

UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS - UCG  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS - UEG  
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS - UNIEVANGÉLICA

**Avaliação da atividade do novaluron, sobre  
*Boophilus microplus* (Canestrini)  
em bovinos de corte naturalmente infestados**

**Gladstone Santos de Souza**

Goiânia

2009

**UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS - UCG  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE GOIÁS - UEG  
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE ANÁPOLIS - UNIEVANGÉLICA**

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO NOVALURON, SOBRE  
*Boophilus microplus* (CANESTRINI)  
EM BOVINOS DE CORTE NATURALMENTE INFESTADOS**

Orientado: Gladstone Santos de Souza  
Orientador: Prof. Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino

Dissertação do Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa  
e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica.

Goiânia  
2009

Souza, Gladstone Santos de, 1964 -  
Avaliação da atividade do novaluron, sobre *Boophilus microplus*  
(Canestrini) em bovinos de corte naturalmente infestados. Gladstone  
Santos de Souza. 2009.

44p.: il.

Orientador: Gilberto Lucio Benedito de Aquino

Dissertação (mestrado) – Universidade Católica de Goiás - Universidade  
Estadual de Goiás - Centro Universitário de Anápolis

Bibliografia: p.

1. Carrapato - Dissertação. 2. *Boophilus microplus*. 3. Benzoilfeniluréia –  
Dissertação. 4. Novaluron – Dissertação. 5. Bovinos de corte –  
Dissertação. I. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino. II. Universidade  
Católica de Goiás - Universidade Estadual de Goiás - Centro Universitário  
de Anápolis. III. Título



UNIVERSIDADE  
**Católica**  
DE GOIÁS

PRÓ-REITORIA DE  
PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
Av. Universitária, 1069 • Setor Universitário  
Caixa Postal 86 • CEP 74605-010  
Goiânia • Goiás • Brasil  
Fone: (62) 3946.1071 • Fax: (62) 3946.1073  
www.ucg.br • prope@ucg.br

DISSERTAÇÃO DO MESTRADO PROFISSIONAL EM GESTÃO,  
PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM TECNOLOGIA  
FARMACÊUTICA

DEFENDIDA PELO MESTRANDO GLADSTONE SANTOS DE  
SOUZA, EM 11 DE MAIO DE 2009 E aprovado COM A  
NOTA 9,0 (nove) PELA BANCA EXAMINADORA.

1) Dr. Gilberto Lúcio Benedito de Aquino / UEG (Presidente)

2) Dra. Caridad Noda Perez / UEG (Membro Interno)

3) Dra. Paula Melo Martins / UNIFAN (Membro Externo)

A minha família que tanto colaborou com  
minha formação pessoal e profissional.  
Aos professores que dividiram comigo seu conhecimento  
e aos colegas de estudo que tornaram essa  
caminhada de aprendizado mais divertida.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos professores do mestrado: Ademir João Camargo, Antônio Pasqualetto, Arédio Teixeira Duarte, Caridad Noda Pérez, Dulcinea Maria B. Campos, Edilson Pinheiro Peixoto, Fabiane Hiratsuka Souza, Gilberto Lucio Benedito de Aquino, Hamilton Barbosa Napolitano, Leonardo Guerra de Rezende Guedes, Lúcio Mendes Cabral e Wilker Ribeiro Filho, pelo profissionalismo, conhecimentos compartilhados e serenidade que nos dedicaram durante o decorrer do mestrado.

Aos colegas de mestrado: Adriana Ferreira Brunier, Adriano Magno Dias Fonseca, Anderson José Gomes Faraco, Aparecida Gomes dos Santos Lousa, Cristiano Elias Dutra, Francisco Capuzo, Georges Hajjar Júnior, Leonardo Doro Pires, Lilian dos Santos Castro, Myrelle Duarte da Costa Magalhães, Roberta Costa e Sousa e Wolney Cardoso da Silva que tornaram essa caminhada mais fácil e divertida.

Aos companheiros da Empresa Makteshin Agan Industries: Amir Ellenbogen, Avner Barazani, Kobi Barkai, Ivan Albuquerque e Virgílio Vicino, que nos confiaram à responsabilidade de trabalhar com essa fantástica molécula que é o novaluron.

Aos companheiros da Empresa Clarion Biociências Ltda.: Gisele Beffart, Meiryellen Vinhal e Murilo Albernaz que trabalharam arduamente nossos processos preliminares de desenvolvimento das formulações utilizadas no experimento e Antônio Rondon, gerente da fazenda Acará e finalmente ao amigo e irmão Dr. Wesley José de Souza, Médico Veterinário, que muito colaborou na elaboração e acompanhamento dos protocolos de testes utilizados neste projeto.

## RESUMO

### **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DO NOVALURON, SOBRE *BOOPHILUS MICROPLUS* (CANESTRINI) EM BOVINOS DE CORTE NATURALMENTE INFESTADO**

**GLADSTONE SANTOS DE SOUZA (PG)<sup>(1,2)</sup>; MURILO CAETANO DE PAULA ALBERNAZ (PQ)<sup>2</sup>; MEIRYELLEN VINHAL (PQ)<sup>2</sup>; WESLEY JOSÉ DE SOUZA (PQ)<sup>4</sup>; GILBERTO LUCIO BENEDITO DE AQUINO (PQ)<sup>(1,3)</sup>**

<sup>(1)</sup>Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento Tecnologia Farmacêutica, UCG

<sup>(2)</sup>Clarion Biociências Ltda.

<sup>(3)</sup>Curso de Farmácia, UnUCET, UEG

<sup>(4)</sup>CEFET-Goiás

O carrapato bovino é o ectoparasita que causa o maior prejuízo à agropecuária brasileira, e o seu controle é realizado basicamente através de produtos químicos, os quais vêm perdendo eficácia com o passar do tempo. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficácia de uma formulação transdérmica, desenvolvida pelo laboratório Clarion Biociências Ltda. contendo o fármaco novaluron, frente ao carrapato *Boophilus microplus* em animais naturalmente infestados. Os animais utilizados no experimento foram mantidos a pasto com predomínio de *Brachiaria brizantha*, água, ração e sal mineral foram fornecidos *ad libitum*. A formulação contendo novaluron foi testada em cinco posologias diferentes: 5,0; 2,5; 1,66; 1,25 e 1,0mg/kg de peso vivo, em dose única comparativamente a um grupo placebo e controle. O peso dos animais do experimento variou de 290 a 339kg. Somente as posologias de 5,0 e 2,5mg/kg atenderam os requisitos mínimos. A avaliação dos perfis plasmáticos das posologias de 2,5 e 5,0mg/kg de novaluron, apresentaram os seguintes resultados respectivamente: pico de concentração ( $C_{max}$ ) foi de 378 e 396ng/mL; o tempo para obtenção do pico de concentração ( $T_{max}$ ) foi de 4 dias para ambas as posologias e a área sobre a curva de concentração plasmática (ASC) > 100ng foi de 28 e 42 dias. Com base nos resultados de eficácia e análise do perfil plasmático, concluiu-se que a posologia de 2,5mg/kg apresentou uma melhor relação custo/benefício. Posteriormente foi realizada eficácia da formulação de novaluron 5% na posologia de 2,5mg/kg de peso vivo em dose única comparativamente ao produto comercial fluazuron, formulação contendo 2,5% de fluazuron na posologia de 2,5mg/kg em dose única comparadas ao grupo controle. Os resultados para os dois produtos foram semelhantes. Concluiu-se que formulação contendo 5% de novaluron na posologia de 2,5mg/kg possui os requisitos de segurança, eficácia e econômicos que viabilizam estudos complementares para registro e comercialização.

**Palavras chave:** Bovino de corte, carrapato bovino, *Boophilus microplus*, benzoilfeniluréia, fluazuron, novaluron, clarion.

## ABSTRACT

**EVALUATION OF THE ACTIVITY OF THE NOVALURON ON A *BOOPHILUS MICROPLUS* (CANESTRINI) IN BEEF CATTLE NATURALLY INFESTED**  
**GLADSTONE SANTOS SOUZA(PG)<sup>(1,2)</sup>; MURILO CAETANO DE PAULA ALBERNAZ(PQ)<sup>2</sup>; MEIRYELLEN VINHAL (PQ)<sup>2</sup>; WESLEY JOSÉ DE SOUZA(PQ)<sup>4</sup>, GILBERTO LUCIO BENEDITO DE AQUINO (PQ)<sup>(1,3)</sup>**

<sup>(1)</sup>Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento Tecnologia Farmacêutica, UCG

<sup>(2)</sup>Clarion Biociências Ltd.

<sup>(3)</sup>Curso de Farmácia, UnUCET, UEG

<sup>(4)</sup>CEFET-Goiás

The bovine tick is the ectoparasite that causes the greatest prejudice to Brazilian farming and cattle raising, and its control is realized basically through chemical products, which are losing effectiveness over time. This work aimed to evaluate the efficacy of a transdermal formulation, developed by the laboratory Clarion Biociências Ltd. It contains the medicine novaluron, against the tick *Boophilus microplus* in naturally infested animals. Animals used in the experiment were kept in a pasture with *Brachiaria brizantha* ascendancy, water; animal food and mineral salt were supplied *ad libitum*. The formulation containing novaluron was tested in five different dosages: 5.0; 2.5; 1.66; 1.25 and 1.0mg/kg of live weight in a single dose compared to a placebo group and control. The weight of the animals of the experiment varied from 290 to 339kg. Only the dosages of 5.0 and 2.5mg/kg attended the least requisites. The evaluation of the plasmatic profiles of the dosages of 2.50 and 5.00mg/kg of novaluron, presented the following results respectively: concentration peak ( $C_{max}$ ) was 378 and 396ng/mL; the time for obtainment of the concentration peak ( $T_{max}$ ) was 4 days for both dosages and the area on the plasmatic concentration curve(ASC) > 100ng was 28 and 42 days. Based on the results of efficacy and analysis of the plasmatic profile it was concluded that the 2.5mg/kg dosage presented a better relation cost/ benefit. Afterwards it was realized the efficacy of the formulation of novaluron 5% in the dosage of 2.5mg/kg live weight in a single dose comparatively to the commercial product fluazuron, formulation containing 2.5% of fluazuron in the dosage of 2.5mg/kg in a single dose compared to the group control. The results for the two products were alike. It was concluded that a formulation containing 5% of novaluron in the 2.5mg/kg dosage owns the safety requisites, efficacy and economic which make feasible complementary studies for register and commercialization.

