

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**Eficácia e Farmacocinética do Fipronil a 1% “pour on” no
controle de *Dermacentor nitens* em equinos**

Marisa Beatriz da Silva Rocha

2020



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

**EFICÁCIA E FARMACOCINÉTICA DO FIPRONIL A 1% “POUR
ON” NO CONTROLE DE *Dermacentor nitens* EM EQUINOS**

MARISA BEATRIZ DA SILVA ROCHA

Sob a Orientação do Professor
Dr. Fabio Barbour Scott

e Co-orientação da Doutora
Barbara Rauta de Avelar

Dissertação submetida como
requisito parcial para obtenção do grau
de **Mestre em Ciências Veterinárias**,
no Curso de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias.

Seropédica, RJ
Março de 2020

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

R672e Rocha, Marisa Beatriz da Silva, 1983-
EFICÁCIA E FARMACOCINÉTICA DO FIPRONIL A 1% "POUR ON"
NO CONTROLE DE Dermacentor nitens EM EQUINOS / Marisa
Beatriz da Silva Rocha. - Seropédica, 2020.
37 f.

Orientador: Fabio Barbour Scott.
Coorientadora: Barbara Rauta de Avelar.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro, PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS, 2020.

1. controle. 2. carrapato. 3. equino. 4. fipronil.
I. Scott, Fabio Barbour, 1966-, orient. II. Avelar,
Barbara Rauta de, 1987-, coorient. III Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. PROGRAMA DE PÓS
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS. IV. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA Nº 133/2024 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.003760/2024-87

Seropédica-RJ, 26 de janeiro de 2024.

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

MARISA BEATRIZ DA SILVA ROCHA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre(a)** em Ciências, no Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 05/03/2020

(Assinado digitalmente em 26/01/2024 16:47)

FABIO BARBOUR SCOTT
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
DejuPA (12.28.01.00.00.00.55)
Matrícula: 73890

(Assinado digitalmente em 29/01/2024 09:27)

LICIUS DE SÁ FREIRE
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 000.000.367-00

(Assinado digitalmente em 29/01/2024 13:06)

DIEFREY RIBEIRO CAMPOS
ASSINANTE EXTERNO
CPF: 000.000.737-00

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: 133, ano: 2024, tipo: ATA, data de emissão: 26/01/2024 e o código de verificação: 3d0777fafc

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus por estar sempre presente.

A minha família por estar comigo em todos os momentos. Aos meus pais Márcio Alberto Rocha e Lourdes Jesus da Silva Rocha por me apoiarem em todas as minhas escolhas, por serem o meu modelo de companheirismo, profissionalismo e principalmente pelo seu amor incondicional sempre presente em todos os momentos da minha vida. Meus avós por todo amor, em especial minha avó Glória de Jesus da Silva, que quando presente sempre me incentivou a estudar e me mostrou o valor das oportunidades, muitas dessas que a própria, em minha idade, não obteve, mas que fez questão de prover aos filhos e netos. Meus irmãos Márcio Alberto Rocha Filho e Maíra Clara da Silva Rocha pelo companheirismo e amor imensurável. Meus sobrinhos e afilhadas Juno Mendes Rocha, Manuela Pires Rocha, Miguel Pires Rocha e Luíza Medeiros da Silva que preenchem meus dias de alegria com sua presença. Meus primos e tios que completam essa família harmonicamente ao qual eu não poderia excluir ou incluir mais ninguém.

Queria agradecer muito ao meu orientador Fabio Barbour Scott, por me estimular a melhorar e continuar no caminho do conhecimento acadêmico e pessoal. Aos professores Katerina Coumendouros, Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Júlio Israel Fernandes e Yara Peluso Cid, pelo ensino em todos os momentos de convivência. E a minha coorientadora Barbara Rauta de Avelar por me ajudar em todo o meu processo de crescimento desde o princípio do mestrado, inclusive na parte prática de catar carrapatos, sem você não conseguiria.

Um agradecimento em especial a minha colega e amiga Gabriela Ferreira de Oliveira, vulgo Gabi Curral, que me apresentou e me fez ser parte dessa equipe que carinhosamente chamamos de família LQEPV (laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária), por todo conhecimento transmitido durante meu processo, pela sua amizade de longa data e por abrir as portas da sua casa para me alojar. Agradeço também ao seu marido Bruno Gonçalves de Souza que me recebeu de braços abertos por esse período e pela sua amizade.

Aos colegas de mestrado, doutorado e pós doc. Diefrey Ribeiro Campos, Monique Taveira Medeiros, Bruno de Toledo Gomes, Debora Azevedo Borges, Brena Gava Guimarães, Rayane Christine Pereira de Assis, Raphael Comissario Melo, Priscila Cardim de Oliveira por serem corresponsáveis pelo meu crescimento, agregando conhecimento, além da amizade. Em especial minha colega de turma e orientação Andressa Aparecida de Lima Reis, ao qual dividimos conhecimentos e frustrações durante o processo nesses dois anos sempre nos apoiando.

Aos colegas da farmacometria, Thais Paes Ferreira, Gabriela Carmelinda Martins dos Santos, Leandra Oliveira Moreira e Melina Cardilo Campos Alves, pelo auxílio em todos os momentos de dúvida, e todo o trabalho para que a dissertação pudesse ser realizada.

Aos estagiários do LQEPV que me ajudaram em todos os momentos nesses dois anos de mestrado, sem vocês o trabalho teria sido muito duro, sua companhia tornou tudo mais leve. Sem esquecer-se da equipe de funcionários do curral que foi imprescindível para meu experimento e a equipe de manutenção e limpeza do laboratório, em especial nossa querida dona Rogéria Froes da Silva Lima, mais uma etapa da vida se conclui e vocês foram essenciais para que isso acontecesse.

Não menos importante, agradeço aos meus pequenos pôneis Bug, Novelo, Pé de Pano, Brutus, Gambá, Barney, Bandit, Prestígio, Jaguatirica, Ana Bela, Gaúcha, Rapunzel, Canastra e Rosana que me permitiram executar o experimento e me afeiçoar a cada um ao longo do tempo, em especial, ao Novelo, meu cavalo favorito.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, agradeço o financiamento desta pesquisa.

Também agradeço à Fundação de Apoio à Pesquisa Científica e Tecnológica da UFRRJ (FAPUR) pelo apoio e incentivo e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

BIOGRAFIA

Marisa Beatriz da Silva Rocha filha de Márcio Alberto Rocha e Lourdes Jesus da Silva Rocha, nascida no dia 8 de setembro de 1983 na cidade de Nova Iguaçu. Estudou todo o ensino fundamental no Instituto de Educação Santo Antônio. Em 1999 ingressou no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR) no curso Técnico em Agropecuária, obtendo o título de técnica Agropecuária em 2001. Aprovada no vestibular da UFRRJ do ano de 2004 para o segundo semestre no curso de Medicina Veterinária e diplomada no ano de 2009. Durante esse período realizou estágios na área de grandes animais – HVGA. No ano de 2009 trabalhou na área de extensão rural para uma entidade ambientalista ONDA VERDE. Em 2011 ingressou no curso de Engenharia Ambiental e Sanitária na Universidade Estácio de Sá diplomando-se 2016. Em 2013 ocupou o cargo de Diretora de Gestão Ambiental e Resíduos Sólido na Prefeitura Municipal de Mesquita no Rio de Janeiro e posteriormente foi a Subsecretária de Meio Ambiente, deixando o cargo em 2016. Trabalhou como Médica Veterinária de nível Apoio Técnico da FAPUR em 2017 e foi admitida no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias para o nível de Mestrado, sob a orientação do professor Fabio Barbour Scott e coorientação de Barbara Rauta de Avelar.

RESUMO

ROCHA, Marisa Beatriz da Silva. **Eficácia terapêutica e persistente do fipronil “pour on” a 1% em cavalos contra o carrapato *Dermacentor nitens* e farmacocinética associada.** 2020, 46p. Dissertação (mestrado em Ciências Veterinárias) Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

A principal espécie de carrapato a desenvolver prejuízos econômicos e danos sanitários significantes a produção equina no Brasil é *Dermacentor nitens*. Contudo, estudos de controle desse carrapato em modelos experimentais “*in vivo*” com avaliação e construção de curva de concentração plasmática são escassos. Isso reduz as opções de bases químicas disponíveis para um eficiente controle desse parasito. Atualmente as opções empregadas são as cipermetrinas em pasta ou emulsão de banho parasiticida. O fipronil, pertencente a classe dos fenilpirazóis, é amplamente usado na medicina veterinária no controle de ectoparasitos com sua eficácia carrapaticida comprovada em diferentes espécies de carrapatos e hospedeiros. Este estudo teve como objetivo o emprego do fipronil aplicado pela via tópica “pour on” em cavalos da raça pônei brasileiro, na dose de 1mg/kg, no controle do *D. nitens* utilizando-se como critérios de avaliação estudos de eficácia terapêutica e residual, e construção da curva de concentração plasmática por método bioanalítico tanto do fipronil como seu metabólito ativo a fipronil sulfona. Para realização do estudo 14 cavalos foram estabulados em baias individuais no dia -34 e a partir do dia -31 foram infestados com aproximadamente 1750 larvas de *D. nitens* em dias alternados até o dia -1. Após a exclusão de dois animais do estudo e randomização baseada nas quedas das fêmeas ingurgitadas dos dias -3, -2, -1, estabeleceu-se dois grupos experimentais com seis animais cada, tratado e controle. No dia do tratamento, foi administrado no grupo tratado fipronil a 1% “pour on” na dose de 1mg/kg para determinar a eficácia terapêutica. Além disso, os cavalos foram infestados em intervalos semanais por três semanas consecutivas para determinar a eficácia persistente, ou residual. O fipronil administrado topicamente atingiu a circulação sistêmica ($C_{\text{máx1}} = 0,71 \pm 0,30$ e $C_{\text{máx2}} = 0,56 \pm 0,27$ $\mu\text{g/mL}$), sendo rapidamente absorvido ($t_{\text{máx1}} = 7,00 \pm 0,00$ e $15,00 \pm 0,00$ dias) e eliminado de forma lenta ($t_{1/2} = 8,54 \pm 2,03$ dias), já a fipronil sulfona manteve uma concentração bem linear com liberação lenta ($C_{\text{máx}} = 0,27 \pm 0,06$ $\mu\text{g/mL}$ e $t_{\text{máx}} = 18,00 \pm 3,29$) e uma eliminação quase cinco vezes mais lenta que o fipronil ($t_{1/2} = 42,06 \pm 23,02$) sendo quantificada em níveis significantes mesmo 48 dias após o tratamento ($0,140 \pm 0,034$ $\mu\text{g/mL}$). Os resultados da eficácia terapêutica do fipronil foram significantes ($p < 0,05$) quando comparadas ao grupo controle, atingindo uma média de 91,83% do dia +1 ao +29 e de 95,26% do dia +8 ao +29. Todos parâmetros de avaliação dos índices de reprodução (IR) e nutricional (IN) tiveram diferenças significantes ($p < 0,05$), exceto o peso da quenógina, mas a eficácia média sobre a eficiência reprodutiva foi de apenas 30,97%. A eficácia persistente do fipronil também foi significativa ($p < 0,05$) e permaneceu alta nas três semanas após o tratamento, sendo suas médias 98,69%, 99,19% e 99,32% respectivamente para os desafios +7, +14 e +21. Essa elevada eficácia impossibilitou a análise estatística dos índices reprodutivos por amostras insuficientes de fêmeas ingurgitadas no grupo tratado. Tanto a eficácia terapêutica como a eficácia residual apresentaram valores superiores a 90%, viabilizando o uso do fipronil no controle estratégico de *D. nitens*, mas não num programa de erradicação, já que o estudo demonstrou, mesmo que baixa, a recuperação de fêmeas ingurgitadas em ambos os testes de eficácia, além de não inibir a eficiência reprodutiva.

Palavras chave: carrapato, equino, fenil pirazole

ABSTRACT

ROCHA, Marisa Beatriz da Silva. **Therapeutic and persistent efficacy of 1% fipronil “pour on” in horses against the *Dermacentor nitens* tick and associated pharmacokinetics.** 46p. Dissertation (Master in Veterinary Sciences) Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2020.

The main species of tick to develop economic losses and significant health damage to equine production in Brazil is *Dermacentor nitens*. However, control studies of this tick in experimental models "in vivo" with evaluation and construction of a plasma concentration curve are scarce. This reduces the options of chemical bases available for an efficient control of this parasite. Currently the options employed are cypermethrins in paste or parasiticide bath emulsion. Fipronil, belonging to the class of phenylpyrazoles, is widely used in veterinary medicine to control ectoparasites with its proven tick effectiveness in different species of ticks and hosts. The objective of this study was to use fipronil applied topically to “pour on” in horses of the Brazilian pony breed, at a dose of 1mg / kg, in the control of *D. nitens*, using studies of therapeutic and residual efficacy as evaluation criteria. , and construction of the plasma concentration curve by bioanalytical method of both fipronil and its active metabolite, fipronil sulfone. To carry out the study, 14 horses were housed in individual stalls on day -34 and from day -31 onwards, they were infested with approximately 1750 *D. nitens* larvae on alternate days until day -1. After excluding two animals from the study and randomization based on the falls of engorged females on days -3, -2, -1, two experimental groups were established with six animals each, treated and control. On treatment day, it was administered to the treated group 1% fipronil “pour on” at a dose of 1mg / kg to determine the therapeutic efficacy. In addition, horses were infested at weekly intervals for three consecutive weeks to determine persistent, or residual, effectiveness. Topically administered fipronil reached the systemic circulation ($C_{\max 1} = 0.71 \pm 0.30$ and $C_{\max 2} = 0.56 \pm 0.27 \mu\text{g} / \text{mL}$), being rapidly absorbed ($t_{\max 1} = 7.00 \pm 0.00$ and 15.00 ± 0.00 days) and eliminated slowly ($t_{1/2} = 8.54 \pm 2.03$ days), while fipronil sulfone maintained a very linear concentration with slow release ($C_{\max} = 0.27 \pm 0.06 \mu\text{g} / \text{mL}$ and $t_{\max} = 18.00 \pm 3.29$) and elimination almost five times slower than fipronil ($t_{1/2} = 42.06 \pm 23.02$) being quantified at significant levels even 48 days after treatment ($0.140 \pm 0.034 \mu\text{g} / \text{mL}$). The results of the therapeutic efficacy of fipronil were significant ($p < 0.05$) when compared to the control group, reaching an average of 91.83% from day +1 to +29 and 95.26% from day +8 to +29 . All parameters of evaluation of reproduction (RI) and nutritional (IN) indices had significant differences ($p < 0.05$), except for the weight of the female corpses, but the average effectiveness on reproductive efficiency was only 30.97%. The persistent efficacy of fipronil was also significant ($p < 0.05$) and remained high for 3 weeks after treatment, with its averages 98.69%, 99.19% and 99.32% respectively for challenges +7, +14 and +21. This high efficiency made it impossible to statistically analyze reproductive indices by insufficient samples from engorged females in the treated group. Both therapeutic efficacy and residual efficacy showed values greater than 90%, enabling the use of fipronil in the strategic control of *D. nitens*, but not in an eradication program, since the study demonstrated, even if low, the recovery of engorged females in both effectiveness tests, in addition to not inhibiting reproductive efficiency.

