

ATIVIDADE *IN VITRO* DE ALGUNS PIRETRÓIDES SINTÉTICOS NO CARRAPATO *AMBLIYOMMA CAJENNENSE* (FABRICIUS, 1787)¹

VÂNIA RITA ELIAS P. BITTENCOURT², CARLOS LUIZ MASSARD³ e LAERTE GRISI⁴

RESUMO - Avalia-se a resposta do carrapato *Amblyomma cajennense*, (Fabricius, 1787), em testes *in vitro*, ao tratamento com quatro carrapaticidas piretróides sintéticos: alfa-metrina, deltametrina, flumetrina e fenvalerato. A metodologia aplicada foi a de imersão dos diferentes estádios evolutivos (larva não alimentada e alimentada, ninfa não alimentada e alimentada, adultos não alimentados e fêmeas alimentadas) nas soluções carrapaticidas, e posteriormente foi realizada a análise de regressão com obtenção da concentração de inibição (CI) 50 e 90. Foi observado que os estádios alimentados (larvas e ninfas) são menos susceptíveis que os respectivos estádios não alimentados, bem como em relação a machos e fêmeas não alimentados. Constatou-se, também, que a CI 50 dos produtos testados para o *A. cajennense* é mais elevada que a do *Boophilus microplus* em face dos mesmos produtos, em testes *in vitro*.

Termos para indexação: carrapaticida, alfa-metrina, deltametrina, flumetrina, fenvalerato, imersão.

IN VITRO EVALUATION OF SOME PYRETHROID ACARICIDES AGAINST *AMBLIYOMMA CAJENNENSE* (FABRICIUS, 1787)

ABSTRACT - The synthetic pyrethroids alphamethrin, deltamethrin, flumethrin and fenvalerate were evaluated *in vitro* against the horse tick *Amblyomma cajennense*. The methodology used included the immersion of different stages of the tick (nonengorged and engorged larvae, nonengorged and engorged nymphs, nonengorged and engorged adults) in different concentration of the pyrethroids. Regression analyses and determination of inhibition concentration (CI) 50 and 90 were performed. Nonengorged stages were more susceptible than the respective engorged stages. *Amblyomma cajennense* was found to be less susceptible to the pyrethroids than the cattle tick *Boophilus microplus*, *in vitro*.

Index terms: synthetic pyrethroids, alphamethrin, deltamethrin, flumethrin, fenvalerate, immersion.

INTRODUÇÃO

O *Amblyomma cajennense* é um carrapato considerado típico do continente americano, ocorrendo na região sudeste do Brasil uma elevada incidência desta espécie em eqüídeos, tendo sido citado como parasito freqüente de bovinos no estado do Rio de Janeiro (Serra Freire 1982a), e na zona metalúrgica do estado de Minas Gerais (Moreno 1984). Serra Freire (1982b) concluiu que os três estádios evolutivos estão presentes em áreas de pastagens do Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro durante todo o ano, com ocorrência de picos bem definidos de predominância de cada estádio.

Observações de campo têm mostrado que níveis de concentrações empregados de alguns piretróides para o controle de *Boophilus microplus*, não têm resultado em um controle eficiente de *A. cajennense*.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar os níveis de eficácia de alguns carrapaticidas piretróides disponíveis no mercado no Brasil, com relação aos diferentes estádios do *A. cajennense*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os carrapatos usados nestes testes eram oriundos de uma colônia de *A. cajennense* mantida nos laboratórios da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, município de Itaguaí, RJ.

Os piretróides utilizados no experimento foram a alfa-metrina, deltametrina, flumetrina, e fenvalerato, adquiridos no comércio e observando-se o prazo de validade estipulado pelo fabricante.

Os testes com fêmeas alimentadas foram baseados nos trabalhos de Oba et al. (1976), Drummond et al. (1971a e b), Drummond (1981) e Stendel (1985).

A eficiência reprodutiva e a percentagem de controle foi calculada usando-se as seguintes fórmulas:

$$\text{Eficiência reprodutiva (ER)} = \frac{\text{Peso total ovos (g)}}{\text{Peso total fêmeas alimentadas (g)}} \times \text{eclosão} \times 20.000$$

$$\text{Percentagem de controle} = \frac{\text{ER (testemunha)} - \text{ER (tratado)}}{\text{ER (testemunha)}} \times 100$$

¹ Aceito para publicação em 8 de fevereiro de 1988.