**Keywords:** Cut bovine, bovine tick, *Boophilus microplus*, benzoylphenyl ureas, fluazuron, novaluron, clarion.



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Número de teleóginas presentes nos animais de cada grupo no dia do tratamento, dia zero .....	33
Tabela 2	Análise de variância realizada com os dados da Tabela 1 .....	33
Tabela 3	Média do número de teleóginas presentes nos animais dos grupos tratados em comparação aos grupos: placebo e controle .....	34
Tabela 4	Eficácia comparativa dos grupos tratados com novaluron nas doses de 1mL para: 10, 20, 30, 40 e 50kg de peso vivo em relação ao grupo placebo e controle .....	35
Tabela 5	Média por grupo da concentração em ng/mL de novaluron encontrada no plasma dos animais tratados nas doses de 1mL/10kg e 1mL/20kg de peso vivo .....	36
Tabela 6	Número de teleóginas (>4mm) presentes nos animais tratados com novaluron na dose de 1mL/20kg de peso vivo.....	37
Tabela 7	Comparação do nível de infestação entre o grupo tratado com o novaluron na dose de 1mL/20kg de peso vivo e fluazuron na dose de 1mL/10kg de peso vivo .....	38
Tabela 8	Comparação da eficácia entre o grupo tratado com novaluron na dose de 1mL/20kg de peso vivo e fluazuron na dose de 1mL/10kg de peso vivo.....	39

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Fêmea ingurgitada de <i>Boophilus microplus</i> , teleóquina, fixada na pele de bovino .....	15
Figura 2	Esquema do ciclo de vida do carrapato <i>Boophilus microplus</i> .....	16
Figura 3	Teleóquina realizando postura.....	17
Figura 4	Fórmula estrutural da quitina .....	19
Figura 5	Fórmula estrutural do diflubenzuron .....	21
Figura 6	Fórmula estrutural do fluazuron, principal acaricida benzoilfeniluréia, comercializado no mercado veterinário internacional .....	22
Figura 7	Fórmula estrutural do grupamento feniluréia .....	23
Figura 8	Reação entre uma amina aromática e o fosgênio para produzir um composto isocianato .....	23
Figura 9	Novaluron, acaricida benzoilfeniluréia, objeto do presente trabalho.....	24
Figura 10	Biotransformação do novaluron em ruminantes .....	25
Figura 11	Animais acondicionados em pasto com pivot central.....	26
Gráfico 1	Média do número de teleóginas presentes nos animais dos grupos tratados em comparação aos grupos: placebo (6) e controle (7).....	34
Gráfico 2	Perfil plasmático de duas formulações contendo novaluron em duas posologias diferentes administrada em dose única .....	36

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1.	Histórico .....	12
1.2.	Importância econômica .....	12
<b>2.</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>15</b>
2.1.	Carrapato do boi: classificação.....	15
2.2.	Carrapato do boi: ciclo de vida .....	16
2.3.	Classificação dos acaricidas com importância veterinária .....	18
2.4.	Reguladores e inibidores do desenvolvimento de insetos e ácaros .....	18
2.5.	Benzoilfeniluréia .....	19
2.6.	Benzoilfeniluréia e seus mercados .....	20
2.7.	Benzoilfeniluréia no mercado veterinário .....	21
2.8.	Benzoilfeniluréia e biofarmácia .....	22
2.9.	Síntese dos benzoilfeniluréias .....	23
2.10.	Novaluron .....	23
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
3.1.	Delineamento do experimento .....	26
3.1.1.	Primeira etapa: Determinação da dose terapêutica do novaluron em animais naturalmente infestados por carrapatos. ....	27
3.1.2.	Segunda etapa: comparação da curva plasmática da formulação com 5% de novaluron em duas diferentes posologias .....	28
3.1.3.	Terceira etapa: avaliação da eficácia carrapaticida à campo da formulação contendo novaluron comparativamente ao produto fluazuron, formulação contendo fluazuron versus o grupo controle .....	31
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>33</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>6.</b>	<b>SUGESTÕES .....</b>	<b>41</b>
<b>7.</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>42</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Histórico.**

O carrapato bovino *Boophilus microplus* é originário da Ásia. Em função das expedições exploradoras registradas na história, movimentação de animais e mercadorias, ocorreu a sua difusão para regiões tropicais e subtropicais como: África, Austrália, América Central e América do Sul. Tendo se adaptado nas regiões climáticas demarcadas pelos paralelos 32° Norte e 32° Sul, com alguns focos no paralelo 35° Sul (NUÑES; MUÑOZ; MOLTEDO, 1982).

Na Grécia Antiga o carrapato era conhecido como o nome de Croton, ou seja semelhante à mamona, e, pela mesma razão também foi denominado na Antiga Roma com o nome de Ricinus. Existem relatos sobre o carrapato desde o ano 77 d.C., onde foi citado, por Plínio, como hematófago em sua *Historia Naturalis*. A designação genérica *Boophilus* do grego "amigo do boi", foi introduzida por Curtice, em 1891, sendo o *Boophilus microplus* a única das 5 espécies conhecidas como presente no Brasil (PEREIRA, 1982).

No Brasil, sua introdução parece ter se dado pela vinda de animais comprados do Chile, no início do século XVIII, via o estado do Rio Grande do Sul, encontrando-se distribuído atualmente em todo o país, variando de intensidade de acordo com as condições climáticas e os tipos raciais de bovinos explorados (GONZALES, 1995).

### **1.2. Importância econômica.**

O rebanho bovino brasileiro possui aproximadamente 207 milhões de cabeças (IBGE, 2005). A bovinocultura brasileira tem como finalidade fornecer proteína de origem animal para a população e gerar divisas através de exportações, tais como: carne *in natura* e seus derivados, embutidos e enlatados, leite e seus derivados, couro para confecção de sapatos e peças de vestuário, cartilagem bovina para confecção de ornamentos para indústria têxtil e alimentos para pequenos animais, colágeno para indústria alimentícia e cosméticos, derivados biliares para síntese de matérias-primas para indústria farmacêutica bem como a gordura para indústria química (BONI, 2008).

Para se obter uma produtividade satisfatória na produção agropecuária deve-se levar em consideração três fatores fundamentais:

- Qualidade da alimentação fornecida ao rebanho incluindo suplementação de deficiências de vitaminas e minerais, de acordo com a idade, região e categoria dos animais envolvidos.
- Seleção adequada de características genéticas favoráveis ao tipo de produção desejada, por exemplo, animais de origem zebuína se adaptam melhor em regiões com elevada temperatura do que animais de origem européia.
- Garantia da sanidade através de tratamentos curativos frente a quaisquer alterações sanitárias que venham acometer o rebanho como: verminoses, infecções e parasitoses. Outra forma é através de tratamentos profiláticos por meio de vacinações e programas estratégicos de controle de infecções fúngicas, virais e bacterianas bem como infestações por endoparasitas e ectoparasitas.

O *Boophilus microplus* é o ectoparasita que causa maior prejuízo a agropecuária brasileira. Ao alimentar-se do sangue do animal inocula toxinas na corrente circulatória desse e dependendo dos casos pode transmitir pelo menos dois agentes infecciosos o *Anaplasma sp* e a *Babesia sp*, causando uma doença chamada de “complexo da tristeza parasitária bovina” (TPB) (FARIAS, 1995, KESSLER, 2001). Doença que causa elevada mortalidade em animais jovens em todo Brasil. Animais submetidos a longos períodos de infestação por carrapatos têm baixa produção de carne e de aproveitamento do seu couro. O carrapato ao fixar-se no animal, introduz um órgão quitinoso e serrilhado denominado de hipostômio que lesiona o couro, favorecendo infestação posterior por míases cutâneas além de reduzir o valor comercial do mesmo (KESSLER; SCHENK, 1998).

A produção de carne e leite no Brasil no ano de 2007 alcançou valores próximos à R\$ 49 bilhões. Sendo que desse total R\$ 16,2 bilhões advém da produção de leite e R\$ 32,8 bilhões da produção de carne (ZURITA, 2008). Estudos realizados mostraram que o carrapato causa prejuízo a agropecuária brasileira na ordem de R\$ 5 bilhões, aproximadamente 10% do valor gerado em receitas. Portanto, o controle do carrapato implica diretamente no aumento da produtividade do rebanho nacional (SEAGRO, 2005).

Atualmente o controle do carrapato é realizado basicamente por meio de produtos químicos dos grupos: organofosforados, piretróides, e fenilpirazólicos

(BOOTH; MCDONALD, 2004). Esses produtos são aplicados diretamente nos animais nas seguintes formas: aspersão, banhos de imersão, *pour-on* pela via dermal e pelas vias transdérmica, injetável e as avermectinas utilizadas por via oral (CAMPBELL, 1989). O uso inadequado de alguns desses produtos pode levar ao desenvolvimento de linhagens resistentes a esses princípios ativos (CASIDA, et. al., 1983). Os principais problemas relacionados com o controle químico de carrapatos são: desenvolvimento de linhagens resistentes de carrapatos, aparecimento de resíduos químicos nos produtos de origem animal (principalmente leite e carne), intoxicação direta do ser humano que lida com esses produtos químicos além de acarretar poluição ambiental proveniente do uso de acaricidas utilizados nesse controle (BULLMAN; MUÑOS; AMBRÚSTOLO, 1996).

Vários princípios ativos vêm perdendo eficácia com o passar do tempo, sendo que alguns desses atualmente não conseguiriam o índice mínimo de eficácia estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento para registro de carrapaticidas, que é de 95% (FERREIRA, et al., 2006). A única categoria de produto que obtém uma eficácia satisfatória para o controle do carrapato, não apresenta resistência e nem oferece riscos a seres humanos, são os produtos do grupo benzoilfeniluréia. Representado no mercado brasileiro pelo princípio ativo fluazuron, que possui as marcas comerciais Acatak® Pour-on (Novartis) e Contratack® Pour-on (Clarion). O princípio ativo fluazuron é produzido em escala industrial com o objetivo exclusivo de atender ao mercado veterinário. Com isso o seu custo é elevado, deixando os produtos comerciais acima citados com valores de mercado significativamente elevados. Sendo assim utilizados por uma pequena parcela de pecuaristas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Carrapato do boi: classificação.

Para uma melhor compreensão deste parasita é necessário conhecer um pouco de seus hábitos. O *Boophilus microplus*, é um parasita monoxeno, isto é, depende apenas de um hospedeiro em seu ciclo de vida, preferencialmente os bovinos (CORDOVÉS, 1997). Ocasionalmente outras espécies podem comportar-se como hospedeiros, entre os quais búfalos, jumentos, ovinos, caprinos e outros (KESSLER; SCHENK, 1998).