Key words: control, ectoparasites, equine

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Parâmetros farmacocinéticos médios após a administração tópica “pour on” do fipronil em pôneis na dose única de 1mg/kg. 18

Tabela 2 – Média do número de teleóginas de *Dermacentor nitens* recuperadas dos animais dos grupos controle e tratado nos períodos pré tratamento (dias -3 a -1) e pós-tratamento (dias 1 a 29). Eficácia diária e eficácia carrapaticida terapêutica do fipronil aplicado pela via tópica “pour on” na dose única de 1mg/ kg. 19

Tabela 3 – Média de peso de fêmea ingurgitada, de postura, do percentual de eclosão, da eficiência reprodutiva, do peso de quenógina e do índice nutricional dos grupos controle e tratado. E eficácia sobre a eficiência reprodutiva diária de *Dermacentor nitens* coletadas após tratamento com fipronil aplicado por via tópica “pour on” a 1mg/kg em cavalos. 22

Tabela 4 – Média de queda de teleóginas desprendidas no intervalo de tempo de 30 a 50 dias após o tratamento referente a três desafios de infestação (D+7, D+14 e D+21) e suas respectivas eficácias persistente. 25

Tabela 5 – Média de peso de fêmea ingurgitada, de postura, do percentual de eclosão, da eficiência reprodutiva, do peso de quenógina e do índice nutricional dos grupos controle e tratado. E eficácia residual sobre a eficiência reprodutiva de *Dermacentor nitens* coletadas após tratamento com fipronil aplicado por via tópica “pour on” a 1mg/kg em cavalos. 26

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Curva bioanalítica da relação de área do padrão analítico do Fipronil e padrão interno (Etiprol) em plasma de pôneis tratados com 1mg/kg de fipronil por via tópica “pour on”. 16

Figura 2 – Curva bioanalítica da relação de área do padrão analítico do Fipronil sulfona e padrão interno (Etiprol) em plasma de pôneis tratados com 1mg/kg de fipronil por via tópica “pour on”. 17

Figura 3 – Curva de concentração plasmática em plasma de pôneis (n=6) do Fipronil (FIP) e Fipronil sulfona (SULF) a partir de administração tópica “pour on” de fipronil na dose de 1m/kg. 18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1.	Origem e Domesticação do Cavalo	3
2.2.	Principais Carrapatos em Cavalos no Brasil	3
2.3.	<i>Dermacentor nitens</i>	4
2.3.1.	Biologia	4
2.3.2.	Importância médico-veterinária de <i>Dermacentor nitens</i>	6
2.4.	Controle do Carrapato	7
2.4.1.	Controle químico	8
2.4.2.	Fipronil	9
3	MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1.	Local	11
3.2.	Animais Utilizados	11
3.3.	Origem dos Carrapatos	11
3.4.	Delineamento experimental ensaio <i>in vivo</i>	11
3.5.	Avaliação da eficiência carrapaticida e do índice de eficiência reprodutiva	12
3.5.1.	Cálculos e análises estatísticas	12
3.6.	Ensaio de Farmacocinética	13
3.6.1.	Metodologia analítica para quantificação do fipronil em plasma dos pôneis	14
3.6.2.	Construção da curva de concentração plasmática	14
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1.	Farmacocinética	16
4.2.	Estudo de eficácia Terapêutica	19
4.3.	Estudo de eficácia residual ou persistente	24
5	CONCLUSÃO	28
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
	ANEXOS	36

1 INTRODUÇÃO

A economia brasileira tem forte relação com o setor agropecuário, tendo este uma significativa participação no produto interno bruto (PIB), além de ser um grande gerador de renda. A participação da produção equina dentro do agronegócio movimentava bilhões e é fortemente ligada à geração de dividendos. Este setor produtivo tem ainda uma dinâmica diferenciada da produção agropecuária tradicional, com eixos de mercado como o esportivo e o pet, relacionados ao crescente estreitamento de laços entre humanos e equídeos.

Considerando estratégias quimioterápicas para um controle sanitário, o mercado mundial de medicamentos veterinários encontra-se em constante expansão. O Brasil é destaque e detém o segundo maior mercado mundial, faturando cerca de oito bilhões de dólares, dos quais cerca de 5% são referentes a produtos para equinos. Dentre as classes terapêuticas, 1/4 do mercado é composto por produtos antiparasitários, isso indica a importância do controle de parasitos na produção equina.

O controle sanitário eficiente na produção animal é extremamente necessário para que o indivíduo expresse todo seu potencial fenotípico, para que isso ocorra fatores relacionados à sanidade como manejo correto e manutenção da saúde, além da seleção genética são fundamentais. Pois os equinos dentre os animais de produção, são considerados os que possuem relação mais estreita com o homem, e essa relação aliada a um controle sanitário inadequado, aumenta o risco de transmissão de doenças aos humanos, seja diretamente, ou indiretamente por vetores que possam parasitar os cavalos.

As principais espécies de carrapato que infestam cavalos no Brasil são *Dermacentor nitens*, *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus*, dentre essas espécies *D. nitens* é a mais prevalente. Esse carrapato parasita preferencialmente o conduto auditivo dos equinos e por esse comportamento é chamado popularmente de carrapato-da-orelha-do-cavalo, e anteriormente foi classificado cientificamente como *Anocentor nitens*. Essa espécie monoxena é extremamente específica a equinos, com raro ou baixo nível de parasitismo em outros hospedeiros casuais. Sua distribuição geográfica se dá em parte do continente americano, entre o norte da Argentina e sul dos Estados Unidos.

A hematofagia dos carrapatos em altas infestações pode levar a anemia espoliativa promovendo estresse, prostração e até a morte, principalmente quando associada a doenças hemolíticas como a piroplasmose equina. O ectoparasito *D. nitens* é o principal vetor de um dos agentes patogênicos da piroplasmose, o protozoário *Babesia caballi*, dessa forma, o controle eficaz deste carrapato é fundamental num bom planejamento sanitário, minimizando as perdas econômicas.

As permetrinas são as únicas bases recomendadas para o controle de carrapatos em equinos. Comercialmente essas bases podem se apresentar em formas de pasta, talcos ou soluções para banho. As pastas são comumente utilizadas nas orelhas dos cavalos para o controle de *D. nitens*, porém apresentam-se ineficazes em prevenir reinfestações.

A baixa diversidade de bases ectoparasiticidas indicadas para uso em equinos é associada à ausência de estudos controlados com carrapaticidas nesta espécie. Mesmo assim, é comum no meio dos produtores de cavalos, o uso de bases acaricidas, com recomendação apenas para uso bovino. Essa prática pode gerar o desenvolvimento de resistência aos carrapaticidas e intoxicações ou doenças crônicas com o uso prolongado, isso porque um controle estratégico eficiente, demanda conhecimento fisiológico do hospedeiro e do ciclo biológico do parasito.

O fipronil, do grupo dos fenilpirazoles, tem seu uso justificado para o controle de ectoparasitos em diferentes espécies, por possuir alta segurança quando aplicado em mamíferos, devido à especificidade aos receptores GABA de insetos e ácaros. Os ectoparasiticidas em spray

a base de fipronil tem indicação em bula para filhotes a partir dos dois dias de idade, fêmeas gestantes e lactantes de cães e gato. Além de ser amplamente utilizado em bovinos no controle de *R. microplus* nas formulações “pour on”, porém não existem estudos quanto à utilização do fipronil em equinos.

O objetivo do estudo foi determinar se o fipronil administrado por via “pour on” na dose de 1mg/kg de peso corporal aplicada em equinos é eficaz no controle do carrapato *D. nitens*. Dentre os objetivos específicos estabelecer a eficácia carrapaticida terapêutica e residual do fipronil; avaliar a eficiência reprodutiva de teleóginas oriundas dos equinos tratados; e determinar a curva de concentração plasmática e os parâmetros farmacocinéticos do fipronil por via tópica em equinos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Origem e Domesticação do Cavalo

Os equinos pertencem ao Reino Animalia, Filo Chordata, Classe Mammalia (GETTY, 1981). Dentro da classe dos mamíferos o cavalo se encontra na Subclasse: Theria, Infraclasse: Eutheria, Ordem: Perissodactyla, Subordem: Hippomorpha, Família: Equidae e Gênero: *Equus*. (GETTY, 1981).

A espécie *Equus caballus* (LINEU, 1758) tem origem do cavalo primitivo conhecido formalmente como *Hyracotherium cuniculum*, encontrados desde o período Eoceno, entre 60 e 45 milhões de anos atrás, Época Terciária, como sugerem os primeiros vestígios de *H. cuniculum*. Durante o passar dos anos diversas espécies de *Hyracotherium* evoluíram e algumas desapareceram, os milhões de anos de evolução gradual fizeram o padrão do cavalo atual (STAHL, 1985; JONES, 1987; ROMASZKAN; JUNQUEIRA, 1992).

O desenvolvimento da civilização foi atrelado com a domesticação dos equídeos. O colapso de sociedades antigas foi facilitado pelo uso de cavalos, carruagens e cavalarias. Estes eram fonte de alimento, de transporte e um facilitador de guerra, levando a disseminação de línguas e culturas indo-europeias (ANTHONY, 1986; DIAMOND, 1991). Visto que o homem tinha uma maior mobilidade, alcançando longas distâncias, as quais a pé não conseguiria, possibilitou-se uma exploração maior e mais diversa de territórios. Contudo, além do campo de batalha e da expansão territorial, a domesticação do cavalo, aliada à sua potência, também proporcionou grandes avanços nos transportes, agricultura, indústria e ciência. A velocidade de comunicações entre os povos ao utilizar esses animais permitiu que idiomas, leis, pesos, medidas e sistemas de escrita fossem padronizados, disseminando novas tecnologias pelos continentes. Fósseis de cavalos datados de cerca de 6000 anos atrás são comumente encontrados em sítios arqueológicos nas pradarias da Eurásia, que sugerem a primeira domesticação destes e consequente migração de cavaleiros das tribos da Eurásia até as fronteiras dos estados sedentários (BENNETT; HOFFMANN, 1999; KELEKNA, 2009).

Atualmente a equinocultura cresce tangencialmente a pecuária tradicional, mostrando-se dinâmica, de forma que a domesticação do cavalo não se limita a potencialização da força humana na agricultura e no transporte. O mercado da equinocultura se desenvolve nas áreas de saúde, com a equoterapia, esporte, nas competições equestres e sociais, com uma estreita relação humana afetiva, fazendo uma analogia ao mercado de animais doméstico (pet). Isso diversifica o mercado econômico e o movimenta com maior intensidade, desde a indústria de medicamentos e ferragens, até cosméticos e acessórios.

2.2. Principais Carrapatos em Cavalos no Brasil

Os carrapatos são ácaros hematófagos distribuídos em duas famílias principais, Argasidae, carrapatos moles, e Ixodidae, carrapatos duros com escudo quitinoso. Três espécies de ixodídeos: *Dermacentor nitens*, *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus* com ocorrência no Brasil, são relatadas como importantes parasitos de equinos (MORENO, 1984; FALCE, 1986; HEUCHERT et al., 1999; LABRUNA et al., 2001).

Esses artrópodes parasitam diversos hospedeiros vertebrados e são responsáveis pela transmissão de patógenos como vírus, bactérias e protozoários (JONGEJAN; UILENBERG, 2004). São vetores de grande importância na saúde pública, sendo o principal vetor infeccioso para animais. O período de parasitismo associado à modelação da resposta imune dos hospedeiros está diretamente relacionado à capacidade de transmissão de agentes patogênicos (RIBEIRO, 1995).

O carrapato *A. sculptum* é trioexeno, ou seja, exige três hospedeiros para completar seu ciclo. É a principal espécie a infestar humanos no centro e no sul do Brasil, sendo o principal

vetor de *Rickettsia rickettsii*, agente da febre maculosa brasileira (ARAGÃO, 1936; DIAS; MARTINS, 1939; LABRUNA et al., 2001). Apesar de ser menos prevalente em equinos, quando comparada a *D. nitens*, é pouco específico, principalmente em seus estágios de larva e ninfa e por isso seu parasitismo pode ser evidenciado em diversas espécies (LABRUNA et al., 2002; GUGLIELMONE et al., 2006). Tendo em vista que o cavalo pode ser responsável pela manutenção desse carrapato nos pastos, aliado a proximidade entre equinos e humanos ratifica-se a importância desses ectoparasitos na saúde pública. Além disso, Linthicum et al. (1991) sugere que o *A. sculptum* é um vetor competente do vírus da encefalomielite equina da Venezuela em condições de laboratório, mostrando também sua importância sanitária para equinos.

A espécie *R. microplus* tem ciclo biológico monoexeno bem semelhante ao de *D. nitens*, pois parasita apenas um hospedeiro e faz todas as mudas de seus instares (larva/ninfa/adulto) sobre este. Apesar de ter como hospedeiro preferencial bovinos, Borges e Leite (1998) constataram uma prevalência parasitária de 38,5% de *R. microplus* em cavalos estudados de diversos municípios de Minas Gerais e Bahia. No entanto, os cavalos são hospedeiros ocasionais deste carrapato, pois a infestação por este depende da presença de bovinos e equinos pastejando na mesma área (MORENO, 1984; HEUCHERT et al., 1999; LABRUNA et al. 2001). O pasto compartilhado por esses animais é uma prática comum, principalmente para cavalos de trabalho na área agrícola. Uma das principais importância sanitária em equinos desse ectoparasito é sua relevância na transmissão de *Theileria equi*, um dos agentes etiológicos da piroplasmose equina (CORREA et al., 2005).

2.3. *Dermacentor nitens*

O carrapato *Dermacentor nitens*, anteriormente denominado *Anocentor nitens*, é comumente conhecido como carrapato-da-orelha-do-cavalo (FLECHTMANN, 1977) devido sua preferência particular em parasitar o pavilhão auricular dos hospedeiros, além do divertículo nasal e da região perineal. Contudo, dependendo do grau de infestação, pode ser encontrado em qualquer lugar do corpo. Possui ciclo biológico monoexeno, pois parasita apenas um hospedeiro e tem alta especificidade parasitária aos equinos, sendo considerado o carrapato mais importante e prevalente em cavalos (FLECHTMANN, 1977; LABRUNA; AMAKU, 2006).

A espécie *D. nitens*, também é conhecida como carrapato tropical do cavalo, devido prevalência geográfica deste parasito (FLECHTMANN, 1977). No continente americano, a distribuição desse artrópode se dá desde o norte da Argentina até o sul dos Estados Unidos, podendo infestar naturalmente todos os tipos de equídeos e, acidentalmente, bovinos, cães, ovinos, veados onças pardas, antas e pacas (MIZIARA et al., 2007; MARTINS et al., 2015; GUSMÁN-CORNEJO et al., 2016; RODRIGUES et al., 2017).

Rodrigues et al. (2017) demonstraram a baixa competência parasitária das larvas de *D. nitens* em coelhos, ovelha, bezerros, porquinhos da índia, aves e cães artificialmente infestados quando comparados a cavalos. Os autores conseguiram recuperar fêmeas ingurgitadas apenas em coelhos, mas estas apresentavam uma média de peso duas vezes menor quando comparadas as recuperadas em equinos, seu hospedeiro preferencial. Os resultados encontrados pelos autores sugerem uma baixa possibilidade da manutenção do ciclo desse carrapato por outro hospedeiro, isso porque os resultados apontam baixa eficiência em completar a fase parasitária, de tal modo que as teleóginas desprendidas possuem menor eficiência reprodutiva e como consequência a dispersão de larvas nos ambientes é menor.

2.3.1. **Biologia**

O ciclo biológico do carrapato *D. nitens*, apresenta uma fase parasitária de 22 a 30 dias, período ao qual passa pelos estágios de larva, ninfa e adulto, todos em um único hospedeiro,

promovendo inclusive sobre este as ecdises interestaduais. A modal, ou seja, a época com maior desprendimento natural de teleóginas ocorre no 26º dia após a fixação das larvas (DIAMANT; STRICKLAND, 1965; DRUMMOND et al., 1969; SANAVRIA; PRATA, 1996; RODRIGUES et al., 2016).

A fase não parasitária ou ambiental se inicia quando as fêmeas ingurgitadas se desprendem do hospedeiro. Ao desprender-se, a fêmea procura um ambiente sombreado e úmido para realizar sua postura, ao final da oviposição da massa de ovos, a fêmea passa a ser denominada quenógina e morre. A partir dessas massas de ovos presente no ambiente eclodem as larvas que dão fim a fase não parasitária assim que alcançam seu hospedeiro fixando-se nele. Nesta fase, a eficiência em desenvolver e completar o ciclo biológico está diretamente associada às condições edafoclimáticas, sendo temperatura e umidade condições críticas relevantes (DESPINS, 1992).