² Méd. - Vet., M.Sc., Dep. de Biol. Animal, UFRRJ, CEP 23851 Seropédica, RJ. Bolsista da CAPES.

³ Méd. - Vet., D.Sc., Prof. - Adj., Dep. de Biol. Animal, UFRRJ.

⁴ Méd. - Vet., Ph.D., Prof.-Adj., Dep. de Biol. Animal, UFRRJ.

A percentagem de eclosão dos ovos nos testes com fêmeas alimentadas foi estimada de forma subjetiva, com o auxílio de um microscópio estereoscópico; para tal, foram estipulados seis estágios de eclosão: 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100%.

Os testes com larvas não alimentadas e os outros estádios evolutivos foram baseados nos trabalhos de Grillo et al. (1969), modificada por Patarroyo (1978); a mortalidade foi expressa em percentual após a correção com base na mortalidade do grupo controle, conforme Abbott (1925). Foram realizadas três repetições para cada concentração testada para todos os estádios evolutivos.

A verificação da mortalidade para larvas, ninfas e adultos não alimentados foi feita 24 horas após o tratamento, e a verificação para larvas e ninfas alimentadas, após 20 dias, após a ecclise.

A análise da linha de regressão e os cálculos da concentração de inibição (CI) 50 e 90 foram efetuados de acordo com o proposto por Finney (1964, 1971) e Litchfield Junior & Wilcoxon (1949), sendo também calculadas as equações das linhas de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os testes com larvas não alimentadas são comumente utilizados para verificar a ocorrência de re-

sistência no campo. Os resultados destes testes mostraram que as larvas não alimentadas são sensíveis a todos os produtos utilizados. Nestes testes (Tabela 1), para a deltametrina observamos uma CI 50 de 2,2 ppm e a CI 90 de 6,2 ppm (Fig. 1). Massard et al. (1982) relataram que as larvas não alimentadas de *Boophilus microplus* apresentaram mortalidade em torno de 100%, quando utilizaram a deltametrina a 5 ppm. Para a alfametrina e o fenvalerato, foi evidenciada menor sensibilidade, em comparação à encontrada para a deltametrina. A análise de regressão evidenciou uma CI 50 de 2,4 ppm e 23,0 ppm; e a CI 90 de 7,5 ppm e 80,0 ppm, para a alfametrina e o fenvalerato, respectivamente (Fig. 2 e 3). Os mesmos testes em relação à flumetrina forneceram uma CI 50 de 0,85 ppm e uma CI 90 de 2,7 ppm (Fig. 4). Portanto, as larvas não alimentadas de *A. cajennense* apresentaram maior sensibilidade à flumetrina do que aos outros piretróides testados.

Os resultados obtidos nos testes com larvas alimentadas mostraram concentrações mais elevadas do que em larvas não alimentadas, para obter-se 100%

TABELA 1. Percentagem de mortalidade dos estádios evolutivos de *Amblyomma cajennense* frente a piretróides em testes *in vitro*.