De acordo com Flechtmann (1990) o *Boophilus microplus* (Figura 1) possui a seguinte posição sistemática:

Filo – Arthropoda, Von Siebold & Slannius, 1845;

Subfilo – Chelicerata, Heymons, 1901;

Classe – Aracnida, Lamarck, 1802;

Subclasse – Acari, Leach, 1817;

Ordem – Parasitiformes, Renter, 1909;

Subordem – Metastigmata, Canestrini, 1891;

Ixodides, Leach, 1815;

Família – Ixodidae, Murray, 1887;

Gênero – *Boophilus*, Canestrini, 1887

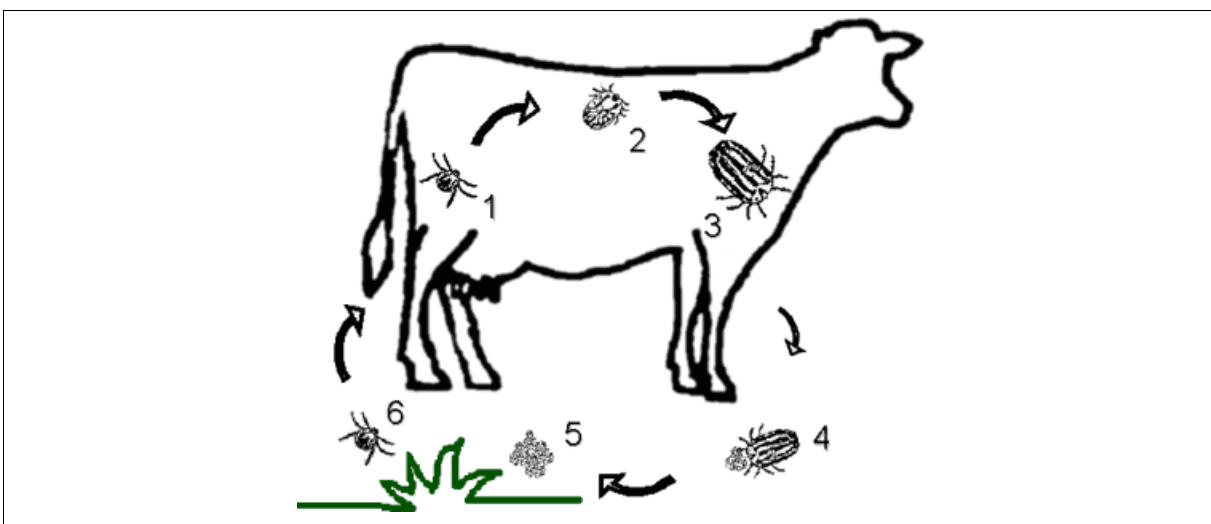


**Figura 1.** Fêmea ingurgitada de *Boophilus microplus*, teleógina, fixada na pele de bovino.  
Fonte: PEREIRA, 1998

## 2.2. Carrapato do boi: ciclo de vida.

O ciclo de vida do *Boophilus microplus* apresenta duas fases distintas: fase de vida livre ou não parasitária, que se inicia com o desprendimento da teleógina do hospedeiro (4) e a sua queda ao solo. No solo ela inicia ovopostura (5), que posteriormente eclodirão destes ovos as larvas infestantes (6). As larvas subirão no capim e voltarão a fixar na pele do bovino (1) iniciando um novo ciclo.

Na fase parasitária a larva infectante (1), realiza a fixação nos bovinos, transformando se subsequentemente em ninfa (2), passando depois para o estágio final que é a teleógina (3). O tamanho da teleógina varia de 1,9 a 2,5 mm de comprimento por 1,1 a 1,6 mm de largura antes de ingurgitar e atingir 13 mm de comprimento por 8 mm de largura quando ingurgitada. (Figura 2).



**Figura 2:** Esquema do ciclo de vida do carrapato *Boophilus microplus*.  
Fonte: KESSLER; SCHENK, 1998.

A teleógina inicia a postura em média três dias após sua queda ao solo, com período de postura por volta de 15 dias (Figura 3). O peso total dos ovos, após o término da postura, equivale aproximadamente 52% do peso vivo da teleógina. No sexto dia após a eclosão, a larva do carrapato está pronta para subir nas pastagens, localizando o hospedeiro pelo odor, vibrações do solo, sombreamento, estímulo visual e gradiente de concentração de CO<sub>2</sub> (SONENSHIME, 1993). Ao alcançar o hospedeiro a larva infectante, fixa-se em regiões do corpo que favorecem seu desenvolvimento, tais como: úbere, mamas, regiões perineal, barbela, vulvar e entre as pernas. Essas regiões preferenciais de fixação são determinadas em função da



espessura, vascularização e temperatura da pele, bem como pela dificuldade de acesso às lambidas do hospedeiro (WAGLAND, 1978).



**Figura 3.** Teleógina realizando postura.  
Fonte: PEREIRA, 1998

O período de larva é o mais vulnerável a baixas temperaturas. No entanto, em presença de alta umidade relativa às larvas podem sobreviver até 8 meses na pastagem (mesmo em baixas temperaturas) (HITCHCOCK, 1955). Em condições favoráveis, a fase de vida livre dura em torno de 32 dias, durante os quais o carrapato não se alimenta e sobrevive exclusivamente das suas reservas (GONZALES, 1995).

As larvas de *Boophilus microplus* alimentam-se preferencialmente de plasma (do sangue, o carrapato separa os componentes celulares ficando somente com o plasma), apenas nos momentos que precedem o rápido ingurgitamento das ninfas, é que o sangue torna-se o principal constituinte alimentar, chegando a ingerir nessa fase por volta de 0,2 a 0,4mL de sangue por dia (BENNET, 1974). O acasalamento acontece a partir do 17° dia que se segue à infestação (LONDT; ARTHUR, 1975) com rápido ingurgitamento após a cópula, nas horas que antecedem a queda do hospedeiro. A fêmea do *Boophilus microplus* ingere de 0,5 a 3,0mL de sangue (FURLONG, 1993).

As condições ambientais e o grau de resistência do hospedeiro influenciam na duração do ciclo de vida do carrapato (ROBERTS, 1968). O fato de maior relevância é que aproximadamente 95% do número de carrapatos em uma propriedade está no pasto e os outros 5% está no animal (DOUBLE; KEMP, 1979).

### **2.3. Classificação dos acaricidas com importância veterinária.**

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

Acaricida antibiótico (avermectinas e milbemicinas), difenílicos, carbamato, carbazato, difenólicos, formamidínicos (amitraz), organoclorados, organofosforados (clorpirifós), organotínicos, fenilsulfamidínicos, fitalimidínicos, pirazólicos (fipronil), piretróides (cipermetrina), pirimidinamínicos, pirrolicos, quinoxalínicos, ester sulfíticos, ácido tetrônicos, tetrazínicos, tiazolidínicos, tiocarbamatos, tiouréia, reguladores de crescimento (fluazuron, diflubenzuron, lufenuron e novaluron).

### **2.4. Reguladores e inibidores do desenvolvimento de insetos e ácaros.**

Os reguladores de crescimento de insetos IGRs, são fármacos que reproduzem os efeitos do hormônio juvenil de crescimento produzidos pelo próprio inseto (ou ácaro). Na sua presença o inseto não evolui, interrompendo seu ciclo na fase larval (fase jovem) (ADAMS, 2001), impedindo assim sua transformação em inseto adulto. O fármaco que funciona como IGR, possui uma estrutura semelhante ao hormônio juvenil, sinalizando falsamente para o organismo do inseto, permanecer em sua fase imatura. Essa incapacidade do inseto em continuar a se desenvolver e evoluir para as próximas fases, acaba levando-o à morte.

Os reguladores de desenvolvimento de insetos (IDIs) atuam como inibidores de quitina ou de síntese de quitina, através da inibição da enzima quitina sintetase, com isso haverá falha na formação da cutícula, exoesqueleto de artrópodes e ácaros.

## 2.5. Benzoilfeniluréias.

O grupo das benzoilfeniluréias possuem moléculas com atividade como inibidor de quitina em insetos e ácaros. Estes compostos são explorados desde a década de 70 no controle de insetos e ácaros nos mercados veterinário, domissanitário e agrícola. Os inibidores de síntese de quitina agem nas larvas durante o processo de muda (VASUKI; RAJAVEL, 1992). Estas, em processo de muda, não conseguem se libertar completamente da cutícula precedente, possivelmente devido à inibição na deposição de quitina, não conferindo a estabilidade necessária para que as mesmas se livrem da cutícula (GROSSCURT, 1978).

Os ectoparasitas que comumente causam prejuízos aos animais de produção possuem em sua constituição física a presença de exoesqueleto formado pelo carboidrato quitina (Figura 4). Esses parasitas possuem ciclos de desenvolvimento definidos e subdivididos em estágios que tem início no ovo, passando pelos diferentes estágios larvais e finalmente chegando ao estado adulto, onde se diferenciam em machos e fêmeas (MOSER; KOEHLER; PATTERSON, 1992).

A quitina é um polímero polissacarídeo formada por unidades de acetilglicosamina conectadas por ligações covalentes do tipo  $\beta$ -1,4 (Figura 4). Constitui o exoesqueleto dos artrópodes e é também encontrada na parede celular de fungos.

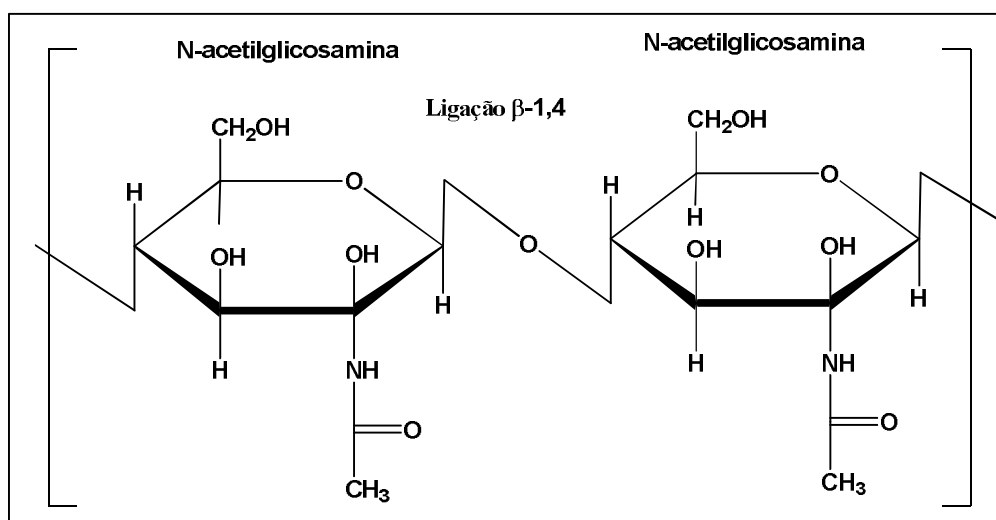


Figura 4. Fórmula estrutural da quitina.