Drummond et al. (1969) ao estudarem a fase ambiental de *D. nitens* em condições controladas (27º C e 80% de umidade relativa) encontram peso médio de 0,291g para teleóginas, variando entre 0,180 e 0,358 g, um período de pré oviposição médio de quatro dias, variando entre três e cinco dias, um número médio de ovos por fêmea de 2833, com número de ovos por massa de postura entre 1340 e 3692, e um período de incubação médio dos ovos de 21,1 dias, variando entre 19 e 23 dias, tais parâmetros não destoam significativamente de estudos mais recentes (DESPINS, 1992; BASTOS et al., 1996; SANAVRIA; PRATA, 1996; FAUSTINO et al., 2005; LABRUNA; AMAKU, 2006; RODRIGUES et al., 2016). Entretanto, esses dados são relativos a condições ideais para o desenvolvimento do parasito, Despins (1992) e Bastos et al. (1996) demonstraram, experimentalmente, que o período anterior à oviposição, a postura e a incubação podem variar muito em função da temperatura e da umidade relativa (UR) do ambiente.

Em seu estudo, Despins (1992), observou que o tempo de pré-oviposição não foi significativamente alterado com a variação da UR (40, 61, 75 e 91%) em temperatura constante de 20º C encontrando um período médio de 9,8 dias, mas ao aumentar a temperatura a 30º C este reduz para $3,1 \pm 0,45$ dias de pré-oviposição em 91% de UR. Já o período de oviposição foi significativamente alterado com mudanças na UR, pois fêmeas incubadas a 25º C em umidade de 91% tiveram uma média de $30,2 \pm 5,9$ dias de oviposição, sendo quatro dias a mais que as incubadas a 40% UR, em mesma temperatura. Temperaturas elevadas, em torno dos 35º C diminuem em mais da metade do tempo de oviposição ($14,3 \pm 2,54$ dias) quando comparadas a temperaturas mais baixas, como 20º C (DESPINS, 1992). Temperaturas extremas e baixa umidade podem diminuir o número de gerações anuais de carrapato, aumentando o tempo do ciclo biológico, além de reduzir o número de larvas não alimentadas na pastagem, já que são a fase mais sensível do ciclo (GUIMARÃES DA SILVA et al., 1997).

Labruna et al. (2002) encontraram picos de infestações de *D. nitens* em cavalos no primeiro semestre do segundo ano experimental, seguido de uma drástica redução em agosto, com novos picos em setembro e outubro em um estudo sazonal, de 24 meses, no estado São Paulo. Já Borges et al. (1999) descrevem picos de infestações larvais no pasto entre outubro a abril, associando o fato as características climáticas da primavera e do verão. Sendo assim, a fase não parasitária pode variar de acordo com as estações do ano e características edáficas regionais, podendo uma mesma espécie de carrapatos variar seus picos de infestações e números de gerações entre suas populações quando avaliadas em regiões distintas.

O comportamento de fixação das larvas de *D. nitens* no equino na fase parasitária está, em grande parte, associado a áreas de sombreamento, sem irradiação solar direta. Apesar de preferirem o pavilhão auricular e o conduto auditivo, também podem ser encontrados em altas infestações naturais em outros locais do corpo como: no divertículo nasal, na crina, no abdome e nas regiões anal e inguinal (FLECHTMANN, 1977; LABRUNA; AMAKU, 2006).

2.3.2. Importância médico-veterinária de *Dermacentor nitens*

A importância dos carrapatos em Saúde Pública e na Medicina Veterinária se dá pela série de danos que são capazes de causar ao hospedeiro, seja direta ou indiretamente, como vetor de doenças. *Dermacentor nitens* é responsável por provocar lesões no pavilhão auricular dos equinos e consequentemente predispor a instalação de miíases e infecções bacterianas secundárias. Infestações maciças por *D. nitens* podem causar a “orelha caída”, por consequência da mutilação da cartilagem da orelha. Essas deformações depreciam o valor comercial dos animais, principalmente em animais de exposição e provas que tem alto valor zootécnico, além de prejudicar seus sentidos de orientação e audição (KOLLER et al., 2017). Além dos danos físicos diretos causados ao hospedeiro e da anemia por espoliação sanguínea, esse carrapato também é responsável pela transmissão de *Babesia caballi* (ROBY; ANTHONY, 1963; FLECHTMANN, 1977).

O protozoário *B. caballi* juntamente com *Theileria equi* são parasitos intraeritrocitários responsáveis pela piroplasmose equina (HOLBROOK et al., 1968; THOMPSON, 1969). A babesiose equina está diretamente relacionada à presença de *D. nitens* e é uma enfermidade febril, também conhecida por piroplasmose ou febre biliar. Causa ainda anemia, icterícia, hepato e esplenomegalia e em alguns casos hemoglobinúria e bilirrubinúria. De modo geral a doença se apresenta de forma crônica, podendo haver casos agudos de sensibilidade e o fator de estresse aliado, pode intensificar os sinais clínicos. O prejuízo sobre o desempenho do animal se dá principalmente pelo baixo desempenho associado à inapetência e perda de peso (PEREIRA, 1999; KERBER et al., 2009).

A área esportiva equina o hipismo, um esporte olímpico, possui competições internacionais, de forma que o trânsito internacional dos animais atletas desta modalidade é muito comum e não se limita apenas a importação de matrizes. De acordo com a OIE, Organização Mundial de Saúde Animal, (2018) é recomendado que países livres de piroplasmose equina exijam tratamento preventivo com carrapaticida e babesicida quando necessário, além de um certificado sanitário emitido por veterinário isentando o animal da apresentação de sinais clínicos da piroplasmose. Testes de diagnóstico para *T. equi* e *B. caballi* com resultados negativos, 30 dias antes do embarque, também são necessários para importações permanentes. Já para importações temporárias de competições são exigidos: comprovação de inspeções periódicas veterinária, passaporte do animal e tratamento preventivo com até sete dias antes do embarque (OIE, 2018). Sendo assim, pode-se considerar que os agentes patogênicos da piroplasmose equina (*T. equi* e *B. caballi*) são fatores limitantes para o trânsito animal internacional aumentando a importância do controle efetivo de carrapatos em equinos.

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) a participação do Agronegócio no total da renda gerada no país mantém-se entre 20% e 25%. Grisi et al. (2014) em um estudo de impacto econômico de parasitos em bovinos, estimou uma perda econômica de 3,24 bilhões de dólares relativa ao parasitismo de *R. microplus* no rebanho bovino brasileiro, demonstrando as consideráveis perdas econômicas produtivas relacionada aos carrapatos.

Uma parcela da renda gerada do Agronegócio está atrelada ao Complexo do Agronegócio do Cavalo no Brasil que, em valores do levantamento de abril de 2015, totalizou em torno de R\$16,15 bilhões (MAPA, 2016). Esses números estimados tão positivos se dão ao fato da dinâmica da equinocultura nos últimos anos. Ao contrário da produção pecuária tradicional, a equinocultura teve um crescimento considerável para o público urbano, tanto para lazer, quanto para esporte, não se prendendo apenas ao setor produtivo e de tração animal. Sendo assim, esse nicho urbano requer maiores gastos e cuidados movimentando com maior intensidade, desde a indústria de medicamentos e ferragens, até cosméticos e acessórios (MAPA, 2016).

O mercado mundial de medicamentos veterinários encontra-se em constante expansão. De acordo com o MAPA em 2014, o faturamento da indústria atingiu 23,9 bilhões de dólares, (4% de crescimento em relação ao ano anterior), dos quais 47% ocorreram nas Américas, enquanto a Europa respondeu por 31% do faturamento mundial. Com o mercado europeu já consolidado, as perspectivas de crescimento concentram-se em países latino-americanos. O Brasil é destaque, pois já detém o segundo maior mercado mundial, fatura cerca de oito bilhões de dólares, dos quais cerca de 5% em produtos para equinos. Dentre as classes terapêuticas observa-se que mais da metade do mercado é composto por produtos antiparasitários (25%) e biológicos (28%), sendo restante dividido em antimicrobianos (16%), terapêuticos (9%), suplementação (5%) e outros (17%) (MAPA, 2016).

No Brasil existem variantes nos dados de vendas de produtos antiparasitários para equinos, principalmente os dados referentes a ectoparasiticidas. Isso ocorre porque boa parte dos produtos lançados no mercado para bovinos é indevidamente utilizada em cavalos e, com isso, há um superdimensionamento do mercado de bovinos e um subdimensionamento do mercado de equinos. Além disso, estima-se que de 3% a 5% do mercado de medicamentos veterinários para equinos é composto por produtos trazidos irregularmente do exterior (MAPA, 2016).

O Complexo do Agronegócio do Cavalo no Brasil é um segmento diversificado e em plena expansão e o mercado farmacêutico, atualmente, não supre a demanda crescente. Em consequência, permite o uso indevido de formulações com indicações para bovino em equinos por falta de formulações específicas (MAPA, 2016).

2.4. Controle do Carrapato

Dentro dos artrópodes o carrapato perde apenas para o mosquito em importância como vetor de agentes patogênicos transmitidos ao homem (DE LA FUENTE et al., 2008; OBENCHAIN; GALUM, 2013). Isso remete a demanda de agentes de controle eficazes que possam ser usados com segurança para o tratamento de animais de produção e companhia, assim como para casas e estruturas (TAYLOR, 2001; DRYDEN, 2009). O método de controle tradicional é feito através do uso de compostos químicos. Alternativas a este método são: o controle biológico por meio de predadores naturais, fungos, vírus ou bactérias, seleção genética de hospedeiros resistentes e as práticas de manejo de pastagem (CORGOZINHO, 2008).

O tipo de tratamento aplicado no controle também pode ser classificado: carrapaticida curativo, que é feito com uso de carrapaticidas no momento que se identifica a infestação no animal e o racional ou estratégico que tem efeito a longo prazo. Neste último caso, o primeiro tratamento carrapaticida é feito impreterivelmente no período anterior ao pico de infestação, com objetivo de reduzir população do parasito ao longo do ano, repetindo as aplicações de forma consecutiva em intervalos menores que o ciclo de vida do carrapato. Essa estratégia de tratamento respeita as doses e os intervalos terapêuticos dos produtos utilizados no tratamento levando diminuição populacional e por consequência reduzindo a pressão de seleção para resistência destes (LABRUNA, 2008).

No controle de *D. nitens* em cavalos a particularidade de fixação do parasito nos divertículos nasais deve ser salientada. Labruna et al. (2001) e Bello et al. (2008) sugerem que o parasitismo no divertículo nasal, mesmo em pequenas quantidades, é uma estratégia desse ectoparasito para a auto infestação, pois quando esta região não é tratada juntamente com as orelhas, o animal volta a ter níveis altos de infestação mesmo ainda dentro do período de vigência de carência do carrapaticida.

A resistência de artrópodes é um problema real e já ocorre em todas as classes de medicamentos ectoparasiticidas, incluindo relatos aos reguladores de crescimento de insetos. Apesar de existirem estratégias de controle ajustadas às necessidades específicas de cada

ectoparasito e o controle integrado ser uma ferramenta eficiente na redução à pressão de seleção para resistência, essa ainda não é uma realidade majoritária no meio agropecuário (BROGDON; MCALLISTER, 1998; BORGES et al., 2002). O baixo número de publicações sobre bases químicas com eficácia acaricida sobre *D. nitens* dificultam a identificação de possíveis casos de resistência a acaricidas nessa espécie, mas o fato de não ser relatado, não garante sua ausência (KARASEK et al., 2020).

2.4.1. Controle químico

As perdas produtivas associadas e infecções crônicas transmitidas pelo carrapato demandam do criador a necessidade de buscar formas de controles deste parasito. As infestações podem ser evitadas pela diminuição das fases jovens no hospedeiro e no ambiente através do uso criterioso de carrapaticidas para eliminar larvas, ninfas e adultos sobre o animal (TAYLOR, 2001; DRYDEN; PAYNE, 2004). Em levantamento referente ao ano de 2012, cerca de 460 compostos químicos eram utilizados no controle de insetos, ácaros e outros invertebrados em todo o mundo, sendo que, cerca de 24% destes eram usados como acaricidas (SANCHES-BAYO, 2012). Esses têm diferentes bases químicas e mecanismos de ação, os mais comuns encontrados no mercado são descritos abaixo.

Os organofosforados são representados pelos paration, diazinon e coumafós. Seu mecanismo de ação se dá no sistema nervoso inibindo irreversivelmente a ação da acetilcolinesterase, superestimulando seus receptores nervosos e matando o parasita por paralisia (GUERRERO et al., 2014; BARBOZA et al., 2018). Existe relato do uso do coumafós em banhos carrapaticidas para a espécie equina (BORGES et al., 2000).

Os carbamatos têm como principais compostos na medicina veterinária carbaryl e propoxur. Seu alvo, assim como os organofosforados são as anticolinesterases, contudo, causam espontaneamente bloqueio reversível a enzima acetilcolinesterase, sem alterá-la (TAYLOR, 2001).

As amidinas têm como principal composto o amitraz, agem em sítios receptores de octopamina dos ectoparasitas resultando em hiperexcitabilidade neuronal e morte. O amitraz é altamente lipofílico e tem toxicidade para equinos. Nesta espécie esse composto age como agonista sobre os receptores α 2-adrenérgicos do sistema nervoso autônomo (SNA), além de estimular diferentes receptores ou neurônios, afetando sistema nervoso central (SNC) e o intestino. Os sinais clínicos da intoxicação se apresentam com sonolência, hipomotilidade/atonía intestinal e impactação do intestino grosso (TAYLOR, 2001; DUARTE et al., 2003; GUERRERO et al., 2014; FILAZI; YURDAKOK-DIKMEN, 2018).

Os piretroides têm como compostos a permetrina, a deltametrina, a cipermetrina, a flumetrina e a cifutrina. Estes atuam nos canais de sódio do parasita, resultando em repolarização tardia dos axônios nervosos e eventual paralisia. Causam paralisia imediata, mortalidade, efeito de choque denominado “knock down”. Seu uso em cavalos é comum, principalmente em formulações em pasta acaricidas associada a banhos de aspersão a 0,015% de cipermetrina (CUNHA, 2011; BELLO et al., 2008).

Os fenilpirazoles não são bloqueadores de canais de sódio, agem como inibidores de ácido γ -aminobutírico (neurotransmissor - GABA) e bloqueiam os canais de cloreto, promovendo uma excitação excessiva do sistema nervoso do artrópode, seguido de paralisia e morte. Essa classe tem como representantes o piriprol que foi sintetizado em 2006 para controle de pulgas e carrapatos em cães, e posteriormente o fipronil teve eficácia comprovada frente *R. microplus* e *R. sanguineus* e sendo atualmente utilizado em larga escala no controle destes carrapatos (TAYLOR, 2001; GUERRERO, et al., 2014; CID et al., 2016; LOPES et al., 2017).

As lactonas macrocíclicas são representadas pela ivermectina, abamectina, doramectina, epinomectina, milbemicina, moxidectina e selamectina. Elas têm atividade endectocida e

provocam paralisia flácida. Isso porque atuam principalmente sobre o ácido γ -aminobutírico (GABA) e os canais de cloro-glutamato, bloqueando os estímulos interneuronais de excitação dos neurônios motores. Devido ao seu efeito endectocida, pode ser utilizada como anti-helmíntico eficaz em equinos, comumente apresentada na forma de pasta a 2% (TAYLOR, 2001; GUERRERO et al., 2014; BARBOSA et al., 2018).

O principal representante das nitroguanidinas é o imidaclopid, este tem ação mimética à acetilcolina, competindo por seus receptores nicotinergéticos, mas não são sensíveis a acetilcolinesterase, promovendo uma ligação permanente que resulta na hiperexcitabilidade do SNC, provocando a morte por paralisia excitatória (TAYLOR, 2001).

Os reguladores de crescimento de insetos (IGRs) foram desenvolvidos a partir de hormônios juvenis de insetos na área agrícola. Os IGRs podem ser divididos quanto sua forma de ação em análogos do hormônio juvenil (JHAs) e inibidores do desenvolvimento de insetos (IDIs), este último pode agir inibindo a síntese ou a deposição de quitina e é menos usual no controle de carrapatos (RUST, 2005). O fluazuron é o único que possui registro para o controle de *R. microplus*. O mecanismo de ação deste IGR se baseia na inibição da produção de quitina, impedindo a troca da ecdise que faz com que o artrópode não se desenvolva (TAYLOR, 2001; FARIA, 2009; GUERRERO et al., 2014).