Concentração em ppm	Larva não alimentada				Larva alimentada				Ninfa não alimentada				Ninfa alimentada				Machos e fêmeas não alimentados			
	DELTA	ALFA	FLU	FEN	DELTA	ALFA	FLU	FEN	DELTA	ALFA	FLU	FEN	DELTA	ALFA	FLU	FEN	DELTA	ALFA	FLU	FEN
0,25	0	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0,5	6,6	20,0	36,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,0	16,6	30,0	66,6	-	13,3	-	0	-	6,6	-	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,0	20,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5	-	43,3	76,6	0	23,3	16,6	26,6	-	23,3	26,6	23,3	-	-	-	0	-	-	-	0	-
3,0	53,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4,0	66,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5,0	76,6	63,3	96,6	13,3	53,3	40,0	53,3	-	53,3	46,6	56,6	-	0	10,0	20,0	-	16,6	13,3	26,6	-
7,5	93,3	76,6	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10,0	-	93,3	100,0	23,3	66,6	56,6	60,0	-	63,3	63,3	63,3	-	13,3	23,3	46,6	-	30,0	26,6	53,3	-
12,5	-	100,0	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15,0	-	-	-	-	73,3	73,3	83,3	-	73,3	70,0	73,3	-	30,0	-	56,6	-	43,3	50,0	63,3	-
20,0	-	-	-	-	86,6	80,0	100,0	-	93,3	83,3	90,0	-	53,3	43,3	63,3	-	66,6	50,0	83,3	-
25,0	-	-	-	36,6	-	-	-	26,6	-	-	-	33,3	-	-	-	-	-	-	-	-
30,0	-	-	-	-	96,6	93,3	100,0	-	100,0	90,0	100,0	-	73,3	53,3	93,3	-	86,0	56,6	96,6	-
40,0	-	-	-	-	-	100,0	-	-	-	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50,0	-	-	-	60,0	-	-	-	36,6	-	-	-	40,0	83,3	76,6	96,6	0	100,0	73,3	100,0	0
70,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96,6	80,0	-	-	-	100,0	90,0	-	-
75,0	-	-	-	-	83,3	-	-	40,0	-	-	-	46,6	-	-	-	-	-	-	-	-
100,0	-	-	-	90,0	-	-	-	53,3	-	-	-	63,3	-	90,0	-	20,0	-	96,6	-	23,3
125,0	-	-	-	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
150,0	-	-	-	-	-	-	-	73,3	-	-	-	80,0	-	-	-	26,6	-	-	-	33,3
200,0	-	-	-	-	-	-	-	93,3	-	-	-	96,6	-	-	-	43,3	-	-	-	50,0
250,0	-	-	-	-	-	-	-	100,0	-	-	-	100,0	-	-	-	-	-	-	-	-
300,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	66,6
400,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	76,6
500,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	96,0

DELTA = Deltametrina.

ALFA = Alfametrina.

FLU = Flumetrina.

FEN = Fenvalerato.

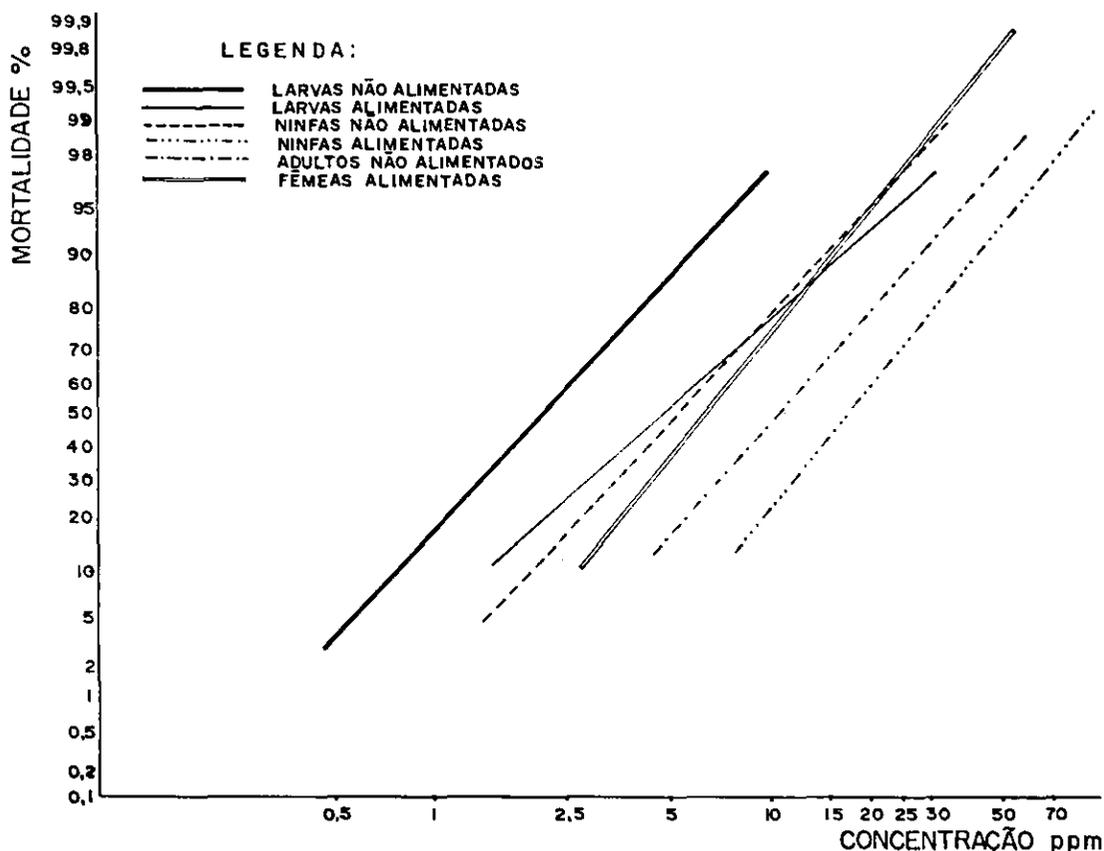


FIG. 1. Linha de regressão probito da eficiência da deltametrina em testes de imersão com os diferentes estádios evolutivos do *Amblyomma cajennense*.

