis, concentrados emulsionáveis, talcos, spray, colares impregnados, “spot-on”, “strip-on”, “pour-on” e são empregados no controle dos principais ectoparasitos de cães e gatos (SCOTT et al., 2002).

## **2.6 Novas Moléculas para o Controle de Artrópodes**

Para o tratamento e controle de *R. sanguineus*, existem diversos produtos químicos que apresentam eficácia comprovada, como é o caso dos organofosforados, as amidinas, piretróides e os fenilpirazoles (SANT’ANNA et al., 2002). Scott et al. (2002) acrescentam a esta relação as lactonas macrocíclicas. A maioria dessas drogas empregadas no controle de artrópodes atua no sistema nervoso, podendo causar resistência cruzada com outros produtos. Como consequência, chegou-se a drogas mais específicas empregadas principalmente no controle de ectoparasitos, que são os reguladores de crescimento de insetos (RCI’s) (COOP et al., 2002).

Atualmente, os RCI’s estão sendo denominados de reguladores de crescimento de artrópodes (RCA’s), por agirem eficientemente no controle não somente de insetos, mas de artrópodes, como, por exemplo, inibindo a muda de larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, para ninfa (GRAF, 1993).

As drogas provenientes deste grupo são muito seguras para os mamíferos, pois os mesmos não apresentam hormônios juvenis e estruturas quitinosas ou ainda, receptores para estas moléculas (BOWMAN, 2003). Estas moléculas vêm sendo amplamente empregadas no controle de pulgas em cães e gatos, sendo que sua eficiência em carrapatos está atualmente sendo muito discutida (ZENNER; DREVON-GAILLOT, 2004).

## **2.7 Reguladores de Crescimento de Artrópodes (RCA’s)**

Na década de 70, vários fármacos sintéticos que possuem propriedades reguladoras de crescimento de artrópodes, foram avaliados em experimentos em laboratório e em nível de campo, contra uma variedade de espécies de artrópodes de importância médica e econômica (ESTRADA; MULLA, 1986).

Eles representam uma categoria relativamente nova de agentes para o controle de artrópodes, que não matam o parasito diretamente, e sim, interfere no seu crescimento e desenvolvimento, agindo principalmente nos estágios imaturos dos parasitos e, como tal, não são adequados ao controle rápido de populações de parasitos adultos já estabelecidas (GRAF, 1993; GRAF et al., 2004).

As primeiras moléculas do grupo dos benzoilfeniluréias foram destinadas ao mercado agrícola para controle de ácaros e lagartas (VICENTE, 2004). A primeira molécula a ser apresentada foi o diflubenzuron e posteriormente vieram triflumuron, teflubenzuron, flufenoxuron, flucicloخورon, lufenuron, fluazuron, clorfluazuron, hexaflumuron e novaluron. Estas moléculas agem nas formas imaturas do inseto, como larvas e ovos, além de possuírem ação sobre adultos, alterando parâmetros da sua

reprodução, na postura, por exemplo, e são utilizados em culturas como: batatas, citros, cocos, algodão, pepinos, repolhos, soja, tomate e trigo (PRATISSOLI, 2004; CORREIA, 2003).

Além do uso no mercado agrícola destacam-se os usos adicionais no mercado domissanitário, onde o diflubenzuron, hexaflumuron e triflumuron (CHEN et al., 2005), possuem eficácia contra diversas populações do mosquito *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Culex quinquefasciatus*, que são as três espécies de mosquitos difundidos principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo, e, no Brasil, estão relacionadas com a transmissão de doenças como a dengue e a filariose linfática. O triflumuron é eficaz contra essas espécies em diferentes posologias (BELINATO, 2007).

O lufenuron tem sido utilizado no controle de pulgas em cães e gatos (WALL, 2007). O diflubenzuron é a molécula do grupo dos benzoilfeniluréias com maior número de aplicações. Ele é utilizado nos mercados domissanitários no controle de baratas, mosca doméstica (*Musca domestica*), no mercado agrícola no controle de lagartas, gafanhotos (*Hemileuca oliviae*) (COSTA, 2007) e no mercado veterinário para o controle de carrapatos e mosca dos chifres (OLIVEIRA et al. 2009).

O fluazuron foi a única molécula do grupo dos benzoilfeniluréias utilizado especificamente no mercado veterinário para o controle do carrapato *R. (B.) microplus* em bovinos (MENDONÇA, 2010).

Os RCA's pertencem a uma nova classe de agentes controladores, chamados de "terceira geração de inseticidas" (CHAMBERLAIN, 1975; GRAF et al., 2004), diferem dos inseticidas convencionais por provocarem mudanças morfofisiológicas durante o processo de desenvolvimento e metamorfose dos insetos, além de induzirem efeitos morfogenéticos que podem resultar na completa inibição da emergência de adultos. Possuem como alvo outros órgãos que não os do sistema neural e, devido a sua atuação em sistemas específicos dos artrópodes, são caracterizados como produtos seletivos, podendo ser uma promissora alternativa em seu controle (GRAF, 1993; OTRANTO; WALL, 2008; HOFFMANN; LORENZ, 1998).

Na maioria dos casos, os RCA's requerem tempo para reduzir as populações de parasitos, que parasiticidas convencionais às vezes, reduzem rapidamente. Este grupo químico não apresenta efeito "knockdown", atuando de forma lenta e gradual interferindo no seu crescimento e desenvolvimento. O melhor, é que eles sejam usados em combinação com adulticidas para alcançar o efeito "knockdown" imediato (GRAF et al., 2004).

Eles foram divididos de acordo com o seu mecanismo de ação em: análogos do hormônio juvenil, inibidores da síntese de quitina (compostos derivados dos benzoilfeniluréias) e inibidores da deposição de quitina (derivados da triazina e da pirimidina) (GRAF, 1993).

### **2.7.1 Análogos do hormônio juvenil**

Os estudos básicos da fisiologia dos artrópodes surgiram na década de 30. Em 1936, Wingglesworth, estudando diferentes estágios de *Rhodinus prolixus* (Stal, 1859) (Hemiptera: Reduviidae), descobriu as funções do hormônio juvenil, possuindo duas funções principais na fisiologia dos insetos: controlar a metamorfose e regular a reprodução em adultos (HARTFELDER, 2000; OLIVEIRA, 2010).

No entanto, somente em 1956 foi isolado o hormônio juvenil do extrato cru do abdome de machos da mariposa *Hyalophora cecropia* (L.) (Lepidoptera: Saturniidae) e verificado que sua aplicação tópica impedia a metamorfose e a reprodução do inseto. Porém somente em 1965 foi estudada a possibilidade de aplicação deste hormônio

controlador do desenvolvimento de insetos (TUNAZ; UYGUN, 2004). Os principais hormônios envolvidos no desenvolvimento, metamorfose e reprodução dos insetos são os neuro-hormônios ou neuro-peptídeos, ecdisteróides ou hormônios de muda e os hormônios juvenis (HOFFMANN; LORENZ, 1998).

A muda nos insetos é um processo complexo, onde há interação do hormônio juvenil com a ecdisona. Este evento é iniciado por um aumento de 20-hidroxiecdisona na hemolinfa e concluído após o seu declínio e a liberação de um hormônio de eclosão. Quando os títulos de hormônio juvenil estão altos, a nova cutícula larval será formada, mas na ausência deste hormônio, processo que ocorre no final do estágio larval, a 20-hidroxiecdisona induzirá a metamorfose para a fase adulta (HOFFMANN; LORENZ, 1998).

Os análogos do hormônio juvenil são absorvidos pela cutícula do inseto e previnem a ativação de seqüências genéticas que determinam o desenvolvimento de órgãos e tecidos dos insetos imaturos (SCOTT et al., 2002).

As principais substâncias deste grupamento destinadas ao controle de insetos são: hidroprene, metoprene, piriproxifen e fenoxycarb. Estas drogas vêm sendo empregadas no controle de diversos artrópodes, contudo existem poucos trabalhos na literatura destacando o emprego destas substâncias no controle de carrapatos, especialmente a espécie *R. sanguineus* (CORREIA, 2003).

### 2.7.2 Inibidores da deposição de quitina

Derivados da triazina e pirimidina são também relatados como compostos inibidores de quitina. Eles diferem dos BFU's tanto em estrutura química, como no modo de ação, onde eles alteram mais a deposição da quitina dentro da cutícula, do que na síntese (FRIEDEL, 1986).

O diciclanil, um derivado da pirimidina, é altamente ativo contra larvas de dípteros, sendo avaliado através de uma formulação via tópica "pour-on" para o controle de dípteros na Austrália e Nova Zelândia, fornecendo proteção superior a 20 semanas (BOWEN et al., 1999).

A ciromazina (2-cyclopropylamino-4,6-diamino-s-triazine), um derivado da triazina, é um novo RCI, substituto da melanina, altamente eficaz para larvas de dípteros, causando a morte das mesmas ou deformação das pupas e foi desenvolvido para o controle de miíase cutânea em ovinos. Além disso, secundariamente tem sido documentada sua atividade como inibidor da síntese de quitina (GRAF, 1993; EL-GAZZAR et al., 1988).

O uso da preparação "pour-on" de ciromazina inclui a vantagem da eficácia não ser dependente de condições meteorológicas. Em adição, a persistência da droga é tal que o controle pode ser mantido por mais de 13 semanas, depois de uma única aplicação pour-on (O'BRIEN; FAHEY, 1991).

Contudo, nenhuma das s-triazinas em geral, nem a ciromazina em particular, exhibe alguma atividade marcante contra uma variedade de espécies de outras ordens de insetos (GRAF, 1993).

No entanto, Friedel (1986), evidenciou a eficácia da inibição da emergência de adultos de *C. canis* após o uso de ciromazina. Em concentrações inferiores a 1 ppm, este composto não proporciona efeito aparente sobre a percentagem de adultos emergidos das pupas. Entretanto, em concentrações superiores a 1ppm, a percentagem de emergência dos adultos formados a partir dessas pupas, diminui rapidamente, podendo ser menor que 12 %, numa concentração média de ciromazina a 8ppm, demonstrando que este inibidor de quitina é também um eficiente larvicida para insetos não dípteros. A

origem filogenética da ordem Siphonaptera apresenta similaridades com a ordem Díptera, sugerindo que este último, tenha sido seu ancestral, o que pode explicar a atividade da ciromazina também sobre larvas de pulgas.

### **2.7.3 Inibidores da síntese de quitina - Compostos derivados dos benzoilfeniluréias (BFU's)**

A quitina é um hidrocarboneto importante na composição do exoesqueleto dos artrópodes e da casca dos ovos dos nematóides, mas não está presente nos vertebrados. A quitina está sempre associada a proteínas, formando um complexo, a proporção entre elas (quitina e proteína), bem como a natureza de interação entre esses dois componentes é de importância para as propriedades mecânicas da cutícula e da membrana peritrófica (SPINDLER et al., 1990).

A síntese de quitina ocorre durante a embriogênese, ecdise e ingurgitamento de todos os ínstares. A degradação da quitina tem uma importante atuação na ecdise periódica dos artrópodes. Um considerável número de enzimas que degradam quitina, em uma variedade de artrópodes, especialmente insetos, têm sido caracterizadas e classificadas, de acordo com a sua atividade enzimática em exo e endoquitinases (SPINDLER, 1983; KRAMER et al., 1985; CHEN, 1987).

As quitinases são alvos no desenvolvimento de um novo agente quimioterápico contra parasitos aos quais os vertebrados não sejam susceptíveis. São desejáveis que tais compostos sejam altamente seletivos, eficazes e de baixa toxicidade para os vertebrados e para o meio ambiente. Considerando a ocorrência de quitina e síntese de quitina no reino animal, a pesquisa “bio-racional” por reguladores de crescimento que interfiram no desenvolvimento dos parasitos que possuem quitina é praticada (SPINDLER et al., 1990).

A degradação e a síntese da quitina são controladas através de hormônios, os ecdesteróides. Após aplicação de ecdesteróides, a degradação de quitina aumenta, visto que a síntese de quitina pode aumentar ou diminuir, dependendo da espécie, do tecido e o modo de aplicação. Ecdesteróides utilizados em altas concentrações podem causar alterações na formação da cutícula que podem ocasionar efeitos letais durante a próxima muda. Mesmo sendo pouco tóxico para vertebrados os ecdesteróides não são comercialmente usados como inseticidas ou nematodocida por causa do alto custo, da necessidade de altas concentrações e devido a sua alta solubilidade e rápida degradação, excreção e taxa metabólica nos animais (SPINDLER et al., 1990; KRAMER et al., 1985; CHEN, 1987).

Os pesquisadores Merzendorfer e Zimoch (2003) em uma revisão sobre o metabolismo de quitina em insetos, destacam a importância deste aminopolissacarídeo para a sua sobrevivência. A cutícula dos insetos forma um exoesqueleto com estrutura mais ou menos rígida devido à presença de escleroproteínas, limitando o crescimento de insetos. Desta forma, para crescer e se desenvolver, os insetos devem substituir periodicamente sua cutícula velha por uma nova que, antes de se esclerotizar, é suficientemente flexível para permitir alguma expansão.

Para que isto ocorra, eles devem perder a cutícula velha durante a muda, iniciada por uma multiplicação celular na epiderme seguida pela apólise, processo que separa as células epidermais da cutícula precedente pela secreção de fluido de muda e formação da membrana de ecdise (CHAPMAN, 1982).

O fluido de muda contém proteases e quitinases que digerem a endocutícula velha cujos componentes são reciclados. A formação da nova cutícula começa após o

espaço de ecdise se abrir como resultado da secreção das proteínas da cutícula e fibras de quitina pelas membranas apicais das células epidérmicas. Há formação de uma nova cutícula quitinosa não esclerotizada, a procutícula e da epicutícula externa. Esta fecha a epiderme e a protege contra enzimas digestivas do fluido de muda. Finalmente, ocorre a ecdise, saída da cutícula antiga. No final da ecdise ou imediatamente após este processo, o inseto expande a nova cutícula antes de seu enrijecimento por esclerotização (CHAPMAN, 1982; MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003).

Dessa forma o crescimento e o desenvolvimento são totalmente dependentes da capacidade dos insetos de remodelar estruturas quitinosas. Eles sintetizam e degradam a quitina de forma altamente controlada para permitir não somente a ecdise, mas também a regeneração da membrana peritrófica presente no epitélio do intestino médio e importante para o processo de digestão de alimentos e proteção contra patógenos (MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003).