2.4.2. Fipronil

O fipronil é usado para o controle de ectoparasitos em diversas espécies. O uso desta base é justificado por alguns autores devido a sua segurança, pois em virtude de uma diferença estrutural do receptor GABA entre os invertebrados e vertebrados, este fenilpirazol tem maior afinidade para os receptores dos invertebrados, tendo alta toxicidade a estes (HAIZIL et al., 1996; MATSUDA et al., 2001; PAYNE et al., 2001, HOVDA; HOOSER, 2002; TINGLE et al., 2003). O fipronil comercial em forma de spray possui indicação em bula para cães e gatos filhotes a partir de dois dias de idade, além de fêmeas gestantes e lactantes, isso ratifica a premissa de segurança em vertebrados (ANDRADE; SANTARÉM, 2002).

Apesar da alta especificidade ao GABA de insetos, o fipronil pode ligar-se aos receptores GABA de mamíferos. Além disso, é metabolizado em fipronil dessulfínil e fipronil sulfona por oxidação do grupo tioéter e fotodegradação, respectivamente. Ambos os metabólitos são biologicamente ativos, tendo ação no receptor GABA. O fipronil sulfona é considerado seis vezes mais potente que fipronil no bloqueio dos canais de cloro dos vertebrados, mas suas toxicidades são similares. Já o dessulfínil é estável e mais tóxico quando comparado ao fipronil, além de apresentar um potencial bioacumulativo em tecido adiposo (HAINZL et al., 1998; FENET et al., 2001; DAS et al., 2006).

Assim como em estudos de resistência microbiana, estudos para um controle estratégico de carrapatos podem ser associados aos estudos da relação entre a concentração e o efeito farmacológico, isto é, a relação PK-PD que considera todos os processos e parâmetros associados à farmacocinética e à farmacodinâmica. Esta relação utiliza-se de modelos matemáticos e estatísticos para delinear ao longo do tempo as concentrações dos ativos correlacionado com seus efeitos. Sendo assim, estudos de farmacocinética do fipronil podem ser utilizados para otimizar a farmacoterapia de eficácia carrapaticida, inclusive em associações com outras bases (EMA, 2017).

Lopes et al. (2017) analisaram os parâmetros farmacocinéticos de uma combinação pour-on de fipronil 1,25 mg / kg + fluazuron 2,5 mg / kg para bovinos contra *R. microplus* e demonstraram que a combinação desses dois ingredientes ativos, em oposição ao seu uso separado, poderia representar uma ferramenta para estender o ciclo de vida dessas duas moléculas contra os ectoparasitas de bovinos.

Essa combinação apresentou sua concentração máxima ($C_{\text{máx}}$) de $73,7 \pm 12,71$ ng/ml para fipronil em 2,5 dias e 26,1 ng/ml em seis dias para o fluazuron com tempos de meia vida ($T_{1/2}$) de 19 (± 2) e 24, 4 ($\pm 3,5$) dias respectivamente. Sugerindo que a rápida absorção do fipronil (2,5 dias) compensa a absorção mais lenta do fluazuron na eficácia terapêutica, assim como o tempo de meia vida maior do fluazuron promove uma maior eficácia residual, mostrando a importância do conhecimento farmacocinético do ativo. Já Cid et al. (2016) ao administrarem fipronil por via subcutânea em bovinos na dose de 1mg/kg observaram também uma rápida absorção, alcançando sua $C_{\text{máx}}$ ($378,06 \pm 137,44$ ng/ml) em apenas 10 horas, em compensação seu $T_{1/2}$ foi menor, 12 dias, apesar de também demonstrar um perfil de eliminação lenta, que é desejável em antiparasitários.

Testes de eficácia carrapaticida do fipronil em bovinos frente a *R. microplus* apresentam resultados significativos no controle desse ectoparasito. Davey et al. (1998) demonstraram eficácias terapêuticas de até 99,7%, enquanto Cid et al. (2016) observaram 81,41% e Lopes et al. (2017) alcançaram valores superiores a 99% a partir do sétimo dia experimental. Tais estudos foram significativos para a formulação da hipótese de que esses resultados se estenderiam a espécie *D. nitens*, parasitando equinos.

Porém, casos de resistência de *R. microplus* frente ao fipronil, foram relatados por Castro-Janer et al. (2010) em populações estudadas em fazendas nos estados brasileiros do Rio Grande do Sul (população JRRS), Mato Grosso do Sul (população NET) e São Paulo (populações NIA, GAM, LE, ZOR, AR, LAM, RIM, PIQ e VIBE). As amostras de carrapatos foram coletadas de 2007 a 2008 e os testes utilizados foram os testes *in vitro* de imersão de adultos (AIT), de pacote de larvas (LPT) e de imersão de larvas (LIT). O LIT foi considerado pelo autor como o mais sensível para detecção de resistência ao fipronil, encontrando na concentração de 8ppm mortalidades de 68%, 40,5%, 60%, 72%, 25% e 78% para as populações NIA, ZOR, JRRS, NET, PIQ e VIBE, respectivamente. Já Lopes et al. (2017) sugerem resistência de *R. microplus* em bovinos tratados com fipronil “pour on” a 1% devido a resultados de eficácia terapêutica abaixo de 60% em uma população de carrapato em Minas Gerais, no entanto em outra propriedade no mesmo estado os autores encontraram uma cepa sensível ao acaricida, demonstrando que a eficácia de uma base química pode variar entre diferentes populações de carrapato.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Local

O trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), pertencente ao Departamento de Parasitologia Animal (DPA), do Instituto de Veterinária (IV) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica.

3.2. Animais Utilizados

Os equinos utilizados foram da raça pônei brasileiro de ambos os sexos, com idade entre dois e seis anos. Os animais eram provenientes do plantel permanente da área de campo do LQEPV /DPA /IV, da UFRRJ.

Os cavalos foram utilizados como hospedeiros para as fases de larvas, ninfas e adultos do carrapato *D. nitens*. Os animais permaneceram estabulados individualmente em baias com piso suspenso em estrado de madeira vazado e área total de 5,31 m² (1,85m de largura por 2,87m de comprimento), por todo período de experimentação. Ao longo do período de experimentação os pôneis foram alimentados com feno (3% do peso corporal/dia/animal), um quilograma de ração comercial e água *ad libitum*. As instalações foram higienizadas uma vez por dia (raspagem e jato d'água). As baias não necessitaram de sistema de exaustão, pois são abertas nas laterais do galpão e possuem amplas janelas teladas em todas elas.

3.3. Origem dos Carrapatos

As larvas de *D. nitens*, com idade entre 14 e 30 dias, utilizadas no estudo foram provenientes de colônia estabelecida e mantida nas dependências do LQEPV (Protocolo da Comissão de Ética no Uso dos Animais-CEUA/ UFRRJ n° 2524181218) (ANEXO A).

3.4. Delineamento experimental ensaio *in vivo*

O estudo foi aprovado pela CEUA sob o número de protocolo 5859270619 (ANEXO B). Para o ensaio *in vivo*, 14 pôneis saudáveis foram estabulados no dia -40, após pré-seleção baseada em exame clínico geral e exame hematológico. A partir do dia -31 estes foram infestados com aproximadamente 1750 larvas de *D. nitens*, com idade entre 14 e 30 dias, em dias alternados, ou seja, nos dias -31, -29, -27, -25, -23, -21, -19, -17, -15, -13, -11, -9, -7, -5, -3, -1. Nos dias -3, -2, -1, as fêmeas ingurgitadas desprendidas naturalmente foram contabilizadas para randomização dos animais em grupos. Em seguida foi feita uma lista em ordem decrescente com os valores das contagens. Os dois animais com maior contagem foram sorteados e distribuídos entre os grupos 1 (grupo controle) e 2 (grupo tratado), respeitando a ordem decrescente do sorteio, sucessivamente, até completar-se sete animais em cada grupo. No dia zero, os animais foram pesados em balança digital devidamente calibrada, após a pesagem os animais do grupo tratado receberam uma formulação comercial a base de fipronil 1% por via tópica pour on, na dose de 1mg/Kg, com volume de 1 ml/10kg. Para o tratamento o volume calculado para cada animal foi medido em seringas de 10 mL, graduadas a cada 0,2mL, quando necessário este volume foi arredondado para baixo. A aplicação tópica do fipronil 1% foi realizada sobre o dorso do animal, iniciando-se na base da calda até a base do pescoço.

Após o tratamento, os animais foram desafiados com mais três infestações pós-tratamento com aproximadamente 1750 larvas nos dias +7, +14 e +21, com o intuito de avaliar a eficácia residual do produto. Os pôneis permaneceram individualizados até o dia +50 para recuperação das teleóginas desprendidas. A queda das fêmeas ingurgitadas até o dia +29 foi

referente à eficácia carrapaticida do fipronil sobre *D. nitens*, enquanto a eficácia residual do fipronil sobre o carrapato foi avaliada, com as quedas de teleóginas dos dias +30 a +36, +37 a +43 e +44 a +50 referentes às infestações desafios dos dias +7, +14 e +21, respectivamente. A eficácia da formulação foi avaliada através da comparação da eficiência carrapaticida, do índice de eficiência reprodutiva e nutricional. Durante todos os dias do estudo os animais passaram por observações gerais de saúde, além da realização de exame complementar (hemograma) semanal.

3.5. Avaliação da eficiência carrapaticida e do índice de eficiência reprodutiva

As teleóginas desprendidas dos animais foram levadas para o LQEPV/UFRRJ onde foram contadas. Posteriormente, quando possível um máximo de 12 teleóginas de cada grupo, divididas em duas repetições com 6 espécimes cada, foram separadas, lavadas em água corrente com auxílio de peneiras de aço inox e secas com papel absorvível. Em seguida, elas foram pesadas e acondicionadas individualmente fixadas pela região dorsal no interior de placas de petri (PS 90x15mm lisa) devidamente identificadas com o grupo (tratado/controle), a repetição (R1/R2) e o dia experimental. O acondicionamento dessas placas foi realizado em estufa climatizada do tipo BOD regulada a $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e umidade relativa de 70-80% para realização das posturas e análise da viabilidade dos ovos. Para análise da eficiência reprodutiva (ER), as posturas foram pesadas sempre 21 dias após a incubação das teleóginas incluindo no processo a pesagem das quenóginas, utilizada na avaliação do índice nutricional (IN). A eclodibilidade das posturas foi avaliada 21 dias após a pesagem da massa de ovos.

3.5.1. Cálculos e análises estatísticas

A eficácia carrapaticida do fipronil sobre o *D. nitens* foi calculada comparadas às médias do número de teleóginas recuperadas dos animais medicados, com as médias do número de teleóginas recuperadas dos animais controle para cada dia experimental do intervalo D+1 a D+29.

De acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de eficácia} = [1 - (Ta \times Cb) \div (Tb \times Ca)] \times 100$$

Onde:

Ta = número médio de teleóginas recuperadas dos animais tratados após o tratamento (dias +1 a +29);

Tb = número médio de teleóginas recuperadas dos animais tratados nos 3 dias anteriores ao tratamento;

Ca = número médio de teleóginas recuperadas dos animais controles período após o tratamento (dias +1 a +29).

Cb = número médio de teleóginas recuperadas dos animais controles nos três dias anteriores ao dia do tratamento.

Para a avaliação dos níveis residuais de eficácia utilizou-se a média de teleóginas desprendidas, nos seguintes intervalos de tempo +30 a +36, +37 a +43 e +44 a +50, de ambos os grupos. Essas médias referem-se ao intervalo de 23 a 29 dias após as infestações desafios nos dias +7, +14 e +21.

Para isso utilizou-se a seguinte fórmula:

$$\% \text{ de eficácia} = (\text{MedGC} - \text{MedGT}) / \text{MedGC} \times 100$$

Onde:

MedGC = média de teleógina desprendidas do grupo controle nos dias 23 ao 29 após cada reinfestação

MedGT = média de teleógina desprendidas do grupo tratado nos dias 23 ao 29 após cada reinfestação

O IN (Índice de Conversão nutricional) foi obtido através da fórmula proposta por Bennet (1974), descrita a seguir:

$$\text{IN} = \frac{\text{peso dos ovos}}{\text{peso inicial das fêmeas ingurgitadas} - \text{peso das quenóginas}} \times 100$$

Para o cálculo da ER e da eficácia do fipronil sobre a ER (Eficácia na Inibição da Reprodução – EIR) utilizou-se as seguintes fórmulas:

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

$$\text{EIR} (\%) = \frac{(\text{média ER grupo controle} - \text{média da ER do grupo tratado})}{\text{média da ER do grupo controle}} \times 100$$

Para a análise estatística verificou-se a normalidade de distribuição dos dados pelo teste de Shapiro Wilk. Para dados paramétricos a análise das médias foi feita pelo teste de Mann-Whitney e para os não paramétricos, pelo teste de Kruskal-Wallis. Todas as análises foram feitas com intervalo de confiança de 95% ($p \leq 0,05$).

3.6. Ensaio de Farmacocinética

Os equipamentos e acessórios usados no ensaio estão listados abaixo:

- Tubos de coleta de sangue com heparina a vácuo;
- centrífuga refrigerada Cientec, modelo CT 6000R;
- cromatógrafo líquido Dionex, modelo Ultimate 3000, equipado com duas bombas quaternárias, válvula de sete vias, forno para coluna, detector UV-VIS ULTIMATE 3000RS DIONEX e software CHROMELEON 6.80 DIONEX;
- coluna cromatográfica Kromasil C18 (100mm x 4,6 mm x 3,5µm);
- pré-coluna cromatográfica Kromasil (C18 10mm x 4,6 mm x 3,5µm);
- manifold a vácuo com capacidade para 12 cartuchos Visiprep (Sigma);
- bomba a vácuo – Tecnal – modelo Eco;
- cartuchos para extração em fase sólida C18 500 mg- Supelco.

As substâncias químicas de referência (S.Q.R) e os reagentes empregados nas determinações analíticas, estão listados abaixo com suas respectivas especificações.

- S.Q.R Fipronil Pestanal, Sigma-Aldrich, lote SZBA0033X, de teor declarado 100%;

- S.Q.R Fipronil Sulfona Pestanal, Sigma-Aldrich, lote BCBT9592, de teor declarado 99%;
- substância química usada como padrão interno, Etiprol Pestanal, Sigma-Aldrich, lote SZBD234XV, de teor declarado 98,2%;
- reagente Acetonitrila, Tedia, grau de Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC) $\geq 99,9\%$, lote 14090171;
- reagente Metanol Honeywell, grau HPLC $\geq 99,9\%$, DU 637-BR.

3.6.1. Metodologia analítica para quantificação do fipronil em plasma dos pôneis

Para a quantificação do fipronil e do seu metabólito fipronil sulfona foram construídas curvas padrões bioanalíticos das duas substâncias ativas através de metodologia adaptada de CID et al. (2012).

Para o preparo da curva padrão bioanalítica, inicialmente, foram preparadas em acetonitrila uma solução mãe de fipronil 1000 $\mu\text{g/mL}$, uma solução mãe de etiprol (padrão interno) 500 $\mu\text{g/mL}$ e uma solução mãe de fipronil sulfona 1000 $\mu\text{g/mL}$.

Para a obtenção das amostras para a construção da curva o sangue foi coletado de pôneis que não foram submetidos a tratamento com antiparasitários por um período de no mínimo três meses. Para a coleta do sangue foram utilizados tubos heparinizados de 10 mL com vácuo. Os animais foram contidos e o sangue coletado através de punção venosa profunda da jugular. O plasma foi obtido através de centrifugação a 3000 rpm por 10 min a 4°C. O plasma foi então contaminado com solução contendo fipronil para obtenção de concentrações finais de 0,005, 0,010, 0,025, 0,050, 0,075, 0,100, 0,150 e 0,200 $\mu\text{g/mL}$. O etiprol foi adicionado ao plasma na concentração final de 0,10 $\mu\text{g/mL}$. E a contaminação com fipronil sulfona foi realizada para obter as concentrações finais de 0,010, 0,025, 0,050, 0,100, 0,250 e 0,500 $\mu\text{g/mL}$. Após contaminação, o plasma foi aliquoteado em volumes de 1,00 mL em eppendorfs e acondicionado em freezer (-20°C) até o momento da etapa de extração.