## 2.6. Benzoilfeniluréia e seus mercados.

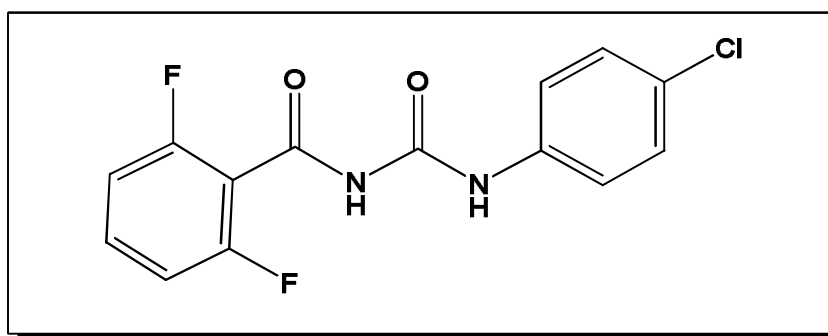
As primeiras moléculas do grupo benzoilfeniluréia foram destinadas ao mercado agrícola para controle de ácaros e lagartas (VICENTE, 2004). A primeira molécula a ser apresentada foi o diflubenzuron (1975) e posteriormente vieram triflumuron (1979), teflubenzuron (1983), flufenoxuron (1986), flucicloخورon (1988), lufenuron (1989), fluazuron (1992), clorfluazuron (1994), hexaflumuron (1995) e novaluron (1996).

As moléculas do grupamento benzoilfeniluréias tais como: diflubenzuron, triflumuron, teflubenzuron, flufenoxuron, flucicloخورon, lufenuron, clorfluazuron, hexaflumuron e novaluron tem ação sobre adultos, larvas e ovos de ácaros e lagartas, e são utilizados em culturas como: batatas, citros, cocos, algodão, pepinos, repolhos, soja, tomate e trigo (PRATISSOLI, et al., 2004).

Além do uso no mercado agrícola destacam-se os usos adicionais no mercado domissanitário, onde o diflubenzuron, hexaflumuron e triflumuron (CHEN. et al., 2005), possuem eficácia contra diversas populações do mosquito *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* e *Culex quinquefasciatus* que são as três espécies de mosquitos difundidos principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo e no Brasil estão relacionadas com a transmissão de doenças como a dengue e a filariose linfática. O triflumuron é eficaz contra essas espécies em diferentes posologias (BELINATO, 2007). O lufenuron tem sido utilizado no controle de pulgas em cães e gatos (NETO, et. al., 2005). O diflubenzuron é a molécula do grupo benzoilfeniluréia com maior número de aplicações. Ela é utilizada nos mercados domissanitário no controle de baratas (*Blatella germânica*), mosca doméstica (*Musca domestica*), no mercado agrícola no controle de lagartas da espécie *Lymantria dispar*, gafanhotos (*Hemileuca oliviae*) (COSTA, 2007) e no mercado veterinário para o controle de carrapatos e mosca dos chifres (OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009). O fluazuron foi à única molécula do grupo benzoilfeniluréia utilizada especificamente no mercado veterinário para o controle do carrapato *Boophilus microplus* em bovinos.

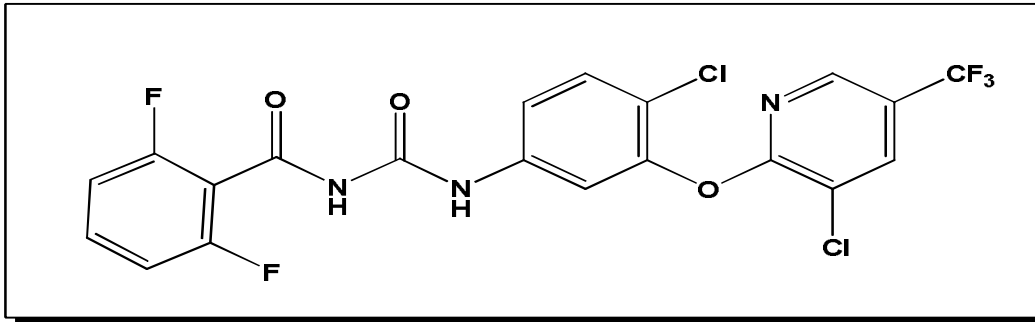
## 2.7. Benzoilfeniluréia no mercado veterinário.

A primeira molécula do grupo benzoilfeniluréia a ser utilizada no mercado mundial foi o diflubenzuron (Figura 5), em 1975 pela empresa Uniroyal Chemical, e foi destinado ao controle de larvas da mosca *Haematobia irritans* que parasitam bovinos, também conhecida como mosca dos chifres e recentemente indicada como auxiliar no controle do carrapato (OLIVEIRA; GOMES; SANTOS, 2009).



**Figura 5.** Fórmula estrutural do diflubenzuron.  
Fonte: VICENTE, 2004.

A segunda molécula foi o fluazuron (Figura 6), em 1990 pela empresa Ciba-Geigy, atual Novartis, lançada como um ectoparasiticida que inibe o crescimento e desenvolvimento de insetos artrópodes, membros da ordem Acarina, como o carrapato *Boophilus microplus*. Atuando na formação e deposição da quitina. A síntese da quitina nos carrapatos ocorre durante o ingurgitamento, em todos os instares e na embriogênese. O fluazuron interrompe o ciclo de vida dos carrapatos por interferir na formação da quitina (WHO, 1998). Do grupo benzoilfeniluréias, somente o diflubenzuron e o fluazuron possuem medicamentos registrados contra o *Boophilus microplus* (ADAMS, 2001).



**Figura 6.** Fórmula estrutural do fluazuron, principal acaricida benzoilfeniluréia, comercializado no mercado veterinário internacional.

Fonte: INCHEM, 2009.

## 2.8. Benzoilfeniluréia e biofarmácia.

Biofarmacêuticamente as drogas do grupo benzoilfeniluréia estão classificadas no grupo IV no Sistema de Classificação Biofarmacêutica de Drogas, o qual está assim dividido:

Grupo I: alta solubilidade (AS) e alta permeabilidade (AP);

Grupo II: baixa solubilidade (BS) e alta permeabilidade (AP);

Grupo III: alta solubilidade (AS) e baixa permeabilidade (BP);

Grupo IV: baixa solubilidade (BS) e baixa permeabilidade (BP).

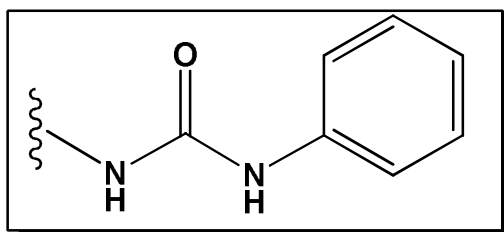
Essa classificação pode ser usada para determinar especificações de dissolução *in vitro* e também pode fornecer bases para prever quando uma correlação *in vitro-in vivo* (CIVIV) pode ser obtida com sucesso (AULTON, 2005).

Os benzoilfeniluréias tem como matriz básica de solubilidade os solventes da família das pirrolidonas. As moléculas que se enquadram no Grupo IV são praticamente insolúveis em água e para sua solubilização necessitam de uma combinação de solventes, aditivos e/ou tensoativos especiais para sua formulação, a qual pode variar de acordo com a forma farmacêutica desenvolvida e via de aplicação adotada.

Os benzoilfeniluréias são compostos derivados da uréia onde frequentemente tem-se um fenil (radical derivado de um anel aromático) ligado com amina e uréia.

As diferenças entre o diflubenzuron e o fluazuron com relação aos radicais ligados ao grupamento fenil são as seguintes: diflubenzuron, possui um átomo de

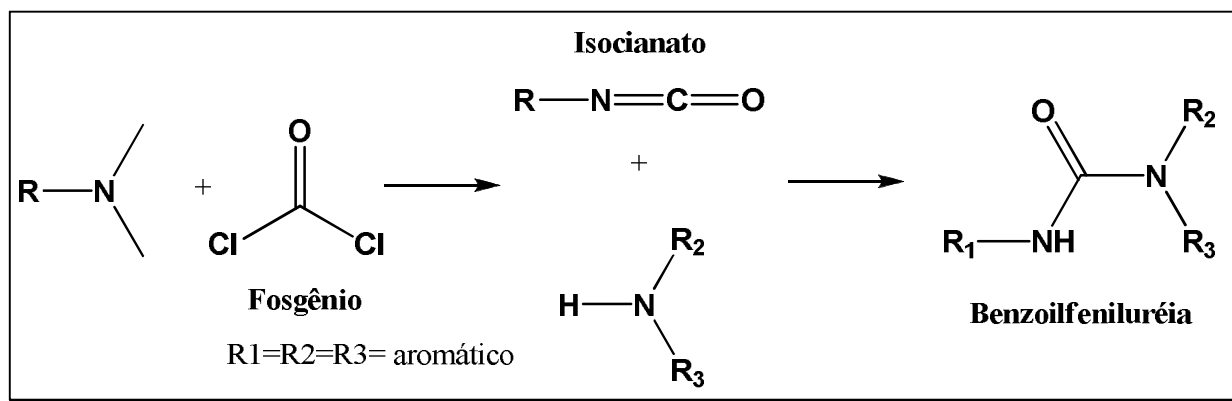
cloro (Cl) na posição 4. O fluazuron possui um átomo de cloro (Cl) na posição 3 e um grupo alcoxi (OR) na posição 4. A estrutura do novaluron possui os mesmo padrão de substituição encontrado no fluazuron, um átomo de cloro (Cl) na posição 3 e um grupo alcoxi (OR) na posição 4 (Figura 7).



**Figura 7.** Fórmula estrutural do grupamento feniluréia.

## 2.9. Síntese dos benzoilfeniluréias.

A síntese dos derivados de uréia ocorrem em duas etapas: na primeira etapa ocorre uma reação entre uma amina aromática e o fosgênio para produzir o isocianato correspondente (Figura 8), posteriormente o isocianato é reagido com fenil amina para obtenção do composto benzoilfeniluréia.