Portanto, qualquer interferência na ação dos hormônios envolvidos nos processos de muda e desenvolvimento, seja por fontes exógenas de hormônios ou de seus análogos sintéticos, poderia resultar na interrupção ou até mesmo, anormalidade no desenvolvimento e reprodução de insetos (HOFFMANN; LORENZ, 1998). Da mesma forma que os análogos ao hormônio juvenil, o desenvolvimento e aplicação de compostos químicos que interferem no metabolismo de quitina tem tido especial interesse para o controle de pragas (MERZENDORFER; ZIMOCH, 2003; CHEN et al., 2005).

O primeiro composto comercialmente disponível a partir do grupo dos BFU's foi o diflubenzuron (1-(4-clorofenil) -3 - (2,6-difluorobenzoyl) uréia), "Dimilin", marca registrada da Duphar BV. O diflubenzuron é principalmente ativo contra espécies pertencentes às ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera. Existe um programa de otimização da atividade acaricida dos BFU's, revelando que esses compostos combinam alta atividade inseticida com alta atividade acaricida (GRAF, 1993).

Os BFU's bloqueiam a síntese normal e deposição de quitina em insetos e ácaros, sendo eficazes inibidores de crescimento de artrópodes (VAN ECK, 1979; RETNAKARAN et al., 1985; RETNAKARAN; WRIGHT, 1987).

Por estas razões, os BFU recentemente têm sido comercializados para o controle de ectoparasitos em grandes e pequenos animais. Com ação sistemática, o lufenuron (ingrediente ativo do Program®, Novartis Animal Health), por exemplo, é eficaz na redução de pulgas em gatos e cães (SHIPSTONE; MASON, 1995), e por via tópica, há o fluazuron (ingrediente ativo do Acatark®, Novartis Saúde Animal, Austrália) que rapidamente e residualmente suprime os carrapatos que infestam os grandes animais (BULL et al., 1996).

Apesar do potencial dos BFU's, tem havido pouca pesquisa sobre sua eficácia no controle de artrópodes vetores de animais de companhia, selvagens em geral e roedores em particular (MBISE, 1994; DEMARK; BENNETT, 1990).

Davis (1999) demonstrou que os BFU's de atuação sistêmica, quando administrados por meio de iscas em cubos para esquilos terrestres da Califórnia, *Spermophilus beecheyi* (Richardson), controlam efectivamente pulgas que transmitem a *Yersinia pestis*.

Smith et al. (1996) por exemplo, relataram o controle de 75% das pulgas do gato, *Ctenocephalides felis* (Bouché), em cães domésticos, por até 42 dias após o tratamento, com uma dosagem média de lufenuron de 12 mg / kg. Embora os índices de carrapatos também terem sido reduzidos, não houve diferenças significativas durante o estudo entre o grupo controle e o tratado. Este trabalho foi realizado pensando em um modo de avaliação abrangente das perspectivas atuais e futuras para os BFU's no

controle de insetos e ácaros, na tentativa de contornar o aparecimento do fenômeno da resistência.

A descoberta dos BFU's, que são inibidores de síntese de quitina, instigou mais de duas décadas de pesquisas, sobre sua síntese, eficácia, modo de ação, metabolismo, aplicação e impacto ambiental (MITSUI, 1985). Eles possuem um modo de ação único, não induzindo reações adversas ou efeitos colaterais nos hospedeiros mamíferos (BLAGBURN et al., 1994).

Segundo Van Eck (1979), apesar do mecanismo de ação dos BFU's não ser plenamente compreendido, eles inibem a síntese de quitina, podendo ou não possuir algum tipo de efeito sobre a enzima quitina sintetase, por vezes foi sugerido, que eles interferem na composição da cadeia de quitina, dentro das microfibrilas.

De acordo com Graf (1993), os BFU's também apresentam um efeito transovariano, pois fêmeas de insetos adultos produzem ovos cujo processo de desenvolvimento é normal, mas a larva fica incapacitada de eclodir.

Os BFU's exibem um grande espectro de atividade contra insetos, mas tem uma eficácia relativamente baixa contra carrapatos e ácaros. À exceção do fluazuron, que possui grande atividade contra carrapatos e algumas espécies de ácaros. Eles são moléculas altamente lipofílicas e quando administrados no hospedeiro, são armazenados no tecido adiposo de onde são liberados lentamente dentro da corrente sanguínea, sem alteração (GRAF, 1993).

MacDonald (1995) destacou o uso do lufenuron no controle de diversos artrópodes de importância médico-veterinária, como baratas, moscas, pulgas e carrapatos. A droga deve ser administrada por via oral, logo após a alimentação, podendo ser mais bem absorvida no trato digestório, atingindo a corrente sanguínea em poucas horas.

Davis (1999) na Califórnia, ao administrar o lufenuron oralmente na alimentação de esquilos, através de ração contendo 15mg do medicamento, no auxílio do controle de pulgas, após quatro tratamentos consecutivos, obteve uma eficácia de até 96%.

Da Glória (1988), realizou um ensaio onde empregou dois RCA's no controle do carrapato do boi *Rhipicephalus (B.) microplus* em infestações artificiais em bovinos. Esses dois compostos codificados mostraram elevados níveis de atividade. Foram observadas alterações morfológicas em teleóginas desprendidas após o sétimo dia do tratamento, consistindo em redução no tamanho e abaulamento do corpo dos espécimes. Os compostos causaram redução na eclodibilidade das larvas, com redução de até 60% três dias pós-tratamento, e, até o 13º dia, o percentual de eclosão foi zero.

### **2.7.3.1 Fluazuron**

Comercialmente, é destinado ao controle de carrapatos em bovinos de corte, aplicado topicamente, "pour-on", para uso em dose única de 1,5 a 2,5 mg/Kg, com um possível tratamento adicional depois de 3 a 6 meses (TECHNICAL MANUAL ACATAK). É o ingrediente ativo do produto Acatak®, formulado e comercializado na concentração de 2,5%, apresentando uma forma de aplicação "pour-on", com um mecanismo de ação sistêmico contra carrapatos de bovinos (ARMISHAW et al., 1996; KRYGER et al., 2007).

Logo após sua aplicação, o fluazuron circula no sangue dos animais tratados por cerca de doze semanas, interrompendo o ciclo de vida do carrapato, em diferentes estágios, interferindo na formação da quitina. As larvas e as ninfas que ingerem o fluazuron no sangue do hospedeiro falham no desenvolvimento para o próximo ínstar. As fêmeas transferem o fluazuron para seus ovários e, conseqüentemente para seus

ovos, inibindo seu desenvolvimento totalmente ou tornando as larvas recém eclodidas inviáveis, durante aproximadamente duas semanas (TECHNICAL MANUAL ACATAK).

Devido à sua elevada especificidade, baixa toxicidade para mamíferos, o fluazuron é um BFU especialmente eficaz como inseticida e acaricida, possuindo atividade em baixas concentrações, com efeito de longa duração, e potência residual (HINK et al., 1991; GRAF et al., 2004; HINKLE et al., 1995).

O fluazuron foi desenvolvido inicialmente como um inibidor de desenvolvimento de carrapatos, em especial para *Rhipicephalus (B.) microplus*, não atuando diretamente sobre seus diferentes estágios, mas interferindo no processo de ecdise e eclosão das larvas, além de apresentar atividade sobre outros artrópodes (GRAF, 1993; SLOWIK et al., 2001).

Estudos preliminares demonstraram que o fluazuron também tem atividade sobre o carrapato *R. sanguineus*. Melo, no ano de 2006, realizou um estudo onde teve como objetivo acompanhar a morfologia e biologia de *R. sanguineus* submetidos ao regulador de crescimento de artrópodes fluazuron em coelhos. O trabalho foi realizado nas dependências dos Laboratórios de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas e de Morfofisiologia de Ácaros, ambos pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no município de Seropédica (latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27" oeste). O experimento foi dividido em 4 etapas, sendo que em cada uma delas utilizados 10 coelhos, divididos em grupos controle e tratado. Na etapa I (fase de larva) os coelhos foram infestados com larvas de *R. sanguineus* na razão de 2500 larvas/coelho. Na etapa II (fase de ninfa), na razão de 200 ninfas/coelho. Na etapa III (adultos), os coelhos foram infestados com 25 machos e 25 fêmeas/coelho. Na etapa IV, os coelhos foram infestados com 2500 larvas oriundas das teleóginas recuperadas na etapa III. A dose de fluazuron aplicada sob a forma “pour-on” em todas as etapas foi de 10mg/kg. As experimentações durante a fase parasitária foram realizadas em condições ambientais, no período de agosto a novembro de 2006, e da fase não parasitária em condições controladas de laboratório ( $27 \pm 1$  °C e  $80 \pm 10\%$  UR, em escotofase). Nesse período, foram analisados parâmetros de fase parasitária e não parasitária, para larvas, ninfas e adultos. O fluazuron causou alterações na biologia de *R. sanguineus* tais como: aumento no período de pré-postura, diminuição no peso da massa de ovos, aumento no período de incubação dos ovos, diminuição do índice de eficiência reprodutiva, inibição do processo de ecdise entre os estágios de larva para ninfa e de ninfa para adulto, eficácia na inibição da reprodução das fêmeas e todos os estágios recuperados do grupo tratado tinham tegumento sensível, corpo elíptico e comportamento letárgico. A autora concluiu que o fluazuron empregado na dose de 10mg/kg de peso corporal em coelhos promoveu alterações morfológicas, biológicas e comportamentais em *R. sanguineus* que indicariam a possibilidade de emprego do fluazuron no controle desse carrapato, com a particularidade na redução da taxa de reinfestação. O uso de coelhos foi um teste preliminar para indicar ou não a atividade do fluazuron sobre o carrapato *R. sanguineus* (MELO, 2007).

Embora a classe os reguladores de crescimentos sejam de muito estudadas, pouco se encontra na literatura trabalhos especificando o uso do fluazuron. Primariamente, o fluazuron interfere na formação da quitina nos carrapatos, mais provavelmente numa enzima específica, a quitina-sintetase. Enquanto a cutícula do carrapato contém somente 4% de quitina, outros insetos podem ter até 40%, e o fluazuron causa danos irreparáveis. Um efeito secundário é a interferência na glândula salivar de fêmeas ingurgitadas. O desenvolvimento das células excretórias fica

comprometido, causando um desequilíbrio na hemolinfa. A concentração mínima efetiva (CME) do fluazuron no sangue é usualmente alcançado três dias após a aplicação e aumenta gradualmente. O pico dessa concentração ocorre cerca de 1 a 4 semanas após a aplicação, e posteriormente decresce. Durante a fase de distribuição (cerca de 10 dias após o tratamento), ocorre um equilíbrio entre a concentração do fluazuron no sangue e no tecido gorduroso, sendo que neste, ela é de 100 a 200 vezes maior do que no outro. A fase de excreção do fluazuron ocorre predominantemente através das fezes, praticamente inalterado (TECHNICAL MANUAL ACATAK).

As fêmeas de carrapato, quando absorvem uma quantidade crítica de fluazuron em sua hemolinfa, mostram sinais de distúrbio no seu ingurgitamento e acabam produzindo ovos não viáveis. Machos, que sugam uma quantidade mínima de sangue, não são visivelmente afetados por este composto. Em carrapatos imaturos, todos aqueles afetados, morrem (CITRONI et al., 1999). Logo, o efeito final do fluazuron é que as fêmeas de carrapatos vão fazer a oviposição de ovos pouco viáveis, além disto, o efeito sobre as formas imaturas é devastador, pois impede a passagem para os estágios seguintes, pela inibição da síntese de quitina reduzindo assim, supressivamente a população de carrapatos (BULL et al., 1996).

Após a administração oral de fluazuron em ratos, os níveis de absorção foram altos (60 % em 24 horas após a administração) e a eliminação primária ocorreu via fecal (59% dentro de uma semana após a administração, comparado com 3 % via urina), indicando uma excreção biliar de fluazuron e de seus metabólitos. A maior porção da dose absorvida foi mantida no tecido adiposo, inalterada, com níveis significativamente baixos no fígado, rim, pulmão, músculo e cérebro (EMEA, 2005).

O fluazuron foi o primeiro regulador de crescimento a ser registrado para o controle de carrapatos ixodídeos. Quando aplicado na forma “pour-on”, fornece longa proteção contra carrapatos de um hospedeiro, ou seja, monoxeno). Possui alta especificidade, pois baixas quantidades inibiram a formação de quitina em *R. (B.) microplus*, possivelmente através da inibição de enzimas específicas no processo de muda. Nos últimos anos, o fluazuron têm sido utilizado na Austrália, África do Sul e América Latina, no controle estratégico do *R. (B.) sp.*, apesar de apresentar o inconveniente de um período residual longo, que foi constatado pela presença de resíduos deste RCA na carne e no leite dos animais, depois de longo período após o tratamento (BULL et al., 1996).

A eficácia do fluazuron contra infestações de *R. (B.) microplus* na Argentina foi avaliada por Citroni et al. (1999) utilizando 20 bovinos da raça hereford artificialmente infestados. Um grupo de 10 bovinos foi tratado com 5% de uma formulação “pour-on” de fluazuron. O outro grupo, controle, foi mantido sem tratamento. Quarenta dias após o tratamento, fêmeas ingurgitadas de *R. (B.) microplus* oriundas dos animais foram coletadas e posteriormente analisadas quanto à oviposição e viabilidade dos ovos. Essa percentagem de inibição foi superior a 99%, de onde se concluiu que o fluazuron foi eficiente no controle de infestações pelo carrapato *R. (B.) microplus* na Argentina.

A eficácia do fluazuron para o controle estratégico de carrapatos heteroxenos, como *Amblyomma cajennense*, foi investigada em condições de campo no México. No primeiro ano, um grupo de 10 bovinos foi tratado com fluazuron numa dose de 5 ml para cada 50 Kg de peso corporal, correspondendo a 2,5 mg/Kg de peso corporal de produto ativo. Um segundo tratamento foi aplicado 20 semanas depois. Este grupo foi comparado com um grupo de 10 bovinos que foram deixados sem tratamento. Cada grupo foi conservado em piquetes separados. No segundo ano, outro grupo de 10 bovinos recebeu três tratamentos com fluazuron com intervalos de 90 dias entre eles. Este grupo também foi comparado com um grupo sem tratamento. Ambos os grupos

permaneceram nos mesmos piquetes do ano anterior. As ninfas e os adultos dos carrapatos foram contados quinzenalmente de um lado dos animais. Durante o primeiro ano, a infestação por carrapatos adultos de *A. cajennense*, foi reduzida para uma média de 70 %, durante um período de 24 semanas, o que leva à conclusão de que fluazuron aplicado estrategicamente em bovinos pode reduzir substancialmente a população de *A. cajennense* sob condições de campo (SCHMID et al., 1999).