O procedimento de extração da amostra foi realizado utilizando a técnica de extração em fase sólida usando cartuchos de extração C18 (Supelco). Primeiramente os cartuchos foram acondicionados com 2,0 mL de metanol e 2,0 mL de água. Em seguida foram adicionadas 1,0 mL de amostra (plasma contaminado com padrão interno) e depois se procedeu à etapa de lavagem utilizando 1,0 mL de água. A eluição foi feita com 1,0 mL de acetonitrila. O eluato foi evaporado até a secura e reconstituído em 100 μL de acetonitrila. A separação cromatográfica foi realizada utilizando as seguintes condições: coluna Kromasil C18 100x4,6 mm x 3,5 μm , pré-coluna Kromasil C18 10x4,6 mm x 3,5 μm , fase móvel acetonitrila: água (60:40) com fluxo 1,0 mL/min, comprimento de 210 nm, volume de injeção 10 μL , temperatura de 25°C e tempo de corrida de 15 minutos.

3.6.2. Construção da curva de concentração plasmática

Para a construção da curva de concentração plasmática das formulações foram coletadas amostras de sangue em tubos heparinizados vacutainer de 10 mL. da jugular de cada animal do grupo tratado em zero e quatro horas e 1, 2, 7, 12, 14, 15, 16, 21, 28 e 48 dias após o tratamento.

Após a coleta as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 10 min a 4°C e o plasma foi separado em micro tubos com duas alíquotas de 1 mL. Após o tratamento de extração as amostras foram analisadas por CLAE-UV, através de metodologia analítica adaptada de Cid et al. (2012).

Os valores de concentração plasmática encontrados foram analisados individualmente para cada animal. Os parâmetros farmacocinéticos determinados foram: concentração máxima absorvida ($C_{\text{máx}}$), tempo onde ocorre a $C_{\text{máx}}$ ($T_{\text{máx}}$), tempo de meia vida ($t_{1/2}$), área sob a curva

de zero até a última concentração possível quantificada (AUC 0-t) e área sobre a curva de zero a infinito (AUC 0- ∞). Os resultados foram expressos em relação à média aritmética \pm CV. A construção da curva de concentração plasmática *versus* tempo e os parâmetros farmacocinéticos foi realizada utilizando o macro PK Solver do Microsoft Excel.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Farmacocinética

A partir da análise farmacocinética observou-se uma resposta linear na faixa de 0,10 a 2,00 µg/mL para o fipronil com coeficiente de correlação linear (r) de 0,9946, e equação da reta foi $y = 0,8639x - 0,0300$ (Figura 1). Para o fipronil sulfona também foi observada uma resposta linear na faixa de 0,50 a 5,00 µg/mL com coeficiente de correlação linear (r) de 0,9970 e equação da reta foi $y = 0,8490x + 0,071$ (Figura 2).

Curva Bioanalítica Fipronil

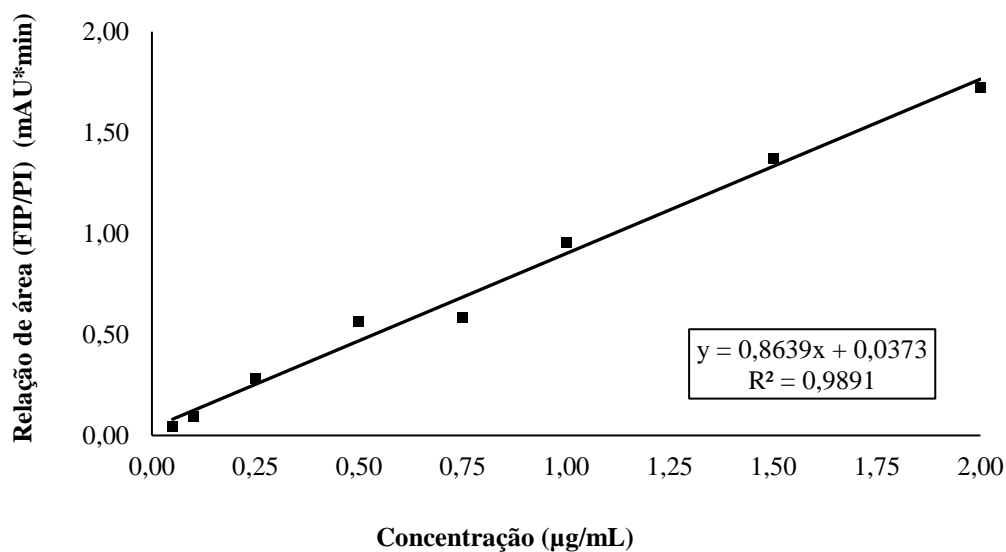


Figura 1 – Curva bioanalítica da relação de área do padrão analítico do Fipronil e padrão interno (Etiprol) em plasma de pôneis tratados com 1mg/kg de fipronil por via tópica “pour on”.

Curva Bioanalítica Fipronil Sulfona

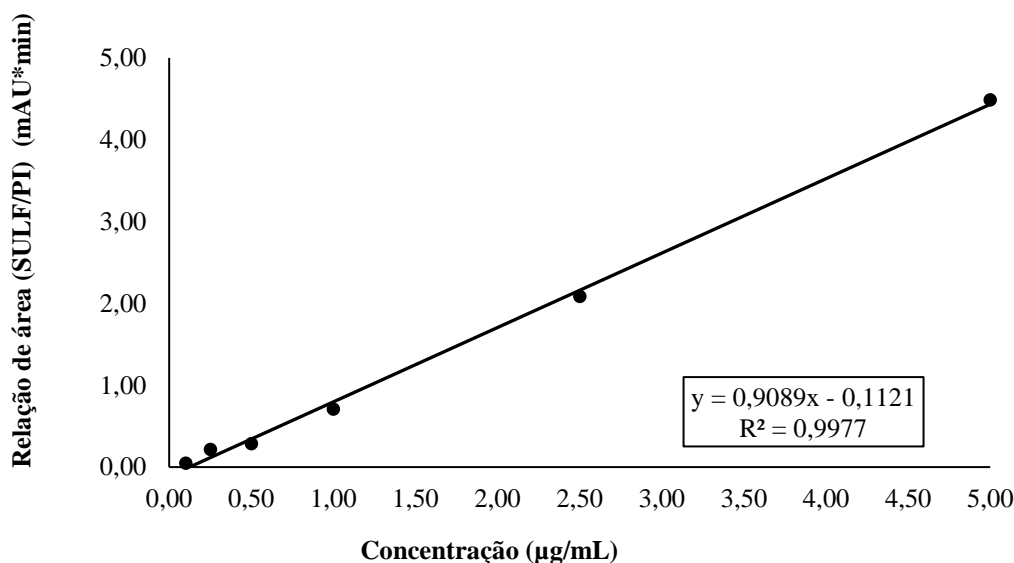


Figura 2 – Curva bioanalítica da relação de área do padrão analítico do Fipronil sulfona e padrão interno (Etiprol) em plasma de pôneis tratados com 1mg/kg de fipronil por via tópica “pour on”.

O modelo matemático de administração extra vascular não compartimental foi utilizado para a construção do perfil plasmático do fipronil, por ser o método de eleição na análise farmacocinética descritiva.

O fipronil administrado pela via tópica em cavalos, da raça pônei brasileiro, na dose de 1 mg/kg apresentou perfil farmacocinético com dois picos de $C_{\text{máx}}$ ($0,71 \pm 0,30$ e $0,56 \pm 0,27$ µg/mL com $T_{\text{máx}}$ em sete e 15 dias, respectivamente (Figura 3). Cid et al. (2016) ao administrarem 1m/kg de fipronil por via subcutânea em bovinos encontraram uma $C_{\text{máx}}$ de 0,37 µg/mL (378,06 ng/mL) com o $T_{\text{máx}}$ de apenas 10h, porem a $C_{\text{máx}}$ não ultrapassou 5 µg/mL (56,5 ng/mL) nos tempos de sete e 14 dias após o tratamento. A maior absorção observada no presente ensaio pode estar relacionada à fisiologia da espécie a animal em estudo e/ou também ao tipo de via de administração do fipronil.

O fipronil é biotransformado a fipronil sulfona por oxidação, sendo este o principal metabólito ativo do fipronil, apresentando toxicidade similar ao composto de origem, e atuando também como receptor GABA (WANG et al., 2016). A biotransformação pode ser percebida já no primeiro tempo de coleta, quatro horas após o tratamento, mas o metabólito só atinge sua $C_{\text{máx}}$ de $0,27 \pm 0,06$ µg/mL no 18º dia ($T_{\text{máx}} = 18 \pm 3,29$). Após o 16º dia de estudo a concentração da fipronil sulfona permaneceu aproximadamente quatro vezes maior que a concentração de fipronil até o tempo +48. Mesmo alterando a forma de administração o pico de $C_{\text{máx}}$ da fipronil sulfona é posterior ao do fipronil e a sua concentração permanece maior por mais tempo. Lacroix et al. (2010) observaram esse fato após a administração oral de fipronil em ratos. As eliminações, destes compostos podem ser consideradas lentas, pois apresentam altos $T_{1/2}$ $8,54 \pm 2,03$ e $42,06 \pm 23,02$ dias, respectivamente (Tabela 1). No estudo o tempo de meia vida da fipronil sulfona, quando comparada ao fipronil é aproximadamente cinco vezes maior, que demonstra uma liberação muito mais lenta.

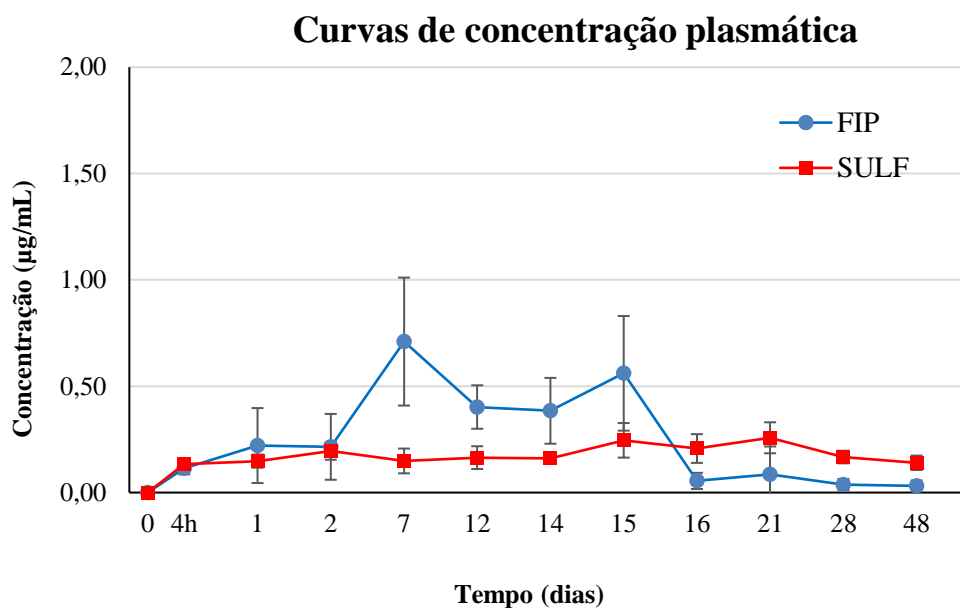


Figura 3 – Curva de concentração plasmática em plasma de pôneis (n=6) do Fipronil (FIP) e Fipronil sulfona (SULF) a partir de administração tópica “pour on” de fipronil na dose de 1mg/kg.

Tabela 1 – Parâmetros farmacocinéticos médios após a administração tópica “pour on” do fipronil em pôneis na dose única de 1mg/kg.

Parâmetros farmacocinéticos	Fipronil	Fipronil sulfona
$C_{máx1}$ (µg/mL)	$0,71 \pm 0,30$	$0,27 \pm 0,06$
$T_{máx1}$ (d)	$7,00 \pm 0,00$	$18,00 \pm 3,29$
$C_{máx2}$ (µg/mL)	$0,56 \pm 0,27$	-
$T_{máx2}$ (d)	$15,00 \pm 0,00$	-
AUC (µg/mL*d)	$13,50 \pm 7,50$	$8,42 \pm 1,29$
$T_{1/2}$ (d)	$8,54 \pm 2,03$	$42,06 \pm 23,02$

4.2. Estudo de eficácia Terapêutica

O número médio de teleóginas de *D. nitens* recuperadas dos animais dos grupos controle e tratado nos períodos pré-tratamento (dias -3 a -1) e pós-tratamento (dias 1 a 29) e a eficácia média carrapaticida diária do fipronil aplicado pela via tópica “pour on” no volume de 1mL/10kg, com dose de 1mg/kg estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 – Média do número de teleóginas de *Dermacentor nitens* recuperadas dos animais dos grupos controle e tratado nos períodos pré tratamento (dias -3 a -1) e pós-tratamento (dias 1 a 29). Eficácia diária e eficácia carrapaticida terapêutica do fipronil aplicado pela via tópica “pour on” na dose única de 1mg/ kg.

Dia	Média de teleóginas desprendidas						Eficácia (%)
	Controle			Tratado			
-3	26,66	±	20,04	37,57	±	25,25	-
-2	13,66	±	6,45	30,00	±	17,24	-
-1	13,50	±	10,45	22,71	±	9,76	-
Média (-3 a -1)	17,94	±	9,11 ^a	30,10	±	17,30 ^a	-
1	11,00	±	8,10	8,57	±	11,78	23,05
2	21,83	±	11,02	2,57	±	4,10	79,07
3	22,50	±	19,20	0,57	±	1,05	65,39
4	22,83	±	15,46	0,71	±	1,16	77,76
5	16,16	±	9,19	0,86	±	1,73	75,92
6	27,16	±	14,0	0,71	±	1,16	84,42
7	25,50	±	18,54	0,57	±	0,73	92,70
8	34,50	±	22,17	0,86	±	1,12	93,13
9	32,50	±	34,37	1,29	±	1,83	96,35
10	37,83	±	27,98	2,71	±	3,65	97,32
11	44,66	±	32,83	0,71	±	1,39	95,45
12	46,33	±	33,36	0,71	±	1,39	95,98
13	76,83	±	75,36	1,86	±	1,55	97,58
14	60,00	±	43,80	0,00	±	0,00	96,90
15	48,00	±	42,32	1,29	±	1,58	93,65
16	57,00	±	37,84	0,86	±	1,73	91,98
17	37,16	±	23,13	1,71	±	3,81	97,27
18	33,50	±	21,65	0,43	±	1,05	94,95
19	25,33	±	14,88	0,14	±	0,35	95,32
20	16,00	±	10,23	0,00	±	0,00	91,54
21	15,50	±	8,81	0,00	±	0,00	91,26
22	16,00	±	17,01	0,57	±	1,05	91,54
23	25,00	±	25,70	0,00	±	0,00	99,32
24	25,16	±	17,83	0,00	±	0,00	99,33
25	16,50	±	11,87	0,00	±	0,00	93,84

(continua)

(continuação)

Dia	Média de teleóginas desprendidas						Eficácia (%)
-----	----------------------------------	--	--	--	--	--	--------------

	Controle			Tratado			
26	21,50	±	15,26	0,00	±	0,00	93,70
27	14,50	±	4,35	0,00	±	0,00	96,50
28	6,66	±	4,61	0,00	±	0,00	79,69
29	6,00	±	3,06	0,00	±	0,00	88,71
Média (+1 a +29)	29,08	±	21,52^a	0,96	±	1,46^b	91,83
Média (+8 a +29)	31,55	±	23,91^a	0,61	±	0,95^b	95,26

^{ab} médias na mesma linha com letras iguais não diferem significativamente entre si ($p \geq 0,05$)

A média das contagens de teleóginas recuperadas nos três dias pré-tratamento (-3,-2,-1) foi de $17,94 \pm 9,11$ para o grupo controle e $30,10 \pm 17,30$ para o grupo tratado, não apresentando diferenças estatísticas significativas ($p=0,9549$). A ausência de diferença estatística entre os grupos no momento anterior ao tratamento, demonstra que os mesmos foram corretamente divididos, de forma que os resultados obtidos pós tratamento foram influenciados principalmente pela ação do produto.