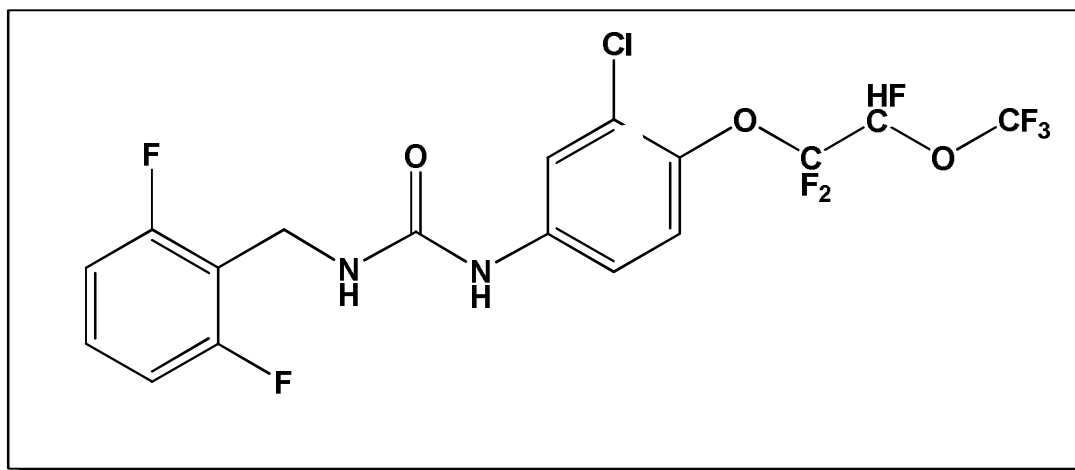


**Figura 8.** Reação entre uma amina aromática e o fosgênio para produzir o isocianato correspondente isocianato.

## 2.10. Novaluron

Em 1996 a empresa Agrimont (Isagro) apresentou a comunidade científica internacional o novaluron (Figura 9), um inseticida inibidor da síntese de quitina, que teve seus direitos industriais e comerciais adquiridos pela empresa Makhteshin

Chemical Works Ltd. a qual desenvolveu uma formulação para ser utilizada no mercado agrícola com a marca comercial Rimon.

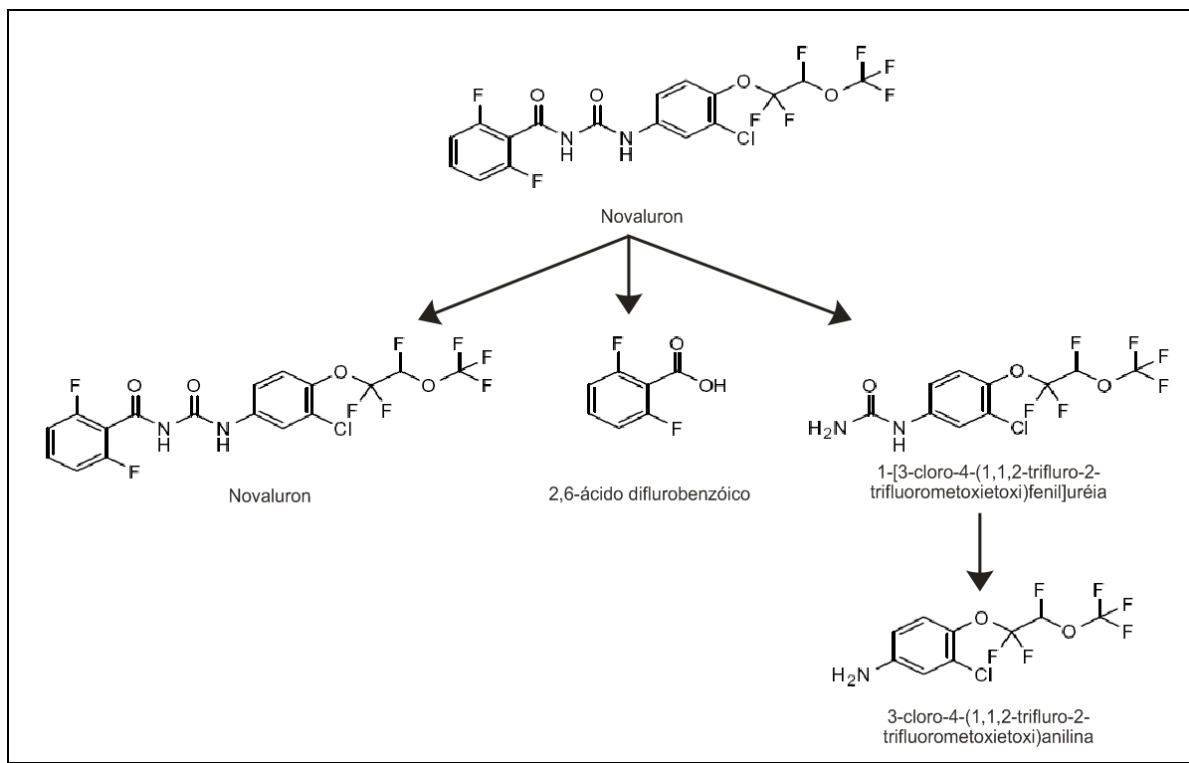


**Figura 9.** Novaluron, acaricida benzoilfeniluréia, objeto do presente trabalho.  
Fonte: INCHEM, 2005.

A Makhteshin Chemical Works é uma Empresa que explora exclusivamente os mercados de defensivos agrícola e de inseticidas domissanitários. Em 2005 foi celebrado um contrato de cooperação entre a Empresa Clarion Biotecnologias Ltda e a empresa Makhteshin Chemical Works com o objetivo de avaliar a viabilidade e desenvolvimento de formulações que pudessem ter efeito contra os ectoparasitas que comumente acometem bovinos, suínos, aves, cães e gatos. O Clarion é uma empresa brasileira especializada no desenvolvimento e registro de produtos destinados ao mercado veterinário. Sendo assim coube ao Clarion avaliar através de protocolos de testes específicos, com exclusividade, a eficácia da molécula novaluron (STOCKER, 1998). O novaluron possui características estruturais que conferem a ela uma maior solubilidade em solventes orgânicos, que os demais IDs. Essas características conferem a molécula a possibilidade de oferecer ao mercado veterinário uma alternativa eficaz e mais econômica para o controle de ectoparasitas, uma vez que se pode formular um produto com uma concentração maior que 2,5%, que é a concentração comercial dos produtos contendo fluazuron. Para essa avaliação foram realizados estudos preliminares para o desenvolvimento de uma formulação transdérmica que requereu: testes de solubilidade, cinética química, estabilidade e metodologias analíticas validadas para o produto em tecidos animais como: músculo, rins, fígado, gordura e plasma.



O metabolismo do novaluron em ruminantes tem como metabólitos o próprio novaluron inalterado, sendo que mais de 90% do produto (Figura 10) é eliminado via fezes, os outros metabólitos são eliminados via fezes e urina.



**Figura 10.** Biotransformação do novaluron em ruminantes.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Delineamento do experimento.

Os experimentos foram realizados na Fazenda Acará, localizada na Rod. GO-324, km 14, Zona Rural, Município de Britânia/GO, no período de 26 de fevereiro a 20 de novembro de 2008. O experimento foi conduzido em uma propriedade que possui pivot central (Figura 11), para que as condições mínimas de umidade fossem mantidas para a reprodução do carrapato *Boophilus microplus* e que a concentração de animais por hectare (5 a 6 unidades animais/hectare/ano) fosse controlada durante todo o experimento. Por se tratar de um produto com ação inibidora de quitina, foi considerado o ciclo de vida do carrapato (*Boophilus microplus*) no hospedeiro, com aproximadamente 21 dias como ponto inicial de avaliação da eficácia, pois somente após o 21º dia pós-tratamento é que ter-se-ia um grupo de carrapatos com possibilidade de fechar o seu ciclo. Os experimentos foram divididos em três etapas seqüenciais: primeira etapa, determinação da dose terapêutica do novaluron em animais naturalmente infestados por carrapatos. Segunda etapa, comparação da curva plasmática da formulação com 5% de novaluron em duas diferentes posologia. Terceira etapa, avaliação da eficácia carrapaticida à campo da formulação contendo 5% de novaluron comparativamente ao produto fluazuron, formulação contendo 2,5% de fluazuron versus o grupo controle.



**Figura 11.** Animais acondicionados em pasto com pivot central.

### **3.1.1. Primeira etapa, 26 de fevereiro a 16 de maio de 2008: Determinação da dose terapêutica do novaluron em animais naturalmente infestados por carrapatos.**

Para determinação da dose terapêutica *in vivo*, no controle do carrapato, em bovinos a campo, sete dias antes do experimento, foram selecionados 42 animais de Cruzamento Industrial (Nelore com Bonsmara), machos, devidamente identificados com brincos, com idade entre 32 a 38 meses e peso vivo variando de 290 a 339kg.

Todos os animais utilizados no estudo foram submetidos previamente a exames clínicos e laboratoriais e classificados como normais. Os animais foram divididos ao acaso em sete grupos com seis animais cada. Os animais foram tratados com um placebo e com a formulação contendo 5% de novaluron em dose única pela via transdermal, por meio de uma pistola dosadora em duas faixas de aproximadamente 8cm de largura, em ambos os lados da linha mediana dorsal, desde a região da paleta até a anca do animal. Os animais foram divididos em sete grupos e tratados de acordo com: 5,0; 2,5; 1,66; 1,25 e 1,0mg/kg de peso vivo de novaluron, comparativamente ao grupo controle e placebo, na dose de 1mL para 10kg de peso vivo. As seguintes posologias foram pré-determinadas pelo *screening* interno, utilizado pela empresa Clarion em testes de produtos do grupo benzoilfeniluréia.

Para avaliação da similaridade dentro e entre os grupos de animais quanto ao nível de infestação pelo carrapato *Boophilus microplus*, no dia do tratamento, foram formuladas duas hipóteses com nível de significância de 5%, a primeira a qual chamamos de  $H_0$ , levanta a possibilidade de similaridade entre os grupos, ou seja, ausência de diferenças significativas entre eles, onde:

$H_0$ : grupo 1 = grupo 2 = grupo 3 = grupo 4 = grupo 5 = grupo 6 = grupo 7.

A segunda a qual chamamos de  $H_1$  verifica a possibilidade de não similaridade entre os grupos, ou seja, há diferenças significativas entre pelo menos um grupo. Para verificação de similaridade entre os grupos será realizado Análise de Variância (ANOVA), com os dados do número de carrapatos presentes nos animais de todos os grupos.

Como parâmetro de controle do carrapato *Boophilus microplus*, foi realizado uma contagem total das fêmeas do carrapato com tamanho igual ou superior a 4mm

de comprimento, no lado esquerdo dos animais, e por contagens em regiões específicas, do mesmo lado, anterior (cabeça), mediana (pescoço, membro anterior e tórax, incluindo a região inferior até o quarto traseiro), posterior (traseiro, membro posterior e cauda) e entrepernas (região entre os membros posteriores). Todos os dados de contagem foram multiplicados por 2,5. As contagens foram realizadas sete dias antes do início do tratamento, para verificar a existência de infestação natural nos animais selecionados para o experimento.

