**AVALIAÇÃO DO BUTÓXIDO DE PIPERONILA COMO INIBIDOR ENZIMÁTICO NA RESISTÊNCIA DE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* ÀS LACTONAS MACROCÍCLICAS NO NORDESTE**

Larissa Claudino **FERREIRA¹**; Ana Maria dos Santos **LIMA²**; Jordania Oliveira **SILVA³;** Luana Carneiro de **SOUSA4**; DácillaJamily Lúcio **DANTAS5**; Thais Ferreira **FEITOSA6;** Vinícius Longo Ribeiro **VILELA7**

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

2Graduanda em Medicina Veterinária - IFPB, campus Sousa. E-mail: ana-lima.al@academico.ifpb.edu.br

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

4 Especializanda em Análises Clínicas veterinárias - IFPB, campus Sousa. E-mail:luanacarneiro683@gmail.com

5 Graduanda em Medicina Veterinária - IFPB, campus Sousa. E-mail: dacilla.lucio@academico.ifpb.edu.br

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

7Pós-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:** A infestação por Rhipicephalus microplus causa grandes prejuízos econômicos na pecuária brasileira. O controle é feito principalmente com acaricidas, como lactonas macrocíclicas, porém o uso contínuo leva ao desenvolvimento de resistência. O butóxido de piperonila (PBO) pode inibir enzimas relacionadas a resistência, aumentando a eficácia de acaricidas. Por isso, este estudo coletou carrapatos em Icó-CE e Cachoeira dos Índios-PB para testar a resistência a lactonas macrocíclicas com e sem PBO. Foram coletadas teleóginas para obtenção dos ovos e posteriormente as larvas, para assim realizar os Teste de Imersão Larval. Após análise dos dados, pode-se concluir que PBO reduziu significativamente a resistência, especialmente em ICÓ-CE, aumentando a toxicidade dos acaricidas, porém outros mecanismos de resistência podem estar presentes.

**Palavras-chave:** Carrapatos, teste de imersão larval, enzimas, mecanismos, citocromoP450.

**Introdução:**

*Rhipicephalus microplus* é um carrapato que infesta bovinos, causando grandes prejuízos econômicos na pecuária brasileira devido ao clima favorável à sua reprodução. O controle desse parasito geralmente realizado com acaricidas, como as lactonas macrocíclicas, porém esse uso contínuo leva ao desenvolvimento de resistência. A resistência surge através de mecanismos genéticos e evolutivos, onde alelos resistentes se tornam mais comuns após múltiplas aplicações de acaricidas.

Os mecanismos de resistência em artrópodes incluem mutações em receptores, alterações comportamentais e desintoxicação metabólica mediada por enzimas, como citocromo P450. Inibidores como o butóxido de piperonila (PBO) podem bloquear essas enzimas, aumentando a eficácia dos acaricidas.

Sabendo-se que ocorre o uso exacerbado e há alta resistência das lactonas macrocíclicas na região semiárida do Nordeste (VILELA et al, 2020), este trabalho teve o intuito de realizar caracterização da resistência à lactonas macrocíclicas, utilizando o inibidor enzimático PBO em populações de *Rhipicephalus microplus* da Paraíba e Ceará, através do Teste de Imersão Larval (TIL).

**Metodologia:**

As populações utilizadas foram coletadas em Icó-CE e Cachoeira dos Índios-PB. Em cada propriedade, foram coletadas cerca de 100 teleóginas ingurgitadas dos bovinos que estavam há pelo menos 30 dias sem acaricida tópico e 45 dias sem acaricida injetável. As teleóginas foram levadas ao Laboratório de Parasitologia Veterinária do Instituto Federal da Paraíba, lavadas, secas e incubadas para ovoposição em B.O.D. Após duas semanas, os ovos foram coletados e incubados para eclosão das larvas, que foram utilizadas para bioensaios após 21 dias.

O Teste de imersão larval (TIL) foi realizado com ivermectina e moxidectina, seguindo o protocolo de Klafke et al. (2017). Os acaricidas foram testados com e sem Butóxido de piperonila a 0,01%. Os bioensaios foram mantidos nas mesmas condições que os ovos e as larvas, na temperatura 27-28°C e 85-90% de umidade relativa por 24 horas, após esse período a mortalidade das larvas foi determinada contando-se as larvas mortas e vivas.

O software Polo-Plus (LeOraSoftware, 2003) foi utilizado para analisar os dados obtidos. 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 TIL, com e sem uso de butóxido de piperonila. O fator de sinergismo(FS) foi calculado a partir dos resultados dividindo o acaricida CL50 sem PBO pelo o acaricida CL50+PBO.