O número médio de teleóginas recuperadas pós-tratamento no período experimental do dia +1 ao +29 variou de $6,00 \pm 3,06$ a $76,83 \pm 75,36$ para o grupo controle e de 0 a $8,57 \pm 2,18$ para o grupo tratado. A análise estatística referente a este período obteve um p-valor igual a 0,0001, demonstrando diferenças significativas entre as médias de teleóginas dos grupos tratados e controle. Os menores valores de eficácia média estavam entre os dias +1 e +5, com 23,05 e 75,92 %, respectivamente. No entanto, a eficácia média a partir do dia +8 foi superior a 95% ($p < 0,0001$), neste intervalo a eficácia máxima foi de 99,33% no dia +24 e a mínima de 79,69 % no dia +28.

O presente estudo foi realizado nos moldes do ensaio de teste estabulo da portaria nº 48 do MAPA (BRASIL, 1997) para bovinos, adaptado ao ciclo de *D. nitens* em cavalos. A recuperação de teleóginas desta espécie em infestações controladas nos equinos varia do 22º ao 30º dia pós infestação, com um pico de queda modal ao 26º dia. (DIAMANT e STRICKLAND, 1965; DRUMMOND et al., 1969; SANAVRIA; PRATA, 1996; RODRIGUES et al., 2016). O intervalo citado acima foi utilizado para a avaliação da eficácia terapêutica em *D. nitens* neste estudo, realizado do dia experimental +1 ao +29, uma vez que esse carrapato possui um ciclo mais longo quando comparado ao *R. microplus*, com ciclo parasitário de 23 dias (LABRUNA, 2008).

De acordo com a portaria nº 48 do MAPA (BRASIL, 1997), a eficácia carrapaticida terapêutica média dos 23 dias após o tratamento deve ser de no mínimo 95%. O presente estudo atingiu eficácia média de 91,83%, quando avaliada a queda entre os tempos +1 ao +29, contudo a eficácia média avaliada a partir do dia experimental +8 até o +29 apresentou uma eficácia de 95,83%, demonstrando a sobrevivência exemplares adultos ao tratamento, como observado na recuperação de fêmeas ingurgitadas oriundas do grupo tratado até o sexto dia. A menor ação do fipronil sobre os adultos presentes no animal foi observada também por Cid et al. (2016). Este fato pode estar relacionado ao menor tempo de exposição dos indivíduos nesta fase ao fipronil, sendo menor tempo de alimentação dos adultos até o desprendimento, associada às menores concentrações no sangue dos ativos nesse período.

Lopes et al. (2017) testaram o fipronil “pour on” a 1% em bovinos a campo e encontraram uma eficácia entre os dias +1 e +7 de 89,7%, já entre os dias +8 e +28 esse percentual foi superior a 99%. Já Davey et al. (1998) avaliaram a eficácia terapêutica e persistente do fipronil “pour on” em diferentes concentrações (0,25; 0,5 e 1%) frente *R. microplus* em teste de estábulo com bovinos e obtiveram eficácias de 82,2%, 94,3% e 99,7% respectivamente. Assim, como neste ensaio até o dia +7, também foram recuperadas teleóginas

em todas as concentrações em ambos os estudos, reforçando a teoria que o fipronil tem sua eficácia aumentada a partir do sétimo dia posterior a aplicação.

Os testes de estábulo são ensaios controlados e minimizam as variantes de tempo e contato direto com outros animais, fatores influenciadores na absorção do ativo na dose correta. Isso porque, produtos tópicos, mesmo que aplicados na dose determinada podem ter perdas na absorção pelo efeito das chuvas, do sol e também por lambedura de outros animais (DAVEY et al., 1998). Apesar de estes testes serem muito comuns para bovinos, são raros com equinos.

Tanto *D. nitens* como *R. microplus* são carrapatos monoxenos, ou seja, fazem ecdise de todas suas fases evolutivas em apenas um hospedeiro. Desta forma o teste de estábulo tradicional, sem infestações desafios após o tratamento, demonstra eficácia acaricida para diferentes formas evolutivas (larva /ninf /adulto) presentes sobre o animal no momento da aplicação do produto. Pelo protocolo da portaria nº 48 do MAPA, do dia experimental um, dia posterior ao tratamento, ao dia +23, é feita a avaliação da eficácia terapêutica pela análise das teleóginas desprendidas, e a partir destas é feita a eficácia sobre a eficiência reprodutiva.

Em *R. microplus* a eficácia encontrada no intervalo experimental entre os dias +1 e +7 é relacionada à ação adulticida do ativo, pois em média, esse carrapato leva sete dias para o ingurgitamento e ecdise de ninfa a adulto. Já, *D. nitens* demora uma média de 8 dias para a evolução entre os dois estágios (RODRIGUES et al., 2017). Sendo comum em estudos de eficácia acaricida, com ativos que necessitam de um tempo para serem absorvidos pelo organismo tanto em bovinos, como no presente estudo com equinos, menores percentuais de eficácias encontrados no intervalo experimental entre os dias +1 e +7, referente a uma menor eficácia adulticida, uma vez que esta é a fase mais resistente do carrapato.

As avaliações de eficiência reprodutiva das fêmeas ingurgitadas coletadas diariamente dos dois grupos experimentais até o dia +29, foram feitas com duas repetições de até 6 teleóginas cada, proveniente de cada grupo experimental, para essa avaliação utilizou-se os seguintes parâmetros: peso do grupo de teleógina, da postura e percentual de eclosão, assim como descrito por Drummond et al. (1973) e estabelecido pelo MAPA (BRASIL, 1997). Para avaliação da eficiência nutricional utilizou-se o peso do grupo de teleógina, da massa de ovos e da quenógina, de acordo pela fórmula descrita por Bennett et al. (1974). Os resultados referentes a esses dados encontram-se na tabela 3.

Tabela 3 – Média de peso de fêmea ingurgitada, de postura, do percentual de eclosão, da eficiência reprodutiva, do peso de quenógina e do índice nutricional dos grupos controle e tratado. E eficácia sobre a eficiência reprodutiva diária de *Dermacentor nitens* coletadas após tratamento com fipronil aplicado por via tópica “pour on” a 1mg/kg em cavalos.

Dia	Controle						Tratado						Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)
	Teleógina (g)	Postura (g)	Eclosão (%)	Eficiência Reprodutiva	Quenógina (g)	Índice Nutricional	Teleógina (g)	Postura (g)	Eclosão (%)	Eficiência Reprodutiva	Quenógina (g)	Índice Nutricional	
+1	0.337±	0.171 ±	89.0 ±	905629.5 ±	0.094 ±	70.4 ±	0.354 ±	0.060 ±	85.9 ±	293063.9 ±	0.203 ±	40.1 ±	67.64
	0.048	0.064	24.7	325652.0	0.040	20.9	0.053	0.086	16.7	374967.0	0.055	32.6	
+2	0.352±	0.182 ±	86.3 ±	892311.8 ±	0.097 ±	71.3 ±	0.346 ±	0.159 ±	89.1 ±	816392.7 ±	0.098 ±	63.8 ±	8.51
	0.062	0.065	27.1	365491.2	0.032	13.2	0.101	0.078	17.6	343965.3	0.026	22.3	
+3	0.348±	0.215 ±	98.0 ±	1211781.5 ±	0.082 ±	81.0 ±	0.300 ±	0.127 ±	92.1 ±	782914.0 ±	0.106 ±	65.6 ±	35.39
	0.052	0.032	1.3	124235.5	0.026	4.7	0.099	0.082	6.4	411212.9	0.050	29.3	
+4	0.333±	0.205 ±	95.5 ±	1176303.8 ±	0.070 ±	78.1 ±	0.334 ±	0.125 ±	80.9 ±	605437.3 ±	0.132 ±	61.8 ±	48.53
	0.055	0.045	4.1	99007.7	0.010	2.1	0.069	0.076	11.9	413974.1	0.073	29.7	
+5	0.345±	0.205 ±	94.8 ±	1124470.3 ±	0.082 ±	77.7 ±	0.302 ±	0.148 ±	94.6 ±	924874.4 ±	0.130 ±	85.8 ±	17.75
	0.055	0.044	4.2	143074.3	0.015	4.0	0.075	0.063	2.8	333379.0	0.151	39.4	
+6	0.342±	0.211 ±	95.7 ±	1179228.6 ±	0.077 ±	79.5 ±	0.306 ±	0.153 ±	88.6 ±	882217.7 ±	0.096 ±	72.6 ±	25.19
	0.053	0.067	3.7	246529.7	0.017	14.0	0.051	0.063	27.1	308999.4	0.048	5.0	
+7	0.288±	0.164 ±	93.9 ±	1066889.0 ±	0.071 ±	75.33 ±	0.215 ±	0.074 ±	78.0 ±	540363.6 ±	0.079 ±	54.8 ±	49.35
	0.055	0.051	7.4	300629.1	0.028	14.3	0.103	0.061	43.4	468514.9	0.068	27.7	
+8	0.286±	0.171 ±	96.4 ±	1150707.1 ±	0.062 ±	76.1 ±	0.146 ±	0.053 ±	78.5 ±	568866.6 ±	0.059 ±	60.7 ±	50.56
	0.059	0.051	2.8	176374.2	0.011	6.5	0.123	0.077	32.9	488736.1	0.062	34.2	
+9	0.347±	0.202 ±	94.4 ±	1100167.3 ±	0.064 ±	71.5 ±	0.241 ±	0.118 ±	94.1 ±	918726.7 ±	0.055 ±	63.3 ±	16.49
	0.095	0.046	2.7	121466.1	0.012	9.2	0.094	0.057	8.4	390089.0	0.020	24.4	
+10	0.339±	0.197 ±	91.8 ±	1067983.2 ±	0.085 ±	77.6 ±	0.295 ±	0.157 ±	66.0 ±	702460.5 ±	0.077 ±	72.1 ±	34.23
	0.045	0.069	7.1	371166.0	0.049	24.9	0.093	0.085	45.6	557679.0	0.013	45.5	
+11	0.336 ±	0.191 ±	92.3 ±	1052095.9 ±	0.078 ±	74.1 ±	0.263 ±	0.092 ±	77.1 ±	540116.7 ±	0.084 ±	51.7 ±	48.66
	0.049	0.049	4.4	213214.6	0.023	7.9	0.112	0.061	29.7	365390.6	0.042	19.9	
+12	0.351 ±	0.181 ±	95.8 ±	989996.8 ±	0.077 ±	66.2 ±	0.265 ±	0.100 ±	86.3 ±	650746.8 ±	0.091 ±	57.4 ±	34.27
	0.103	0.067	1.7	274200.7	0.031	14.4	0.073	0.065	12.8	348066.2	0.051	20.7	
+13	0.305 ±	0.179 ±	94.6 ±	1110314.9 ±	0.056 ±	72.0 ±	0.260 ±	0.132 ±	84.2 ±	856518.0 ±	0.069 ±	65.0 ±	22.86
	0.054	0.037	6.2	199433.1	0.011	9.2	0.115	0.075	31.1	360982.5	0.024	7.5	
+14	0.298 ±	0.171 ±	95.3 ±	1097000.9 ±	0.063 ±	76.0 ±	0.200 ±	0.095 ±	75.8 ±	722318.9 ±	0.053 ±	65.0 ±	34.16
	0.060	0.045	4.7	112736.3	0.013	18.2	0.092	0.064	33.6	415433.3	0.024	27.0	

(continua)

(continuação)

Dia	Controle						Tratado						Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)
	Teleóquina (g)	Postura (g)	Eclosão (%)	Eficiência Reprodutiva	Quenóquina (g)	Índice Nutricional	Teleóquina (g)	Postura (g)	Eclosão (%)	Eficiência Reprodutiva	Quenóquina (g)	Índice Nutricional	
+15	0.322 ± 0.067	0.196 ± 0.048	96.2 ± 2.9	1167631.5 ± 119559.8	0.071 ± 0.026	75.3 ± 5.3	0.280 ± 0.067	0.130 ± 0.069	88.4 ± 29.2	819831.5 ± 483244.2	0.071 ± 0.027	62.1 ± 27.7	29.79
	0.287 ± 0.052	0.162 ± 0.043	92.8 ± 7.1	1050851.7 ± 197689.0	0.073 ± 0.020	77.2 ± 19.6	0.251 ± 0.078	0.134 ± 0.062	81.4 ± 36.0	870465.4 ± 642266.0	0.062 ± 0.013	71.0 ± 35.4	
+16	0.309 ± 0.041	0.185 ± 0.058	85.8 ± 28.3	1026207.8 ± 417738.5	0.073 ± 0.011	73.4 ± 7.7	0.271 ± 0.111	0.140 ± 0.073	91.0 ± 10.4	936830.5 ± 282353.4	0.077 ± 0.036	71.7 ± 8.0	6.20
	0.282 ± 0.057	0.163 ± 0.045	96.9 ± 2.3	1119875.1 ± 175945.4	0.066 ± 0.013	77.4 ± 20.6	0.179 ± 0.105	0.084 ± 0.065	93.3 ± 3.5	869549.0 ± 512534.9	0.038 ± 0.017	59.2 ± 32.1	
+17	0.343 ± 0.046	0.192 ± 0.080	95.6 ± 2.2	1068325.2 ± 482543.4	0.095 ± 0.025	77.0 ± 4.6	0.161 ± 0.102	0.060 ± 0.077	94.8 ± 2.9	709280.8 ± 471409.9	0.053 ± 0.033	56.0 ± 29.8	93.93
	0.312 ± 0.078	0.172 ± 0.047	93.0 ± 1.8	1025984.0 ± 135518.1	0.077 ± 0.027	69.7 ± 9.2	0.088 ± 0.119	0.044 ± 0.082	58.7 ± 50.8	585004.7 ± 458640.9	0.046 ± 0.026	47.0 ± 32.6	
+18	0.293 ± 0.097	0.177 ± 0.054	93.2 ± 2.4	1125730.8 ± 325652.0	0.064 ± 0.012	77.1 ± 9.7	0.158 ± 0.106	0.061 ± 0.083	85.1 ± 11.9	653030.5 ± 384861.3	0.057 ± 0.050	60.1 ± 26.7	41.99
	0.294 ± 0.067	0.181 ± 0.049	94.4 ± 2.6	1163038.0 ± 365491.2	0.059 ± 0.011	78.6 ± 16.5	0.252 ± 0.132	0.100 ± 0.094	70.0 ± 39.6	555188.4 ± 486597.9	0.076 ± 0.049	56.7 ± 41.6	
+19	0.285 ± 0.058	0.149 ± 0.056	92.9 ± 4.0	968786.5 ± 124235.5	0.072 ± 0.014	74.9 ± 2.5	0.381 ± 0.000	0.214 ± 0.000	92.0 ± 0.0	1033490.8 ± 0	0.066 ± 0.000	67.9 ± 0.0	0.00
	0.367 ± 0.058	0.220 ± 0.057	94.1 ± 2.4	1127547.3 ± 99007.7	0.082 ± 0.020	64.4 ± 15.6	---	---	---	---	---	---	
+20	0.356 ± 0.087	0.218 ± 0.076	92.3 ± 8.1	1131591.0 ± 143074.3	0.079 ± 0.016	70.9 ± 43.3	0.322 ± 0.112	0.170 ± 0.072	86.8 ± 6.8	913937.2 ± 285413.6	0.082 ± 0.040	70.5 ± 11.0	19.23
	0.404 ± 0.054	0.248 ± 0.038	92.3 ± 10.2	1129824.7 ± 246529.7	0.074 ± 0.027	74.2 ± 7.9	0.239 ± 0.067	0.131 ± 0.048	67.2 ± 31.9	733340.3 ± 496965.0	0.053 ± 0.008	61.9 ± 23.9	
+21	0.329 ± 0.093	0.167 ± 0.067	88.3 ± 21.4	897047.9 ± 300629.1	0.069 ± 0.057	73.4 ± 7.7	0.367 ± 0.039	0.075 ± 0.046	92.3 ± 3.8	377041.7 ± 44773.4	0.204 ± 0.044	46.0 ± 3.2	0.00
	0.208 ± 0.118	0.094 ± 0.101	87.8 ± 25.2	791856.0 ± 176374.2	0.076 ± 0.019	77.4 ± 20.6	0.251 ± 0.110	0.144 ± 0.068	86.3 ± 10.9	990713.3 ± 171289.3	0.059 ± 0.025	75.0 ± 6.8	
+22	0.251 ± 0.099	0.160 ± 0.076	94.5 ± 4.0	1078959.1 ± 121466.1	0.065 ± 0.012	77.0 ± 4.6	0.277 ± 0.067	0.154 ± 0.045	84.8 ± 11.2	943876.4 ± 219960.6	0.064 ± 0.016	72.3 ± 4.4	12.52
	+1 ao +29	0.320 ± 0.037	0.184 ± 0.028	93.2 ± 3.1	1068901.3 ± 99581.3	0.074 ± 0.023	74.6 ± 3.8	0.261 ± 0.071	0.115 ± 0.042	83.7 ± 9.4	742735.7 ± 186809.1	0.084 ± 0.04	
+23	0.315 ± 0.040	0.181 ± 0.030	93.2 ± 2.9	1065523.8 ± 90594.2	0.072 ± 0.022	74.1 ± 3.7	0.245 ± 0.071	0.114 ± 0.043	82.6 ± 10.2	759587.4 ± 175298.8	0.071 ± 0.03	62.5 ± 8.24	29.28

Todos os parâmetros reprodutivos e nutricionais avaliados entre os grupos controle e tratado apresentaram diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os períodos do dia +1 ao +29 e do dia +8 ao +29, exceto a média de peso das quenóginas.