Com relação ao fluazuron, sua baixa toxicidade também foi relatada por Retnakaran e Wright (1987), Spindler et al. (1990), Hink et al. (1991), Graf (1993), Henderson e Foil (1993) e Hinkle et al. (1995), pois atuam de modo seletivo por meio da inibição de enzimas específicas envolvidas no processo de mudas dos carrapatos, apresentando dessa forma uma alta segurança para bovinos (KEMP et al., 1990). Bull et al. (1996), observaram que não houve qualquer reação adversa nos 266 bovinos medicados com fluazuron na dose de 1,5mg/kg em três experimentos carrapaticidas.

Kryger et al. (2005) realizaram um estudo para determinar o efeito da associação de fluazuron 3mg/kg de PV, “pour on” com ivermectina 200µg/kg de PV, solução injetável utilizada no controle de *B. microplus* sobre a comunidade de besouros coprófagos na África do Sul. Os autores não observaram efeito das drogas administradas sobre essa comunidade durante todo o ano de observação. Estudos desse tipo sustentam a idéia de que o impacto ecotoxicológico de drogas antiparasitárias dependem de fatores tais como condições climáticas, intervalos entre os tratamentos e proporção de animais tratados.

Devido a esse inconveniente, de acordo com uma publicação do Emea (2005), algumas considerações devem ser feitas a respeito do fluazuron, acerca de resíduos presentes nos alimentos:

- o fluazuron dificilmente é metabolizado, e, portanto, pode ser selecionado como resíduo marcador;
- a proporção de fluazuron marcado para resíduos totais nos tecidos de gado, representa 97% no músculo, de 100% em gordura, 90% no fígado, e 99% no rim;
- as concentrações de resíduo marcado foram, em geral, 10 vezes maior na gordura do que em outros tecidos;
- um método de análise de rotina para a determinação do resíduo de fluazuron marcado em tecidos comestíveis de gado está disponível, e pode ser usado provisoriamente para fins de acompanhamento, até questões pendentes relacionadas com a validação tenham sido concluídos;

Segundo o Emea (2005) e o Technical Manual Acatak, o fluazuron é liberado do tecido adiposo por um processo de difusão passiva controlada que seguido de cinética de primeira ordem com uma meia-vida de cerca de 13 dias. Cerca de um terço da dose é eliminado como fluazuron inalterado com as fezes e os restantes dois terços é liberado lentamente dos tecidos adiposo e, finalmente, metabolizado. O metabolismo consiste de clivagem da porção uréica entre o carbono de benzóila e o nitrogênio da uréia, seguida pela hidroxilação da uréia restante.

Em um estudo de alimentação de 52 semanas com o sacrifício provisório de 13 semanas, ratos e coelhos receberam fluazuron oralmente não foram observados alterações maternotóxicas e não causou embriofetotoxicidade ou teratogenicidade em ratos e coelhos em doses orais até 1000 mg/kg de peso corporal por dia. O fluazuron foi testado em vários testes de mutagenicidade in vitro e em um ensaio in vivo com hamsters chineses. Os resultados do teste in vivo foram inconclusivos, pois não estava claro se a medula óssea foi ou não, exposta. Todos os testes in vitro deram resultados negativos. Concluiu-se que o fluazuron não tem potencial genotóxico (TECHNICAL MANUAL ACATAK).

Um estudo de carcinogenicidade combinado com um de toxicidade em ratos em longo prazo foi realizado. Os ratos receberam uma dieta contendo 990 mg/kg de peso corporal por dia, e apresentaram catarata e uma tendência a uma hiperplasia difusa do tecido glandular da próstata. Apesar disso, concluiu-se que o fluazuron não foi carcinogénico nestes estudos. Os derivados de benzoilfeniluréias demonstraram atividade antifúngica em alguns estudos publicados. O modo de ação proposto envolve a inibição da síntese de quitina na parede da célula fúngica (EMEA, 2005).

Foi realizada uma administração subcutânea de fluazuron radiomarcado em bovinos, para orientar a formação de um depósito no sítio de injeção. Ele foi liberado lentamente na circulação, com a concentração máxima atingida após 48 horas, e uma meia-vida de 78 dias. Após a liberação, o fluazuron foi principalmente depositado no tecido adiposo e em menor medida, em outros tecidos. O esgotamento do fluazuron nos tecidos, que consistia principalmente de fluazuron inalterado, foi lento. Em última análise, foi parcialmente (cerca de um terço) metabolizado em metabólitos mais polares. Dezesesseis semanas após administração, cerca de 16% da dose administrada foi eliminada como fluazuron inalterado e 8% como subprodutos degradados. A principal via de eliminação foram as fezes (23% da dose após 16 semanas), incluindo bile, enquanto a excreção renal (1% da dose após 16 semanas) foi de menor importância. Embora o destino do fluazuron em bovinos seja muito semelhante ao dos ratos, a extensão do metabolismo parece ser maior em ratos em comparação com o gado (TECHNICAL MANUAL ACATAK).

Quando o fluazuron radiomarcado foi administrado topicamente para o gado, foi lentamente absorvido, seja por via percutânea, por via oral (lambendo), ou ambos. Um estado de equilíbrio entre a absorção e eliminação foi observado durante três a quatro semanas após o tratamento. O radiomarcado absorvido foi retomado principalmente pelo tecido adiposo e em menor medida, por outros tecidos. Um método de HPLC-UV (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – Ultra Violeta) foi proposto para o monitoramento de rotina de fluazuron em tecidos comestíveis da espécie bovina. O método não foi descrito de acordo com a ISO 78/2 ou outras organizações internacionais e não foi suficientemente validado em relação à especificidade (incluindo a interferência), exatidão e precisão, limite de linearidade, detecção e estabilidade. O limite de quantificação foi estabelecido provisoriamente em 20 mg/kg de músculo, fígado e rim e 10 mg/kg para a gordura. Apesar das deficiências identificadas, o método pode ser considerado adequado para o monitoramento de resíduos provisoriamente (TECHNICAL MANUAL ACATAK).

Embora a classe dos reguladores de crescimento sejam de muito estudadas, pouco se encontra na literatura trabalhos especificando o uso do fluazuron. O emprego desta molécula, em ensaios recentes, no controle de *Ixodes* e *Dermacentor*, não deram bons resultados (TAYLOR, 2001; ZENNER et al., 2004). Até o presente momento não foi reportado na literatura o emprego desta molécula no controle de *R. sanguineus* no seu hospedeiro específico, o cão, sendo este trabalho, até então, inédito na literatura compulsada.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

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

#### 3.1 Animais

Para a realização do procedimento experimental, foram utilizados 12 cães da raça beagle, criados para experimentação, hípidos e com bom score corporal, de ambos os sexos, com idades variando de um a três anos, inteiros e distribuídos na mesma proporção de sexo em dois grupos, compondo seis animais por grupo. Todos os animais foram mantidos em canis individuais de alvenaria, no Canil de Experimentação do LQEPV, recebendo ração comercial e água *ad libitum*. Sete dias antes do tratamento, realizou-se a aclimatação, exame físico e coleta de sangues desses animais. Foram realizados hemogramas completos para certificar que os mesmos estavam aptos a participar do experimento. Os animais não receberam nenhum tratamento químico prévio, nos três meses anteriores ao estudo e se encontravam sem ectoparasitos.

#### 3.2 Ixodídeos

Os ixodídeos utilizados no procedimento experimental foram provenientes da colônia de *R. sanguineus* mantida nas dependências do LQEPV que utiliza coelhos mestiços *Oryctolagus cuniculus* como hospedeiros, conforme metodologia proposta por Neitz et al. (1971).

Para obtenção das larvas de *R. sanguineus*, ovos provenientes das fêmeas ingurgitadas da colônia descrita acima, foram pesados e acondicionados em 12 seringas descartáveis de três mL, adaptadas para a criação de ixodídeos onde a extremidade anterior foi cortada e vedada com algodão. Essas seringas foram mantidas em câmara climatizada tipo BOD durante 10 dias, para ocorrer a eclosão das larvas. Foram pesados 100mg de ovos por seringa, o que corresponde a aproximadamente 2.500 larvas não alimentadas, presas dentro de cada seringa, através de seu próprio êmbolo em uma das extremidades e algodão na outra, para a realização das infestações (MELO, 2007).

Na obtenção das ninfas, foram contadas manualmente 200 larvas ingurgitadas de *R. sanguineus*, recuperadas dos coelhos utilizados na manutenção da colônia, e, posteriormente, foram acondicionadas em 12 seringas de 10 mL, adaptadas, como descrito anteriormente para larvas. Assim como para a eclosão das larvas, as seringas contendo larvas ingurgitadas foram acondicionadas em câmara climatizada tipo BOD, durante sete dias, para ocorrer a muda para ninfas não alimentadas, que foram utilizadas nas infestações. Para as infestações com adultos de *R. sanguineus*, 25 casais foram contados manualmente e acondicionados em 12 seringas de 10 mL adaptadas do mesmo modo anterior (MELO, 2007).

Após eclosão das larvas e ecdise das ninfas e adultos, foi respeitado um período de 15 a 20 dias de jejum para endurecimento da quitina.

### 3.3 Tratamento

No preparo da formulação oral, o fluazuron em pó com 100% de pureza foi pesado, acondicionado em cápsulas duras de gelatina, que se trata de um invólucro comestível. No dia 0, dia do tratamento, os animais foram pesados e divididos em dois grupos de acordo com a Tabela 1:

**Grupo 1.** Seis cães que foram tratados com a formulação oral de fluazuron, empregando-se a dose de 20mg por Kg de peso corporal, em cápsulas.

**Grupo 2.** Seis cães que foram mantidos como controle, sem tratamento.

**Tabela 1.** Dados dos animais utilizados no procedimento experimental.

Grupos	Identificação/chip	Sexo	Peso (Kg)	Quantidade de fluazuron administrado por cão (mg)
1- Controle	421754	♂	14,4	-
	261153	♂	11,1	-
	267388	♂	10,5	-
	261106	♀	8,65	-
	044450	♀	10,95	-
	280610	♀	10,6	-
2- Tratado	293700	♂	12,7	254
	419834	♂	12,5	250
	392630	♂	12,7	254
	397470	♀	11,5	230
	389049	♀	11,45	229
	261090	♀	11,5	230

♂- macho  
♀- fêmea

Ao longo do ensaio os animais foram avaliados clinicamente após o tratamento, visando à determinação da ocorrência de reações adversas ou efeitos colaterais, sendo realizadas avaliações nos tempos: duas horas, 24 horas, 48 horas e sete dias.

### 3.4 Infestações

Após o tratamento, foram realizados três desafios, nos dias +1, +20 e +40, nos quais os animais dos grupos controle e tratado receberam infestações com as três fases do carrapato *R. sanguineus*: aproximadamente 2.500 larvas, 200 ninfas e 25 casais de adultos. Essas datas foram escolhidas baseado em informações do Manual Technical Acatak, onde o fluazuron, administrado via oral em ratos, teve 60% de absorção logo no primeiro dia após a administração. Assim optou-se por realizar o primeiro desafio no dia +1 após o tratamento. Além disso, levou cerca de 13 dias para alcançar uma concentração mínima efetiva. Uma vez que o cão apresenta o metabolismo mais lento que o rato, decidiu-se por realizar o segundo desafio uma semana após o alcance da CME do fluazuron em ratos, ou seja, no dia +20. Tanto o segundo dia de desafio quanto o terceiro, também foram escolhidos respeitando-se o tempo que cada cão necessitava para a recuperação da pele de seu dorso após a retirada do dispositivo no fim de cada desafio.

A técnica utilizada para as infestações nos cães foi o modelo desenvolvido por Neitz et al. (1971), que emprega um dispositivo para contenção de ixodídeos de pano

brim aderido à base das orelhas do coelho. Esse modelo foi modificado e pode ser observado na Figura 1. No dia do tratamento, dia 0, os dispositivos foram aderidas ao dorso dos cães. Para isso, uma região do dorso dos animais foi tricotomizada, utilizando tesoura cirúrgica sem ponta, formando um círculo que permaneceu com pêlos, de aproximadamente cinco centímetros de diâmetro, onde ocorreu a infestação e fixação dos carrapatos. Cada dispositivo recebeu uma base de E.V.A.<sup>1</sup> (borracha atóxica e resistente de etil, vinil, acetato), para dar suporte à mesma, antes da realização de sua colagem na área tricotomizada no dorso do animal. Foi utilizada cola<sup>2</sup> de contato, que permanece flexível durante longo tempo, resistindo a dilatações. Para garantir a fixação do dispositivo, utilizou-se esparadrapo<sup>3</sup> e atadura<sup>4</sup> em torno do tórax do animal. O fechamento desse dispositivo foi feito com elástico<sup>5</sup> e esparadrapo. Os cães receberam colares Elizabetanos<sup>6</sup>, a fim de evitar a retirada do dispositivo pelo animal.

Ao final de cada desafio, os dispositivos utilizados eram retiradas dos animais e novos dispositivos eram colocadas no início do desafio seguinte.



**Figura 1.** Sequência numérica que demonstra a metodologia experimental da colocação do dispositivo.

### 3.5 Recuperação das fases ingurgitadas

Para todos os procedimentos relacionados à fase não parasitária, realizados em condições controladas de laboratório, foi utilizada câmara climatizada com demanda bioquímica de oxigênio, tipo BOD, com temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $80 \pm 10\%$ . A temperatura e a umidade foram verificadas, diariamente, por meio de um termômetro digital (SARTOR, 1994).

