**UTILIZAÇÃO DE TRIFENILFOSFÁTO** **COMO INIBIDOR ENZIMÁTICO NA CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA ÀS LACTONAS MACROCÍCLICAS EM *RHIPICEPHALUS MICROPLUS,* NO SEMIÁRIDO NORDESTINO**

Ana Maria dos Santos **LIMA¹**; Jordania Oliveira **SILVA²;** Larissa Claudino **FERREIRA**³; Basílio Felizardo de Lima **NETO4;** Thais Ferreira **FEITOSA5;** Vinícius Longo Ribeiro **VILELA6**

1Graduanda em Medicina Veterinária - IFPB, campus Sousa. E-mail: ana-lima.al@academico.ifpb.edu.br

2 Graduanda em Medicina Veterinária - IFPB, campus Sousa. E-mail: oliveira.jordania@academico.ifpb.edu.br

3 Graduando em Medicina Veterinária - IFPB, campus Sousa. E-mail: basilio.felizardo@academico.ifpb.edu.br

4 Mestre, docente em Medicina Veterinária – IFPB, campus Sousa. E-mail: larissa.claudino@ifpb.edu.br

5 Pós-Doutora, docente em Medicina Veterinária – IFPB, campus Sousa. E-mail: thais.feitosa@ifpb.edu.br

6Pós-Doutor, docente em Medicina Veterinária – IFPB, campus Sousa, campus Sousa; docente do Programa de

Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, UFCG, campus Patos. E-mail: vinicius.vilela@.ifpb.edu.br

**Resumo:** Este estudo visou realizar bioensaios utilizando o teste de imersão larval em populações de Rhipicephalus microplus resistentes a lactonas macrocíclicas, empregando o inibidor enzimático Trifenilfosfato (TFF) como sinergista e investigando os mecanismos metabólicos envolvidos na resistência, no Semiárido do Nordeste. Questionários foram aplicados em fazendas de Sousa-PB e Icó-CE para caracterização das propriedades, aproximadamente 100 teleóginas foram coletadas e enviadas ao Laboratório de Parasitologia Veterinária do Instituto Federal da Paraíba para eclosão. As larvas foram submetidas a testes de imersão com ivermectina e moxidectina, com e sem TFF. As análises do Teste de Imersão Larval (TIL) e Probit confirmaram o desenvolvimento de resistência e o grau de sinergismo entre TFF e lactonas macrocíclicas. Conclui-se que o Trifenilfosfáto demonstrou eficácia no manejo da resistência as lactonas macrocíclicas, mas sua eficácia variou conforme o acaricida e o nível de resistência, evidenciando a necessidade de abordagens personalizadas para cada população.

**Palavras-chave:** TFF; Sinergista; Ivermectina; Teste de imersão larval.

**Introdução:**

A infestação pelo carrapato *Rhipicephalus microplus* é um grande desafio para a pecuária no Brasil devido ao clima que favorece sua reprodução e infestação, impactando a produtividade dos bovinos. Esses parasitos causam irritação e podem transmitir patógenos como *Anaplasma spp.* e *Babesia spp.*. O controle geralmente é feito com produtos químicos, sendo as lactonas macrocíclicas, como ivermectina, doramectina e moxidectina, as mais utilizadas pelos produtores (Kuntuz et al. 2023). Contudo, a ampla acessibilidade e baixo custo desses produtos têm contribuído para o desenvolvimento de resistência. A resistência em artrópodes pode ocorrer por mecanismos como a alteração de alvos moleculares dos acaricidas ou a desintoxicação metabólica. Por isso, estudos têm sido realizados para associar compostos, como trifenilfosfato, na tentativa de potencializar acaricidas.

Diante disto, esse estudo objetivou realizar bioensaios de teste de imersão larval em populações de *R. microplus* resistentes, utilizando o inibidor enzimático Trifenilfosfato (TFF)

como possível sinergista e investigar mecanismos metabólicos envolvidos na resistência, no Semiárido do Nordeste do Brasil.