de mortalidade (Tabela 1). Segundo Oba & Dell'Porto (1982), a penetração do inseticida através da cutícula é variável de acordo com a espessura da camada de lipídeos da pele, e da fase de desenvolvimento de cada artrópode, o que pode explicar estas observações. Após a análise das linhas de regressão, observamos os seguintes resultados com relação a CI 50 e CI 90: 4,8 ppm e 17,0 ppm para deltametrina; 5,2 ppm e 13,0 ppm para flumetrina; 7,5 ppm e 21,0 ppm para alfametrina e 68,0 ppm e 185,0 ppm para fenvalerato (Fig. 1 a 4).

Nos testes realizados com ninfas não alimentadas foi evidenciada uma sensibilidade semelhante à obtida com larvas alimentadas (Tabela 1). Com base nas linhas de regressão, a CI 50 e a CI 90 encontradas foram 5,4 ppm e 15,0 ppm para deltametrina; 5,4 ppm e 17,5 ppm para flumetrina; 6,0 ppm e 25,0 ppm para alfametrina; 51,0 ppm e 165,0 ppm para fenvalerato (Fig. 1 a 4).

O estágio de ninfas alimentadas foi o mais resistente ao tratamento com os piretróides testados, sendo que para obter taxas de mortalidade igual ou superior a 90%, foram necessárias as seguintes concentrações (Tabela 1): 70,0 ppm para deltametrina; 30,0 ppm para flumetrina; 100,0 ppm para alfametrina; 500,0 ppm para fenvalerato. A análise de regressão dos quatro produtos identificou a reta que possibilitou o cálculo das seguintes CI 50 e CI 90: 18,0 ppm e 44,0 ppm para deltametrina; 11,5 ppm e 25,0 ppm para flumetrina; 25,0 ppm e 75,0 ppm para alfametrina; 230,0 ppm e 475,0 ppm para fenvalerato (Fig. 1 a 4).

Machos e fêmeas não alimentados de *A. cajennense* mostraram sensibilidade ligeiramente superior à das ninfas alimentadas (Tabela 1). A análise das linhas de regressão mostrou as seguintes CI 50 e CI 90: 11,0 ppm e 29,0 ppm para deltametrina; 8,7 ppm e 20,0 ppm para flumetrina; 21,0 ppm e 58,0