Nos 29 dias seguintes ao tratamento a média de peso das teleóginas foi de $0,320 \pm 0,037$ g para o grupo controle e $0,261 \pm 0,071$ g para o grupo tratado. Pode-se observar uma maior diferença no peso das fêmeas entre os grupos a partir do 7º dia após o tratamento. O peso médio das posturas foi de $0,184 \pm 0,030$ g para o grupo controle e $0,115 \pm 0,042$ g para o grupo tratado. Apesar de perceber maior diferença após os 7 primeiros dias o dia +1 é uma exceção, mesmo com teleóginas mais pesadas o grupo tratado teve uma média mais baixa de postura ($0,06 \pm 0,086$ g), em relação aos outros dias do ensaio. O percentual de eclosão médio do controle foi $93 \pm 3,1\%$ e $83,7 \pm 9,4\%$ para o tratado. O peso das quenóginas para ambos os grupos foram em torno de 0,070g. O índice nutricional foi de $74,6 \pm 3,8\%$ e $62,8 \pm 9,78\%$, respectivamente, para os grupos controle e tratado.

A eficácia sobre a eficiência reprodutiva foi em torno de 30%. E inferior em aproximadamente 50% da eficácia terapêutica (dia +1 ao +29). Os resultados demonstram que o uso do fipronil “pour on” na dose de 1mg/kg tem baixa eficácia em inibir reprodução, considerando a recuperação de teleóginas, que realizaram posturas viáveis, ou seja larvas que eclodiram dos ovos no grupo tratado em mais da metade dos dias experimentais é possível concluir que o fipronil não impede a reinfestação dos pastos.

O fipronil “pour on” a 1% em bovinos resultou em eficácia sobre o índice reprodutivo de 99,7%, com diferenças significativas na média de peso das teleóginas e posturas quando comparadas ao grupo controle (DAVEY et al., 1998). Cid et al. (2016) encontraram resultados inferiores a 50% ao avaliarem a ação de uma formulação subcutânea de fipronil na dose 1mg/kg, similares aos do presente estudo. Dados tão diferentes podem ser devidos ao local do estudo, a espécie do carrapato, o modo de aplicação, a espécie animal em estudo, ou ainda sugerir resistência populacional, assim como Lopes et al. (2017) propuseram após encontrarem eficácias terapêuticas discrepantes frente a *R. microplus* em bovinos tratados com fipronil “pour on” na dose de 1mg/kg em duas cidades diferentes de Minas Gerais. Os autores observaram alta eficácia terapêutica sobre a cepa de carrapato da cidade de Dourado, alcançando 99% a partir do 7º dia, enquanto em Formigas esta foi abaixo de 60%.

4.3. Estudo de eficácia residual ou persistente

As avaliações para determinar a eficácia persistente do fipronil foram baseadas em três infestações com intervalos semanais (D+7, D+14 e D+21), iniciando na semana seguinte pós o tratamento, para cada infestação eram usadas aproximadamente 1750 larvas por animal. Baseado no ritmo de ingurgitamento e padrão de desprendimento de teleóginas de *D. nitens* descrito por Labruna et al. (2006), com intervalo de 22 a 30 dias após a infestação, e pico de queda modal no 26º dia. O presente trabalho desconsiderou o primeiro e o último dia, formando um intervalo de 23 a 29 dias após a infestação dos animais, com sete dias de avaliação, mantendo-se a modal. E desta forma coincidindo com o intervalo de testes de estábulos de bovinos para mesma avaliação (BRASIL, 1997).

As fêmeas desprendidas entre +30 a +36 foram classificadas como originárias da infestação após 1ª semana do tratamento (D+7), entre + 37 a +43 são referentes à infestação do dia experimental +14 e consequentemente as teleóginas recuperadas de +44 a +50 relativas à infestação na terceira semana (D+21). Em dias experimentais pós tratamento o início da eficácia residual é referente ao dia + 30 e o final ao +50. As médias de queda de teleóginas referente aos três desafios de infestação e suas eficácias relativas estão relacionados na Tabela 4.

Tabela 4 – Média de queda de teleóginas desprendidas no intervalo de tempo de 30 a 50 dias após o tratamento referente a três desafios de infestação (D+7, D+14 e D+21) e suas respectivas eficácias persistente.

Grupos		Desafios de infestação					
		D+7		D+14		D+21	
Média de Teleóginas Recuperadas	Controle	14,55	±8,05	17,64	±12,94	17,60	±12,78
	Tratado	0,19	±0,23	0,14	±0,20	0,12	±0,13
Eficácia persistente		98,69		99,19		99,32	
p-valor		0,0039		0,0039		0,0039	

Os três desafios apresentaram eficácias acima de 98% com diferenças significantes entre os grupos tratado e controle. A eficácia sobre a eficiência reprodutiva foi avaliada assim como no período de avaliação da eficácia terapêutica, no entanto não foi possível avaliar estatisticamente a diferença entre as suas médias, porque as amostras provenientes do grupo tratado eram insuficientes. Os dados referentes aos índices reprodutivos e nutricional dos grupos controle e tratado, mais a eficácia residual sobre a eficiência reprodutiva encontram-se na tabela 5.

Tabela 5 – Média de peso de fêmea ingurgitada, de postura, do percentual de eclosão, da eficiência reprodutiva, do peso de quenógina e do índice nutricional dos grupos controle e tratado. E eficácia residual sobre a eficiência reprodutiva de *Dermacentor nitens* coletadas após tratamento com fipronil aplicado por via tópica “pour on” a 1mg/kg em cavalos.

Desafio	Controle						Tratado						Eficácia sobre a Eficiência Reprodutiva (%)
	Teleógin a (g)	Postura (g)	Eclosão (%)	Eficiência Reprodutiva	Quenógina (g)	Índice Nutricional (%)	Teleógin a (g)	Postura (g)	Eclosão (%)	Eficiência Reprodutiva	Quenógina (g)	Índice Nutricional (%)	
+7	0.326	0.178	94.8	1027312.4	0.077	71.1	0.263	0.147	91.3	930008.9	0.063	66.54	18.83
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	0.044	0.035	1.5	99359.6	0.025	4.3	0.104	0.082	3.9	414941.9	0.004	28.7	
+14	0.288	0.140	90.7	836021.8	0.07	61	0.313	0.165	89.8	913635.5	0.065	65.1	4.89
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	0.082	0.077	5.6	315994.5	0.03	16.8	0.122	0.074	8.1	109290.8	0.002	5.6	
+21	0.262	0.118	88.5	796175.4	0.081	58.7	0.317	0.178	94.3	1058188.3	0.070	71.54	1.29
	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	
	0.077	0.071	8.1	375833.1	0.022	26.5	0.103	0.058	2.9	35219.9	0.024	2.6	

Embora o controle completo de *D. nitens* não tenha sido alcançado, pois as fêmeas ingurgitadas recuperadas nessas três semanas conseguiram ovipor posturas viáveis, a recuperação de teleóginas no grupo tratado foi muito baixa, com uma média diária menor que um. A alta mortalidade das larvas utilizadas nas infestações, com consequente baixa recuperação de adultos pode ser relacionada à coincidência de infestações em picos de concentração plasmáticas, tanto do fipronil quanto do seu metabólito ativo (fipronil-sulfona). No primeiro desafio de infestação (D+7) a concentração média do fipronil no plasma dos cavalos era de 0,71 µg/mL, exatamente a $C_{máx1}$, já com 14 dias a concentração do somatório dos ativos, o fipronil mais a fipronil sulfona, chegam a 0,545 µg/mL e com 21 dias a sulfona atinge sua maior concentração plasmática chegando a 0,258 µg/mL que somada à concentração de fipronil no plasma chegam a 0,344 µg/mL. Cid et al. (2016) relataram a alta eficácia do fipronil sobre a fase de larvas de *R. microplus*, corroborando com os resultados obtidos neste estudo.

O controle total de reinfestação de carrapatos impede o desenvolvimento de resistência do hospedeiro ao parasito e aos patógenos que eventualmente esse pode transmitir. Os tratamentos racionais e estratégicos para controle não visam à eliminação total e sim a redução da infestação de forma gradual. Borges et al. (2002) observaram o desenvolvimento de resistência do cavalo a *D. nitens* durante estudo com correlação sazonal associada, além de perceber um desenvolvimento de resistência cruzada em cavalos com altas infestações de *D. nitens* e de *Amblyomma cajennense lato sensu*. Sendo assim, estudos de resistência e sazonalidade associados aos estudos de eficácia carrapaticida em cavalos são necessários para o desenvolvimento de estratégias eficientes no controle parasitário de equinos.

Atualmente são escassos estudos de eficácia acaricida em cavalos, sendo as permetrinas as bases com indicação em bula para controle de carrapatos em equinos. Cunha (2011) e Bello et al. (2008) avaliaram estratégias de controle integrado de *D. nitens*, baseada em banhos e aplicação de pasta carrapaticida nos pavilhões auriculares e divertículos nasais, com intervalos semanais, utilizando a cipermetrina na concentração de 0,015%. Ambos os autores constataram a eficácia dos tratamentos com a pasta carrapaticida, poremos cavalos não tratados nos divertículos nasais não impediram a reinfestação dos animais, reafirmando a hipótese sugerida por Labruna et al. (2001) e Cunha et al. (2007) que a infestação dessa área é suficiente para manter a população ambiental do carrapato, com animais se reinfestando mais rapidamente.

A utilização do fipronil acaricida tópico “pour on”, de ação sistêmica, com liberação lenta, eficaz e seguro ao cavalo diminui a necessidade de aplicações tópicas semanais facilitando o manejo de grandes plantéis, demandando menor custo de mão de obra.

5 CONCLUSÃO

O fipronil administrado pela via tópica “pour on” em cavalos da raça pônei brasileiro atinge a circulação sistêmica, sendo rapidamente absorvido, já sua eliminação é lenta e até o último dia de coleta o fipronil mantém níveis detectáveis no plasma. Os dois picos de concentração plasmática do fipronil associado a uma lenta eliminação fazem com que a biodisponibilidade do ativo no plasma seja alta, fator desejável para um antiparasitário, já que este terá um maior tempo de ação.

A metabolização do fipronil no seu ativo fipronil sulfona é rápida, sendo esta quantificada nas primeiras horas após o tratamento, apesar de apresentar um perfil de disponibilidade plasmática com baixa variação de concentrações, a fipronil sulfona tem um pico de concentração que coincide com a queda da concentração do fipronil e seu tempo de meia vida é aproximadamente 5 vezes maior, sendo quantificada em níveis significantes mesmo 48 dias após o tratamento. Seu $C_{\text{máx}}$ coincidindo com a queda do fipronil pode sugerir a relação da manutenção da eficácia elevada após o 16º dia experimental, onde as concentrações de fipronil no sangue já estão baixas.

No teste de eficácia carrapaticida terapêutica, em cavalos estabulados, o fipronil tópico “por on” aplicado sobre o dorso do equino na dose de 1mg/Kg demonstrou eficácia frente a *D. nitens*, mas esta aumentou a partir do 8º dia. Apesar de também observar eficácia sobre a eficiência reprodutiva, sua média foi baixa.

Quanto à eficácia persistente, os resultados encontrados sugerem baixo risco de reinfestação em equinos até 21 dias após o tratamento com fipronil, com eficácias superiores a 98%.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados avaliados de forma geral demonstram que o fipronil aplicado pela via tópica “pour on” se mostrou eficaz no controle do carrapato em cavalos. Um carrapaticida tópico de ação sistêmica com indicação para equinos se torna nova estratégia de controle quando comparado as tradicionais pastas de cipermetrinas.

A eliminação lenta e a alta biodisponibilidade dos ativos indicados na avaliação da curva de concentração plasmática garantiram uma eficácia residual acima de 98% nas 3 semanas avaliadas após o tratamento, que demonstram inibir a reinfestação dos animais nos pastos, podendo ser uma ferramenta pra controle de infestações ambientais inclusive para outros carrapatos como o *R. microplus*, ao qual sua eficácia já é comprovada, quando cavalos e bovinos dividem o mesmo pasto.

Avaliando o contexto sanitário, o carrapato é responsável por significantes perdas produtiva, direta e indiretamente, já que é vetor de doenças. Considerando a produção equina parte significativa do mercado agropecuário que detém importante participação no PIB nacional, além de ser um setor dinâmico e de alta movimentação de renda. Um controle sanitário eficiente minimiza os prejuízos à agropecuária do país, por isso novas estratégias de controle de carrapatos se fazem ferramentas imprescindíveis para esse controle.

Comprovada a hipótese de que o fipronil administrado por via “pour on” na dose de 1mg/kg de peso corporal aplicada em equinos atingiu a circulação sistêmica em níveis plasmáticos suficientes para produzir efeito carrapaticida frente a infestações de *D. nitens*. Estudos futuros são importantes para a determinação do tempo de eficácia residual do fipronil, já que o último tempo avaliado (D+44 a D+50) ainda apresentava uma eficácia média de 99,32%, que pode determinar um efeito residual maior que o já estudado. Além disso, estudos com associações de bases também são desejáveis para o prolongamento de eficácia e determinação de possíveis sinergismos aumentando a gama de ferramentas no controle de carrapatos em cavalos que se apresenta escassa no mercado atual.