**Metodologia:**

Para a realização deste estudo, foi aplicado um questionário em fazendas de Sousa-PB e Icó-CE para caracterizar as propriedades, incluindo sistema de criação, raça, fármacos e manejo. Foram coletadas cerca de 100 teleóginas de bovinos que estavam há pelo menos 30 dias sem acaricida tópico e 45 dias sem injetável. As teleóginas foram transportadas para o Laboratório de Parasitologia Veterinária do Instituto Federal da Paraíba, lavadas, secas e incubadas a 27-28°C e 85-90% de umidade relativa para ovoposição. Após duas semanas, os ovos foram coletados e incubados nas mesmas condições para eclosão das larvas.

A técnica de imersão larval (LIT) para biensaios com os ingredientes ativos (IA) ivermectina e moxidectina foi realizada conforme o protocolo descrito por Klafke et al. (2017). Para comparar os resultados, os mesmos acaricidas foram diluídos e neles foi acrescentada uma concentração de trifenilfosfato a 0,001%. Os bioensaios com e sem o trifenilfosfato (TFF) foram mantidos câmara BOD a 27-28ºC e 85-90% de umidade relativa, por 24 horas. Após esse período, a mortalidade das larvas é determinada pela contagem dos indivíduos mortos e vivos, considerando como mortos as larvas paralisadas ou com movimentação mínima.

Para análise dos resultados dos TIL, foi utilizado a análise Probit, usando o software Polo-Plus (LeOraSoftware, 2003). Para cada teste, foram estimados os seguintes parâmetros: CL50 (50% concentração letal) com seus intervalos de confiança de 95% (95% IC). O fator de resistência foi calculado comparativamente, em relação à cepa suscetível (POA), e a CL50 para cada população de campo, foi determinada por meio do Teste de pacote larval, com e sem uso de Trifenilfosfato. O fator de sinergismo foi calculado a partir dos resultados dividindo o acaricida CL50 sem TFF pelo o acaricida CL50+TFF.

**Resultados e discussão:**

Na aplicação do questionário, observou-se que em ambas as propriedades estudadas, os produtos "Colosso" (Cipermetrina e 30% de Clorpirifós) e Ivomec eram utilizados para controle de parasitas, sendo escolhido com base no conhecimento dos criadores ou recomendações de balconistas de farmácia veterinária. O uso constante e inadequado de ivermectina como vermífugo e acaricida levou ao desenvolvimento de carrapatos resistentes a lactonas macrocíclicas, concordando com os resultados de Vilela et al. (2020), em propriedades no Semiárido do Nordeste. As análises obtidas através do TIL e Probit, confirmam esse desenvolvimento de resistência e mostram o grau de sinergismo entre trifenilfosfato e Ivermectina e moxidectina (Tabela 1 e 2).

Na tabela 1, a população de referência POA é bastante suscetível à ivermectina, com uma CL50 de 26,2 ppm, conforme esperado. Em contraste, a população ICÓ-CE é mais resistente, com uma CL50 de 475,11 ppm, que diminui para 277,53 ppm com a adição de TFF, resultando em um fator de sinergismo (FS) de 1,71. A população SOUSA-PB apresenta alta resistência, com CL50 de 2591,33 ppm, reduzida para 564,97 ppm com TFF, mas o FS é baixo (0,22), indicando que TFF tem efeito limitado nesta população. Esses resultados indicam que o TFF pode reduzir a resistência à ivermectina em algumas populações de carrapatos, embora seu impacto varie dependendo da resistência inicial da população.

Tabela 1 – Resistência a Ivermectina e fatores de sinergismo em populações de *Rhipicephalus microplus* nos Estados da Paraíba e Ceará, Brasil, avaliados com e sem o uso de Trifenilfosfáto (TFF), por meio do teste de imersão larval.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **População** | **Tratamento** | **N° (L.U)** | **X2 (df)** | **Slope (S.E.)** | **CL50 (IC 95%) (ppm)** | **RR** | **FS** |
| **POA** | IVM | 2087 | 165.17 (12) | 2.865 (0.154) | 26.2 (15.3-39.4) | - | - |
| **ICÓ-CE** | IVM | 2214 | 119.95 (21) | 3.238(0.151) | 475.11 (389.115-568.969) | 18.1336 | - |
| IVM+TFF | 1849 | 1019.5 (21) | 1.319 (0.066) | 277.532 (67.400-987.696) | - | 1.712 |
| **SOUSA-PB** | IVM | 2571 | 305.53 (21) | 1.779(0.092) | 2591.333 (483.022-1104.932) | 98.9058 | - |
| IVM+TFF | 2387 | 131.46 (21) | 1.545 (0.065) | 564.971(425.922-734.278) | - | 0.218 |