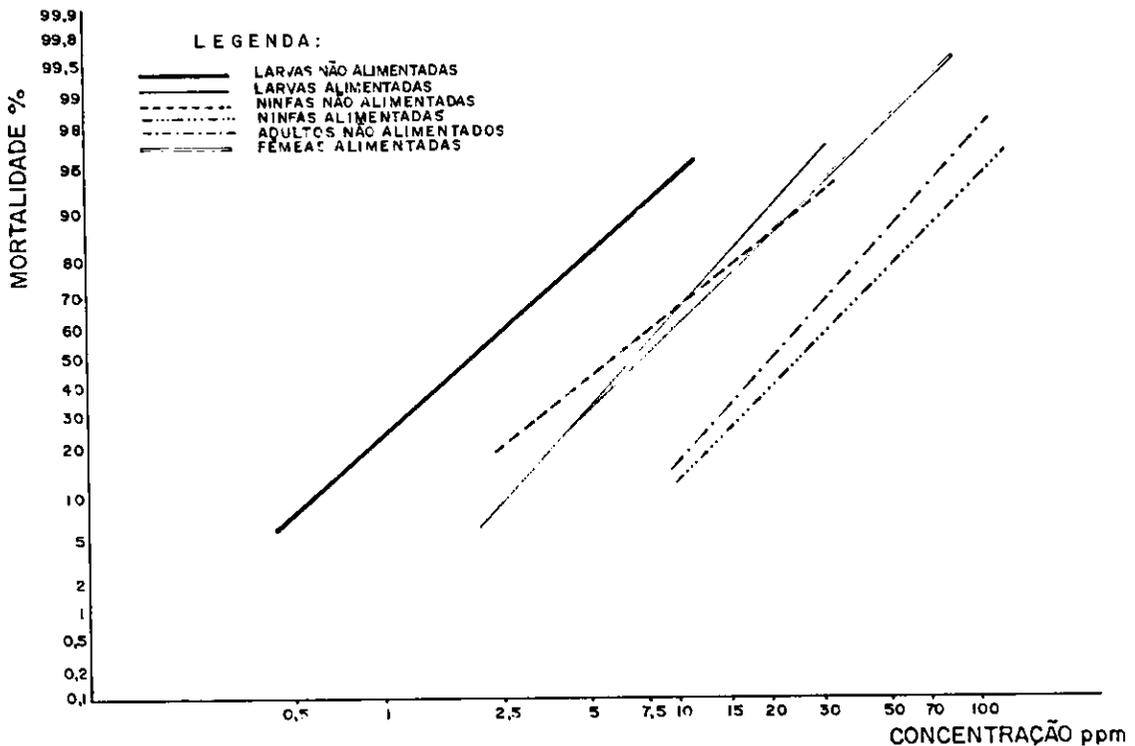


FIG. 2. Linha de regressão probito da eficiência da alfa-metrina em testes de imersão com os diferentes estágios evolutivos do *Amblyomma cajennense*.

ppm para alfa-metrina; 200,0 ppm e 450,0 ppm para fenvalerato (Fig. 1 a 4).

Os testes *in vitro* realizados com fêmeas alimentadas de *A. cajennense* mostraram a necessidade dos seguintes níveis de concentração para atingir 100% de eficácia: deltametrina 50 ppm; flumetrina 20 ppm; alfa-metrina 70 ppm. Em concentrações de 400 ppm e 500 ppm, o fenvalerato atingiu uma eficácia de 92,27% e 98,96%, respectivamente (Tabela 2). A análise das linhas de regressão para os quatro compostos fornece as seguintes CI 50 e CI 90: 6,25 ppm e 15,5 ppm para deltametrina; 2,5 ppm e 7,2 ppm para flumetrina; 7,5 ppm e 24,0 ppm para alfa-metrina; 155,0 ppm e 320,0 ppm para fenvalerato (Fig. 1 a 4).

Comparando-se os dados no presente trabalho, com relação à sensibilidade *in vitro* de fêmeas alimentadas de *A. cajennense*, com os existentes na literatura em relação a *Boophilus microplus*, podemos observar ser a segunda espécie mais sensível à deltametrina do que a primeira, pois Massard et al. (1982) demonstraram eficácia de 100%, na concentração de 25 ppm.

As equações das linhas de regressão para todos os estágios evolutivos frente aos quatro piretróides avaliados são apresentados na Tabela 3.

À medida que avança o estágio evolutivo do *A. cajennense*, diminui a sensibilidade, sendo que os estágios de larvas alimentadas e ninfas alimentadas foram sempre menos susceptíveis aos tratamentos, que os respectivos estágios não alimentados.