Do quarto ao décimo dia após cada desafio, depois de um período de fixação e alimentação dos carrapatos, os dispositivos foram abertos diariamente, virando-se o dorso do cão para baixo, segurando seus membros e movimentando o dispositivo com a

<sup>1</sup> Raber® Indústria e Comércio de Polímeros

<sup>2</sup> Brascoplast® Standard

<sup>3</sup> Cremer®

<sup>4</sup> Cremer®

<sup>5</sup> Fulgor®

<sup>6</sup> Pet R&M

abertura voltada para uma bandeja de plástico, para a coleta das fases ingurgitadas (Figura 2). As larvas e as ninfas foram contadas e separadas em seringas de cinco mL, previamente preparadas para o seu acondicionamento. Posteriormente, foram colocadas em câmara climatizada tipo BOD, até a realização das mudas para ninfas e adultos.



**Figura 2.** Metodologia de recuperação das fases ingurgitadas.

Para a avaliação de todas as eficácias do fluazuron, foi utilizada como base a fórmula de correção da mortalidade (ABBOTT, 1925).

A avaliação da eficácia foi efetuada através de contagens das fases dos carrapatos recuperadas em cada desafio experimental, após o devido período de fixação e alimentação. A eficácia da formulação oral do fluazuron em cães no controle das fases evolutivas de *R. sanguineus*, para cada desafio após o tratamento, foi calculada com a seguinte fórmula:

**(média das fases evolutivas do carrapato recuperados no grupo controle - média das fases evolutivas do carrapato do grupo tratado) / (média das fases evolutivas do carrapato recuperados no grupo controle) X100.**

As fêmeas ingurgitadas foram coletadas, contadas, lavadas e acondicionadas em placas de petri, fixadas por meio de fita dupla face. Foram também incubadas em câmara climatizada tipo BOD, durante 21 dias, para realização da postura.

As massas de ovos de cada animal e grupo, devidamente identificadas, foram pesadas e colocadas em seringas descartáveis, vedadas com algodão e acondicionadas novamente em BOD, sendo realizada leitura do número de larvas eclodidas e cálculo do percentual de eclodibilidade.

A eficácia do tratamento foi calculada seguindo parâmetros descritos por Drummond et al. (1973). O cálculo para eficiência reprodutiva (ER) foi calculado utilizando a seguinte fórmula:

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

O cálculo para percentagem de eficácia do fluazuron (EP) seguiu a seguinte fórmula:

$$\text{EP} = \frac{(\text{ER controle} - \text{ER tratado})}{\text{ER controle}} \times 100$$

### 3.6 Avaliação da muda

Para a avaliação da eficácia do fluazuron na inibição da muda das fases evolutivas de *R. sanguineus*, foi realizada a contagem do número de espécimes que realizaram mudas para ninfas e adultos, nos três desafios. O cálculo da eficácia seguiu a seguinte fórmula:

**(média do número de espécimes que realizaram a muda do grupo controle - média do número de espécimes que realizaram a muda do grupo tratado) / (média número de espécimes que realizaram a muda do grupo controle) X 100.**

### 3.7 Análise Estatística

O delineamento realizado foi em blocos casualizado com arranjo fatorial (2x3), e os fatores envolvidos foram: primeiro, o tratamento, grupo controle versus tratado, e o segundo, os dias de desafio. Os resultados foram submetidos a testes de normalidade e homocedasticidade e os que não atenderam a esses requisitos foram normalizados e homogenizados por transformação radicial  $\sqrt{x}$ , sendo as médias comparadas pelo teste T à 5% de probabilidade.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o tratamento todos os animais foram avaliados clinicamente, visando à determinação da ocorrência de reações adversas ou efeitos colaterais, nos tempos: duas horas, 24 horas, 48 horas e sete dias, não sendo observado nenhum tipo de alteração clínica, confirmando relatos de vários outros autores sobre a baixa toxicidade do fluazuron, como por exemplo, Retnakaran e Wright (1987), Spindler et al. (1990), Hink et al. (1991), Graf (1993), Henderson e Foil (1993) e Hinkle et al. (1995), pois o mesmo atua de modo seletivo por meio da inibição de enzimas específicas envolvidas no processo de mudas dos carrapatos, apresentando dessa forma uma alta segurança. No ano de 2005, o Emea (Agência Européia de Medicamentos), publicou um relatório técnico sobre o fluazuron, onde o mesmo, administrado por via oral a ratos, apresentou baixa toxicidade aguda, com um valor de DL 50 (dose letal 50) de mais de 5000 mg/kg de peso corporal.

Recentemente, muito interesse tem sido demonstrado no uso de RCA's oralmente em esquemas terapêuticos de aplicações veterinárias. A incorporação de RCA em dietas de animais domésticos é uma abordagem eficaz para o controle de alguns parasitos, como por exemplo, moscas (WILLIAMS, 1967). É nesse contexto que se baseia o interesse em se testar uma nova forma de administração do fluazuron, por via oral, para utilização em animais de companhia, no controle do carrapato *R. sanguineus*, diante de sua já consagrada eficácia sobre o carrapato do boi, *R. (B.) microplus*, aplicado na forma pour-on. Diante da inovação do preparo de uma forma de administração oral do fluazuron em cães, a escolha da dose a ser administrada se baseou na literatura existente em manuais técnicos e revisões sobre o fluazuron, onde este medicamento foi administrado oralmente a ratos e em menos de 24 horas após a administração, aproximadamente 60% do fluazuron foi absorvido. Seguindo essa linha, a administração do fluazuron na dose de 20mg/Kg, refletiria na absorção de aproximadamente 12mg/Kg desse medicamento no primeiro dia, justificando a escolha do primeiro desafio ser realizado no dia seguinte ao tratamento.

As vantagens deste método de administração são que o produto chega ao animal sem o dispêndio de tempo e recursos necessários para outras formas de aplicação, como pulverização e aplicação com equipamentos caros. Isso no caso de grandes animais. Já em pequenos animais, o que ocorre é a questão estética do aspecto engordurado, que algumas aplicações “pour-on” apresentam, que acabam sujando móveis, tapetes e os proprietários (MULLA; AXELROD, 1983). Além disso, a forma de administração oral reduz a possibilidade de realização de subdosagens no momento que o proprietário realiza o tratamento, garantindo que toda a dose recomendada foi administrada, e consequentemente, diminuindo o aparecimento da seleção de populações resistentes da espécie alvo.

Bull et al. (1996) demonstraram que a aplicação oral de fluazuron na dose de 2,0 mg/kg de peso corporal, origina a mais rápida absorção e mantém maior nível de fluazuron no sangue de bovinos do que um tratamento por via dérmica, no mesmo nível de dose.

Nesse conceito de administração oral, a incorporação de diflubenzuron (6,2-12,5 ppm) e ciromazina (1,5-5,0 ppm), respectivamente, nas rações de galinhas, consegue a completa inibição das formas imaturas de *Musca domestica* presentes no ambiente. A uma taxa de 5 ppm de ciromazina na ração, Mulla e Axelrod (1983) alcançaram completa inibição do desenvolvimento da mosca doméstica para todo o período de alimentação, bem como para mais 14 dias pós-alimentação. Em estudos comparativos, diflubenzuron e metoprene foram menos eficazes em inibir a emergência das moscas do que as azidotriazinas (um composto relacionado com ciromazina) quando incorporado na ração (BREEDEN et al. 1975).

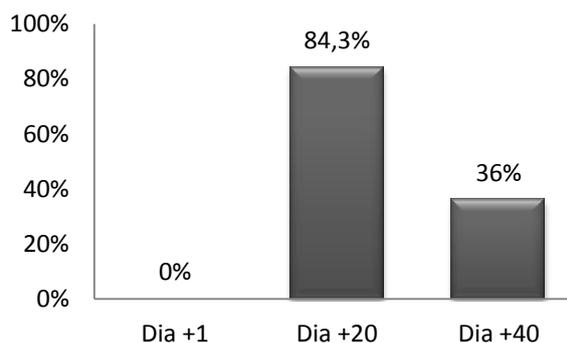
#### **4.1. Inibição da recuperação de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus***

O número médio de larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas dos grupos controle e tratado, nos três dias de desafio pode ser observado na tabela 2. No grupo controle, o número médio de larvas ingurgitadas recuperadas nos desafios dos dias +1, +20 e +40, foi de 303,3; 550,5 e 417,2 respectivamente. Nesses mesmos dias de desafio, para o grupo tratado, essa média foi de 538,2; 86,3 e 267,2. As médias de larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas, diferiram estatisticamente entre si, somente no dia +20 após o tratamento ( $p \leq 0,05$ ). A partir desses resultados, procedeu-se o cálculo da eficácia do fluazuron sobre a recuperação de larvas de *R. sanguineus* em cães, que foi de 84,3% para o desafio do dia +20 e 36% para o desafio do dia +40. O fluazuron não apresentou eficácia sobre a recuperação de larvas no desafio do dia +1 (Figura 3). Apesar do fato de que em ratos, o fluazuron administrado por via oral tenha sido absorvido cerca de 60% nas primeiras 24 horas, de acordo com o manual técnico do Acatak, essa absorção pode ter sido mais lenta nos cães, não alcançando níveis plasmáticos para demonstrar eficácia no desafio do dia +1, porém, obtendo níveis suficientes no desafio do dia +20, já decrescendo no dia +40. Não foram encontrados trabalhos na literatura compulsada, para utilizar na discussão deste tópico do presente trabalho.

**Tabela 2.** Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da recuperação de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, referente aos três dias de desafio.

Grupos/animal	Percentual de recuperação e número de larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas após o tratamento					
	Dia +1		Dia +20		Dia +40	
	Larvas	recuperação (%)	larvas	recuperação (%)	larvas	recuperação (%)
<b>Controle</b>						
421754	172	6,9	851	34,0	528	21,1
261153	96	3,8	734	29,4	551	22,0
267388	127	5,1	84	3,4	9	0,4
261106	369	14,8	489	19,6	534	21,4
44450	550	22,0	593	23,7	592	23,7
280610	506	20,2	552	22,1	289	11,6
<b>Média</b>	303,3 <sup>a</sup>	12,1	550,5 <sup>a</sup>	22,0	417,2 <sup>a</sup>	16,7
<b>Tratado</b>						
293700	845	33,8	37	1,5	356	14,2
419834	234	9,4	25,0	1,0	342,0	13,7
392630	219	8,8	2	0,1	385	15,4
397470	582	23,3	176	7,0	220	8,8
389049	703	28,1	264	10,6	208	8,3
261090	646	25,8	14	0,6	92	3,7
<b>Média</b>	538,2 <sup>a</sup>	21,5	86,3 <sup>b</sup>	3,5	267,2 <sup>a</sup>	10,7
<b>Eficácia (%)</b>	<b>0,0</b>		<b>84,3</b>		<b>36,0</b>	

Colunas com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.



**Figura 3.** Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da recuperação de larvas de *Rhipicephalus sanguineus*

#### 4.2 Inibição da recuperação de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*

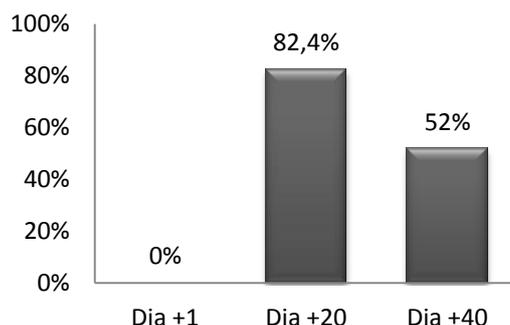
Na tabela 3 pode-se observar o número médio de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas após o tratamento. No desafio do dia +1, essa média foi de 72,7 para o grupo controle e 99,7 para o grupo tratado. Nos desafios seguintes, dos dias +20 e +40, essas médias foram de 117,3 e 131,2 para o grupo controle e 20,7 e 63,3 para o grupo tratado. Houve diferença estatística entre os números médios de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas nos desafios dos dias +20 e +40 ( $p \leq 0,05$ ).

O percentual médio de recuperação de ninfas de *R. sanguineus* no grupo controle foi de 85,2%, semelhante à média encontrada por Bellato (1995) de 91,20%, porém, superiores à encontrada por Melo (2007), que foi de 77,9%, quando utilizou coelhos. No desafio do dia +1, o fluazuron não apresentou eficácia sobre a recuperação de ninfas, assim como observado por Melo (2007) onde as médias do percentual de recuperação de ninfas não apresentaram diferença significativa entre os grupos controle e tratado com fluazuron pour-on na dose de 10mg/Kg. Esse fato levou a autora à conclusão de que o benzoilfeniluréia fluazuron não interferiu na fase parasitária de ninfas, ou seja, as ninfas se fixaram e se alimentaram normalmente nos coelhos. Porém, neste trabalho, a eficácia do fluazuron por via oral, na dose de 20mg/Kg, sobre a recuperação de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* em cães, foi 82,4% e 51,7% nos desafios dos dias +20 e +40, demonstrando que este RCA pode ser utilizado como uma promissora ferramenta auxiliar no controle deste ectoparasito (Figura 4). No desafio do dia +40, a eficácia do fluazuron sobre a recuperação de ninfas permaneceu superior a 50%. Nesse mesmo dia de desafio, quando se faz uma comparação com a eficácia do fluazuron sobre a recuperação de larvas, nota-se uma maior sensibilidade das ninfas ao fluazuron, do que das larvas. Porém, Gray et al. (1994) relataram que o fluazuron de atuação sistêmica, na dosagem de 40mg/kg causou apenas 5% de mortalidade em ninfas de *Ixodes ricinus* alimentados de ratos de laboratório. Isso pode ser explicado pelo fato de os carrapatos terem ciclos de vida longos, que podem levar anos para ser concluído, como por exemplo, *Ixodes pacificus* que pode demorar até três anos para completar seu ciclo de vida, e os efeitos do fluazuron podem não ser observáveis e as larvas e as ninfas até podem mudar para a próxima fase.

**Tabela 3.** Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da recuperação de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, referente aos três dias de desafio.

Grupos/animal	Percentual de recuperação e número de ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas após o tratamento					
	Dia +1		Dia +20		Dia +40	
	Ninfas	recuperação (%)	Ninfas	recuperação (%)	ninfas	recuperação (%)
<b>Controle</b>						
421754	35	17,5	97	48,5	124	62
261153	3	1,5	85	42,5	86	43
267388	30	15	124	62	10	5
261106	119	59,5	93	46,5	183	91,5
44450	110	55	167	83,5	189	94,5
280610	139	69,5	138	69	195	97,5
<b>Média</b>	72,7 <sup>a</sup>	36,3	117,3 <sup>a</sup>	58,7	131,2 <sup>a</sup>	65,6
<b>Tratado</b>						
293700	150	75	1,0	0,5	132,0	66
419834	76	38	1	0,5	42	21
392630	83	41,5	2	1	27	13,5
397470	77	88,5	59	29,5	48	24
389049	91	45,5	37	18,5	69	34,5
261090	177	88,5	24	12	62	31
<b>Média</b>	99,7 <sup>a</sup>	62,8	20,7 <sup>b</sup>	10,3	63,3 <sup>b</sup>	31,7
<b>Eficácia (%)</b>	<b>0,0</b>		<b>82,4</b>		<b>51,7</b>	

Colunas com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.