N°=larvas utilizadas; X2=qui-quadrado; df: grau de liberdade; Slope(S.E) = Erro padrão, CL50=concentração letal em partes por milhão de ingrediente ativo; IC = Intervalo de confiança; FR = Fator de resistência- CL50 população teste/CL50 cepa susceptivel de referência- POA; FS = Fator de sinergismo-CL50 IVM/CL50 IVM+TFF.

Na Tabela 2, a adição do inibidor de esterases TFF reduziu significativamente a CL50 da população ICÓ-CE para moxidectina, de 133.882 ppm para 39.982 ppm, com um fator de sinergismo (FS) de 3,348. Isso indica que a resistência nessa população está fortemente associada à atividade aumentada de esterases, que desempenham um papel crucial na metabolização dos acaricidas e na conferência de resistência aos carrapatos (Gall et al. 2018). Em contraste, a população SOUSA-PB mostrou uma redução mínima na CL50, de 50.167 ppm para 50.443 ppm, resultando em um FS de 0,001, sugerindo mecanismos de resistência diferentes. Esses achados ressaltam a importância de considerar o papel das esterases e a utilização de inibidores enzimáticos em estratégias de manejo da resistência a acaricidas.

Tabela 2 – Resistência a Moxidectina e fatores de sinergismo em populações de *Rhipicephalus microplus* nos Estados da Paraíba e Ceará, Brasil, avaliados com e sem o uso de Trifenilfosfáto (TFF), por meio do teste de imersão larval.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **População** | **Tratamento** | **N° (L.U)** | **X2 (df)** | **Slope (S.E.)** | **CL50 (IC 95%) (ppm)** | **RR** | **FS** |
| **POA** | MOX | 2788 | 23.476 (19) | 10.454 (0.695) | 0.2 (0.2-0.3) | - | - |
| **ICÓ-CE** | MOX | 2168 | 450.91 (21) | 2.904 (0.130) | 133.882(83.173- 208.766) | 669.91 | - |
| MOX+TFF | 1721 | 145.37 (16) | 5.128 (0.284) | 39.982 (33.152 -49.268) | - | 3.348 |
| **SOUSA-PB** | MOX | 2038 | 18.514 (13) | 10.594 (0.678) | 50.167 (46.024- 54.064) | 250.83 | - |
| MOX+TFF | 1764 | 13.518 (16) |  7.070 (0.403) | 50.443(47.754 -53.165) | - | 0.001 |

N°=larvas utilizadas; X2=qui-quadrado; df: grau de liberdade; Slope(S.E) = Erro padrão, CL50=concentração letal em partes por milhão de ingrediente ativo; IC = Intervalo de confiança; FR = Fator de resistência- CL50 população teste/CL50 cepa susceptivel de referência- POA; FS = Fator de sinergismo-CL50 MOX/CL50 MOX+TFF.

**Conclusão**:

Conclui-se que o Trifenilfosfáto pode ser eficaz contra a resistência a lactonas macrocíclicas em *Rhipicephalus microplus*, principalmente em casos de alta resistência. No entanto, sua eficácia varia conforme o acaricida e o nível de resistência, o que exige testes preliminares e individualizados.

**Referências Bibliográficas:**

GALL, et al. Detoxifcation mechanisms involved in ivermectin resistance in the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Scientific Reports,** v.8, 2018.

KLAFKE, G. et al. Multiple resistance to acaricides in field populations of Rhipicephalus microplus from Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Ticks and tick-borne diseases,** v. 8, p.73-80,2017.

KUNTUZ et al. Navigating the Resistance: Current Perspectives on Ectoparasite Control in Veterinary Medicine. **Journal of Istanbul Veterinary Sciences**, v.7, p.56-6, 2023.

VILELA, V.L. et al. Multiple acaricide-resistant *Rhipicephalus microplus* in the semi-arid region of Paraíba State, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, 2020.