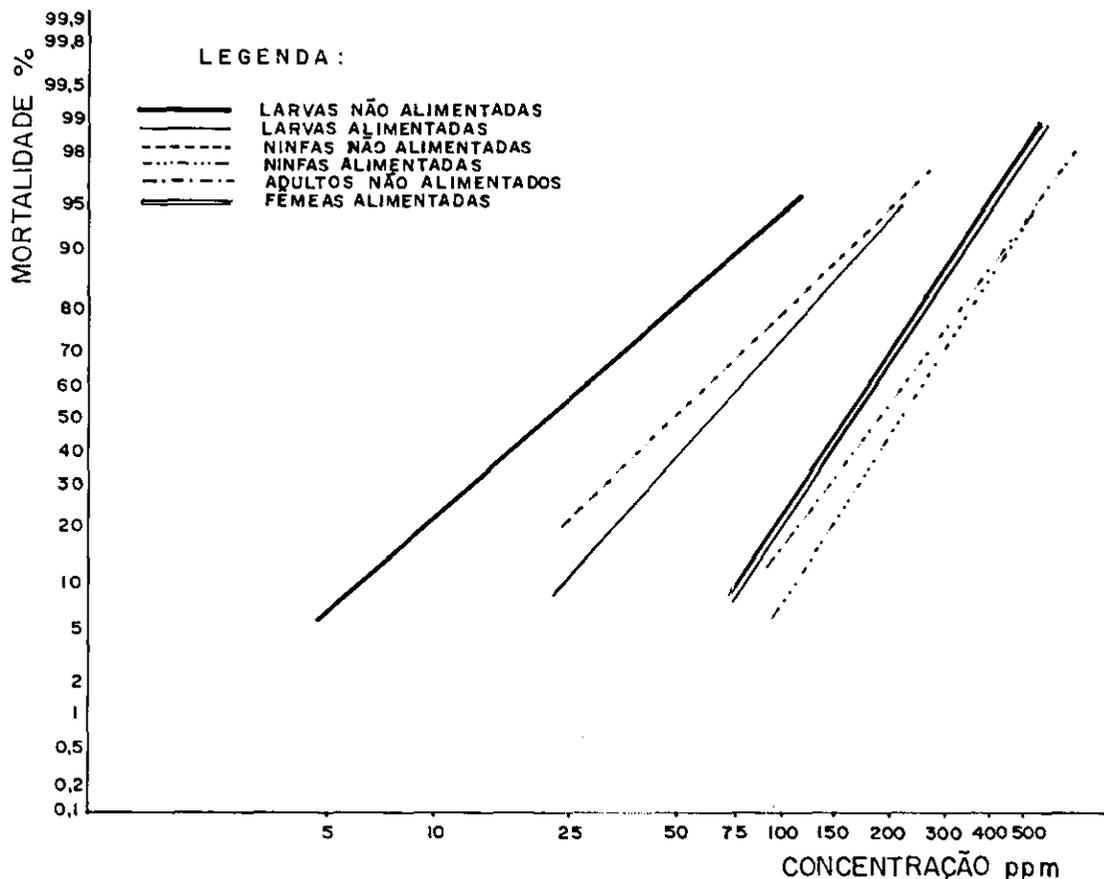


FIG. 3. Linha de regressão probito da eficiência do fenvalerato em testes de imersão com os diferentes estádios evolutivos do *Amblyomma cajennense*.

TABELA 2. Atividade *in vitro* de piretróides em fêmeas alimentadas de *Amblyomma cajennense*.

Concentração em ppm	Deltametrina			Alfametrina			Flumetrina			Fenvalerato		
	Ecloração (%)	Inibição Postura (%)	Eficácia (%)	Ecloração (%)	Inibição postura (%)	Eficácia (%)	Ecloração (%)	Inibição postura (%)	Eficácia (%)	Ecloração (%)	Inibição postura (%)	Eficácia (%)
0,50	-	-	-	-	-	-	100,0	0	0	-	-	-
1,00	-	-	-	100,0	0	0	83,3	4,56	20,45	-	-	-
2,50	-	-	-	83,3	0	20,23	66,6	28,36	51,14	-	-	-
3,12	100,0	13,20	13,61	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5,00	76,6	25,00	42,55	66,6	22,71	36,57	41,6	44,23	75,66	-	-	-
6,25	73,3	42,35	57,81	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10,00	58,3	52,84	72,61	58,3	41,86	65,44	41,6	70,64	86,62	-	-	-
12,50	41,6	69,79	87,50	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15,00	33,3	77,91	92,67	-	-	-	8,3	87,00	98,47	-	-	-
20,00	-	-	-	41,6	60,36	83,27	0	94,96	100,0	-	-	-
25,00	21,6	83,77	96,51	-	-	-	-	-	-	100,0	0	0
30,00	-	-	-	25,0	77,19	94,31	0	100,0	100,0	-	-	-
40,00	-	-	-	-	-	-	0	100,0	100,0	-	-	-
50,00	0	92,28	100,0	25,0	86,44	96,65	-	-	-	100,0	0	0
70,00	0	95,23	100,0	0	97,76	100,0	-	-	-	-	-	-
75,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100,0	13,95	14,18
100,00	-	-	-	0	100,0	100,0	-	-	-	100,0	18,42	18,73
150,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75,0	43,90	58,05
200,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	58,3	50,92	71,50
300,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50,0	60,54	80,33
400,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	33,3	74,65	92,27
500,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16,6	90,60	98,96