**Figura 4.** Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da recuperação de ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*

### 4.3 Inibição da Recuperação de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*

A média de fêmeas ingurgitadas recuperadas nos dias +1, +20 e +40 após o tratamento foi de 22,2; 22,3 e 22,0 para o grupo controle e 20,3; 20,7 e 15,7 para o grupo tratado com fluazuron. O número médio de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas, diferiram estatisticamente entre si, no desafio do dia +40 ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 4). Em seu trabalho, Melo (2007) relatou que as médias do percentual de recuperação das fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* dos grupos controle e tratado com fluazuron pour-on em coelhos, não diferiram estatisticamente entre si, assim como no presente estudo, nos desafios dos dias +1 e +20. A eficácia do fluazuron sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas foi inferior a 30,3% durante todo o período experimental (Figura 5). Talvez a dose administrada por via oral não tenha atingido níveis plasmáticos suficientes para inferir eficácia sobre as fêmeas ingurgitadas. Novos estudos utilizando doses superiores, podem melhor esclarecer esta questão.

A metodologia da colocação do dispositivo no dorso dos cães obteve sucesso em sua utilização, uma vez que, no grupo controle, houve um percentual médio de recuperação de fêmeas ingurgitadas superior a 88,0% nos três dias de desafio, o que foi bem semelhante ao trabalho realizado por Melo (2007) que recuperou um percentual médio de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* de 82,4%, em coelhos. Sartor (1994) também relatou um percentual médio de recuperação de 78,66% e Bellato (1995) observou taxa de recuperação de 82,67%, o que mais uma vez, confirma a eficiência dessa nova metodologia para estudos controlados da fase parasitária do carrapato *R. sanguineus* (Figuras 6 e 7). No presente trabalho, no grupo de cães tratado com fluazuron oral, na dose de 20mg/Kg, o percentual de recuperação médio de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* foi de 75,1%, um pouco superior ao encontrado por Melo (2007), que foi de 63,2%, quando tratou coelhos com a formulação pour-on de fluazuron na dose de 10mg/Kg. Ou seja, nos dois trabalhos utilizando fluazuron no controle de *R. sanguineus*, este medicamento tanto na forma de administração pour on, quanto oral, não apresentou atividade relevante sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas.

A única desvantagem de um programa de administração de BFU's está no seu controle relativamente tardio de insetos e limitados efeitos sobre carrapatos, problemas que talvez podem ser contornados com maiores níveis de dosagem de BFU's. Pouca pesquisa tem sido feita sobre os custos associados com o controle do carrapato, mas em estudos recentes sobre manejo integrado de pragas, relacionado a diferentes programas

para controlar carrapatos ixodídeos, uma estratégia envolvendo acaricidas sistêmicos provou ser a economicamente mais viável e eficaz (MENDONÇA, 2010).

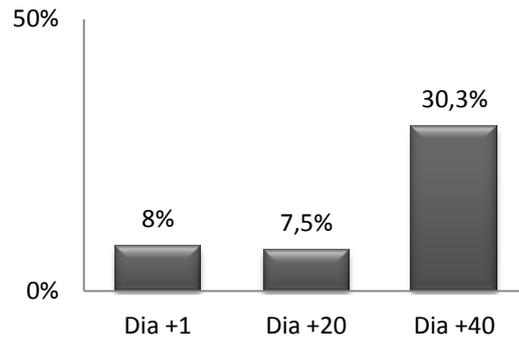
Uma possível explicação para a ausência dessa eficácia sobre a recuperação de fêmeas ingurgitadas, seria a de que a dose empregada no presente estudo não teria sido suficiente para atingir níveis plasmáticos necessários para inferir alguma eficácia. Mais estudos com dosagens maiores são recomendados para elucidar melhor essa questão.

**Tabela 4.** Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da recuperação de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, referente aos três dias de desafio.

Grupos/animal	Percentual de recuperação e número de fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas após o tratamento					
	Dia +1		Dia +20		Dia +40	
	♀ ingurgitadas	recuperação (%)	♀ ingurgitadas	recuperação (%)	♀ ingurgitadas	recuperação (%)
<b>Controle</b>						
421754	19	76	20	80	25	100
261153	24	96	17	68	13	52
267388	24	96	25	100	25	100
261106	23	92	24	96	23	92
44450	20	80	23	92	22	88
280610	23	92	25	100	24	96
<b>Média</b>	22,2 <sup>a</sup>	88,7	22,3 <sup>a</sup>	89,3	22,0 <sup>a</sup>	88
<b>Tratado</b>						
293700	24	96	24	96	15	60
419834	15	60	20	80	18	72
392630	18	72	20	80	6	24
397470	20	80	22	88	22	88
389049	20	80	18	72	16	64
261090	25	100	20	80	15	60
<b>Média</b>	20,3 <sup>a</sup>	81,3	20,7 <sup>a</sup>	82,7	15,3 <sup>b</sup>	61,3
<b>Eficácia (%)</b>	<b>8,3</b>		<b>7,5</b>		<b>30,3</b>	

Colunas com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

♀ - fêmea



**Figura 5.** Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da recuperação de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*



**Figura 6.** Fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* ainda dentro do dispositivo.



**Figura 7.** Fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* recuperadas do interior do dispositivo. Notar a presença de ninfas ingurgitadas da mesma espécie (seta).

#### **4.4 Percentual de eclodibilidade e eficiência do tratamento com fluazuron sobre *Rhipicephalus sanguineus***

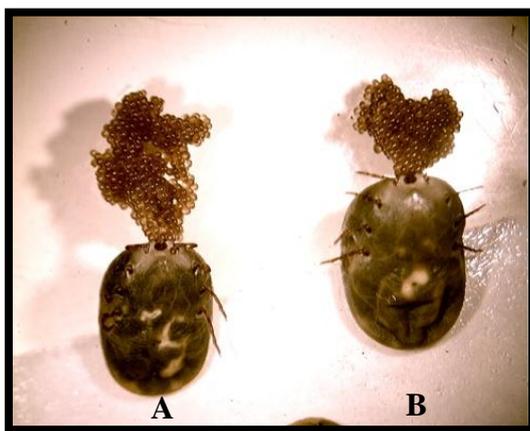
A Tabela 5 contém os resultados referentes ao peso das fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* recuperadas de cães tratados com fluazuron administrado por via oral, juntamente com os resultados dos pesos de suas posturas, percentual de eclodibilidade dos ovos oriundos dessas fêmeas e a eficácia desse tratamento. Os pesos médios, em gramas, das fêmeas ingurgitadas foram 2,9; 3,2 e 3,1, para o grupo controle, nos dias

+1, +20 e +40, respectivamente. No grupo tratado, nesses mesmos dias de desafio, os pesos médios foram 2,8; 2,7 e 2,2.

O peso inicial das fêmeas ingurgitadas nos grupos controle e tratado com fluazuron no trabalho de Melo (2007) não apresentou diferença estatística significativa entre si, assim como no presente trabalho, para os dias +1 e +20. Somente no desafio do dia +40, essa média do peso das fêmeas ingurgitadas recuperadas diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ), o que, conseqüentemente reduziu o peso da postura e o percentual de eclodibilidade, fazendo com que esses dois últimos parâmetros também diferissem estatisticamente neste dia de desafio.

Com relação aos pesos médios também em gramas, das posturas dessas fêmeas ingurgitadas, no grupo controle, essas médias foram 1,9; 1,9 e 2,0, nos dias +1, +20 e +40. No grupo tratado, nesses mesmos dias, essas médias foram 1,7; 2,3 e 1,4. Houve diferença estatística significativa entre as médias dos grupos controle e tratado no desafio do dia +40 ( $p \leq 0,05$ ) (Figura 8). Diferentemente do presente trabalho, Kemp et al. (1990) empregaram o fluazuron no tratamento pour on de bovinos, contra *R. (B.) microplus*. A integridade dos ductos salivares desses carrapatos foi comprometida, causando um desequilíbrio na hemolinfa. O efeito foi tal que as fêmeas de *R. (B.) microplus* alimentadas nos bovinos tratados, apresentaram diminuição na postura, resultando em ovos não viáveis. A atividade ovicida dos BFU's está associada com a interrupção da formação de cutícula dos embriões, atrapalhando seu desenvolvimento em ovos tratados, fazendo com que não eclodam (RETNAKARAN et al., 1985). Efeitos ovicidas têm sido demonstrados em baratas alimentadas com triflumuron (WEAVER et al., 1984).

Alguns bioensaios demonstraram que a exposição ao fluazuron não teve efeito negativo sobre a produção de ovos ou desenvolvimento de ovo a adulto de *Onthophagus gazella*, e *O. taurus* (FISARA, 1996).

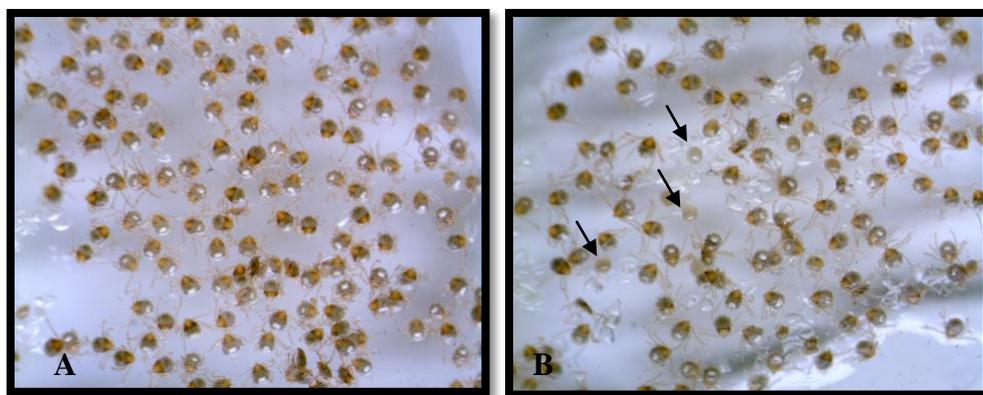


**Figura 8.** Postura de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* alimentadas em cães sem tratamento (A) e tratados com fluazuron (B). Notar que as características das posturas são semelhantes.

No grupo controle, o percentual médio de eclodibilidade dos ovos foi de 69,3%; 97,4% e 85,7% para os dias de desafio +1, +20 e +40. No grupo tratado, esse percentual médio foi de 68,0%; 88,6% e 62,3% para esses mesmos dias de desafio. As médias do percentual de eclodibilidade dos grupos controle e tratado diferiram estatisticamente entre si somente no desafio do dia +40 ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 5). O percentual de eclosão foi

elevado, os grupos não apresentaram diferença estatística entre si nos dias +1 e +20 (Figura 9). Sartor (1994) e Bellato (1995) relataram média de percentual de eclosão de 93,36 e 97%, respectivamente, resultados estes semelhantes ao do presente trabalho. No trabalho de Melo (2007) o regulador de crescimento de artrópodes fluazuron não interferiu no desenvolvimento embrionário dos ovos de *R. sanguineus* não impedindo o elevado percentual de eclosão de larvas no grupo tratado, assim como no presente estudo.

A eficácia do tratamento se apresentou inferior a 12,4% nos três dias de desafio (Figura 10). Para o cálculo da eficiência do tratamento com fluazuron sobre *R. sanguineus*, foram utilizados os resultados da eficiência reprodutiva que foram de 823157,8; 1164570 e 1030607, no grupo controle, para os desafios dos dias +1, +20 e +40, respectivamente. Para esses mesmos dias no grupo tratado esses números médios de eficiência reprodutiva foram de 725792,7; 1071739 e 902926,6.



**Figura 9.** Larvas de *Rhipicephalus sanguineus* oriundas de ovos de fêmeas alimentadas em cães sem tratamento (A). Larvas da mesma espécie oriundas de ovos de fêmeas alimentadas em cães tratados com fluazuron. Notar a presença de ovos cujas larvas não eclodiram (seta).

**Tabela 5.** Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a eclodibilidade de larvas de *Rhipicephalus sanguineus*, referentes aos três dias de desafio.