**Resultados e discussão:**

Na tabela 1 pode-se observar que as populações de *Rhipicephalus microplus* de ICÓ-CE e CACHOEIRA DOS ÍNDIOS-PB apresentam alta resistência à ivermectina em comparação à população de referência POA. A adição de butóxido de piperonila (PBO) reduziu significativamente a resistência em ambas as populações resistentes, com um efeito sinérgico mais acentuado na população de ICÓ-CE (FS = 3.353) em comparação à população de CACHOEIRA DOS ÍNDIOS-PB (FS = 1.761). Esses resultados sugerem que o PBO pode ser uma ferramenta eficaz para aumentar a eficácia da ivermectina em populações de carrapatos resistentes, especialmente onde a resistência é mais alta.

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 Butóxido de Piperonila (PBO), 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 | 2.214 | 119.95 (21) | 3.238 (0.417) | 475.110 (403.945- 551.571) | 18.133 | - |
| IVM+PBO | 2.311 | 10.517 (21) | 6.127 (0.323) | 141.657 (134.694- 148.770) | - | 3.353 |
| **CACHOEIRA DOS INDIOS-PB** | IVM | 3.395 | 229.05 (22) | 2.688 (0.095) | 607.882 (509.050- 718.999 | 23.202 | - |
| IVM+PBO | 3.503 | 147.59 (21) | 1.864 (0.057) | 345.043 (287.633-408.778) | - | 1.761 |

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 susceptível de referência- POA; FS = Fator de sinergismo-CL50 IVM/CL50 IVM+PBO.

Na Tabela 2, pode-se observar que as populações de ICÓ-CE e CACHOEIRA DOS ÍNDIOS-PB mostraram alta resistência à moxidectina, com fatores de resistência (RR) de 669.91 e 287.02, respectivamente. Para este acaricida, a adição de butóxido de piperonila (PBO) também resultou em uma redução significativa na CL50 em ambas as populações resistentes, indicando um efeito sinérgico. O fator de sinergismo (FS) foi maior na população ICÓ-CE (FS = 1.706) em comparação com a população CACHOEIRA DOS ÍNDIOS-PB (FS = 1.161). Esses resultados sugerem que o PBO pode ser uma ferramenta eficaz para reduzir a resistência à moxidectina em populações de carrapatos resistentes, embora a eficácia varie entre as populações. Assim, a combinação de moxidectina com PBO pode ser considerada uma estratégia para o controle de carrapatos resistentes.

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 Butóxido de Piperonila (PBO), 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+PBO | 2.220 | 285.50 (21) | 3.898 (0.212) | 78.462 (62.535-100.344) | - | 1.706 |
| **CACHOEIRA DOS INDIOS-PB** | MOX | 1683 | 28.151(13) | 8.777 (0.751) | 57.404 (8.777- 0.751) | 287.02 | - |
| MOX+PBO | 1.254 | 14.451 (10) |  7.274 (0.377) | 49.423 (14.451-52.185) | - | 1.161 |

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 susceptível de referência- POA; FS = Fator de sinergismo-CL50 MOX/CL50 MOX+PBO.

O butóxido de piperonila, que é específico para inibir a atividade do citocromo P450 (MILLER et al., 1999; LI et al., 2010)., demonstrou aumentar sinergicamente a toxicidade desses acaricidas. Na população ICÓ-CE, a resistência à ivermectina e à moxidectina foi significativamente reduzida com a adição de PBO, sugerindo que o citocromo P450 desempenha um papel importante na resistência dessa população. Isso é corroborado pelo fator de sinergismo (FS) elevado, que indica uma redução significativa na CL50. A população CACHOEIRA DOS ÍNDIOS-PB também apresentou redução na resistência com a adição de PBO, embora em menor grau, indicando que, além do citocromo P450, outras enzimas como esterases e glutationa-S-transferases podem estar envolvidas na resistência.

**Conclusão**:

Pode-se concluir que o butóxido de piperonila atua como inibidor enzimático e pode aumentar a eficácia de ivermectina e moxidectina, reduzindo a resistência de *Rhipicephalus microplus*. No entanto, a variação na redução da resistência sugere que outros mecanismos metabólicos, como esterases e glutationa-S-transferases, também podem contribuir para a resistência, destacando a importância de uma abordagem integrada no manejo da resistência aos acaricidas

**Referências Bibliográficas:**

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.

LI, A. Y. et al. Laboratory Evaluation of Verbutin as a Synergist of Acaricides Against Larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae), **Journal of Economic Entomology**, v. 103, p. 1360–1364, 2010.

MILLER, R.J. Characterization of pyrethroid resistance and susceptibility to coumaphos in Mexican *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medicine and Entomology,** v. 36. p. 533-538, 1999.