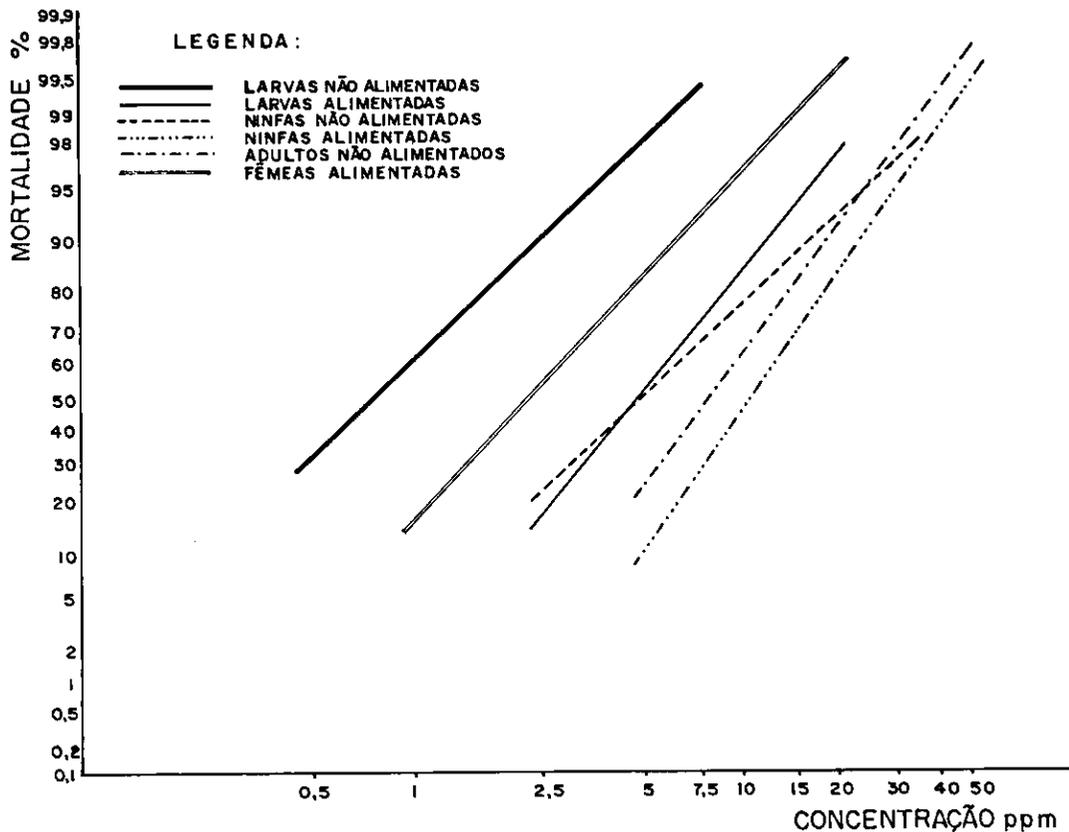


FIG. 4. Linha de regressão probito da eficiência da flumetrina em testes de imersão com os diferentes estádios evolutivos do *Amblyomma cajennense*.

TABELA 3. Equações* das linhas de regressão dos compostos nos diferentes estádios evolutivos do *Amblyomma cajennense*.

Estádios evolutivos	Piretróides			
	Deltametrina	Flumetrina	Alfametrina	Fenvalerato
Larvas não alimentadas	$y = 3,4 + 12,8x$	$y = 42,1 + 6,1x$	$y = 16,9 + 7,4x$	$y = 12,1 + 0,8x$
Larvas alimentadas	$y = 26,4 + 2,7x$	$y = 21,9 + 3,2x$	$y = 30,1 + 2x$	$y = 18,2 + 0,3x$
Ninfas não alimentadas	$y = 22,9 + 3x$	$y = 21,5 + 3,1x$	$y = 42,5 + 1,4x$	$y = 26,3 + 0,3x$
Ninfas alimentadas	$y = 9 + 1,4x$	$y = 19,8 + 1,9x$	$y = 20,8 + 0,8x$	$y = 1,3 + 0,2x$
Adultos não alimentados	$y = 26,4 + 1,3x$	$y = 24 + 1,0x$	$y = 23,6 + 0,8x$	$y = 1,4 + 1,9x$
Fêmeas alimentadas	$y = 54,6 + 0,9x$	$y = 42,2 + 2,1x$	$y = 39,2 + 0,8x$	$y = 3,4 + 0,2x$

* Sendo que y igual a percentual de mortalidade e x igual a concentração em ppm.

CONCLUSÕES

1. A deltametrina, a flumetrina, a alfametrina e o fenvalerato são considerados eficazes frente aos di-

ferentes estádios evolutivos do *A. cajennense* em testes *in vitro*, utilizando-se concentrações diferentes de acordo com cada composto.

2. À medida que os estádios evolutivos se desen-

volem, as concentrações requeridas para seu controle também se elevam. A ordem crescente de sensibilidade dos estádios evolutivos é: ninfas alimentadas, adultos não alimentados, fêmeas alimentadas, ninfas não alimentadas, larvas alimentadas e larvas não alimentadas.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT, W.S. A method for computing the effectiveness of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, **18**:265-7, 1925.
- DRUMMOND, R.O. Susceptibility of the Cayenne tick to acaricides. *J. Econ. Entomol.*, **74**:470-2, 1981.
- DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J.; WHETSTONE, T.M.; ERNST, S.E. Laboratory testing of insecticides for control of the winter tick. *J. Econ. Entomol.*, **64**:686-8, 1971a.
- DRUMMOND, R.O.; GLADNEY, W.J. WHETSTONE, T.M.; ERNST, S.E. Testing of insecticides against the tropical horse tick in the laboratory. *J. Econ. Entomol.*, **64**:1735-8, 1971b.
- FINNEY, D.J. **Probit analysis**. 3 ed. s.l., Cambridge University Press, 1971. 333p.
- FINNEY, D.J. **Statistical method in biological assay**. 2. ed. London, Charles Eriffin, 1964. 668p.
- GRILLO, J.M.; GUTIERREZ, R.O.; PEREZ, A.A. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapata. Evolución de sensibilidad. *R. Inv. Agrop. Serie 4 Patol. Anim.*, **6**(4):135-8, 1969.
- LITCHFIELD JUNIOR, J.T. & WILCOXON, F. Simple method of setting dose-effect curve. *J. Pharm. Exp. Ther.*, **95**:99-113, 1949.
- MASSARD, C.L.; MOYA BORJA, G.E.; MASSARD, C.A. Efeito da decametrina sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) em testes de campo, estábulo e *in vitro*. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PARASITOLOGIA, 7, Porto Alegre, 1982. **Anais . . .** Porto Alegre, s.ed., 1982.
- MORENO, G.C. **Incidência de ixodídeos em bovinos de leite e prevalência em animais domésticos da região metalúrgica de Minas Gerais**. Belo Horizonte, MG. UFMG. 1984. 105p. Tese Mestrado.
- OBA, M.S.P. & DELL'PORTO, A. Piretróides: a química moderna a serviço da produtividade. **Agroquím. Ci. Ba-Geigy**, **18**:20-6, 1982.
- OBA, M.S.P.; PEREIRA, M.C.; ALMEIDA M.A.C. Ensaio *in vitro* pelos critérios de OBA (1972) e de DRUMMOND (1973) de chlorpyrifos sobre linhagens supostamente resistentes de *Boophilus microplus* proveniente de Taubaté, São Paulo. **R. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. São Paulo**, **13**(2):409-20, 1976.
- PATARROYO, J.H. **Susceptibilidade *in vitro* de amos-tras de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) do sul de Minas Gerais, Brasil, a alguns carrapaticidas organofosforados**. Belo Horizonte, UFMG, 1978. 64p. Tese Mestrado.
- SERRA FREIRE, N.M. Ixodídeos parasitas de bovinos leiteiros na zona fisiográfica no Municípios de Resende, Estado do Rio de Janeiro. **R. bras. Med. Vet.**, **5**(3):18-23, 1982a.
- SERRA FREIRE, N.M. Epidemiologia de *Amblyomma cajennense*. Ocorrência Estacional e comportamento dos estádios não parasitários em pastagens do estado do Rio de Janeiro. **Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de Janeiro**, **5**(2):187-93, 1982b.
- STENDEL, W. Experimental studies on the tickcidal effect of Bayticol Pour On. **Vet. Med. Rev.**, (2):99-111, 1985.