Grupos/animal	Peso das fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> recuperadas após o tratamento, peso da postura, percentual de eclodibilidade e eficiência reprodutiva.											
	Dia +1				Dia +20				Dia +40			
	PT	PP	%E	ER	PT	PP	%E	ER	PT	PP	%E	ER
<b>Controle</b>												
421754	3,01	1,85	73,5	910472,4	3,27	1,99	97,75	1169341	3,54	2,61	98	1430782
261153	3,46	2,12	49	593782,1	2,29	1,39	97,75	1167900	2,01	1,3	49,25	641413,1
267388	3,45	2,21	73,75	944316,7	3,38	2,01	95,75	1040383	3,75	2,3	97,75	1147387
261106	1,77	1,09	73,75	871628,1	3,4	1,97	97,5	1138737	3,33	1,78	97,5	1023039
44450	2,55	1,87	73	708996,7	3,12	1,63	97	1172152	2,84	2,02	74	695764,5
280610	3,42	2,06	73	909750,8	3,61	2,38	98,5	1298909	3,09	1,74	97,75	1245256
<b>Média</b>	2,9 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	69,3 <sup>a</sup>	823157,8	3,2 <sup>a</sup>	1,9 <sup>a</sup>	97,4 <sup>a</sup>	1164570	3,1 <sup>a</sup>	2,0 <sup>a</sup>	85,7 <sup>a</sup>	1030607
<b>Tratado</b>												
293700	3,39	1,88	77,5	886914,3	3,08	2,64	89,25	1019556	2,09	1,39	70,5	1996667
419834	1,75	0,96	58,75	658967,3	2,23	2,85	68,25	860023,5	2,6	1,65	46,25	584655,2
392630	2,71	1,52	58,25	651973,2	2,54	2,89	91,5	1045656	0,76	0,4	46,75	464440,6
397470	3,13	1,99	70	902068,3	3,09	1,95	94	1190201	3,36	2,19	70	879548,2
389049	2,56	1,54	71,75	609441,3	2,48	1,72	93,75	1016644	2,04	1,44	70	721648,7
261090	3,15	2,17	72	645392	2,82	1,78	94,75	1298352	2,08	1,14	70,5	770600,1
<b>Média</b>	2,8 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>	68,0 <sup>a</sup>	725792,7	2,7 <sup>a</sup>	2,3 <sup>a</sup>	88,6 <sup>a</sup>	1071739	2,2 <sup>b</sup>	1,4 <sup>b</sup>	62,3 <sup>b</sup>	902926,6
<b>Eficácia (%)</b>				<b>11,8</b>				<b>8,0</b>				<b>12,4</b>

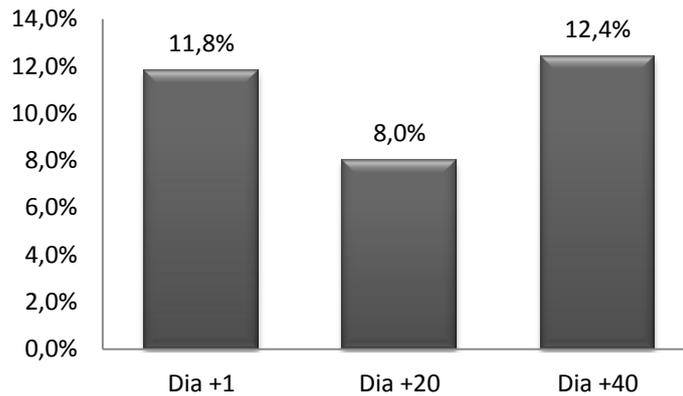
Colunas com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

PT – peso das teleóginas

PP – peso das posturas

%E – percentual de eclodibilidade

ER – eficiência reprodutiva



**Figura 10.** Eficiência do tratamento com fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre *Rhipicephalus sanguineus*

#### **4.5 Avaliação do percentual de muda ou ecdise das fases evolutivas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* recuperadas após o tratamento**

Os inibidores da síntese de quitina, assim como o fluazuron, fazem parte dos compostos derivados do grupo dos BFU's e são mais ativos quando ingeridos. Eles inibem a biossíntese de quitina, ocasionando a morte das fases evolutivas dos parasitos, resultado de anormalidades na muda, que surgem de deformações na cutícula do parasito, com conseqüente inibição da formação da mesma (MULDER; GIJSWIJT, 1973). Isso foi evidenciado no presente trabalho, onde se observou uma elevada eficácia do fluazuron na inibição da muda ou ecdise da fase de larva para ninfa e de ninfa para adultos, no desafio que ocorreu 20 dias após o tratamento de cães, com fluazuron por via oral, na dose de 20mg/Kg de peso corporal.

##### **4.5.1 Avaliação do percentual de muda ou ecdise de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus***

Confirmando o sucesso da metodologia de colocação do dispositivo no dorso dos cães, para o estudo controlado de carrapatos, que foi empregada nesse trabalho, as larvas ingurgitadas recuperadas no grupo controle, apresentaram um percentual médio de muda ou ecdise, semelhante ao trabalho realizado por Melo (2007) onde o valor médio para o percentual de ecdise de larvas de *R. sanguineus* recuperadas de coelhos, no grupo controle, foi de 98%. No presente estudo, essa média para o percentual de ecdise, foi de 87,3%, ligeiramente menor que a observada por Melo (2007), mas ainda assim bem próximo ao observado por Sartor (1994) e Bellato (1995), que foram de 93,36 e 97%, respectivamente. Esses resultados demonstram que as larvas utilizadas nas infestações se alimentaram o suficiente, para realizarem a muda, dando continuidade ao seu ciclo biológico.

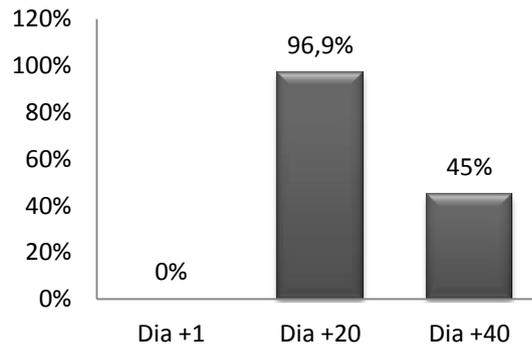
Os números médios de larvas que realizaram a muda para ninfas, no grupo controle, foram de 260,2; 468,8 e 369,5 para os desafios dos dias +1, +20 e +40, respectivamente. Já no grupo tratado, esses números médios foram de 425,2; 14,5 e 203,2. No desafio do dia +20, observou-se diferença estatística significativa entre as médias de larvas ingurgitadas que realizaram muda para ninfas ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 7). Utilizando-se as médias de larvas ingurgitadas que realizaram muda para ninfas, foi calculada a eficácia do fluazuron sobre a inibição da muda ou ecdise, que foi de 0%,

96,9% e 45,0% para os dias +1, +20 e +40, respectivamente (Figura 11). A eficácia de 96,9% do fluazuron sobre a inibição da muda ou ecdise de larvas para ninfas, observada no dia +20 após o tratamento, corrobora o trabalho de Melo (2007) onde as larvas de *R. sanguineus* recuperadas do grupo de coelhos tratados com fluazuron pour-on, na dose de 10mg/Kg, não realizaram ecdise para ninfas, apresentando uma eficácia do fluazuron de 100%. Corrobora ainda a acertiva feita por Bull et al. (1996), onde eles afirmam que o efeito do fluazuron sobre as formas imaturas dos carrapatos é devastador, pois impede a passagem para os estágios seguintes, pela inibição da síntese de quitina, reduzindo assim, supressivamente a população de carrapatos, juntamente com outros autores como Splindler (1983), Kramer et al. (1985) e Chen (1987) que afirmam que o benzoilfeniluréia, fluazuron atua nos carrapatos inibindo a sua ecdise. Segundo estes autores, a degradação da quitina tem um importante papel negativo na muda periódica dos artrópodes (Figura 12).

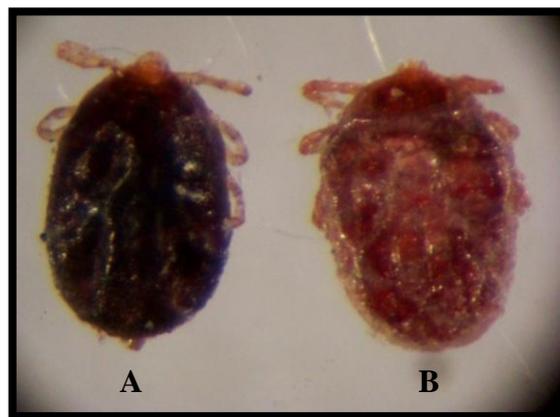
**Tabela 6.** Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de larvas de *Rhipicephalus sanguineus*, referente aos três dias de desafio.

Grupos/animal	Percentual de muda e número de larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> que realizaram muda para ninfas após o tratamento					
	Dia +1		Dia +20		Dia +40	
	Muda	Percentual	muda	Percentual	muda	percentual
<b>Controle</b>						
421754	149	86,6	747	87,8	523	99,1
261153	85	88,5	644	87,7	505	91,7
267388	112	88,2	74	88,1	9	100,0
261106	346	93,8	384	78,5	444	83,1
44450	429	78,0	491	82,8	511	86,3
280610	440	87,0	473	85,7	225	77,9
<b>Média</b>	260,2 <sup>a</sup>	87,0	468,8 <sup>a</sup>	85,1	369,5 <sup>a</sup>	89,7
<b>Tratado</b>						
293700	628	74,3	5	13,5	275	77,2
419834	192	82,1	5	20,0	292	85,4
392630	135	61,6	1	50,0	295	76,6
397470	440	75,6	19	10,8	126	57,3
389049	551	78,4	56	21,2	153	73,6
261090	605	93,7	1	7,1	78	84,8
<b>Média</b>	425,2 <sup>a</sup>	77,6	14,5 <sup>b</sup>	20,4	203,2 <sup>a</sup>	75,8
<b>Eficácia (%)</b>	<b>0,0</b>		<b>96,9</b>		<b>45,0</b>	

Colunas com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.



**Figura 11.** Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de larvas para ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*



**Figura 12.** Larvas do grupo controle (A) e tratado com fluazuron (B). Notar o aspecto desidratado (B).

#### 4.5.2 Avaliação do percentual de muda ou ecdise de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*

Na tabela 8, os números médios de ninfas ingurgitadas que realizaram muda para adultos no grupo controle, foi de 66,3; 98,0 e 115,2 para os dias +1, +20 e +40. No grupo tratado, nesses mesmos dias de desafio, esses números médios foram 117,2; 0,5 e 42,0. Houve diferença estatística significativa entre as médias dos grupos controle e tratado nos desafios dos dias +20 e +40 ( $p \leq 0,05$ ). Utilizando-se as médias de ninfas ingurgitadas que realizaram muda para adultos, foi calculada a eficácia do fluazuron sobre a inibição da muda ou ecdise, que foi de 0%, 99,5% e 63,5% para os dias +1, +20 e +40, respectivamente (Figura 13). Esses resultados confirmam ao que foi publicado pelos autores Andrade e Santarém (2002) e Spinosa et al. (2006) que afirmam que o fluazuron não possui ação direta, mas interfere no processo de muda dos parasitos, fazendo com que os artrópodes afetados sejam incapazes de promover a ecdise, perdendo hemolinfa, adquirindo coloração escura e morrendo devido à desidratação (Figura 14).

Melo (2007) encontrou uma eficácia do fluazuron aplicado na forma pour-on, na dose de 10mg/Kg em coelhos de 69,83%, indicando que este RCA impediu a ecdise de quase 70% das ninfas alimentadas em coelhos que receberam o tratamento. Neste trabalho, no dia +20 após o tratamento, o fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, impediu a ecdise de quase 100% das ninfas para adultos. Diante desses resultados pode-se supor que o fluazuron, administrado por via oral, possa levar um

tempo maior para atingir uma concentração plasmática suficiente para inferir uma eficácia sobre a inibição da muda das fases evolutivas de *R. sanguineus*.

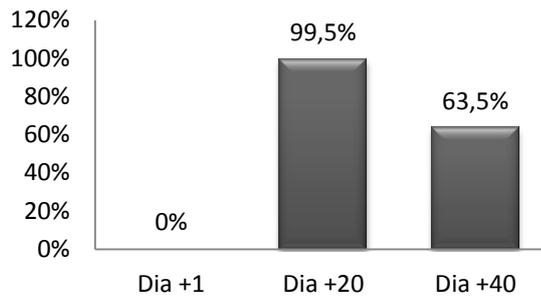
No grupo controle deste trabalho, o percentual médio de muda ou ecdise de ninfas para adultos de *R. sanguineus* foi de 85,2%, resultado esse, ligeiramente inferior, porém ainda aproximado, aos relatados por Sartor (1994), Bellato (1995) e Melo (2007), que foram de 94,99%, 99,0% e 96,8%, respectivamente, o que mais uma vez, confirma os resultados positivos da metodologia de colocação de dispositivos no dorso de cães, empregada neste trabalho.

Alguns espécimes que realizaram a ecdise apresentavam uma fina película aderida a nova cutícula, como pode ser observado na Figura 15. Fato que pode ser relacionado à ação do regulador de crescimento no processo da troca de cutículas.

**Tabela 7.** Eficácia do fluazuron, administrado via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*, referentes aos três dias de desafio.

Grupos/animal	Percentual de muda e número de ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> que realizaram muda para adultos após o tratamento					
	Dia +1		Dia +20		Dia +40	
	Muda	percentual	muda	percentual	muda	percentual
<b>Controle</b>						
421754	29	82,9	80	82,5	104	83,9
261153	2	66,7	70	82,4	78	90,7
267388	19	63,3	112	90,3	10	100,0
261106	114	95,8	67	72,0	170	92,9
44450	103	93,6	132	79,0	164	86,8
280610	131	94,2	127	92,0	165	84,6
<b>Média</b>	66,3 <sup>a</sup>	82,8	98,0 <sup>a</sup>	83,0	115,2 <sup>a</sup>	89,8
<b>Tratado</b>						
293700	118	78,7	0	0,0	102	77,3
419834	64	84,2	0	0,0	27	64,3
392630	67	80,7	0	0,0	23	85,2
397470	141	79,7	0	0,0	23	47,9
389049	59	64,8	2	5,4	37	53,6
261090	115	65,0	1	4,2	40	64,5
<b>Média</b>	94 <sup>a</sup>	75,5	0,5 <sup>b</sup>	1,6	42 <sup>b</sup>	65,5
<b>Eficácia (%)</b>	<b>0,0</b>		<b>99,5</b>		<b>63,5</b>	

Colunas com médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.



**Figura 13.** Eficácia do fluazuron por via oral em cães, na dose de 20mg/Kg, sobre a inibição da muda de ninfas para adultos de *Rhipicephalus sanguineus*



**Figura 14.** Ninfa ingurgitada de *Rhipicephalus sanguineus* alimentada em cão tratado com fluazuron. Notar o ressecamento (A). Adulto da mesma espécie, oriundo de ninfa alimentada em cão sem tratamento (B).



**Figura 15.** Espécime adulto de *Rhipicephalus sanguineus* apresentado a cutícula da fase evolutiva anterior aderida à nova cutícula.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudos da biologia de carrapatos, seu comportamento como vetor de bioagentes e medidas para seu controle, são vastos na literatura internacional e nacional. No entanto, algumas lacunas ainda existem, e se preenchidas podem dinamizar os conhecimentos para futuras pesquisas sobre os mecanismos de transmissão de patógenos, dinâmica populacional e medidas preventivas.

O controle do carrapato em animais de estimação, um setor amplamente negligenciado no passado, está recebendo uma maior atenção no momento, já que se acredita ser um pouco mais fácil de desenvolver novos produtos, uma vez que a preocupação com resíduos é um pouco menor em relação aos animais de produção. 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.

As prioridades para o controle de artrópodes que atuam como vetores de doenças para cães e gatos, podem ser muito diferentes nos países desenvolvidos do que aqueles que estão em desenvolvimento, como o Brasil, por exemplo. No primeiro caso, a maioria dos cães e gatos são bem cuidados e vivem em ambientes onde há higiene, o que contribui para o controle desses parasitos. Em contraste, nos países menos desenvolvidos, que possuem grandes populações de cães e gatos de livre circulação, atuando como reservatórios desses artrópodes vetores de doenças potencialmente zoonóticas, o controle é dificultado pela extensão muito maior que deve abranger.

O mercado ectoparasiticida para animais de companhia teve um enorme desenvolvimento, principalmente nos últimos anos, impulsionado pelo grande aumento na necessidade de controlar artrópodes responsáveis pela transmissão de patógenos aos seus hospedeiros, cães e gatos, bem como aos seres humanos, seus proprietários.

Enquanto o efetivo controle de parasitos parece socioeconomicamente necessário, o aparecimento de resistência em algumas espécies de parasitos acaba por tornar essas substâncias simplesmente ineficazes. A resistência varia de produto para produto e experimentos científicos com o objetivo de identificar produtos com o mínimo de efeitos de resistência são importantes para fornecer as informações necessárias na busca de substâncias potencialmente ativas.

Em 1999, oito grandes empresas farmacêuticas voltadas para a saúde de animais, formaram um grupo veterinário de estudos voltado para a resistência do parasito (VPRG) para agir como um grupo de consultores especialistas, para orientar a FAO no manejo da resistência e colaborar na utilização prudente de acaricidas, dando sua visão do futuro, para o controle do carrapato a partir da perspectiva da indústria de saúde animal.

O desenvolvimento de novos acaricidas é um processo longo e muito caro. Logo, a busca de medidas para reduzir a taxa de resistência, através de um manejo integrado, envolvendo substâncias adulticidas, em conjunto com os reguladores de crescimento, que atuam nas formas evolutivas, é de extrema importância. Como consequência desta realidade, surgiu o interesse na pesquisa do tema do presente trabalho, ou seja, a investigação da atividade do fluazuron sobre o carrapato do cão. Isso porque, o fluazuron é um inibidor da síntese de quitina amplamente utilizado no controle do carrapato do boi, mas com informações de sua atuação sobre outros carrapatos, como o do cão, por exemplo, ainda insuficientes.

Entretanto, os reguladores de crescimento são substâncias que atuam a longo prazo, não apresentando um efeito “Knok down”, o que induz a uma certa limitação na aceitação da utilização destes pelos proprietários de animais.

Há a necessidade de se estabelecer um sistema de controle eficaz, com pesquisas exaustivas relacionadas à atividade dos acaricidas já existentes, sobre o maior número de artrópodes possível, a fim de diminuir gastos com o desenvolvimento de novos produtos. Isso, por sua vez, irá exigir: conhecimento claro sobre a distribuição de artrópodes em diferentes áreas; compreensão das limitações de diagnóstico e padronização de técnicas entre os laboratórios de referência em diferentes países, monitoramento de novas cepas ou agentes de doenças transmitidas por artrópodes não reconhecidos, o contínuo monitoramento da resistência a inseticidas e o desenvolvimento de estratégias de gestão de controle, como o emprego dos reguladores de crescimento, num sistema de controle integrado.

Mais pesquisas são uma necessidade urgente para desenvolver o potencial de atividade dos reguladores de crescimento, sobre artrópodes de interesse médico-veterinário e em saúde pública, com uma abordagem metodológica compatível com a realidade, utilizando produtos que já estão disponíveis. Num contexto geral, os reguladores de crescimento não atingem altos níveis de mortalidade, tendo que se aceitar que eles devam ser julgados como componentes de uma estratégia global no controle. Por isso, é necessário pensar mais em termos de gestão de um problema global, e para longo prazo.

Neste conceito, espera-se que o presente trabalho contribua como mais uma fonte de informação, que poderá auxiliar não somente a comunidade científica, mas também as indústrias especializadas em saúde animal e, por fim, aos proprietários de animais de companhia que estão sempre atentos às novidades relacionadas ao aparecimento de produtos que propiciem o bem-estar de seu animal e a segurança de sua família. Nesse intuito, por meio dos resultados encontrados neste estudo, o fluazuron se mostra como mais uma ferramenta viável, segura e eficaz, podendo ser utilizada em associação com substâncias adulticidas na luta contra os ectoparasitos que assolam os animais.

## 6 CONCLUSÕES

O regulador de crescimento de artrópodes fluazuron administrado na dose de 20mg/Kg por via oral em cães demonstrou ser eficaz na interrupção do processo de muda de larva para ninfa, de ninfa para adulto de *R. sanguineus*, assim como também elevada ação carrapaticida para estes dois estágios, somente na tomada de tempo de 20 dias após o tratamento.

A baixa eficácia apresentada para todos os parâmetros avaliados nos tempos dia +1 e +40 indicaram respectivamente que o fluazuron empregado por via oral necessita de um tempo superior a 24 horas para começar a exercer os efeitos de inibição de crescimento de artrópodes e ação acaricida. Da mesma forma os parâmetros avaliados no dia +40 demonstraram que o fluazuron não apresentou níveis residuais até esta data após o tratamento.

O fluazuron não apresentou efeito negativo significativo sobre os parâmetros reprodutivos das fêmeas de *R. sanguineus*.

Os resultados indicam que o fluazuron empregado na dose do presente estudo por via oral apresentou características de ação sistêmica no controle do *R. sanguineus*, permitindo abrir a perspectivas no sentido do desenvolvimento de produtos por via oral para cães contendo fluazuron.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 1, p. 265-267, 1925.
- ANDRADE, S. F.; SANTARÉM, V. A. endoparasitoidas e ectoparasitoidas. *In*: ANDRADE, S. F. Manual de Terapêutica Veterinária. 2 ed. São Paulo: Roca, 2002. 697 p.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, n. 4, p. 759-843, 1936.
- ARMISHAW, P.; WARD, J.; MILLAR, R. G. Development of a reference material for residues of chlorfaluazuron and fluazuron in beef fat ACSL CRM 3. **Journal of Analytical Chemistry**, v. 356, n. 1, p. 10-12, 1996.
- BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J.; FERREIRA, B. R.; GARCIA, M. V. *Rhipicephalus sanguineus* Tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 4, n. 2, p. 61-66, 1995.
- BECHARA, G. H. Desenvolvimento de vacinas no Brasil: Perspectivas. III SIBAC - SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA. Campinas-SP, 25 A 27 DE MAIO DE 2011.
- BELINATO, T. A. **Efeito do triflumuron, um inibidor da síntese de quitina, sobre o desenvolvimento e a reprodução de culicídeos vetores de doença**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Patogenia) Fiocruz, Rio de Janeiro.
- BELLATO, V. **Efeitos de diferentes temperaturas no desenvolvimento de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) em condições de laboratório**. 1995. 59 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária) UFRRJ, Seropédica.
- BITTENCOURT, V. R. E. P.; BAHIENSE, T. C.; FERNANDES, E. K. K.; SOUZA, E. J. Avaliação da ação in vivo de *Metarhizium anisopliae* (METSCHNIKOFF, 1879) SOROKIN, 1883 aplicado sobre *Brachiaria decumbens* infestada com larvas de *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 38 – 42, 2003.
- BLAGBURN, B. L.; VAUGHAN, J. L.; LINDSAY, D. S.; TEBBITTI, G. L. Efficacy dosage titration of lufenuron against developmental stages of fleas (*R. sanguineus*) in cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 1, p. 98-101, 1994.
- BOWEN, F. L.; FISARA, P.; JUNQUERA, P.; KEEVERS, D. T.; MAHONEY, R. H.; SCHMID, H. R. Long-lasting prevention against blowfly strike using the insect growth regulator diciclanil. **Australian Veterinary Journal**, v. 77, n. 1, p. 454-560, 1999.
- BOWMAN, D. D. **Georgis' Parasitology for veterinarians**. 8 ed. USA: Elsevier Science, 2003, 422 p.

BREEDEN, G. C.; TURNER, E. C.; BEANE, W. L. Methoprene as a Feed Additive for Control of the House Fly Breeding in Chicken Manure. **Journal of Economic Entomology**, v. 68, n. 4, p. 451-452, 1975.

BROSSARD, M.; WIKEL, S. K. Tick immunobiology. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 161-176, 2004.

BULL, M. S.; SWINDALE, S.; OVEREND, D.; MESS, E. Supression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron- an acarine growth regulator. **Australian Veterinary Journal**, v.74, n. 1, p. 468-470, 1996.

CHAMBERLAIN, W. F. Insect growth regulating agents for control of arthropods of medical and veterinary importance. **Journal of Medical Entomology**, v. 12, n. 4, p. 395-400, 1975.

CHAPMAN, R. F. **The insects: structure and function**. 3 ed. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1982. 919 p.

CHEN, A. C.; Chitin metabolism. **Archive Insect Biochemistry Physiology**, v. 6, n.1, p. 267 – 277, 1987.

CHEN, L.; WANG, Q.; HUANG, R.; CHUNHUI, M.; SHANG, J.; BI, F. Synthesis and insecticidal evaluation of propesticidal of benzoylphenylureas. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 53, p. 38-41, 2005.

CITRONI, D.; D'AGOSTINO, B. I.; MARTIN, S.; SCHMID, H. R.; JUNQUERA, P. Efficacy of fluazuron against infestations with Argentinean *B. microplus*. In: 17<sup>th</sup> Conference of the WAAVP, Copenhagen, 15-19 August, 1999.

COELHO, C. F. **Biologia da fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) sob condições de laboratório: Aspectos da Oviposição**. 1993. 52 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária) UFRRJ, Seropédica.

COHEN, E. Chitin biochemistry: Synthesis and inhibition. **Annual Reviews of Entomology**, v. 32, n. 1, p. 71-93, 1987.

COHEN, E. Chitin synthesis and degradation as targets for pesticide action. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, v. 22, n. 1, p. 245-261, 1993.

COOP, R. L.; TAYLOR, M. A.; JACOBS, D. E.; JACKSON, F. Ectoparasites: recent advances in control. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 55-56, 2002.

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. 52 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária) UFRRJ, Seropédica.

COSTA, A. J. Avaliação comparativa da ação anti-helmíntica e do efeito no desenvolvimento ponderal de bezerros tratados com diferentes avermectinas de longa ação. **A Hora Veterinária**, v. 24, n. 139, p. 31-34, 2004.

COSTA, F. M. **Avaliação da atividade inseticida do regulador de crescimento de insetos diflubenzuron contra *Anopheles darlingi*, em condições de laboratório.** 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

DA GLÓRIA, M. A. **Estudos preliminares para avaliação do uso de compostos reguladores de crescimento no controle de *Boophilus microplus*.** 1988. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária) UFRRJ, Seropédica.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 1, p. 173–185, 2008.

DAVIS, R. M. Use of orally administered chitin inhibitor (lufenuron) to control flea vectors of plague on ground squirrels in California. **Journal of Medical Entomology**, v. 36, n.5, 1999.

DAVOUST, B.; MARIÉ, J. L.; MERCIER, S.; BONI, M.; VANDEWEGHE, A.; PARZY, D.; BEUGNET, F. Assay of fipronil efficacy to prevent canine monocytic ehrlichiosis in endemic areas. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 1, p. 91-100, 2003.

DEMARK, J. J.; BENNETT, G. W. Ovicidal Activity of Chitin Synthesis Inhibitors When Fed to Adult German Cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 27, n. 4, p. 551-555, 1990.

DRYDEN, M. W.; PRESTWOOD, A. K.; Successful flea control. **Compendium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 15, n. 6, p. 821-31, 1993.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n.1, p. 130-133, 1973.

EL-GAZZAR, L. M.; PATTERSON, R. S.; KOEHLER, P. G. Activity of Chitin Synthesis Inhibitors on The Cat Flea, *Ctenocephalides felis* Bouché. **Journal of Agricultural Entomology**. v. 5, n. 2, p. 117-120, 1988.

EMEA. European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use Fluazuron. EUROPE, 2005.

ESTRADA, J. G.; MULLA, M. S. Evaluation of two new insect growth regulators against mosquitoes in the laboratory. **Journal of the American Mosquito Control Association**, v. 2, n. 1, p. 57-60, 1986.

ESTRADA-PENA, A. Etude de la résistance de la tique brune du chien, *Rhipicephalus sanguineus* aux acaricides. **Revue Méd Vét** v. 156, p. 67-69, 2005.

FARIAS, N. A.; RUAS, J. L.; SANTOS, T. R. B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1700-1704, 2008.

FERNANDES, F. F. Atividade *in vitro* de permetrina, cipermetrina e deltametrina sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806) (Acari: Ixodidae). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52, n.6, p.621-626, 2000.

Fernandes J. I.; Correia T. R.; Ribeiro F. A.; Cid Y. P.; Tavares P. V.; Scott F.B. Eficácia *in vitro* do nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. 1, p. 64 - , 2010.

FISARA, P. The effect on the dung beetle *Euoniticellus intermedius* of feeding them on faeces derived from cattle treated with ACATAK1 at the rate of 2.5 mg/kg. **Technical Memorandum No. 96/6/1528. Ciba-Geigy Australia Ltd., Kemps Creek**, 1996.

FLECHTMANN, C.H.W. *Lorryia formosa* Cooremann, 1958 - Um ácaro dos citros pouco conhecido no Brasil. **Ciência e Cultura**, v. 25, n. 12, p. 1179-1181, 1973.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 3 ed. Editora Nobel, 1985. 192p.

FRIEDEL, T. Cyromazine Inhibits Larval Development of the Dog Flea, *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 79, n. 3, p. 697-699, 1986.

GEARY, T. G.; THOMPSON, D. P. Development of antiparasitic drugs in the 21<sup>st</sup> century. **Veterinary Parasitology**, v. 115, n.1, p. 167-184, 2003.

GIGA, D. P. Evaluation of the insect growth regulators cyromazine and diflubenzuron as surface sprays and feed additives for controlling houseflies *Musca domestica* (L) in chicken manure. **International Pest Control**, v. 1, n. 1, p. 66-69, 1987.

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. R.; GOGOLEWSKI, N.; LEACH-BING, G. A.; SABATINI, M. B.; MOLENTO, E. L.; BORDIN, ARANTES, G. J. Tick control" an industry point of view". **Parasitology** , v. 129, n. 1, p. 427-442, 2004.

GRAY, J. S.; KAHL, O.; JANETZKI-MITTMAN, C.; STEIN, J.; GUY E. Acquisition of *Borrelia burgdorferi* by *Ixodes ricinus* ticks fed on the European hedgehog, *Erinaceus europaeus*. **Experimental and Applied Acarology**, v.18, n. 8, p. 485-491, 1994.

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

GROSSCURT, A. C.; HAAR, M.; JONGSMA, B.; STOKER, A. PH 70-23: A New Acaricide and Insecticide Interfering with Chitin Deposition. **Pesticid Science**, v. 22, n. 1, p. 51-59, 1988.

GUIMARÃES, J. H; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. 1 ed. São Paulo: PLêiade / FAPESP, 2001. 218 p.

HARTFELDER, K. Insect juvenile hormone: from “status quo” to high society. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 33, n. 2, p. 157-177, 2000.

HENDERSON, G.; FOIL, L. D. Effectiveness of di-flubenzuron in simulated household and yard conditions against the cat flea *Ctenocephalides felis* (Bouché) (Siphonaptera: Pulicidae) **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 619-621, 1993.

HALL, R. D.; FOEHSE, M. C. Laboratory and field tests of CGA-72662 for control of house fly and face fly in poultry, bovine or swine manure. **Journal of Economic Entomology**, v. 73, n. 1, p. 564-569, 1980.

HINK, W. F.; DROUGHT, D. C. BARNETT, S. Effect of an experimental systemic compound, CGA-184699, on life stages of the cat flea. **Journal of Medical Entomology**, v. 28, n. 3, p. 424-427, 1991.

HINKLE, N. C.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S. Residual effectiveness of Insect Growth Regulators applied to carpet for control of cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) larvae. **Journal of Economic Entomology**, v. 88, n. 4, p. 903-906, 1995.

HOFFMANN, K. H.; LORENZ, M. W. Recent advances in hormones in pest control. **Phytoparasitica**, v. 26, n. 4, p. 1-8, 1998.

JAENSON, T.G.; GARBOUI, S.; PALSSON, K. Repellency of oils of lemon eucalyptus, geranium, and lavender and the mosquito repellent Mygg: A natural to *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field . **Journal of Medical Entomology**, v. 43, n. 1, p. 731 – 736, 2006.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, n. 1, p. 3-14, 2004.

KEMP, D. H.; DUNSTER, S.; BINNINGTON, K. C. BIRD, P. E.; NOLAN, J. Mode of action of CGA 157419 on the cattle tick *Boophilus microplus*. **Bulletin de la Societe de France Parasitol**, v. 8, n.1, p. 1048, 1990.

KRAMER, K. J.; DZIADIK-TUNER, C.; KOGA, D. **Chitin metabolism sect physiology, biochemistry and pharmacology**, 3 ed. New York: Pergamon, 1985. p. 75 – 115.

KRYGER, U.; DESCHODT C.; SCHOLTZ, C. H. Effects of fluazuron and ivermectin treatment of cattle on the structure of dung beetle communities. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 105, n.1, p. 649–656, 2005.

KRYGER, U.; DESCHODT, C.; DAVIS, A. L. V.; SCHOLTZ, C. H. Effects of cattle treatment with a fluazuron pour-on on survival and reproduction of the dung beetle species *Onthophagus gazella* (Fabricius). **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 1, p. 380-384, 2007.

LABRUNA, M. B. Carrapatos. **A Hora Veterinária**, v. 23, n. 137, p. 63-65, 2004.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapatos em cães no Brasil. **Revista Clínica Veterinária** , v. 4, n. 30, p. 24-32, 2001.

MACDONALD, J. M. Flea control: an overview of treatment concepts for North America. **Veterinary Dermatology**, v. 6 n. 3, p.121-130, 1995.

MARRA, A. O. M.; SILVA, C. R.; MOURA, E. S.; ALVES, C. J. T. Determinação da Eficácia Carrapaticida da Cipermetrina + Triclorfon no Tratamento de Bovinos Naturalmente Infestados pelo Carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). **A Hora Veterinária**, v. 19, n. 109, p.32-34, 1999.

MARTINS, J. R. Manejo da resistência aos carrapaticidas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 1, p. 114-115, 2004.

MASON, I.; CARR, B. R.; RAINEY, W. E. The Action of Phorbol Ester on Steroidogenesis in Cultured Human Fetal Adrenal Cells. **Endocrine Research**, v. 12, n. 4, p. 447-467, 1984.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas, comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**, v. 23, n. 37, p. 15-23, 2004.

MATTOS Jr., D. G.; BALTHAZAR, L. M. C. Ectoparasiticidas comuns de uso em medicina veterinária. **Pubvet**, v. 2, n.12, 414, 2008.

MBISE, T. J. Control of rodent fleas using systemic insecticides. **Insecticide Science Applicate**, v. 15, n. 1, p. 235-239, 1994.

MENDONÇA, R. P. **Atividade endectocida, segurança clínica e farmacocinética de resíduos de uma nova alternativa terapêutica (Fluazuron + Abamectina) em bovinos**. 2010. 167 f. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

MELO, R. M. P. S.; FERNANDES, J. I.; CORREIA, T. R.; RIBEIRO, F. A.; CRUZ, V. P.; SCOTT, F. B. Eficácia do fluazuron em coelhos no controle de *Rhipicephalus sanguineus*. Anais do 14º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e 2º Simpósio Latino-americano de Rickettsioses, Ribeirão Preto, São Paulo, p. 195, 2006.

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

MERZENDORFER, H.; ZIMMICH, L. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. **The Journal of Experimental Biology**, v. 206, n.1, p. 4393-4412, 2003.

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.

MITSUI, T. Chitin synthesis inhibitors: Benzoylarylurea insecticides. **Japan Pesticide Information**, v. 47, n.1, p. 3-7, 1985.

MULDER, R.; GIJSWIJT, M. J. The laboratory evaluation of two promising new insecticides which interfere with cuticle deposition. **Pesticide Science**, v. 4, n. 5, p. 737–745, 1973.

MULLA, M. S.; AXELROD, H. Evaluation of Larvadex, a new IGR for the control of pestiferous flies on poultry ranches. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n. 1, p. 520-524, 1983.

NEITZ, W.O. D.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. laboratory Investigations on the life cycle of Karoo paralysis ticks (*Ixodes rubicundus* Neumman, 1904). **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v. 38, n. 3, p. 215 – 224, 1971.

NISBET, J.; HUNTLEY, F. J. Progress and opportunities in the development of vaccines against mites, fleas and myiasis-causing flies of veterinary importance. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 1, p. 165 – 172, 2006.

O'BRIEN, D. J.; FAHEY, G. Control of fly strike by means of a pour-on formulation of cyromazine. **Veterinary Record**, v. 129, n. 1, p. 351-353, 1991.

O'DWYER, L. H.; MASSARD, C. L.; SOUZA, J. C. P. *Hepatozoon canis* infection associated with dog ticks of rural areas of Rio de Janeiro State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 94, p. 143-150, 2001.

OLIVEIRA, B. R.; GOMES, A. G.; SANTOS, R. S. Controle do carrapato *Boophilus microplus* com diflubenzuron 3%, em fazenda de gado de corte no município de Pirenópolis, Goiás. **A Hora Veterinária**, v. 28, n. 168, p. 55 – 56, 2009.

OLIVEIRA, P. R. **Avaliação dos efeitos do fipronil (ingrediente ativo do FRONTLINE®) nos ovários de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e no sangue periférico de roedores**. 2010. 178 p. Tese (Doutorado) Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Rio Claro.

OSBRINK, W. L. A.; RUST, M. K. Cat flea (Siphonaptera: Pulicidae): factors influencing host-finding behavior in the laboratory. **Annals of Entomological Society of America**, v. 78, n. 1, p. 29-34, 1985.

OTRANTO, D.; LIA, R.P.; CANTACESSI, C.; GALLI, G.; PARADIES, P.; MALLIA, E.; CAPELLI, G. Efficacy of a combination of imidacloprid 10%/permethrin 50% versus fipronil 10%/(s)-methoprene 12% against ticks in naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 130, n. 1, p. 293 – 304, 2005.

OTRANTO, D.; WALL, R. New strategies for the control of arthropod vectors of disease in dogs and cats. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 22, n. 1, p. 291-302, 2008.

PALUDO, G. R.; DELL'PORTO, A.; TRINDADE, A. R. C.; MC MANUS, C.; FRIEDMAN, H. *Hepatozoon* spp.: report of some cases in dogs in Brasília, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.118, n. 1, p.243-248, 2003.

PAZ, G. F.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) no canil da Escola de Veterinária da UFMG, Belo

Horizonte, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 41-44, 2008.

PEREIRA, M.C. ***Boophilus microplus*: revisão taxonômica e morfológica**. Rio de Janeiro: Químico, 1982. 105 p.

PEREIRA, C. P. M.; OLIVEIRA, P. R.; FURQUIM, K. C. S.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Fipronil-induced cell death in salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) semi-engorged females. **Experimental Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 481-489, 2011.

PRATISSOLI, D. Ação transovariana de lufenuron (50g/l) sobre adultos de *Spodoptera frugiperda* e seu efeito sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum*. **Ciências Agrotécnicas**, v. 28, n. 1, p. 9 - 14, 2004.

PRUETT, J. H. Immunological control of arthropod ectoparasites: a review. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 25-32, 1999.

RETNAKARAN, A.; GRANETT, J.; ENNIS, T. Insect growth regulators. *In*: KERKUT, G. A.; GILBERT, L. I. **Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology**. 12 ed. New York: Pergamon, 1985. 529-601 p.

RETNAKARAN, A.; WRIGHT, J. E. Control of insect pests with benzoylphenyl ureas, *In*: WRIGHT, J. E.; RETNAKARAN, A. **Chitin and benzoylphenyl ureas**. [eds.]. Boston. 1987. 282-205 p.

ROMANO, A.; MARTINEZ, S. B.; ROMANO, P. L.; MORENO-REY, M. C.; SBORDI, L. C. Evaluación de la acción ixodídica de una formulación spot-on de flumetrina al 1% para el control del *Rhipicephalus sanguineus*. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.79, n.4, p.285-292, 1998.

SANT'ANNA, F.B.; TORRES, F. O.; MARTINS, I. V. F.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; FREITAS, I. F.; SCOTT, F. B.; GRISI, L. Eficácia do piretróide sintético alfametrina no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães. **Parasitología Latino Americana**, v. 57, n. 1, p. 30-33, 2002.

SANTOS-SILVA, M. M.; FILIPE, A. R. Ciclos biológicos de ixodídeos (Ixodoidea: Ixodidae) em condições de laboratório. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.93, n.527, p.143-148, 1998.

SARTOR, A. A. **Aspectos da biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acarina: Ixodidae) em condições de laboratório**. 1994. 80 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária) UFRRJ, Seropédica.

SCHMID, H. R.; CUARÓN, C.; JUNQUERA, P. Strategic control of *Amblyomma cajennense* populations with fluazuron. 17<sup>th</sup> Int. Conference of the WAAVP, Copenhagen, 15-19, August 1999.

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.

SHIPSTONE, M. A.; MASON, K. V. The use of fipronil, development inhibitors as an oral medication for control of the fleas *Ctenocephalides felis*, *C. canis*, in the dog and cat. **Veterinary Dermatology**, v. 6, n. 1, p. 131-137, 1995.

SMITH, R. D.; PAUL, A. J.; KITRON, U. D.; PHILIP, J. R.; BARNETT, S.; PIEL, M. J.; NESS, R.W.; EVILSIZER, M. Impact of an orally administered insect growth regulator (lufenuron) on flea infestations of dogs in a controlled simulated home environment. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 1, p. 502-504, 1996.

SLOWIK, T. J.; LANE, R. S.; DAVIS, R. M. Field trial systemically delivered arthropod development inhibitor (fluazuron) used to control woodrat fleas (Siphonaptera: Ceratophyllidae) and ticks (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 75-84, 2001.

SOUZA, G. S. **Avaliação da atividade do novaluron, sobre *Boophilus microplus* (Canestrini) em bovinos de corte naturalmente infestados**. 2010. 44 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Católica de Goiás – Universidade Estadual de Goiás - Centro Universitário de Anápolis, Goiás.

SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. Chitin metabolism: a target for drugs against parasites. **Parasitology Research**, v.76, p. 283 – 288, 1990.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 897 p.

TAYLOR, M. Recent developments in ectoparasitocides. **The Veterinary Journal**, v. 161, n. 1, p.253-268, 2001.

TATCHELL, R. J.; MOORHOUSE, D. E. The feeding process of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini). **Parasitology**, v. 58, n. 1, p. 441-459, 1970.

TECHNICAL MANUAL ACATAK. Pour-on Tick Development Inhibitor. [S.l.: s.n., 199-]

TUNAZ, H.; UYGUN, N. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 28, n.1, p. 377-387, 2004.

VAN ECK, W. H. Mode of action of two benzoylphenyl ureas as inhibitors of chitin synthesis in insects. **Insect Biochemistry**, v. 9, n. 4, p. 295–300, 1979.

VICENTE, C. L. **Farmacología vegetal**. 3 ed. Madrid: Ediciones Agrotecnicas, 2004. 277 p.

VICENT-JOHNSON, N.; MACINTIRE, D.K.; BANETH, G. Canine hepatozoonosis: pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Compendium on Continuing Education for The Practicing Veterinarian**, v.19, p.51-65, 1997.

WALL, R. Ectoparasites: Future challenges in a changing world. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 1, p. 62–74, 2007.

WEAVER, J. E.; BEGLEY, J.W.; KONDO, V. Laboratory evaluation of Alsystem against the German cockroach (Orthoptera: Blattellidae): effects on immature stages and adult sterility. **Journal of Economic Entomology**, v.77, n.1, p. 313-317, 1984.

WILLADSEN, P. The molecular revolution in the development of vaccines against ectoparasitas. **Veterinary Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 353-367, 2001.

WILLADSEN, P. Vaccination against ectoparasitas. **Parasitology**, v. 133, n. 1, p. 9-25, 2006.

WILLIAMS, C. M. Third generation pesticides. **Scientific American**, New York, v. 217, n. 1, p. 13-17, July 1967.

WILSON, T. G. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: how these compounds kill insects. **Journal of Insect Physiology**, v. 50, n. 1, p. 111-121, 2004.

WOOD, A. **Compendium of Pesticide Common Names**. Londres, 2008.

ZENNER, L.; DREVON-GAILLOT, E.; MARCY-L'ÉTOILE. Combate químico e controle dos carrapatos em cães e gatos. **A Hora Veterinária**, Ano 23, n. 137, p. 63-65, 2004.