Para o cálculo da eficácia de todos os grupos tratados comparativamente aos grupos placebo e controle foi utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{x_1 - x_2}{x_1} \times 100$$

*x1- Média do nº de parasitas do grupo controle ou grupo placebo.*

*x2- Média do nº de parasitas do grupo tratado.*

### **3.1.2. Segunda etapa, 26 de maio a 10 de setembro de 2008: comparação da curva plasmática da formulação com 5% de novaluron em duas diferentes posologia.**

Com base nos resultados de eficácia da etapa anterior, foram formados dois novos grupos para determinação da curva plasmática com as duas posologias que tiveram melhor desempenho. O doseamento foi realizado com metodologia validada para espectrometria acoplada a HPLC.

Nesta etapa foi realizada comparação entre as médias dos dois grupos de animais que obtiveram melhor eficácia na etapa anterior, quanto ao teor do ativo novaluron no plasma. No dia do tratamento, foram formuladas duas hipóteses com nível de significância de 5%, a primeira hipótese, a qual chamamos de  $H_0$ , levanta a possibilidade de similaridade entre as duas posologias, ou seja, ausência de diferenças significativas entre elas, onde:

$H_0$ : posologia 1 = posologia 2.

A segunda hipótese, a qual chamamos de  $H_1$ , verifica a possibilidade de não similaridade entre as duas posologias, ou seja, há diferenças significativas entre elas.

Para determinação das concentrações do ativo novaluron no plasma foi utilizada metodologia desenvolvida para a quantificação de novaluron em plasma

bovino por espectrometria de massa. O método envolve uma extração líquido/líquido da amostra com uma solução de Éter/Hexano (80:20).

#### 3.1.2.1. Preparação das soluções

A solução A composta por novaluron:

- Pesaram-se 4,0 mg de novaluron.
- Dissolveram-se em 2,0mL de uma solução acetonitrila 80% (em água).
- Prepararam-se as demais soluções de novaluron em concentrações diferentes para o preparo da curva de calibração.

A solução B é composta por fluazuron:

- Pesaram-se 2,0 mg de fluazuron.
- Dissolveram-se em 2 mL de uma solução acetonitrila 80%.
- Prepararam-se uma solução de fluazuron com concentração de 5ug/ml para ser utilizada como padrão interno.

#### 3.1.2.2. Procedimento analítico

- Alíquota-se a quantia de 500mcl de plasma em um tubo de vidro de 5 ml.
- Adiciona-se 50mcl de padrão interno (fluazuron 5mcg/ml), agita-se o tubo por 20 seg.
- Após 10 minutos adiciona-se 4 ml de uma solução de Éter/Hexano (80:20). E novamente agitado por 40 seg.
- Em seguida é levado ao freezer por 40 minutos e após congelada a amostra é filtrada em filtro 0,45 d.i e transferida para outro tubo de vidro onde é levada ao concentrador de amostras.
- Após seco, o resíduo do tubo é ressuspenso em 500mcl de fase móvel e agitado. Após filtrado em filtro de 0,23 $\mu$  é transferido ao frasco onde é levado ao sistema de injeção por espectrometria de massa.
- O volume injetado é de 1,5mcl.

A cromatografia foi realizada em uma coluna analítica, sob um fluxo de 0,200mL/min e o sistema operado à temperatura ambiente.

### 3.1.2.3. Amostras e substâncias de referência

Foram preparadas amostras nas concentrações teóricas de 50ng/ml a 1000ng/ml para a validação do método.

### 3.1.2.4. Parâmetros estatísticos.

Para avaliação dos parâmetros estatísticos foi aplicado o intervalo de confiança para diferença das médias com base no teste  $t$  (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007). De acordo com as seguintes fórmulas:

Cálculo da variância.

$$s^2 = \frac{(N_A - 1)s_A^2 + (N_B - 1)s_B^2}{(N_A - 1) + (N_B - 1)}$$

Cálculo do intervalo de confiança.

$$(\mu_A - \mu_B) = (\bar{x}_A - \bar{x}_B) \pm t_v \cdot s \cdot \sqrt{\frac{1}{N_A} + \frac{1}{N_B}}$$

### **3.1.3. Terceira etapa, 1 de setembro a 20 e novembro de 2008: avaliação da eficácia carrapaticida à campo da formulação contendo 5% de novaluron comparativamente ao produto fluazuron, formulação contendo 2,5% de fluazuron versus o grupo controle.**

A posologia da formulação de novaluron para esse experimento foi aquela que obteve a melhor eficácia no estudo anterior desempenho associado ao estudo de mercado, que avalie o custo do tratamento comparativamente ao tempo de eficácia (custo/benefício) e chegando a conclusão que seria posologia de 2,5mg/kg de peso vivo.

Para esse estudo foram formados três novos grupos a saber:

Grupo 1: 6 animais de Cruzamento Industrial (Nelore com Bonsmara), machos, devidamente identificados com brincos, com idade e peso vivo variados, foram tratados com a formulação experimental novaluron 5% na posologia de 2,5mg/kg de peso vivo em dose única.

Grupo 2: 6 animais de cruzamento industrial (Nelore com Bonsmara), machos, devidamente identificados com brincos, com idade e peso vivo variados, foram tratados com fluazuron pour-on na posologia de 1mL/10kg de peso vivo em dose única.

Grupo 3 - Controle: 6 animais de cruzamento industrial (Nelore com Bonsmara), machos, devidamente identificados com brincos, com idade e peso vivo variados não foram tratados e mantidos como grupo controle.

A contagem do número de carrapatos seguiu a metodologia descrita no item 3.1.1.

Nesta etapa foi realizada comparação entre a eficácia do grupo tratado com fluazuron e do grupo tratado com a formulação experimental contendo novaluron, comparativamente ao grupo controle. Onde a primeira hipótese chamada de  $H_0$ : verifica a possibilidade de eficácia do fluazuron ser semelhante a eficácia da formulação experimental de novaluron.

A segunda hipótese, a qual chamamos de  $H_1$ , verifica a possibilidade de não similaridade de eficácia entre as duas formulações, ou seja, há diferenças significativas entre elas.

Para o cálculo da eficácia de todos os grupos tratados comparativamente aos grupos placebo e controle foi utilizado a seguinte fórmula:

$$\text{Eficácia (\%)} = \frac{x_1 - x_2}{x_1} \times 100$$

*x1- Média do nº de parasitas do grupo controle ou grupo placebo.*

*x2- Média do nº de parasitas do grupo tratado.*

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na Tabela 1 se apresenta dados referentes ao número de teleóginas presentes nos grupos de animais utilizados no experimento. Os dados apresentados na Tabela 1, demonstraram que os animais de todos os grupos apresentavam infestações médias por volta de 230 teleóginas do carrapato *Boophilus microplus* por animal no dia do tratamento.

**Tabela 1. Número de teleóginas (>4mm) presentes nos animais de cada grupo no dia do tratamento, dia zero.**

Animais	Grupos						
	1	2	3	4	5	6	7
1	238	239	227	233	246	252	249
2	241	252	261	269	261	264	267
3	235	227	259	263	243	255	234
4	229	221	235	249	221	229	258
5	226	233	249	254	226	226	269
6	235	245	252	240	259	222	261
<b>Total</b>	<b>1.404</b>	<b>1.417</b>	<b>1.483</b>	<b>1.508</b>	<b>1.456</b>	<b>1.448</b>	<b>1.538</b>
<b>Média</b>	<b>234</b>	<b>236</b>	<b>247</b>	<b>251</b>	<b>243</b>	<b>241</b>	<b>256</b>
<b>Desvio padrão</b>	<b>6</b>	<b>11</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	<b>13</b>

Na Tabela 2 retrata a avaliação estatística do número de carrapatos presentes nos animais dos grupos de estudo (Tabela 1), o valor do F calculado foi de 2,10 e não excedeu o valor do F crítico que foi de 2,37 ao nível de significância de 5%. Tal resultado evidenciou que os níveis de infestação dentro e entre os grupos formados não possuem diferenças significativas, sendo considerados similares entre si, ou seja não rejeita-se  $H_0$ .

**Tabela 2. Análise de variância realizada com os dados da Tabela 1.**

Fonte da variação	SQ	GL	MQ	F <sub>calc</sub>	F <sub>0,05; 6; 35</sub>
Entre grupos	2316,14	6,00	386,02	2,10	2,37
Dentro dos grupos	6443,00	35,00	184,09		
Total	8759,14	41,00			

Com a confirmação da similaridade entre os grupos procedeu-se o tratamento de todos os animais nas seguintes posologias: 5,00; 2,50; 1,66; 1,25 e 1,00 mg/kg de peso vivo de novaluron em dose única. Após o tratamento a infestação de carrapatos caiu em todos os grupos tratados, demonstrando uma eficácia de 100% para todos os grupos tratados com novaluron no 21º dia. Porém somente as



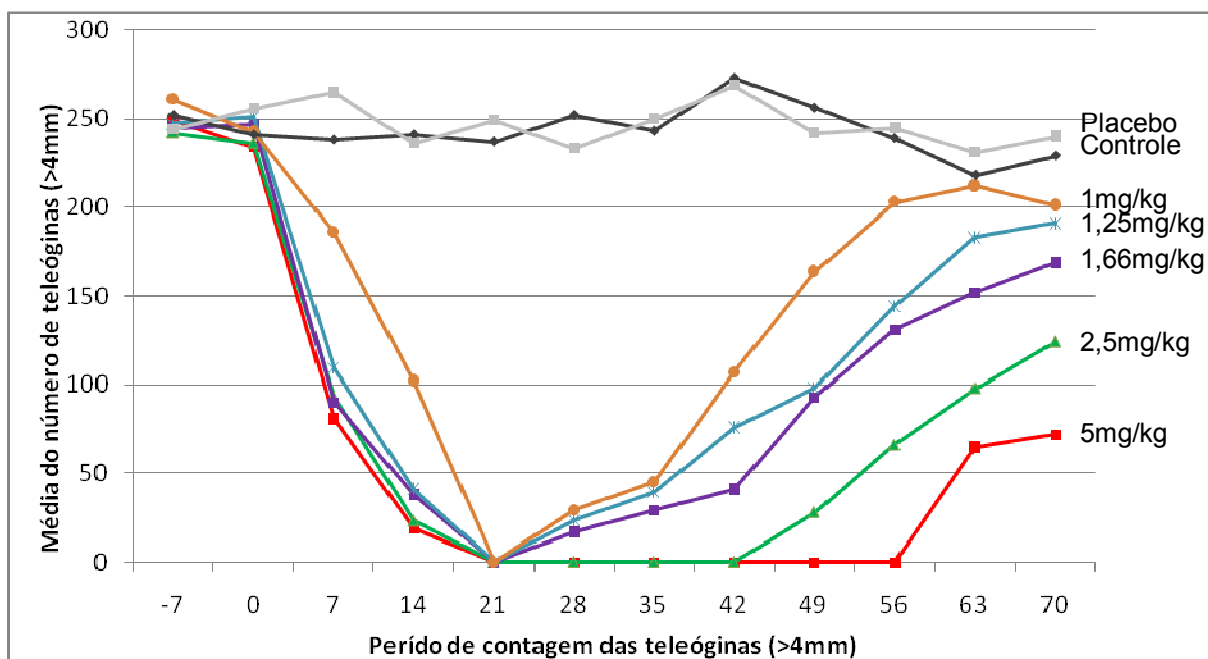
posologias de 5,00 e 2,50mg/kg de novaluron conseguiram reduzir o número de carrapatos a zero do 21º dia ao 56º e 42º dia respectivamente, como pode ser observado na Tabela 3.

**Tabela 3. Média do número de teleóginas (>4mm) presentes nos animais dos grupos tratados em comparação aos grupos: placebo (6) e controle (7).**

Período de contagem das teleóginas	Grupos						
	1 Dose 5mg/kg	2 Dose 2,5mg/kg	3 Dose 1,66mg/kg	4 Dose 1,25mg/kg	5 Dose 1mg/kg	6*	7**
-7	249	242	245	247	261	252	244
0	234	236	247	251	243	241	256
7	81	93	90	109	186	238	265
14	19	23	38	41	102	241	236
21	0	0	0	0	0	237	249
28	0	0	17	23	29	252	233
35	0	0	29	39	45	243	250
42	0	0	41	76	107	273	269
49	0	28	93	98	164	256	242
56	0	66	131	144	203	239	245
63	65	98	152	183	212	218	231
70	72	124	169	191	201	229	240

\* Grupo controle; \*\* Grupo placebo.

Nos grupos tratados com 1,00; 1,25 e 1,66mg/kg de peso vivo de novaluron, o número de teleóginas (>4mm) foi se elevando nas leituras do 35º o 70º dia. Onde desde o 35º dia nenhum destes grupos apresentavam eficácia superior a 95%. Os animais do grupo controle e placebo permaneceram infestados durante todo o experimento conforme demonstra o Gráfico 1.



**Gráfico 1.** Média do número de teleóginas (>4mm) presentes nos animais dos grupos tratados em comparação aos grupos: placebo (6) e controle (7).

Na Tabela 4 os resultados obtidos com a formulação placebo apresentaram o mesmo comportamento do grupo de animais não tratados. O que sugere que os veículos utilizados na formulação de novaluron 5% não possuem atividade acaricida.

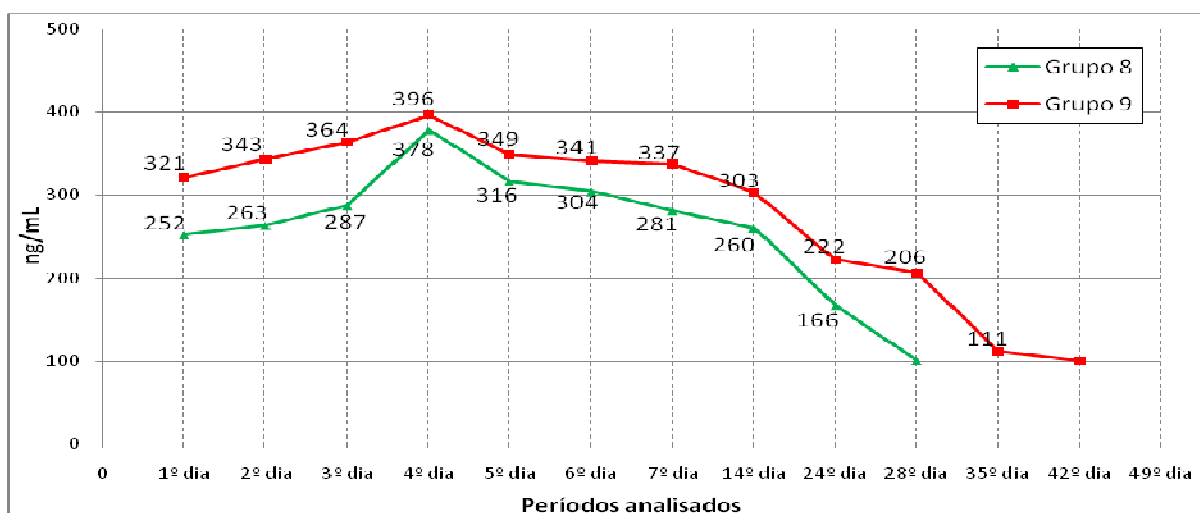
**Tabela 4. Eficácia comparativa dos grupos tratados em relação ao grupo placebo e controle.**

Dias	Grupo 1		Grupo 2		Grupo 3		Grupo 4		Grupo 5	
	Placebo	Controle	Placebo	Controle	Placebo	Controle	Placebo	Controle	Placebo	Controle
-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
28	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	93,3%	92,7%	90,9%	90,1%	88,5%	87,6%
35	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	88,1%	88,4%	84,0%	84,4%	81,5%	82,0%
42	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	85,0%	84,8%	72,2%	71,7%	60,8%	60,2%
49	100,0%	100,0%	89,1%	88,4%	63,7%	61,6%	61,7%	59,5%	35,9%	32,2%
56	100,0%	100,0%	72,4%	73,1%	45,2%	46,5%	39,7%	41,2%	15,1%	17,1%
63	70,2%	71,9%	55,0%	57,6%	30,3%	34,2%	16,1%	20,8%	2,8%	8,2%
70	68,6%	70,0%	45,9%	48,3%	26,2%	29,6%	16,6%	20,4%	12,2%	16,3%

Com base nos resultados obtidos na primeira etapa somente as posologias de 5,00 e 2,50mg/kg de novaluron atendem aos índices de eficácia exigidos para registro de drogas carrapaticidas no Brasil.

Na Tabela 5 se apresenta os resultados foi observaddo trabalho foi avaliada a curva plasmática das posologias de 2,50mg/kg e 5,00mg/kg de novaluron.

Foram encontrados os seguintes parâmetros farmacocinéticos (Gráfico 2), respectivamente: o pico de concentração (Cmax) foi de 396ng/mL e 378ng/mL; o tempo para obtenção do pico de concentração (Tmax) foi de 4 dias para ambas as posologias e a área sobre a curva de concentração plasmática (ASC) > 100ng foi de 42 dias e 28 dias (Tabela 5).



**Gráfico 2.** Perfil plasmático de duas formulações contendo novaluron em duas posologias diferentes administrada em dose única

Comparando as curvas plasmáticas da formulação do novaluron nas duas posologias com os resultados obtidos na eficácia a campo, observa-se que a concentração eficaz mínima (CEM) está por volta de 100ng/mL.

**Tabela 5. Média por grupo da concentração em ng/mL de novaluron encontrada no plasma dos animais tratados.**

Dias pós-tratamento	Média Grupo 8 Ng/mL	Média Grupo 9 Ng/mL	Diferença
0	ND	ND	-
1	252	321	69
2	263	343	80
3	287	364	77
4	378	396	18
5	316	349	33
6	304	341	37
7	281	337	56
14	260	303	43

24	166	222	56
28	ND	206	206
35	-	111	111
42	-		
<b>Média</b>	<b>278,6</b>	<b>330,7</b>	<b>71,45</b>
<b>Desvio padrão</b>	<b>57,0</b>	<b>48,3</b>	<b>51,6</b>
<b>GL</b>	<b>8,00</b>	<b>10,00</b>	
<b>Variância (S<sup>2</sup>)</b>	<b>5426,376</b>		
<b>Intervalo de confiança</b>	<b>[-26,429; 169,338]</b>		
<b>Nível de 95%, <math>t_{18=2,101}</math></b>			

Observando a variação do perfil plasmático (Gráfico 2), verificou-se que o dobro da dose não refletiu em dobro de concentração plasmática. Os valores encontrados no teste estatístico baseado no intervalo de confiança (Tabela 5), incluem o valor zero no intervalo. Sendo assim não podemos afirmar que existem diferenças estatísticas nos resultados encontrados. Como um dos principais objetivos do trabalho é buscar uma nova alternativa econômica e eficiente para o controle do carrapato. Definiu-se como melhor custo benefício à posologia de 2,50mg/kg de novaluron em dose única, para a continuidade dos estudos. Uma vez que esta posologia, consegue atingir os níveis de eficácia necessários para registro do produto no Brasil e tem um custo por tratamento de aproximadamente 50% do valor da posologia de 5,00mg/kg.

Os resultados obtidos na terceira etapa, mostra que o grupo de animais tratados com 2,50mg/kg de peso vivo de novaluron se mantiveram livres de infestação do 21º ao 42º dia pós tratamento, os mesmos valores foram alcançados pelos animais tratados com 2,50mg/kg de fluazuron. O grupo controle ficou permanentemente infestado por carrapatos (Tabela 6).

**Tabela 6. Número de teleóginas (>4mm) presentes nos animais tratados com novaluron 5%, fluazuron comparativamente ao grupo controle.**

Média	Período da contagem das teleóginas (>4mm)													
	-7	0	1	3	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
Novaluron	239	241	226	171	70	39	0	0	0	0	39	71	103	145
Acatak	237	201	190	159	85	51	0	0	0	0	26	64	94	121
Controle	262	250	242	236	239	241	221	256	235	237	224	266	248	237

A avaliação estatística pelo método do intervalo de confiança com o nível de 95% de confiabilidade demonstrou que as médias da população de carrapatos entre

os animais tratados com novaluron e os animais tratados com fluazuron, foram semelhantes. O valor do intervalo inclui o número zero. Sendo assim aceita-se  $H_0$ , onde, média do número de carrapatos do grupo tratado com novaluron é similar ao grupo tratado com fluazuron comparativamente ao grupo controle (Tabela 7).

**Tabela 7. Comparação do nível de infestação entre o grupo tratado com novaluron e fluazuron.**

Número de dias	Média do número de teleóginas $\geq 4,0\text{mm}$ contadas		
	Novaluron	Fluazuron	Diferença
-7	239	237	2
-3	273	236	37
-1	236	220	16
0	241	201	40
+1	226	190	36
+3	171	159	12
+7	70	85	-15
+14	39	51	-12
+21	0	0	0
+28	0	0	0
+35	0	0	0
+42	0	0	0
+49	39	26	13
+56	71	64	7
+63	103	94	9
+70	145	121	24
Média	278,6	330,7	10,56
Desvio padrão	57,0	48,3	17,4
GL	15	15,00	
<b>Variância (S<sup>2</sup>)</b>	<b>9288,048</b>		
<b>Intervalo de confiança</b>	<b>[-59,016; 80,141]</b>		
<b>Nível de 95%, <math>t_{30}=2,042</math></b>			

A avaliação estatística pelo método do intervalo de confiança com o nível de 95% de confiabilidade demonstrou que a eficácia das duas formulações apresentaram valores similares. O valor do intervalo inclui o número zero. Sendo assim aceita-se  $H_0$ , onde a eficácia do grupo tratado com novaluron é similar ao grupo tratado com fluazuron comparativamente ao grupo controle (Tabela 8).

**Tabela 8. Comparação da eficácia entre o grupo tratado com novaluron e fluazuron.**

Número de dias	Eficácia		
	Novaluron	Fluazuron	Diferença
+21	100,00%	100,00%	0,00%
+28	100,00%	100,00%	0,00%
+35	100,00%	100,00%	0,00%
+42	100,00%	100,00%	0,00%
+49	82,60%	88,40%	5,80%
+56	73,30%	75,90%	2,60%
+63	58,50%	62,10%	3,60%
+70	38,80%	48,90%	10,10%
Média	81,65%	84,41%	2,76%
Desvio padrão	23,27%	20,07%	3,67%
GL	7	7	
<b>Variância (S<sup>2</sup>)</b>	<b>0,047</b>		
<b>Intervalo de confiança</b>	<b>[-0,2054; 0,2606]</b>		
<b>Nível de 95%, t<sub>14=2,145</sub></b>			

Os testes realizados são indicativos da eficácia da formulação desenvolvida pelo empresa Clarion Biociências Ltda. e que tal formulação consegue alcançar níveis plasmáticos terapêuticos frente ao carrapato *Boophilus microplus*, quando administrada à bovinos, pela via transdermal, em dose única.

A formulação de novaluron 5% na posologia de 1mL/20kg de peso vivo apresentou eficácia superior a algumas formulações carrapaticidas comercializadas no Brasil: amitraz (44,59%), cipermetrina mais clorpirifós (38,55%), clorpirifós mais diclorvós (79,67%), cipermetrina mais diclorvós (43,76%), tiazolin mais cipermetrina (65,16%), cipermetrina mais etion (40,78%) e fipronil (89,17%) (FERREIRA, 2006).

Durante o experimento nenhum animal apresentou sinais de intoxicação ou alterações fisiológicas que inviabilizasse a continuidade dos estudos.

## 5. CONCLUSÃO

Com base na interpretação dos resultados obtidos a formulação contendo novaluron a 5% foi eficaz, em dose única, contra o carrapato *Boophilus microplus* em todas as posologias propostas no experimento, sem considerar o período pré-patente do carrapato bovino, que é de 21 dias. Quando se considerou o período pré-patente, somente as concentrações de 2,50 e 5,00mg/kg de novaluron obtiveram níveis de eficácia de 100% superiores ao 21º dia pós tratamento. Dessa forma somente essas duas posologias atenderam aos requisitos mínimos exigidos pela Portaria nº 48 de 12 de maio de 1997, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que estabelece que a eficácia mínima de uma droga carrapaticida deve ser de 95%. Com relação a uma avaliação econômica conclui-se que a posologia de 1mL/20kg de peso vivo, que confere uma concentração de 2,50mg/kg de novaluron, tem um melhor custo benefício. Pois custa aproximadamente 50% menos que a posologia de 1mL/10kg de peso vivo que confere uma concentração de 5,00mg/kg de novaluron. A formulação contendo 5% de novaluron na dose de 1mL/20kg de peso vivo apresentou desempenho similar ao produto Acatak aplicado na dose de 1mL/10kg de peso vivo, que corresponde a uma concentração de fluazuron de 2,50mg/kg de peso vivo. Nestes termos um litro da formulação de novaluron tratará o dobro de animais com a mesma eficácia do produto Acatak. Tais estudos recomendam a formulação experimental contendo novaluron como uma formulação apta a ser submetida aos protocolos necessários para registro de medicamento de uso veterinário no Brasil.

## 6. SUGESTÕES

Com base no trabalho realizado, ainda ficam algumas questões que poderiam resultar em novos trabalhos de pesquisa, por exemplo:

- Buscar outros caminhos para elucidar com mais clareza o mecanismo de ação dos IGR's do grupo benzoilfeniluréias.
- Outro aspecto importante é realizar novos testes de curvas plasmáticas com novas posologias e realizar análises com uma metodologia analítica com maior sensibilidade.
- Avaliar as atividades pulicida e mosquicida do novaluron.



## 7. REFERÊNCIAS

ADAMS, H. R. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 8<sup>a</sup> ed. Iowa: University Press, 2001. p. 1026 - 1029.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacéuticas**. 2<sup>a</sup> ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 225 - 228.

BELINATO, T. A. **Efeito do triflumuron, um inibidor da síntese de quitina, sobre o desenvolvimento e a reprodução de culicídeos vetores de doença**. 2007. 92f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Patogenia), FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2007.

BENNET, G. F. **Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). II. Influences of temperature, humidity and light**. *Acarologia*, v. 16, p. 250 - 257, 1974.

BONI, L. A. B. **Tratamento da glicerina bruta e subprodutos obtidos da reação de transesterificação de sebo bovino utilizada para a produção de biodiesel**. 2008. 117f. Dissertação (Mestrado em Engenharia), Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2008.

BOOTH, N. H.; MCDONALD, L. E. **Farmacologia e terapêutica em veterinária**. 6<sup>a</sup> Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992. p. 969.

BULLMAN, G. M.; MUÑOS, C. M. E.; AMBRÚSTOLO, R. R. **El impacto ecológico de las lactonas macrocíclicas (endectocidas): una actualización comprensiva y comparativa**. Argentina: Veterinária Argentina, 1996. p. 3 - 15.

CAMPBELL, W.C. **Ivermectin and abamectin**. Nova Iorque: Springer-Verlag, 1989. p. 223 - 232.

CASIDA, J. E. et al. **Mechanisms of selection action of pyrethroid insecticides**. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, v. 23, n<sup>o</sup> 1, p. 413 - 438, 1983.

CHEN, L. et. al. **Synthesis and insecticidal evaluation of propesticides of benzoylphenylureas**. *Journal of Agriculture and a Food Chemistry*, v. 53, p. 38 - 41, 2005.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação**. 2<sup>a</sup> ed. Guaíba: Agropecuária, 1997. p. 47 - 52.

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

DOUBLE, B. M.; KEMP, D. H. **The influence of temperature, relative humidity and host factors on the attachment and survival of *Boophilus microplus***

**(Canestrini) larvae to skin slices.** *International Journal for Parasitology*, Oxford, v. 9, p. 449 - 454, 1979.

FARIAS, M. A. R. **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina.** 1ª Guaíba: Agropecuária, 1995. p. 12 - 25.

FERREIRA, A. M. et al. **Embrapa gado de leite: 30 anos de pesquisa e conquistas para o Brasil.** 1ª ed. Juiz de Fora: Embrapa, 2006. p. 112 - 117.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico veterinária.** 3ª ed. São Paulo: Nobel, 1990. p. 173 - 182.

FURLONG, J. **Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil.** *Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG*, Belo Horizonte, n.8, p. 49 - 61, 1993.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi.** 2ª ed. Porto Alegre, 1995.

GROSSCURT, A. C. **Diflubenzuron: some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and an evaluation of its practical possibilities.** Oxford: Pesticide Science, v.9, p. 373 - 386, 1978.

HITCHCOCK, L. F. **Studies on the non-parasitic stages of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae).** *Australian Journal of Zoology*, v. 3, p. 145 - 155, 1955.

IBGE. **Estatísticas econômicas.**

Disponível em: [www.ibge.gov.br/seculoxx/estatisticas\\_economicas.shtml](http://www.ibge.gov.br/seculoxx/estatisticas_economicas.shtml). Acesso em 10 de fev. 2009.

INCHEM (Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations). Disponível em: [www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v2005pr14.pdf](http://www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v2005pr14.pdf). Acesso em 10 de fev. 2009.

INCHEM (Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations). Disponível em: [www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v39je09.htm](http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v39je09.htm). Acesso em 10 de fev. 2009.

KESSLER, R. H. **Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 4, nº 21, p. 177 - 179, 2001.

KESSLER, R. H.; SCHENK, M. A. M. **Carrapato, tristeza parasitária e tripanossomose dos bovinos.** Campo Grande: EMBRAPA – Gado de Corte, 1998.

LONDT, J. G. H.; ARTHUR, D. R. **The structure and parasitic life cycle of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) in South Africa (Acarina: Ixodidae).** *Journal of the Entomological Society of South Africa*, v. 38, p. 321 - 340, 1975.

MOSER, B. A.; KOEHLER, P. G.; PATTERSON, R. S. **Effect of methoprene and diflubenzuron on larval development of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae).** *Journal of Medical Entomology*, v. 85, nº 1, p. 112 - 116, 1992.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos.** 3ª Ed. Campinas: Editora Unicamp, 2007. p. 58 - 109.

NETO, O. A. B. et al. **Efeito de diferentes doses de inseticidas no controle da *Spodoptera frugiperda* na cultura do algodão.** V Congresso Brasileiro de Algodão. 2005.

NUÑES, J. L.; MUÑOZ, M.; MOLTEDO, H. ***Boophilus microplus*, la garrapata comun del ganado vacuno.** 1ª ed. Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1982. 159 p.

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

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

PEREIRA, M. C. **The veterinary parasitology images gallery: arthropoda: insecta and acari.** São Paulo, 1998. Disponível em: <http://icb.usp.br/~marcelcp/Boophilus.htm>. Acesso em 10 de fev. 2009.

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

ROBERTS, J. A. **Acquisition by the host of resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini).** *Journal Parasitology*, v. 4, p. 657 - 662, 1968.

SEAGRO (Secretária da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Estado de Goiás). **Documentário: pequenos inimigos grandes prejuízos.** Goiânia, 2005. 1 DVD.

SONENSHIME, D. E. **Biologia of ticks.** Nova Iorque: Oxford University Press, 1993.

STOCKER, K. J. **Novaluron Technical.** Beer-Sheva, Israel, 1998.

VASUKI, V.; RAJAVEL, A. R. **Influence of short time exposure to na insecto growth regulator, Hexaflumuron, on mortality and adult emergence of vector mosquitoes.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, v. 87, n. 2, p. 275 - 283, 1992.

VICENTE, C. L. **Farmacología vegetal.** 3ª ed. Madri: Ediciones Agrotecnicas, 2004. p. 277; 380.

WAGLAND, B. M. **Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. III. Growth on previously unexposed animal.** *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 29, p. 401 - 409, 1978.

WHO - WOLD HEALTH ORGANIZATION, **Resíduos of some veterinary drugs in animals and foods.** Rome, 1998. p. 48 - 55.

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

ZURITA, I. **Panorama Mundial de Lácteos.** Apresentação FIESP, São Paulo, 2008.