A prática do produtor rural no uso de antiparasitários sem indicação comercial para equinos extrapolando as doses de bovinos corrobora a necessidade de estudos de eficácia em modelos experimentais vivos, visto que há demanda e que promoveria a segurança dos animais.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRADE, S. F.; SANTARÉM, V. A. Endoparasitoides e ectoparasitoides. In: ANDRADE, S. F. **Manual de terapêutica veterinária**. 2 ed. São Paulo: Roca, 2002, p. 437-476.
- ANTHONY, D. W. et al. The "Kurgan Culture," Indo-European origins, and the domestication of the horse: a reconsideration [and comments and replies]. **Current anthropology**, v. 27, n. 4, p. 291-313, 1986.
- ARAGÃO, H. B. Ixodídeos brasileiros e de alguns países limítrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, n. 4, p. 759-843, 1936.
- BARBOSA, F. C. et al. Eficácia anti-helmíntica da ivermectina em equinos: exames coproparasitológicos e hematológicos. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. 1-12, 2018.
- BARBOZA, H. T. G. et al. Compostos organofosforados e seu papel na agricultura. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 1, p. 172-193, 2018.
- BASTOS, K. M. S. et al. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a fase não parasitária de *Dermacentor (Anocentor) nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, n. 1, p. 29-32, 1996.
- BELLO, A. C. P. P. et al. Controle de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em equinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 59-63, 2008.
- BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae). I. Influence of tick size on egg production. **Acarologia**, Paris, v. 16, n. 1, p. 52-61, 1974.
- BENNETT, D.; HOFFMANN, R. S. *Equus caballus* Linnaeus, 1758 Horse. **Mammalian Species**, v. 628, p. 1-14, 1999.
- BORGES, L. M. F.; LEITE, R. C. Fauna Ixodológica do pavilhão auricular de equinos em municípios de Minas Gerais e da Bahia. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 50, n. 1, p. 87-89, 1998.
- BORGES, L. M. F. et al. Seasonal dynamics of the free-living phase of *Anocentor nitens* at Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 87, n. 1, p. 73-81, 1999.
- BORGES, L. M. F.; OLIVEIRA, P. R.; RIBEIRO, M. F. B. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 89, n. 3, p. 165-171, 2000.
- BORGES, L. M. F. et al. Horse resistance to natural infestations of *Anocentor nitens* and *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v. 104, n. 3, p. 265-273, 2002.
- BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging infectious diseases**, v. 4, n. 4, p. 605, 1998.

CASTRO-JANER, E. et al. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks (*Rhipicephalus (Boophilus) microplus*) using in vitro larval bioassays. **Veterinary Parasitology**, v. 173, n. 3-4, p. 300-306, 2010.

CID, Y. P. et al. Determination of fipronil in bovine plasma by solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet detection. **Química Nova**, v. 35, n. 10, p. 2063-2066, 2012.

CID, Y. P. et al. Injectable fipronil for cattle: Plasma disposition and efficacy against *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 220, p. 4-8, 2016.

CORGOZINHO, C. N. C. **Desenvolvimento de vacina baseada em Sistema de liberação sustentada contendo proteína recombinante**. 2008. 82f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, 2008.

CORREA, R. R.; RONCATI, N. V.; BONAGURA, G. Estudo da eficácia terapêutica do Dipropionato de Imidocarb no tratamento da Piroplasmose Equina. **A Hora Veterinária**, v. 24, n. 144, p. 53-58, 2005.

CUNHA A. P. **Controle integrado de parasitos em bovinos de leite e equinos**. 2011. 86f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária Preventiva). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2011.

DAVEY, R. B. et al. Therapeutic and persistent efficacy of fipronil against *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) on cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 74, n. 2-4, p. 261-276, 1998.

DAS, P. C. et al. Fipronil induces CYP isoforms and cytotoxicity in human hepatocytes. **Chemico-Biological Interactions**, v. 164, n. 3, p. 200-214, 2006.

DESPINS, J. L. Effects of temperature and humidity on ovipositional biology and egg development of the tropical horse tick, *Dermacentor (Anocentor) nitens*. **Journal of Medical Entomology**, vol.29, p.332-337, 1992.

DE CASTRO FARIA, A. B. Revisão sobre alguns grupos de inseticidas utilizados no manejo integrado de pragas florestais. **Ambiência**, v. 5, n. 2, p. 345-358, 2009.

DE LA FUENTE, J. et al. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Frontiers Bioscience**, v. 13, n. 13, p. 6938-6946, 2008.

DIAMANT, G.; STRICKLAND, R. K. **Manual on livestock ticks for animal disease eradication division personnel**. US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1965.

DIAMOND, J. M. The earliest horsemen. **Nature**, v. 350, n. 6316, p. 275-276, 1991.

DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted fever in Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 1, p. 103-108, 1939.

DRYDEN, M. W.; PAYNE, P. A. Biology and Control of Ticks Infesting Dogs and Cats in North America. **Veterinary Therapeutics**, v. 5, n. 2, p. 139-154, 2004.

DRUMMOND, R. O. et al. Laboratory study of *Anocentor nitens* (Neumann) (Acarina: Ixodidae), the tropical horse tick. **Journal of Medical Entomology**, v. 6, n. 2, p. 150-154, 1969.

DUARTE, M. D. et al. Intoxicações natural e experimental por amitraz em equídeos: aspectos clínicos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 3, p. 105-118, 2003.

EMA - EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Guideline on the use of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the development of antimicrobial medicinal products. EMA/CHMP/594085/2015. 2017

FALCE, H. C. Infestações múltiplas por ixodídeos (Acari: Ixodidae) em bovinos e equídeos no primeiro planalto do Estado do Paraná. **Revista do Setor de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 1, p. 11-13, 1986.

FAUSTINO, M.; RAMOS, J.; OLIVEIRA, M. Estudo comparativo de dados bioecológicos da fase não parasitária de *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae) (Neumann, 1897) em dois ambientes experimentais no Recife-PE. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 8, n. 1, p. 43-52, 2005.

FENET, H. et al. Fate of a phenylpyrazole in vegetation and soil under tropical field conditions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 3, p. 1293-1297, 2001.

FILAZI, A.; YURDAKOK-DIKMEN, B. Amitraz. In: GUPTA, R. C. (Ed.). **Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles**. 3rd ed. Academic Press, 2018. p. 525-531.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 2 ed. São Paulo: Nobel, 1977. 192p.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos: volume 1**. 2 ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

GUERRERO, F. D. et al. Acaricide research and development, resistance and resistance monitoring. **Biology of ticks**, v. 2, p. 353-381, 2014.

GUGLIELMONE, A. A. et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, n. 2, p. 83-100, 2006.

GUIMARÃES DA SILVA, C. L., et al. Efeito de diferentes teores de umidade sobre a biologia da fase de vida livre de *Anocentor nitens* (Neumann) Schulze, 1937 (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.6, n.1, p: 29-32, 1997;

GUZMÁN-CORNEJO, C. et al. The *Dermacentor* (Acari, Ixodida, Ixodidae) of Mexico: hosts, geographical distribution and new records. **ZooKeys**, v. 569, p. 1-22, 2016

HAINZL, D.; CASIDA, J. E. Fipronil insecticide: novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 23, p. 12764-12767, 1996.

HAINZL, D.; COLE, L. M.; CASIDA, J. E. Mechanisms for selective toxicity of fipronil insecticide and its sulfone metabolite and desulfinyl photoproduct. **Chemical Research in Toxicology**, v. 11, n. 12, p. 1529-1535, 1998.

HEUCHERT, C. M. S. et al. Seroepidemiologic studies on *Babesia equi* and *Babesia caballi* infections in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 85, p. 1-11, 1999.

HOLBROOK, A. A.; ANTHONY, D-W.; JOHNSON, A. J. The development of *Babesia caballi* (Nuttall) in the tropical horse tick, *Dermacentor nitens* Neumann. **The Journal of Protozoology**, v.15, p. 391-396, 1968.

HOVDA, L. R.; HOOSER, S. B. Toxicology of newer pesticides for use in dogs and cats. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 32, n. 2, p. 455-467, 2002.

JONES, W. E. **Genética e criação de cavalos**. São Paulo: Roca LTDA. 1987. 666p.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, S3-S14, 2004.

KARASEK, Inga et al. A review on the treatment and control of ectoparasite infestations in equids. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 43, n. 5, p. 421-428, 2020.

KELEKNA, P. **The horse in human history**. Cambridge: Cambridge University Press, 2009.

KERBER, C. E. et al. Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 4, p. 1-8, 2009.

KOLLER, W. et al. **Biologia e controle de *Dermacentor nitens*: o carrapato-da-orelha-do cavalo** [recurso eletrônico]. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte. 2017, 32p. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1077205/1/BiologiaecontroledeDermacentor.pdf>>. Acesso em: 26 de nov. de 2019.

LABRUNA, M. B. et al. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 97, p. 1-14, 2001.

LABRUNA, M. B. et al. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 65-77, 2002.

LABRUNA, M. B.; AMAKU, M. Rhythm of engorgement and detachment of *Anocentor nitens* females feeding on horses. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 316-332, 2006.

LABRUNA, M. B. Combate contra *R. (B.) microplus*. In: LABRUNA, M. B. **Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência**. São Paulo: MedVet, 2008.

LINTHICUM, K. J. et al. Venezuelan equine encephalomyelitis virus infection and transmission by the tick *Amblyomma cajennense* (Arachnida: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 28, p. 405-409, 1991.

LOPES, W. D. Z. et al. The effectiveness of a fixed-dose combination pour-on formulation of 1.25% fipronil and 2.5% fluazuron against economically important ectoparasites and associated pharmacokinetics in cattle. **Parasitology International**, v. 66, n. 5, p. 627-634, 2017.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo**. Brasília: MAPA. 2016. 56p.

MARTINS, T. F.; TEIXEIRA, R. H. F.; LABRUNA, M. B. Ocorrência de carrapatos em animais silvestres recebidos e atendidos pelo Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 52, p. 319-324, 2015.

MATSUDA, K. et al. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 11, p. 573-580, 2001.

MIZIARA S. R. et al. Ocorrência de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) em *Puma concolor* (Linnaeus, 1771), em Campo Grande, MS, Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ANIMAIS SILVESTRES E SELVAGENS, 4., Viçosa, 2007. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa / Univiçosa, p. 80-81, 2007. Resumo.

MORENO, E. C. **Incidência de ixodídeos em bovinos de leite e prevalência em animais domésticos da Região Metalúrgica de Minas Gerais**. 1984. 105f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 1984.

OBENCHAIN, F. D.; GALUN, R. (Ed.). **Physiology of ticks: current themes in tropical science**. Elsevier, 2013.

OIE. **Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2019 – CHAPTER 3.5.8 – Equine Piroplasmiasis**. Disponível em: <<http://www.oie.int/standard-setting/terrestrial-manual/access-online/>>. Acesso em: 26 de nov. de 2019.

PAYNE, P. A. et al. Effect of 0.29% w/w fipronil spray on adult flea mortality and egg production of three different cat flea, *Ctenocephalides felis* (Bouché), strains infesting cats. **Veterinary Parasitology**, v. 102, n. 4, p. 331-340, 2001.

PEREIRA, M. A. V. C. **Situação do parasitismo por *Babesia equi* (Laveran, 1901) e *Babesia caballi* (Nuttall & Strickland, 1912) em equinos da raça PSI, nos diferentes sistemas de manejo, no Estado do Rio de Janeiro**. 1999. 119f. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 1999.

RIBEIRO, J. M. C. How ticks make a living. **Parasitology Today**, v. 11, n. 3, p. 91-93, 1995.

ROBY, T. O.; ANTHONY, D. W. Transmission of equine piroplasmiasis by *Dermacentor nitens* Neumann. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 142, p.768-769, 1963.

RODRIGUES, V. S. et al. Life cycle and parasitic competence of *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, n. 3, p. 379-384, 2017.

- ROMASZKAN, G.; JUNQUEIRA, J. **O cavalo**. Belo Hozitonte: Itatiaia LTDA. 1992. 281p.
- RUST, M. K. Advances in the control of *Ctenocephalides felis* (cat flea) on cats and dogs. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 5, p. 232-236, 2005.
- SANAVRIA, A.; PRATA, M. C. A. Ensaio metodológico para estudo do ciclo biológico do *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em eqüinos experimentalmente infestados. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 5, n. 2, p. 91-93, 1996.
- SÁNCHEZ-BAYO, F. Ecological Impacts of Inseticides. In: PERVEEN, F. (Ed.) **Insecticides: Advances in Integrated Pest Management**. InTech. 2012. p. 31-90. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/ecological-impacts-of-insecticides>>. Acesso em: 26 de nov. de 2019.
- STAHL, B. J. **Vertebrate history problems in evolution**. New York: Dover Publications. 1985. 503p.
- TAYLOR, M. A. Recent developments in ectoparasitocides. **The Veterinary Journal**, v. 161, p. 253-268, 2001.
- THOMPSON, P. H. Ticks as vectors of equine piroplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 155, p. 454-457, 1969.
- TINGLE, C. C. et al. Fipronil: environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v.176, p. 1-66, 2003.

ANEXOS

ANEXO A – Certificado da Comissão de Ética no Uso dos Animais -CEUA/ UFRRJ nº 2524181218 – Manutenção de colônia laboratorial do carrapato *Dermacentor nitens* em pôneis



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

Comissão de Ética no
Uso de Animais
Instituto de Veterinária



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Manutenção de colônia laboratorial do carrapato *Dermacentor nitens* em pôneis", protocolada sob o CEUA nº 2524181218 (ID 001237), sob a responsabilidade de **Fabio Barbour Scott** e equipe: *Raphael Comissário Melo; Gabriela Ferreira de Oliveira; Gabriela Ferreira de Oliveira; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Raphael Comissário Melo; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges; Debora Azevedo Borges; Barbara Rauta de Avelar; Debora Azevedo Borges; Barbara Rauta de Avelar; Gabriela Ferreira de Oliveira; Gabriela Ferreira de Oliveira; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges; Debora Azevedo Borges; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 26/04/2019.

We certify that the proposal "Maintenance of laboratory colony of *Dermacentor nitens* tick in mini horse", utilizing 20 Equines (males and females), protocol number CEUA 2524181218 (ID 001237), under the responsibility of **Fabio Barbour Scott** and team: *Raphael Comissário Melo; Gabriela Ferreira de Oliveira; Gabriela Ferreira de Oliveira; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Raphael Comissário Melo; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges; Debora Azevedo Borges; Barbara Rauta de Avelar; Debora Azevedo Borges; Barbara Rauta de Avelar; Gabriela Ferreira de Oliveira; Gabriela Ferreira de Oliveira; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges; Debora Azevedo Borges; Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 04/26/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **05/2019 a 05/2023**

Área: **Parasitologia Animal**

Origem: **Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da UFRRJ**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 8 anos**

N: **20**

Linhagem: **Pônei**

Peso: **100 a 200 kg**

Local do experimento: Será realizado na área de campo do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Km 07 da BR 465, Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. As instalações ficam localizadas no Anexo I do Instituto de Veterinária. O endereço da UFRRJ é Km 7 da BR 456, Seropédica, RJ, CEP 23890-000.

Seropédica, 12 de dezembro de 2019

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Carlos Alexandre Rey Matias
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

ANEXO B – Certificado da Comissão de Ética no Uso dos Animais -CEUA/ UFRRJ
nº 5859270619 – Manutenção de colônia laboratorial do carrapato *Dermacentor nitens* em pôneis



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**
Instituto de Veterinária



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Controle de *Dermacentor nitens* em pôneis artificialmente infestados", protocolada sob o CEUA nº 5859270619 (ID 001404), sob a responsabilidade de **Fabio Barbour Scott e equipe: Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges; Raphael Comissário Melo** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 30/08/2019.

We certify that the proposal "Dermacentor nitens control in artificially infested brazilian mini horse", utilizing 21 Equines (males and females), protocol number CEUA 5859270619 (ID 001404), under the responsibility of **Fabio Barbour Scott and team: Marisa Beatriz da Silva Rocha; Debora Azevedo Borges; Raphael Comissário Melo** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 08/30/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **09/2019 a 03/2020**

Área: **Parasitologia Animal**

Origem: **Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O.Neitz, DPA/IV/UFRRJ**

Espécie: **Equídeos**

sexo: **Machos e Fêmeas**

Idade: **1 a 10 anos**

N: **21**

Linhagem: **pônei brasileiro**

Peso: **100 a 300 kg**

Local do experimento: O ensaio será realizado nas dependências do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária e na área de campo do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV) do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Km 07 da BR 465, Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. As instalações ficam localizadas no Anexo I do Instituto de Veterinária. O endereço da UFRRJ é Km 7 da BR 456, Seropédica, RJ, CEP 23890-000.

Seropédica, 12 de dezembro de 2019

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Carlos Alexandre Rey Matias
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro