

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

***Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858):
MEIO ALTERNATIVO PARA PRODUÇÃO DE LARVAS
E TESTES PROSPECTIVOS**

ROXANA MARIA DE GUADALUPE BETTINI YARZON

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
DEZEMBRO DE 2005**

Y29c Yarzon, Roxana Maria de Guadalupe Bettini
Cochliomya hominivorax (Coquerel, 1858) : meio alternativo para
produção de larvas e testes prospectivos / Roxana Maria de Guadalupe
Bettini Yarzon. -- Campo Grande, MS, 2005.
39 f. ; 30 cm.

Orientador: Fernando Paiva.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

1.Cochliomya hominivorax. 2. Calliphoridae. 3. Parasitologia veterinária.
4. Homeopatia veterinária. 5. Bovino – Doenças. I. Paiva, Fernando. II.
Título.

CDD (22) - 636.2089696

Catálogo na publicação: Divisão de Processamento Técnico da Coordenadoria de
Biblioteca Central da UFMS.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

***Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858):
MEIO ALTERNATIVO PARA PRODUÇÃO DE LARVAS
E TESTES PROSPECTIVOS**

ROXANA MARIA DE GUADALUPE BETTINI YARZON

Orientador Prof. Dr. Fernando Paiva

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Mato Grosso do Sul, como requisito à
obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal. Área de concentração: Saúde Animal

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2005**

“Não concordo com uma única palavra do
que esta a dizer, mas defendo
incondicionalmente o direito que lhe cabe
para o dizer”

(Voltaire)

À minha querida mãe Geny, exemplo de retidão de caráter, força de vontade, perseverança e respeito ao próximo.

Ao meu amado filho Ben-Hur, pela paciência e resignação com minha freqüente ausência.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof Dr Fernando Paiva pela orientação e ensinamentos.

À Hilda Guimarães de Freitas pelo incentivo e apoio.

Aos Médicos Veterinários Iara, Júlia, Maria Aparecida, Juliana, Maria Elizabeth e Francisco, bem como os auxiliares Dercídio, Roberval, Sandro, Igo, Ricardo e Pedro Paulo do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande que me auxiliaram na coleta de material dos animais que adentraram aquela instituição.

Aos funcionários do Hospital Veterinário da UFMS Miguel, Elias e Paulinho que me auxiliaram na contenção dos animais e coleta de material para os experimentos.

Ao proprietários da Empresa Real H pela confiança e apoio financeiro.

Ao Profº Milton Morais de Lima pela ajuda e acompanhamento nos trabalhos de pesquisa.

Aos animais que involuntariamente e tão resignadamente serviram ao desenvolvimento desta pesquisa.

SUMÁRIO

	“Página”
1. INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVOS.....	02
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	07
3.1. Estabelecimento e manutenção de colônias de <i>C. hominivorax</i>	07
3.2. Avaliação de meio artificial.....	08
3.3. Testes prospectivos.....	09
3.3.1. Avaliação comparativa da eficiência entre uma formulação homeopática e droga comercial	09
3.3.2. Avaliação de eficácia de duas formulações homeopáticas.....	10
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
4.1. Estabelecimento e manutenção de colônias de <i>C. hominivorax</i>	11
4.2. Avaliação de meio artificial.....	12
4.3. Testes prospectivos.....	14
4.3.1. Avaliação comparativa da eficiência entre uma formulação homeopática e droga comercial	15
4.3.2. Avaliação de eficácia de duas formulações homeopáticas.....	15
5. CONCLUSÕES.....	17
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
7. NOTA DE PESQUISA: <i>Cochliomyia hominivorax</i> (COQUEREL, 1858): MEIO ALTERNATIVO PARA PRODUÇÃO DE LARVAS.....	24
8. ARTIGO: TESTES PROSPECTIVOS PARA TRATAMENTO DE MIÍASES POR LARVAS DE <i>Cochliomyia hominivorax</i> ..	33

INTRODUÇÃO

Nos sistemas de produção animal os indivíduos são expostos a uma grande variedade de parasitoses e, dentre elas, destacam-se as miíases. Estas são caracterizadas pela invasão e desenvolvimento de larvas de dípteros nos tecidos dos hospedeiros. As miíases podem ser: cutâneas ou cavitárias, ulcerativas ou furunculosas, acidentais ou obrigatórias e as larvas podem ser biontófagas, necrobiontófagas ou necrófagas, conforme os hábitos das espécies invasoras presentes.

As miíases de maior importância econômica são as causadas pelas larvas de *Cochliomyia hominivorax*, que são biontófagas e produzem lesões ulcerativas, geralmente cutâneas e de parasitismo obrigatório. Estas lesões são denominadas vulgarmente de “bicheiras”.

A espécie *C. hominivorax* é uma mosca que durante o seu desenvolvimento passa pelos estádios de ovo, larva, pupa e adulto. Os adultos realizam suas posturas nas bordas de lesões existentes nos animais; os ovos são incubados após algumas horas e as larvas, assim que eclodem, migram para o interior da lesão onde se desenvolvem, destruindo o tecido à sua volta, formando as miíases. Ao término do estágio larval, os indivíduos abandonam o hospedeiro, caindo ao solo, onde se segue o estágio de pupa. Decorridos, em média, oito dias ocorre a emergência dos adultos. O ciclo de vida deste inseto, em condições satisfatórias, dura em torno de 21 dias.

No Brasil, a pecuária possui expressiva importância econômica; é caracterizada como extensiva e ocupa grandes áreas. Nestas condições, a miíase causada pela mosca *C. hominivorax* destaca-se por acarretar prejuízos à produtividade dos rebanhos, principalmente como agente nas miíases umbilicais dos bezerros recém-nascidos, bem como diminuindo a produção leiteira e os índices de fertilidade, reduzindo a taxa de conversão alimentar e o ganho de peso, podendo, eventualmente, levar os animais infestados à morte. Estima-se em muitos milhões de dólares as perdas ocorridas pela queda de produtividade, pelos custos dos medicamentos para o tratamento como também pela mão-de-obra para o manejo dos animais susceptíveis e/ou doentes.

Esse díptero originalmente estava distribuído pelas regiões neoártica e neotropical, atualmente restringe-se ao continente sul americano. Isto porque foi erradicado dos Estados Unidos, México até o Panamá.

O processo de erradicação, adotado pelos Estados Unidos, emprega a técnica de irradiação de pupas para esterilização dos adultos, em especial dos machos. O fundamento desta técnica se deve ao fato das fêmeas de dípteros copularem somente uma vez e dessa forma, a liberação em massa destes indivíduos irradiados, competindo com a população selvagem, reduzi-la-á gradativamente, culminando com a sua erradicação.

A técnica de irradiação de pupas esteriliza ambos os sexos, mas apenas a esterilização dos machos tem importância efetiva e constitui-se em alternativa para a solução definitiva desta parasitose no continente norte americano. Para o seu emprego, necessitamos envidar esforços para desenvolver formas mais econômicas e viáveis de realizá-la em nosso país. Portanto, é preciso pesquisar processos adaptados às nossas condições para a produção em massa de larvas, formulando meios que utilizem insumos de fácil obtenção em quantidade e custo, e também que não contaminem o meio ambiente. E, ainda, realizar estudos que caracterizem a população local da referida espécie.

Estas questões devem ser respondidas com o estabelecimento e manutenção de colônias em condições de laboratório, onde se espera obter dados sobre aspectos da biologia do isolado local de *C. hominivorax* e também larvas para avaliar novos meios de cultura.

Paralelamente a estes estudos, devemos testar produtos para tratamento curativo e/ou profilático das miíases, como forma de minimizar os danos causados por este parasita.

Como ação inicial, foram estabelecidos os seguintes objetivos:

- 1- Estabelecer colônia de *Cochliomyia hominivorax*, em condições de laboratório, para observação dos aspectos da biologia do isolado local;
- 2- Formular e testar meios artificiais para desenvolvimento de larvas de *C. hominivorax*, como alternativa ao substrato a base de carne e sangue bovino, que sejam de baixo custo e ambientalmente seguros;
- 3- Realizar testes prospectivos de medicamentos homeopáticos para tratamento de miíases induzidas artificialmente, e
- 4- Desenvolver dispositivo para indução experimental de miíase por *C. hominivorax*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

A pecuária apresenta-se como a maior expressão econômica no Brasil, possuindo um rebanho com mais de cento e noventa milhões de cabeças, e Mato Grosso do Sul contribui com mais de vinte e quatro milhões desse total (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2003). Como evidência desta importância, entre novembro de 2004 e outubro de 2005, as exportações brasileiras de carne bovina excederam em três bilhões de dólares, representando 28,8% a mais do que o obtido entre novembro de 2003 e outubro de 2004 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC, 2005).

Dentro deste contexto, todos os atores da cadeia de produção da carne buscam minimizar custos para maximizar os lucros; partindo desta premissa, todos os fatores que determinam perdas devem ser considerados e, se possível, eliminados; em especial, os agentes patogênicos. Entre eles as miíases causadas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) é uma das mais significativas.

Nos EUA, estudos feitos por Baumhover (1966) estimaram perdas anuais em 20 milhões de dólares, na região sudeste, e em 50 a 100 milhões, na sudoeste, determinadas por miíases por *C. hominivorax*.

No Brasil, as taxas de mortalidade de bezerros, de zero a doze meses de idade, na região pantaneira, variaram de 10 a 20%, sendo as miíases uma das principais causadoras, ao lado de picadas de cobras, ataques por onça e outras doenças (SERENO, J.; CATTO; SERENO, F., 1996). Mais recentemente, foi estimado que os prejuízos causados pelos principais ectoparasitas de bovinos excederiam a dois bilhões de dólares por ano e as miíases responderiam por 150 milhões de dólares anuais (GRISI *et al.*, 2002). Em 2003, as perdas com couros defeituosos, no Brasil, foram de quatrocentos e vinte milhões de dólares, determinados principalmente por miíases, bernes, mosca-do-chifre e carrapatos. Cifras ainda maiores poderiam ser atingidas se computados 20% de perdas no peso do animal, durante a infestação, associado ao tipo de exploração extensiva de gado, em nosso país (COUROBUSINESS, 2003).

O parasitismo por *C. hominivorax* é de caráter obrigatório no período larval, sendo o principal díptero Calliphoridae causador de miíase em animais no novo mundo, infestando

principalmente bovinos, caprinos, ovinos, suínos e outros incluindo silvestres. Eventualmente, os seres humanos podem ser infestados com larvas desta mosca.

As fêmeas de *C. hominivorax* depositam massas de 10 a 393 ovos que aderem firmemente nos tecidos secos ao redor das lesões, enquanto se alimentam dos exsudatos (JAMES, 1947). Segundo Babilonia e Maki (1991), em laboratório, a ovoposição ocorre à 29,4 ° C e 78% de umidade relativa. Doze a 24 horas, pós-postura, as larvas eclodem, dependendo da temperatura (JAMES, 1947; BUSHLAND; HOPKINS, 1951). Em laboratório, o período de incubação dos ovos oscila entre 12 e 14 horas à 26,6 ° C de acordo com Smith (1960).

Após a eclosão, as larvas penetram na pele, mantendo a região posterior voltada para o meio exterior para permitir a respiração pelos espiráculos ali existentes. Elas são gregárias e produzem formações em bolsas, nos tecidos invadidos, consumindo tecido muscular, vasos, nervos e tecido conjuntivo (JAMES, 1947).

O desenvolvimento completo da larva dentro do hospedeiro varia de cinco a nove dias, quando então ela sai para desenvolver a fase de pupa, no solo (BAUMHOVER *et al.*, 1965 *apud* OLIVEIRA, 1979). Babilonia e Maki (1991) observaram melhor desenvolvimento de larvas, em laboratório, em temperaturas entre 36,7 e 37,8 ° C, com umidade relativa a 65%. No entanto, Smith (1960) obteve melhores índices entre 36,6 e 38,8 ° C, com umidade relativa entre 85 e 90%. Oliveira (1980) observou que a maioria das larvas completava o seu desenvolvimento em quatro dias à temperatura de 35 ° C e 85 e 90% de umidade relativa do ar, no laboratório.

O estágio de pupa se estende por seis a oito dias à 26,6 ° C com umidade relativa variando entre 70 e 80% (SMITH, 1960), mas esse período aumenta em temperaturas entre 12,3 e 17,4 ° C e 55 e 80% de umidade relativa do ar (OLIVEIRA, 1978).

Quando da emergência, os adultos copulam após três a quatro dias e aos seis, as fêmeas já podem realizar a primeira postura (LAOKE *et al.*, 1936 *apud* CRYSTAL, 1967a).

Machos e fêmeas adultas têm hábito diurno e podem voar mais de quarenta quilômetros de distância, sobreviver, em média, quatro semanas, sob temperatura de 25 ° C e cerca de 70% de umidade relativa do ar (LEITE, 2004). No laboratório, podem viver por 65 dias, embora no meio ambiente não devam atingir tal longevidade (JAMES, 1947). Quando adultos de ambos os sexos são mantidos em uma mesma população, as fêmeas vivem em média 17,6 dias e os machos, 18,2; em colônias, com separação dos sexos, as fêmeas vivem 28,5 e os machos,

21,6 ou ainda mantidos isolados individualmente as fêmeas vivem 32,1 e os machos 28, 0, (CRYSTAL, 1967b).

O ciclo completo desse díptero dura cerca de 24 dias à temperatura de 22 ° C (LECK, CUSHING; PARIS, 1936 *apud* HALL, 1991) e 18 dias a 29 ° C (THOMAS; MANGAN, 1989 *apud* HALL, 1991).

Na década de 70, esta mosca se distribuía do sul dos Estados Unidos (EUA), México até o norte da Argentina e sul do Brasil (JAMES, 1947). Atualmente, está erradicada nos EUA, México, Belize, Guatemala, El Salvador e Honduras (VARGAS-TERAN, 1991; GALVIN; WISS, 1996 *apud* GUIMARÃES; PAPAVERO, 1999). Também foi erradicada do norte da África (Líbia), onde havia sido introduzida através de animais importados da América do Sul (LINDQUIST; ABUSOWA, 1991).

Em regiões de clima tropical, com períodos secos e chuvosos distintamente caracterizados, a incidência desse díptero é maior no período chuvoso, não obstante o problema das miíases seja contínuo ao longo do ano, pois a mosca apresenta pouca variação sazonal no tamanho das populações (MERCIER, BIANCHIN; WHITE, 2001).

O parasitismo por *C. hominivorax*, provoca alterações clínicas (MORAIS *et al.*, 2003), hematológicas e bioquímicas em bovinos (OLIVEIRA, 1980; SANAVRIA, 1993). No Brasil, os bezerros são mais susceptíveis no período neonatal, quando é freqüente a postura de ovos nas bordas do cordão umbilical ainda não cicatrizado, podendo ocorrer ainda por problemas de parto, quando ocorre retenção de anexos fetais e por intervenções relacionadas ao manejo, como: castração, descorna, bem como ferimentos em cerca de arame farpado. Feridas causadas nas infestações maciças por carrapatos aumentam a susceptibilidade a este agente parasitário. Caso o tratamento não seja realizado em tempo hábil, poderá determinar na morte dos animais, principalmente dos jovens (GRISI *et al.*, 2002). Desta forma, os animais infestados por *C. hominivorax* precisam ser tratados e as larvas retiradas, embora em alguns casos a extirpação mecânica das larvas seja dificultada pelo tipo de manejo adotado.

Várias formulações de uso tópico e sistêmico são utilizadas atualmente, quer seja em compostos simples ou combinações de moléculas. O tratamento tópico sobre a lesão é feito com formulações inseticidas em forma de ungüentos, soluções ou spray. Por sua vez, os tratamentos sistêmicos empregam formulações injetáveis ou *pour on*.

Como consenso, entendemos que, independente da molécula utilizada na formulação, tais como: organofosforados e avermectinas, não se elimina a necessidade de exames regulares

dos animais, uma tarefa quase impraticável nas grandes áreas de criação. Isto porque, alguns animais podem escapar ao controle e serão expostos a infestações graves e até mesmo fatais. Além disto, infestações aliadas à impossibilidade de acesso para tratamento dos animais silvestres fazem com que haja manutenção do agente no ambiente, favorecendo as reinfestações (LINDQUIST *et al.*, 1992 *apud* GUIMARÃES; PAPAVERO, 1999). Frente a esta realidade, necessita-se de meios de controle que realmente reduzam ou eliminem a possibilidade de infestação por larvas desses dípteros.

Várias formas de controle foram tentadas, tais como: captura de alados através de armadilhas, esterilização de machos por agentes químicos, manejo diferenciado dos animais, etc., todas elas individualmente ou associadas, mas sem sucesso.

A forma de controle mais eficiente encontrada foi com a liberação de machos esterilizados por radiação gama, cuja praticidade foi testada e aprovada quando da erradicação da *C. hominivorax* da ilha de Curaçao, nos Estados Unidos e na América Central (BAUMHOVER *et al.*, 1955; GALVIN; WISS, 1996 *apud* GUIMARÃES; PAPAVERO, 1999). Essa prática só é possível porque as fêmeas de *C. hominivorax* copulam uma só vez durante sua vida (BUSHLAND; HOPKINS, 1951; CRYSTAL, 1967a); desta forma, toda fêmea que copular com um macho estéril não deixará descendentes.

No entanto, para a supressão ou erradicação desses dípteros, são necessárias pesquisas locais e/ou regionalizadas sobre a biologia e fisiologia do parasito. Medidas adicionais, que visem à produção em massa de larvas com custo efetivo baixo, contribuirão para a obtenção de adultos estéreis. Os principais aspectos populacionais que precisam ser estudados são: caracterização genética das populações, avaliação do desenvolvimento das populações, desenvolvimento de linhagens, ecologia e comportamento das populações em diversos sistemas, eficiência do processo de liberação de machos estéreis com sistemas de atração (armadilhas) e coleta de ovos sobre animais sentinelas (GRAHAN, 1985 *apud* VAN DER VLOEDT; KLASSEN, 1991).

Para a realização de todos esses estudos, inclusive a liberação de machos estéreis, é preciso primeiro viabilizar uma grande produção de larvas e esta exige meios de cultura artificiais para produção em massa. Um dos primeiros meios de cultura descritos foi proposto por Grahan e Dudley, (1959) *apud* Oliveira (1980), que é constituído de 54% de carne magra moída, 30% de água, 15% de sangue bovino citratado e 0,2% de formalina (*sic*). Outra formulação, mais recente, é aquela que utiliza 1,2% do produto “Water Lock G-400”

(Poliacrilamida), utilizado como agente gelificante, 6% de sangue em pó de bovino, 3% de leite, 3% de ovo em pó, 0,1% de formolaldeído e 86,7% de água (BABILONIA; MAKI, 1991). Taylor e Mangan, 1987, compararam uma dieta de carne, ovos e leite em pó, formalina e água, com outra à base de sangue, ovos e leite desnatado em pó, formalina, água e Water-Lock, tendo observado que a dieta gelificada produziu larvas e pupas de tamanho e peso igual ou maior que a dieta de carne. Os mesmos pesquisadores, em 1988, testaram dietas com sangue, ovos e leite em pó, formalina, água e, como agente gelificante, agar Carrageenan nas concentrações de 0,25%; 0,37%; 0,50% e Water-Lock a 1,2%, sendo que este último apresentou maior peso das pupas, elevada emergência de adultos e menor mortalidade.

Tanto as formulações de carne e sangue, e que utilizam agente gelificante Water Lock, possuem limitações econômicas e ecológicas, respectivamente pelo custo elevado e pelo impacto da poliacrilamida no meio ambiente, por tratar-se de produto não biodegradável e tóxico (TAYLOR; MANGAN, 1987; BREWER, 1992). Desse modo, com o intuito de contribuir com novas informações a respeito da *C. hominivorax*, tais como: biologia, tratamento e controle, foi realizada uma série de pesquisas descritas a seguir.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Estabelecimento e manutenção de colônia de *C. hominivorax*

O estabelecimento da colônia foi executado pela coleta de larvas ou ovos em lesões naturalmente adquiridas por bovinos, eqüinos e cães. No Laboratório de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, UFMS, em Campo Grande, MS, as larvas e ovos foram examinados ao estereomicroscópio, para confirmação da espécie, segundo os critérios descritos por James (1947) e Guimarães e Papavero (1999). Após a confirmação diagnóstica, ovos e/ou larvas foram colocados na superfície do substrato artificial (SA), formulado por Graham e Dudley, (1959) *apud* Oliveira, 1980, sem formalina, com os seguintes componentes: 54% de carne, 30% de água e 16% de sangue citratado, em frascos cobertos com tecido tipo musseline de nylon.

Os frascos com larvas e/ou ovos foram mantidos em uma sala de seis metros quadrados sem janelas, com sistema de exaustor de parede, porta composta por duas folhas: uma de madeira e outra telada. Para manutenção da temperatura em torno de 28 °C e umidade relativa do ar em

45 - 65 %, foram utilizados ventiladores com sistema de aquecimento de 1400 Watts de potência, um ventilador doméstico para circulação de ar e um umidificador doméstico com capacidade para cinco litros de água. O fotoperiodismo foi mantido por duas lâmpadas a vapor de mercúrio, e 40 watts cada, acesas manualmente por períodos de 12 horas.

Quando necessário, o substrato foi completado e, a partir do terceiro dia, os frascos foram colocados ligeiramente inclinados em uma cuba de vidro, contendo areia lavada e seca, para facilitar a saída das larvas do meio de cultura para o período de pupa. A cuba foi coberta com tecido tipo musseline de nylon, para evitar contaminação por outros dípteros. Após a transformação das larvas em pupas, a areia foi peneirada e estas, transferidas para placa de Petri, também com areia lavada e seca.

A placa de Petri foi colocada em uma gaiola, confeccionada com cano PVC de 200 mm de diâmetro e 50 cm de comprimento, uma das laterais foi telada e outra protegida com plástico transparente, para melhor visualização quando do manejo dos indivíduos. Após a emergência, os caracteres morfológicos foram conferidos segundo descrito por James (1947), Oliveira (1980) e Guimarães e Papavero (1999).

As moscas adultas eram alimentadas com mel cristalizado, oferecido em placa de Petri pequena, com uma gaze dobrada que serviu de apoio ao pouso e proteção contra a retenção dos insetos neste substrato. No terceiro dia, após a emergência, incluiu-se na alimentação uma mistura composta por duas partes de músculo moído, uma parte de fígado, uma parte de coágulos de sangue e uma parte de água batidos no liquidificador. Todos os componentes orgânicos eram de origem bovina. Esta mistura serviu também como meio de postura. Os ovos recém depositados eram colocados no meio SA e reiniciou-se o processo anteriormente descrito.

3.2. Avaliação de meio artificial

Formulou-se um meio artificial (MA) composto de: 6% de farinha de sangue bovino, 4% de leite em pó desnatado, 2% de ovo em pó, 2% de proteína texturizada de soja, 0,625% de agar, 10% de soro bovino e 75,375% de água. Na preparação, o agar foi dissolvido em água e levado ao fogo até atingir o ponto de ebulição. Após resfriamento adicionaram-se os outros componentes, sendo a mistura então homogeneizada e quando atingiu consistência pastosa, foram pesadas porções de 27 a 30 g e distribuídas em frascos de boca larga com capacidade

para 100 mL. A seguir, 35 larvas, entre 18 e 24 horas, provenientes de ovos depositados em meio de carne e soro bovino, foram distribuídas na superfície do meio.

No dia seguinte, acrescentaram-se 45 a 47 g de MA e, após homogeneização, transferiu-se toda a cultura para recipiente maior com capacidade para de 350 mL; no terceiro dia, 19 a 20 g foram adicionadas e toda a cultura transferida para um recipiente ainda maior (500 mL). No 4º dia acrescentou-se soro para umidificar o meio e manter a mesma consistência inicial, tendo sido colocado então o recipiente com a cultura dentro de uma bandeja contendo uma camada de areia seca. As larvas começaram a abandonar o meio no quinto dia e no sexto dia, as larvas, que não haviam saído, foram retiradas. Todas as larvas foram transferidas para placas contendo areia seca e colocadas dentro de gaiolas para aguardar a emergência. Com finalidade de comparar a produção de larvas nos meios MA e SA, foram realizadas cinco repetições com cada um, utilizando-se o mesmo número de larvas e quantidade de meio de cultura. Ao final, foram escolhidas, ao acaso, 20 pupas de cada réplica e procedeu-se à pesagem seis dias após o início do período deste estágio.

3.3. Testes Prospectivos

3.3.1. Avaliação comparativa da eficiência entre uma formulação homeopática e droga comercial

O teste foi realizado em uma fazenda localizada à 20 Km de Campo Grande, com acesso pela rodovia BR 163, no distrito de Anhanduí. Foram utilizados 40 bovinos, machos inteiros, com idade aproximada de 24 meses, mantidos em pastagem cultivada de *Brachiaria decumbens*, identificados individualmente com brincos numerados, sem exposição prévia a drogas endo/ectoparasiticidas nos trinta dias anteriores à indução da infecção. Os animais foram divididos em quatro lotes: o lote A como lote controle; o lote B tratado com ivermectina 1% (Ivomec™ – Merial®) na dosagem de 200 mcg/Kg PV por via sub-cutânea; o lote C tratado com formulação homeopática Curativa, em desenvolvimento pela indústria Real H Nutrição e Saúde Animal, com sede na cidade de Campo Grande, e o lote D tratado com formulação homeopática Profilática, também da Real H, ambas na dose de 10 mL/animal da formulação por via sub-cutânea. Todos os lotes foram mantidos no mesmo piquete durante todo o período experimental.

No dia -1, o lote D foi tratado; no dia 0, procedeu-se à indução das infestações em todos os animais. Para indução da infecção com larvas de *C. hominivorax*, foi feita uma incisão cutânea, após anestesia local, com cerca de 3 cm, com lâmina de bisturi, expondo o tecido sub-cutâneo, no terço posterior da tábua do pescoço. Imediatamente, foram depositadas 20 a 30 larvas, com idade de 12 a 18 horas, eclodidas em SA, separadas no momento da indução com auxílio de uma espátula de madeira.

No dia 2, os animais foram examinados e as lesões confirmadas para a presença de larvas, e aqueles portadores de miíases foram tratados segundo o previsto para o lote experimental.

No dia 6, todos os animais foram examinados para verificação da presença de miíases com larvas vivas ou outros tipos de lesões caso existentes, e os dados obtidos foram anotados e os animais tratados com formulações convencionais sob forma de spray (Sporlam™ - Elanco®) e unguento (Unguento Pearson™ - Pearson®).

A eficácia dos produtos testados no tratamento e prevenção de miíases induzidas foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Eficácia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ miíases dia 2} - \text{N}^\circ \text{ miíases dia 6}}{\text{N}^\circ \text{ miíases dia 2}} \times 100$$

3.3.2. Avaliação de eficácia de duas formulações homeopáticas

O experimento foi realizado na mesma propriedade do teste citado anteriormente. Foram utilizados 45 animais, machos inteiros, com cerca de 16 meses de idade, mantidos no campo, identificados individualmente com brincos numerados, sem exposição prévia às drogas endo/ectoparasiticidas nos trinta dias anteriores à indução da infecção. Foram divididos em três lotes sendo: o lote A tratado com formulação homeopática R; o lote B tratado com formulação homeopática S, ambas as formulações injetadas por via subcutânea na dosagem de 12 mL/animal, e o lote C mantido sem tratamento.

Para indução da infecção com larvas de *C. hominivorax* foi adaptado um dispositivo de inoculação constituído por seringas descartáveis com capacidade de três mL, cortadas logo após o canhão da agulha, com o êmbolo retraído em espaço suficiente para 1,5 mL, no qual foi colocado cerca de 0,5 mL de uma mistura de carne moída fresca macerada em gral e

pistilo, homogeneizada com soro e solução fisiológica, na quantidade necessária para a obtenção de consistência pastosa. Na superfície desse substrato foram depositados 40 a 50 ovos colhidos em posturas recentes. Estes dispositivos foram mantidos na posição vertical, em estantes de tubos de ensaio, dentro de uma B.O.D. com temperaturas entre 32 e 36 °C e umidade relativa em torno de 80%. Após 12-16 horas, os dispositivos foram examinados sob estereomicroscópio, para avaliação da viabilidade do inóculo, sendo considerados viáveis e aptos à indução aqueles com larvas ativas no substrato. A indução da infecção foi realizada com os mesmos procedimentos do teste anterior.

No dia 2, os animais foram examinados para presença de miíases com larvas vivas ou outras intercorrências, como por exemplo, lesões purulentas. Os animais dos lotes A e B, com lesões ativas de *C. hominivorax*, foram tratados com as formulações previstas no delineamento, ficando o lote C como controle. Ao final, no dia 6, todos os animais foram examinados para a presença de miíases com larvas vivas que casos existentes, eram tratadas com formulações convencionais sob forma de spray (Sporlam™ - Elanco®) e unguento (Unguento Pearson™ - Pearson®).

A eficácia dos produtos testados no tratamento e prevenção de miíases induzidas foi calculada pela mesma fórmula do teste anterior.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Estabelecimento de colônia e aspectos da biologia de *C. hominivorax*

Inicialmente nas tentativas de estabelecimento e manutenção da colônia de *C. hominivorax* à temperatura ambiente no laboratório, considerando que a temperatura média em Campo Grande é elevada no verão, os resultados de sobrevivência, postura e desenvolvimento das larvas foram irregulares, ocorrendo, por vezes, grande mortalidade ou até ausência de postura. Nessas condições, obteve-se relativo sucesso no verão, porém as temperaturas oscilavam entre 24 e 40,9 °C e a umidade relativa do ar de 45 a 85%.

O uso do insetário, com menor oscilação de temperatura e umidade, mostrou-se satisfatório. No período de sete meses, a colônia foi mantida em temperaturas médias diárias de 29 °C e umidade relativa média diária em torno de 60 %. Estas condições estão próximas daquelas empregadas por Smith (1960) que mantiveram os adultos à temperatura de 26,6 °C e 50 a

60% de umidade relativa, e por Babilonia e Maki (1991), que utilizaram temperatura de 25,6 °C e umidade relativa de 70%. O início do período de postura oscilou entre o 5º e o 7º dia, após a emergência, o que corrobora o relato de Bushland e Hopkins (1951), que, após seis dias da emergência as moscas estão prontas para ovoposição fértil. No entanto, Thomas (1993) afirma que à 30 °C a ovoposição ocorre aos quatro dias e à 22 °C, com oito dias. O período de incubação manteve-se entre 12 e 18 horas à semelhança dos resultados experimentais relatados por Oliveira (1980).

Após seis dias, as larvas terminaram seu desenvolvimento e abandonaram o meio de cultura, (BUSHLAND; HOPKINS, 1951) e o período de pupa durou de 7 – 10 dias; períodos semelhantes a estes foram descritos por Oliveira (1980).

Para alimentação das moscas, utilizou-se mel diluído em água coberta com gaze dobrada e também soro eqüino em recipientes separados; para este último empregaram-se pequenas tampas de plástico furadas como superfície de pouso. No entanto, mesmo com estes dispositivos, as moscas, ao pousarem, molharam suas asas e morreram. Modificou-se a oferta do mel para a forma cristalizada também coberta com gaze dobrada; como fonte protéica, em substituição ao soro, empregou-se uma mistura de consistência pastosa composta por carne, fígado, coágulos de sangue e água. A inclusão do fígado aumentou a atração das fêmeas, estimulando a postura de ovos. Além destes aspectos, a oferta de fonte protéica mostrou melhor eficiência quando colocada após o terceiro dia de vida das moscas.

4.2. Avaliação de meio artificial

As tentativas para formular um Meio Artificial (MA) de baixo custo, e com componentes disponíveis na região, consumiram várias horas de trabalho e ingredientes. Inicialmente, para estruturar o meio, utilizou-se vermiculita expandida de granulação fina, porém a absorção da porção líquida do meio não foi adequada e as larvas morreram, possivelmente por não conseguirem respirar.

Ainda como elemento para estruturar o meio, foram experimentados: amidos de mandioca e de milho e farinha de milho e gelatinas; contudo não se obtiveram os resultados desejados de homogeneidade da mistura, e o meio, invariavelmente, apresentava sinais de putrefação com o crescimento de fungos e bactérias contaminantes.

O agar foi inicialmente diluído em água fria, mas a consistência não era adequada ou mesmo homogênea; quando diluído e aquecido a consistência adquiriu a forma desejada.

Nos resultados obtidos no presente experimento, o peso médio das pupas foi de 22,70 mg para o MA e 48,03 mg para o SA (Tabela 1), enquanto que Taylor e Mangan (1987) verificaram variação nos peso das pupas, que foi de 46,9 a 61,7 mg, em uma dieta à base de carne, ovos e leite em pó, formalina e água e peso de 52,3 a 59,0 mg para uma dieta à base de sangue, ovos em pó e leite desnatado em pó, formalina, água e Water-Lock. E os pesos médios das pupas, relatados por Taylor e Mangan (1988), foram de 50,84 mg para a dieta contendo Water-Lock, sendo que na dieta com agar Carrageenan à 0,25%, 0,37% e 0,50% foram respectivamente de 44,73 mg, 42,44 mg e 37,69 mg.

Tabela 1 – Comparação entre o Meio Artificial (MA) proposto e o Substrato Artificial (SA), para a criação de larvas de *C. hominivorax*.

	Quantidade de Meio (g)	Larvas			Pupas	
		1º estágio (nº)	3º estágio (nº) Média	Período Larval (dias)	Média de Peso (mg)	Emergência Adultos (dias)
MA	100	35	19,2	6	22,70	10
SA	100	35	29,4	5	48,03	9

Observou-se que a média de peso das pupas obtidas no MA foram menores do que as do SA concluindo-se que o meio ainda necessita ser aprimorado.

Em relação aos custos das formulações, o MA apresentou valores aproximados de R\$ 8,00/kg e o SA, de R\$ 6,00/Kg. Estes poderão ser reduzidos pela utilização de soro, no MA, coletados em calhas de sangria em abatedouros, de onde também podem ser obtidos os coágulos usados na confecção da pasta para alimentar indivíduos adultos. Desta forma, dispensa-se a manutenção de animais doadores. A adoção de meios artificiais, sem carne, é recomendável, pois, entre outras vantagens, há redução na emissão de odores amoniacais, característicos do SA, que os exalam em grande quantidade. Estas emissões são desfavoráveis ao desenvolvimento das larvas quando cultivadas em grande número, porque a decomposição do

meio é muito rápida e elas tentam abandonar o substrato antes de atingirem o terceiro estágio. Tal observação confirma os relatos de Smith (1960) sobre as dietas à base de carne que liberavam amônia tóxica para as larvas, e sendo nauseante para os manipuladores.

O agente gelificante Water-Lock é considerado, por Taylor e Mangan (1987), um produto com várias qualidades, tais como: dar consistência ao meio facilitando o manuseio, absorver as substâncias metabólicas do substrato e reduzir o odor emitido durante o crescimento larval. Além destas características, Taylor, Bruce e Garcia (1991) consideram a redução dos custos de mão-de-obra como um fator muito importante.

Porém, o uso deste produto representa a metade do valor total da dieta, por isso as tentativas de redução dos custos passam pela adição de substâncias como o farelo de sabugo de milho e serragem que, de acordo com Brewer (1992), podem diminuir em até 50% a utilização do Water-Lock, sem efeitos adversos para as larvas. Deve-se considerar ainda, como fator determinante à necessidade de substituição do Water-Lock, a sua toxicidade ao ambiente, por ser não biodegradável e, constituir-se, ainda contaminante para fontes de água, haja vista os procedimentos posteriores para tornar seguro o seu descarte. Babilonia e Maki (1991) citam que os resíduos de dietas com esse produto são colocados em tanques de decantação; a água, após nitrificação, é reutilizada no sistema e a parte sólida é enterrada em aterros sanitários.

O consumo dos substratos pelas larvas, quer seja em SA ou MA, é variável e está associado a fatores como: temperatura, umidade do ar, características da colônia, ingredientes misturados imprópriamente, etc. Dessa forma, em certos períodos, é necessário adicionar meios de cultura ao cultivo e em outros não, conforme descreveu Smith, (1960); Babilonia e Maki, (1991).

4.3. Testes Prospectivos

A execução de testes prospectivos com drogas destinadas ao controle e/ou tratamento de miíases, é uma das razões para se manter colônias deste agente em laboratório. Foram utilizadas formulações homeopáticas em desenvolvimento pela Real H Nutrição e Saúde Animal, indústria local, que tinha interesse em testar os produtos com desafio no campo. Como os produtos fornecidos estão em desenvolvimento e em fase de testes experimentais, por questões de segredo industrial, a empresa não forneceu informações sobre a composição das formulações testadas.

4.3.1. Avaliação comparativa da eficiência entre uma formulação homeopática e droga comercial

O número de miíases efetivamente instaladas no dia 2 não obteve êxito tanto quanto o número de induções. Atribuiu-se esta baixa fixação ao processo de inoculação realizado com auxílio de espátula de madeira para transferir cerca de 20 a 30 larvas à incisão; ao fato de o volume de substrato carregado ser variável; pelo processo ter sido executado sem auxílio de estereoscópio, que impediu a confirmação de larvas a serem implantadas, e pelas próprias condições do mangueiro e demais instalações. Mesmo assim, o número de animais com lesões permitiu uma avaliação preliminar do teste. Após seis dias da indução das miíases, o número de lesões com larvas diminuiu nos lotes tratados e permaneceu inalterado (6/6) no lote controle (lote A). No lote B, tratado com Ivermectina à 1%, apenas um animal (6/7) apresentou-se sem lesão, representando 14 % de eficácia. No Lote C, tratado de forma curativa com formulação homeopática, constatou-se ausência de lesões em 2 animais (2/5), representando uma eficácia de 60%; no lote D, tratado profilaticamente, todos os animais apresentaram lesões (5/5) (Tabela 2).

Tabela 2 – Comparação da eficiência entre Ivermectina a 1% e formulação homeopática, no tratamento de miíases induzidas com larvas de *Cochliomyia hominivorax*.

	Dose (mL)	Lesões Ativas 2º dia	Lesões Ativas 6º dia	Redução %
Ivermectina 1%	1mL/ 50kg/PV	7	6	14
Homeopatia Curativa	10mL/ animal	5	2	60
Homeopatia Profilática	10mL/ animal	5	5	0
Controle	–	6	6	0

4.3.2. Avaliação de eficácia de duas formulações homeopáticas

A adoção do dispositivo de indução da infecção reduziu o volume de substrato em cada inóculo, acelerou o processo de inoculação das larvas e mostrou ser prático, pois permitiu maior controle da quantidade do inóculo. Além destes aspectos, o uso do dispositivo permitiu selecionar, sob o estereomicroscópio, aqueles meios com larvas viáveis, descartando os considerados inadequados. No entanto, o percentual de aproveitamento das preparações foi de 63%, índice considerado baixo caso o número de animais experimentais seja grande.

Este problema deverá ser solucionado quando melhor entendido o processo de eclosão das larvas, ou mesmo por indução de eclosão por algum processo estimulador, de modo a sincronizar a eclosão, e, assim, as larvas poderão migrar para o substrato, onde permanecerão no meio até atingirem a idade adequada para implante nos animais experimentais.

O processo de indução das miíases apresentou número de lesões menor do que o esperado em todos os lotes experimentais, apenas 5 em cada lote de 15 (5/15). Isto também se atribui ao maior rigor nos critérios adotados para classificação das lesões: apenas aquelas com larvas visíveis e aglomeradas eram consideradas ativas. Lesões apenas com sangramento, secreções purulentas ou poucas larvas não eram consideradas ativas. Além destes aspectos, há suspeita de que a forma da incisão possa ter contribuído para a morte das larvas; a incisão reta colapsou os bordos facilitando o processo de cicatrização com deposição de fibrina dos coágulos, impedindo a respiração das larvas, que morreram antes de instalarem a miíase propriamente dita. Para contornar este problema, sugere-se a adoção de pequenas incisões circulares que manterão a abertura aerada sem fechamento dos bordos, fato este descrito por Oliveira *et al.* (1993).

Os animais do lote A, tratados com a formulação homeopática R, apresentaram uma redução de 40% nas lesões (3/5) quando comparados ao lote B, tratados com a formulação homeopática S, e o lote C, controle, que não apresentaram redução no número de lesões (5/5). Estes resultados sugerem uma eficácia curativa da formulação homeopática R sobre as miíases induzidas com larvas de *C. hominivorax*. (Tabela 3).

Bianchin *et al* (1992), testando diferentes formas de tratamento profilático para miíases umbilicais naturalmente adquiridas, utilizaram as seguintes combinações: álcool iodado à 10%, álcool iodado à 10% com ivermectina à 1%, e apenas ivermectina à 1%; sendo que a incidência de miíases foi de 40,7% e não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Entre as formulações de ação sistêmicas mais empregadas, a doramectina possui relatos com 100% de eficácia para a prevenção de miíases até doze dias, tanto em infestações induzidas (OLIVEIRA, 1993 e MOYA BORJA *et al*, 1997a) como naturalmente adquiridas por bezerros neonatos e vacas pós-parto (MUNIZ *et al*, 1995a) e, também, em castrações (MUNIZ *et al*, 1995b; SANAVRIA *et al* 1996). Em testes de persistência de atividade com doramectina e ivermectina, Caproni *et al* (1998) obtiveram eficácia de 94,6% e 43,7%, respectivamente, com aplicação das moléculas dez dias antes da castração.

Usando ivermectina como agente profilático à instalação de miíases pós-castração em bovinos, Usher *et al*, (1997) constataram que menos de 2% dos animais tratados desenvolveram lesões. Em experimento de longa duração, Mercier, Bianchin e White (2001), sobre a ação profilática de doramectina, abamectina e ivermectina, aplicadas 24 horas antes da castração de machos, com finalidade de controle de miíases, obtiveram 100% de eficácia até sete dias pós-tratamento para todas as drogas. E, considerando todo o período experimental de 28 dias, os níveis de proteção variaram, respectivamente para as drogas testadas, em 92, 85 e 69%.

Quanto ao uso de fipronil *pour on*, Moya Borja (1997b) relata eficácia maior que 95% na prevenção de miíases, pós-castração de bovinos. Com esta molécula, Lima *et al* (2004) registraram eficácia de 95% até 17 dias após a cirurgia.

Tabela 3 – Comparação entre as formulações homeopáticas R e S no tratamento curativo de miíases induzidas em bovinos.

	Dose (mL)	Lesões Ativas 2º dia	Lesões Ativas 6º dia	Redução %
Homeopatia R	12mL/ animal	5	3	40
Homeopatia S	12mL/ animal	5	5	0
Controle	-	5	5	0

Os resultados obtidos com as formulações homeopáticas sugerem alguma eficácia sobre as miíases ulcerativas induzidas com larvas de *C. hominivorax*, principalmente, no tratamento curativo.

5. CONCLUSÕES

O Meio Artificial (MA) testado produziu menos pupas e com menor peso do que aquelas do Substrato Artificial (SA). No entanto, os resultados demonstram ser possível utilizar outros meios artificiais, sem Water Lock, que permitam a produção de larvas, pupas e indivíduos adultos viáveis. O meio artificial testado necessita ser aprimorado, tanto na composição, quanto nos aspectos de manipulação para a recuperação de pupas mais pesadas.

A proposição e teste de um dispositivo de inoculação de larvas de *C. hominivorax* facilita a indução da infecção, diminui o tempo de contenção do animal; é prático e permite maior controle prévio da quantidade de inóculo.

Na avaliação comparativa de eficiência entre ivermectina à 1% e uma formulação homeopática na redução de lesões de miíases por larvas de *C. hominivorax*, os animais tratados com a formulação homeopática sob forma curativa apresentou maior eficácia, (60 %). No teste de eficácias de formulações homeopáticas, a formulação R apresentou 40% de controle. Com os resultados obtidos nos dois testes, pode-se inferir que a ação do princípio homeopático testado na eliminação das larvas de *C. hominivorax* instaladas nas lesões tem potencial promissor como alternativa para o controle desta miíase.

6. REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE.- ABIEC. **Exportação de carne bovina será recorde apesar da aftosa – 17/11/2005.** Disponível em http://www.abiec.com.br/abiec/ver_noticia.php?id=853. Acesso em 02 de dez. 2005.

BABILONIA, E. S.; MAKI, D. L. Mass production of sterile New World screwworm flies in southern Mexico. **World Animal Review, FAO – New World screwworm response to emergency** - 1991. Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGa/AGAP/WAR/waral/u422b/u4220b0j.htm>. Acesso em 23 de jun. 2004.

BAUMHOVER, A. H.; GRAHAM, A.J.; BITTER, B. A.; HOPKINS, D. E.; NEW, W. D.; DUDLEY, F. H.; BUSCHLAND, R. C. Screw-worm control through release of sterilized flies. **J. Econ. Entomol.**, v. 48, n. 4, p. 462 – 466, aug 1955.

BAUMHOVER, A. H. Eradication of the screw-worm fly. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 196, n. 3, p. 240 – 248, 1966.

BIANCHIN, I.; CORRÊA, E. S.; GOMES, A.; HONER, M. R.; CURVO, J. B. E. Uso de ivermectin na prevenção das miíases umbilicais em bezerros de corte criados extensivamente. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 1, n. 2, p. 121 - 124, 1992.

BREWER, F. D. Gel extenders in larval diet of *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **J. Econ. Entomol.**, v. 85, n. 2, p. 445-459, april 1992.

BUSHLAND, R. C.; HOPKINS, D. E. Experiments with screw-worm flies sterilized by x-rays. **J. Econ. Entomol.**, v. 44, n. 5, p. 725 – 731, oct 1951.

CAPRONI, J. R.; UMEHARA, O.; GONÇALVES, L. C. B.; MORO, E. Persistent efficacy of doramectin and ivermectin in the prevention of natural *Cochliomyia hominivorax* infestations in cattle castrated 10 days after treatment. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 7, n. 1, p. 57 – 61, 1998.

COUROBUSINESS - O site da indústria do couro do Brasil. **Qualidade do couro: De quem é a conta?** Mai/junho de 2003. Disponível em <http://www.courobusiness.com.br/20038.php>. Acesso em 11/12/2005.

CRYSTAL, M. M. Reproductive behavior of laboratory-reared screw-worm flies (Diptera: Calliphoridae). **J. Med. Ent.** v. 4, n. 4, p. 443 – 450, nov 1967a.

CRYSTAL, M. M. Longevity of screw-worm flies, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera: Calliphoridae): Effect of sex and grouping. **J. Med. Ent.** v. 4, n. 4, p. 479 – 482, nov 1967b.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G. E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, Ano 21, n. 125, jan/fev 2002.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. **Myiasis in man animals in the neotropical region**. São Paulo, Pleiade/FAPESP cap. 1, p. 15-18, 97-117, cap. 6, p. 97- 117, 1999.

HALL, M. J. R. Screwworm flies as agents of wound myiasis. **World Animal Review, FAO – New World screwworm response to emergency - 1991**. Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGa/AGAP/WAR/waral/u422b/u4220b0j.htm>. Acesso em 23 de jun. 2004.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.- IBGE. **Efetivos dos Rebanhos – Cabeças**. Fonte: Pesquisa Pecuária Municipal (PPM), 2003. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=20&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>. Acesso em 02 de dez. 2005.

JAMES, M. T. The flies that cause myiasis in man. **Misc. Public.** n. 631, p. 175, Washington, USDA, 1947.

LEITE, A. C. R. Biologia e controle de *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia & I Simpósio latino-americano de Rickettsioses, Ouro Preto, MG, 2004.

LIMA, W. S.; MALLACO, M. A. F.; BORDIN, E. L.; OLIVEIRA, E. L. Evaluation of the prophylactic effect and curative efficacy of fipronil 1% pour on (Topline) on post-castration scrotal myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Vet. Parasitol.** n. 125, p. 373 – 377, 2004.

LINDQUIST, D. A., ABUSOWA, M. The new world screwworm in North Africa. **World Animal Review, FAO – New World screwworm response to emergency - 1991**.

Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGa/AGAP/WAR/waral/u422b/u4220b0j.htm>. Acesso em 23 de jun. 2004.

MERCIER, P.; BIANCHIN, I.; WHITE, C. R. Efeito protetor de avermectinas contra infestações naturais por *Cochliomyia hominivorax* pós-castração em bovinos de corte. **A Hora Veterinária**, ano 21, n. 121, maio/jun 2001.

MORAIS, C. M.; SANAVRIA, A.; BARBOSA, C. G.; SILVA, H. M. K. Alterações clínicas em bovinos infestados experimentalmente com larvas de *Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 12, n. 4, p. 154 – 158, 2003.

MOYA BORJA, G. E.; MUNIZ, R. A.; UMEHARA, O.; GONÇALVES, L. C.B.; SILVA, D. S. F.; MCKENZIE, M. E. Protective efficacy of doramectin and ivermectin against *Cochliomyia hominivorax*. **Vet. Parasitol.** v. 72, n. 1, p. 101 – 109, 1997a.

MOYA BORJA, G. E.; SALANI, E. C. Eficácia do fipronil *pour-on* (Topline) na prevenção da infestação da bicheira, *Cochliomyia hominivorax* em bovinos castrados. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 12, n. 4, p. suplemento 1, A24, agosto 1997b.

MUNIZ, R. A.; ANZIANI, O. S.; ERRECALDE, J.; MORENO, J.; REW, R. S. Efficacy of doramectin in the protection of neonatal calves and post-parturient cows against field strikes of *Cochliomyia hominivorax*. **Vet. Parasitol.** n. 58, p. 155 – 161, 1995a.

MUNIZ, R. A. Efficacy of injectable doramectin in the protection of castrated cattle against field infestations of *Cochliomyia hominivorax*. **Vet. Parasitol.** n. 58, p. 327 – 333, 1995b.

OLIVEIRA, C. M. Influência da temperatura e da umidade relativa do ar na evolução das pupas de *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858). **Arq. Fac. Vet. UFRGS.** n. 6, p. 35 – 38, dez 1978.

OLIVEIRA, C. M. B. *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858): Classificação, distribuição e biologia. In: SEMINÁRIO NACIONAL SOBRE PARASITOSSES DOS BOVINOS, **Anais do Iº Seminário Nacional sobre Parasitoses dos Bovinos**. Campo Grande, MS, 1979.

OLIVEIRA, C. M. B. **Biologia, flutuação populacional e patologia da *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Diptera: Calliphoridae)**, 1980, 92 f. Tese (Doutorado Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1980.

OLIVEIRA, C. M. B.; MUNIZ, R. A.; GONÇALVES, L. C. B.; OLIVEIRA, L. O. Eficácia de doramectin contra infestações induzidas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) em bovinos do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 2, n. 1, p. 07 – 10, 1993.

SANAVRIA, A. Alterações Clínicas hematológicas e seroproteicas provocadas por larvas de *Cochliomyia hominivorax* em bovinos. **VIII Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, Londrina, Pr, 1993.

SANAVRIA, A. Eficácia Profilática de doramectin contra infestações naturais por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) em bovinos após castração. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 5, n. 1, p. 07 – 10, 1996.

SERENO, J. R. B.; CATTO, J. B.; SERENO, F. T. P. S. Prevenção de miíases umbilicais em bezerros criados extensivamente, no Pantanal, através da utilização de ivermectin. **Comunicado Técnico EMBRAPA CPAP**, Corumbá, MS, v. 16, n. 16, p. 1-5, 1996.

SMITH, C. L. Mass production of screw-worms (*Callitroga hominivorax*) for the eradication program in the southeastern states. **J. Econ. Entomol.** v. 53, n. 6, p. 1110 - 1116, dec 1960.

TAYLOR, D. B.; MANGAN, R. L. Comparison Gelled and meat diets for rearing screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), larvae. **J. Econ. Entomol.** v. 80, n. 2, p. 427 - 432, april 1987.

TAYLOR, D. B. Comparison of two gellings agents for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diets. **J. Econ. Entomol.** v. 81, n. 5, p. 1414 - 1419, oct 1988.

TAYLOR, D. B.; BRUCE, J. C.; GARCIA, R. Gelled diet for screwworm (Diptera: Calliphoridae) mass production. **J. Econ. Entomol.** v. 84, n. 3, p. 927 - 935, june 1991.

THOMAS, D. B. Fecundity and ovoposition in laboratory colonies of the screwworm fly (Diptera: Calliphoridae). **J. Econ. Entomol.** v. 86, n. 5, p. 1464 - 1471, oct 1993.

USHER, C. B.; CRUZ, J.; CARVALHO, L.; BRIDI, A.; FARRINGTON, D.; BARRICK, R. A.; EAGLESON, J. Prophylatic use of ivermectin against cattle myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858). **Vet. Parasitol.** v. 72, p. 215 – 220, 1997.

VAN DER VLOEDT, A.M.; KLASSEN, W. The development and application of the sterile insect technique (SIT) for New World screwworm eradication. **World Animal Review, FAO – New World screwworm response to emergency - 1991**. Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGa/AGAP/WAR/waral/u422b/u4220b0j.htm>. Acesso em 23 de jun. 2004.

NOTA DE PESQUISA

Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858): MEIO ALTERNATIVO PARA PRODUÇÃO DE LARVAS*Roxana M. G. B. Yarzon¹; Fernando Paiva²**

ABSTRACT: YARZON, R. M. G. B¹; PAIVA, F² [*Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858): Alternative diet for rearing larval.] Screwworms due to *Cochliomyia hominivorax* causes enormous economic losses to the animal industries, and despite treatment has necessity of permanent inspection of the animals to search their lesions. The method most efficient of control of this fly is the release of sexually sterile males. For its execution it is necessary to produce large-scale larvae in artificial conditions, with economic medium of culture and with components of easy acquisition. Was tested an artificial formulation with: 6% of bovine spray-dried blood, 4% of skimmed dry milk, 2% of spray-dried eggs, 2% of soybean protein, 0.625% of agar, 10% of bovine serum and 75.375% of water. The formulation presented good characteristics as substratum of development for the larvae, however pupae had presented lesser weight when compared with those produced in modified medium of Graham and Dudley (1959). Despite the lesser weight of pupae, the adults had emerged in periods equivalents; this new formulation are able to be improved in the future, therefore its components are of easy acquisition in the Brazilian market.

KEYWORDS: Screwworms, *Cochliomyia hominivorax*, animal industries, artificial larval diet.

RESUMO: Miíases causadas por *Cochliomyia hominivorax* causam sérios prejuízos à pecuária, e mesmo após o tratamento há necessidade de inspeção permanente dos animais em busca de lesões. O método mais eficaz de controle dessa mosca é a liberação de machos estéreis. Para sua execução é necessário produzir larvas em grande escala e em condições artificiais, com meio de cultura econômico e com componentes de fácil aquisição. Foi testado um meio artificial formulado com: 6% de farinha de sangue bovino, 4% de leite em pó desnatado, 2% de ovo em pó, 2% de proteína texturizada de soja, 0.625% de agar, 10% de soro bovino e 75,375% de água. A formulação apresentou boas características como substrato

de desenvolvimento para as larvas, porém as pupas apresentaram peso menor quando comparadas com aquelas produzidas em meio de Graham and Dudley (1959), modificado. Apesar do peso menor das pupas, os adultos emergiram em períodos equivalentes tanto no MA como no SA; sendo esta nova formulação capaz de ser aprimorada, pois os seus componentes são de fácil aquisição no mercado brasileiro.

Miíases, *Cochliomyia hominivorax*, pecuária, substrato artificial.

¹Médica Veterinária, Fiscal Estadual Agropecuário da Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal de Mato Grosso do Sul.

yarzon@nin.ufms.br

²Departamento de Patologia, CCBS, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS. fernando@nin.ufms.br

O parasitismo por *Cochliomyia hominivorax* provoca alterações clínicas (MORAIS *et al.*, 2003), hematológicas e bioquímicas em bovinos (OLIVEIRA, 1980; SANAVRIA, 1993). No Brasil, os bezerros são mais susceptíveis no período neonatal, quando é freqüente a postura de ovos nas bordas do cordão umbilical ainda não cicatrizado, podendo ocorrer ainda por problemas de parto, quando ocorre retenção de anexos fetais e por intervenções relacionadas ao manejo, como: castração, descorna, bem como ferimentos em cerca de arame farpado. Feridas causadas nas infestações maciças por carrapatos também, aumentam a susceptibilidade a este agente parasitário. Caso o tratamento não seja realizado em tempo hábil, a infestação poderá determinar na morte dos animais, principalmente dos jovens (GRISI *et al.*, 2002). Por isso, os animais infestados por *C. hominivorax* precisam ser tratados e as larvas devem ser retiradas, embora, em alguns casos a extirpação mecânica das larvas seja dificultada pelo tipo de manejo adotado.

Várias formulações de uso tópico e sistêmico são utilizadas atualmente, para tratamento destas miíases. Independente da molécula utilizada na formulação de tratamento, tais como: organofosforados e avermectinas, não se elimina a necessidade de exames regulares dos animais, uma tarefa quase impraticável nas grandes áreas de criação. Isto porque, alguns animais podem escapar ao controle e serão expostos a infestações graves e até mesmo fatais. Frente a esta realidade, necessita-se de meios de controle que realmente reduzam ou eliminem a possibilidade de infestação por larvas desses dípteros.

A forma de controle mais eficiente até agora encontrada foi com a liberação de machos esterilizados por radiação gama, cuja praticidade foi testada e aprovada quando da erradicação da *C. hominivorax* da ilha de Curaçao, Estados Unidos e América Central (BAUMHOVER *et al.*, 1955; GALVIN; WISS, 1996 *apud* GUIMARÃES; PAPAVERO, 1999). Essa prática só é

possível porque as fêmeas de *C. hominivorax* copulam uma só vez durante sua vida (BUSHLAND; HOPKINS, 1951; CRYSTAL, 1967); ou seja, toda fêmea que copular com um macho estéril não deixará descendentes.

No entanto, para a supressão ou erradicação desses dípteros, são necessárias pesquisas locais e/ou regionalizadas sobre a biologia e fisiologia do parasito. Medidas adicionais, que visem à produção em massa de larvas com custo efetivo baixo, contribuirão para a obtenção de adultos estéreis. Os principais aspectos populacionais que precisam ser estudados são: caracterização genética das populações, avaliação do desenvolvimento das populações, desenvolvimento de linhagens, ecologia e comportamento das populações em diversos sistemas, monitoração permanente da eficiência do processo de liberação de machos estéreis com sistemas de atração (armadilhas) e coleta de ovos sobre animais sentinelas (GRAHAN, 1985 *apud* VAN DER VLOEDT; KLASSEN, 1991).

Para a realização de todos esses estudos, inclusive a liberação de machos estéreis, é preciso uma grande produção de larvas e esta exige meios de cultura artificiais para produção em massa. Um dos primeiros meios de cultura descritos foi proposto por Grahah e Dudley (1959) *apud* Oliveira (1980) que é constituído de 54% de carne magra moída, 30% de água, 15% de sangue bovino citratado e 0,2% de formalina (*sic*). Outra formulação, mais recente, é aquela que emprega 1,2% do produto “Water Lock G-400” (Poliacrilamida), utilizado como agente gelificante, 6% de sangue em pó de bovino, 3% de leite, 3% de ovo em pó, 0,1% de formolaldeído e 86,7% de água (BABILONIA; MAKI, 1991). Ambas as formulações possuem limitações econômicas e ecológicas, respectivamente pelo custo elevado e pelo impacto da poliacrilamida no meio ambiente, por tratar-se de produto não biodegradável e tóxico (TAYLOR; MANGAN, 1987; BREWER, 1992).

Este trabalho teve por objetivo desenvolver um meio artificial alternativo para desenvolvimento de larvas de *C. hominivorax*.

Em colônia previamente estabelecida em laboratório, as larvas eram criadas em substrato a base de carne e sangue (SA) descrito por Grahah e Dudley, 1959 *apud* Oliveira, 1980 com as seguintes modificações: 54% de carne, 30% de água e 16% de sangue citratado, e sem formalina; mantidos em frascos cobertos com tecido tipo musseline de nylon.

Os frascos com larvas e/ou ovos foram mantidos em uma sala de seis metros quadrados sem janelas, com sistema de exaustor de parede, porta composta por duas folhas: uma de madeira e outra telada. Para manutenção da temperatura em torno de 28 °C e umidade relativa do ar em

45 - 65 %, foram utilizados ventiladores com sistema de aquecimento de 1400 Watts de potência, um ventilador doméstico para circulação de ar e um umidificador doméstico com capacidade para cinco litros de água. O fotoperiodismo foi mantido por duas lâmpadas a vapor, de mercúrio, e 40 watts cada, acesas manualmente por períodos de 12 horas.

Quando necessário, o substrato foi completado e, a partir do terceiro dia, os frascos foram colocados ligeiramente inclinados em uma cuba de vidro, contendo areia lavada e seca, para facilitar a saída das larvas do meio de cultura para pupar. A cuba foi coberta com tecido tipo musseline de nylon para evitar contaminação por outros dípteros. Após a transformação das larvas em pupas, a areia foi peneirada e estas, transferidas para uma placa de Petri, também com areia lavada e seca.

A placa de Petri foi colocada em uma gaiola, confeccionada com cano PVC de 200 mm de diâmetro e 50 cm de comprimento, uma das laterais foi telada e outra protegida com plástico transparente, para melhor visualização quando do manejo dos indivíduos. Após a emergência dos adultos, os caracteres morfológicos foram conferidos segundo descrito por James (1947), Oliveira (1980) e Guimarães e Papavero (1999).

As moscas adultas foram alimentadas com mel cristalizado, oferecido em placa de Petri pequena, com uma gaze dobrada que serviu de apoio ao pouso e proteção contra a retenção dos insetos neste substrato. No terceiro dia, após a emergência dos adultos, incluiu-se na alimentação uma mistura composta por duas partes de músculo moído, uma parte de fígado, uma parte de coágulos de sangue e uma parte de água batidos no liquidificador. Todos os componentes orgânicos eram de origem bovina. Esta mistura serviu também como de meio de postura. Os ovos recém depositados foram colocados no meio SA e reiniciava-se o processo anteriormente descrito.

Formulou-se um meio artificial (MA) composto de: 6% de farinha de sangue bovino, 4% de leite em pó desnatado, 2% de ovo em pó, 2% de proteína texturizada de soja, 0,625% de agar, 10% de soro bovino e 75,375% de água. Na preparação, o agar foi dissolvido em água e levado ao fogo até atingir o ponto de ebulição. Após resfriamento adicionaram-se os outros componentes, a mistura era então homogeneizada e quando atingiu consistência pastosa, foram pesadas porções de 27 a 30 g e distribuídas em frascos de boca larga com capacidade para 100 mL. A seguir, 35 larvas, entre 18 e 24 horas, provenientes de ovos depositados em meio de carne e soro bovino, foram distribuídas na superfície do meio.

No dia seguinte, acrescentaram-se 45 a 47 g de MA e, após homogeneização, transferiu-se toda a cultura para recipiente maior com capacidade para de 350 mL; no terceiro dia, 19 a 20 g foram adicionadas e toda a cultura transferida para um recipiente ainda maior (500 mL). No 4º dia acrescentou-se soro para umidificar o meio e manter a mesma consistência inicial, tendo sido colocado então o recipiente com a cultura dentro de uma bandeja contendo uma camada de areia seca. As larvas começaram a abandonar o meio no quinto dia e no sexto dia, as larvas, que não haviam saído, foram retiradas. Todas as larvas foram transferidas para placas contendo areia seca e colocadas dentro de gaiolas para aguardar a emergência dos adultos.

Com finalidade de comparar a produção de larvas nos meios MA e SA, foram realizadas cinco repetições com cada um, utilizando-se o mesmo número de larvas e quantidade de meio de cultura. Ao final, foram escolhidas, ao acaso, 20 pupas de cada réplica e procedeu-se a pesagem seis dias após o início do período deste estágio.

As tentativas para formular um Meio Artificial (MA), com componentes disponíveis na região e de baixo custo, consumiram várias horas de trabalho e ingredientes. Inicialmente, para estruturar o meio, utilizou-se vermiculita expandida de granulação fina, porém a absorção da porção líquida do meio não foi adequada e as larvas morreram, possivelmente por não conseguirem respirar.

Ainda como elemento para estruturar o meio, empregou-se: amidos de mandioca e de milho, farinha de milho e gelatinas; contudo, não se obtiveram os resultados desejados de homogeneidade da mistura, e o meio, invariavelmente, apresentava sinais de putrefação com o crescimento de fungos e bactérias contaminantes.

O agar foi, inicialmente, diluído em água fria, mas a consistência não era adequada ou mesmo homogênea; quando diluído e aquecido a consistência apresentou-se na forma desejada.

No presente trabalho o peso médio das pupas foi de 22,70 mg no MA e 48,03 mg no SA (Tabela 1), enquanto que Taylor e Mangan (1987) verificaram variação nos peso das pupas, que foi de 46,9 a 61,7 mg, em uma dieta à base de carne, ovos e leite em pó, formalina e água e peso de 52,3 a 59,0 mg para uma dieta à base de sangue, ovos em pó e leite desnatado em pó, formalina, água e Water-Lock. E os pesos médios das pupas, relatados por Taylor e Mangan (1988), foram de 50,84 mg para a dieta contendo Water-Lock, sendo que na dieta com agar Carrageenan à 0,25%, 0,37% e 0,50% foram respectivamente de 44,73 mg, 42,44 mg e 37,69 mg.

Tabela 1 – Comparação entre o Meio Artificial (MA) proposto e o Substrato Artificial (SA), para a criação de larvas de *C. hominivorax*.

	Quantidade de Meio (g)	Larvas			Pupas	
		1º estágio (nº)	3º estágio (nº) Média	Período Larval (dias)	Média de Peso (mg)	Emergência Adultos (dias)
MA	100	35	19,2	6	22,70	10
SA	100	35	29,4	5	48,03	9

Observou-se que a média de peso das pupas obtidas no MA foram menores do que as do SA, concluindo-se que o meio ainda necessita ser aprimorado.

Em relação ao custo das formulações, o MA apresentou valores aproximados de R\$ 8,00/kg e o SA, de R\$ 6,00/Kg. Estes podem ser reduzidos pela utilização de soro, no MA, coletados em calhas de sangria de em abatedouros, bem como os coágulos usados na confecção da pasta para alimentar indivíduos adultos. Desta forma dispensando a manutenção de animais doadores. A adoção de meios artificiais, sem carne, é recomendável, pois, entre outras vantagens, a redução na emanção de odores amoniacais, característico do SA, que exala em grande quantidade. Emanações estas, desfavoráveis ao desenvolvimento das larvas quando cultivadas em grande número; a decomposição do meio é muito rápida e elas iniciam movimentos para abandonar o meio antes de atingirem o terceiro estágio. Tal observação confirma os relatos de Smith (1960) sobre as dietas a base de carne que liberavam amônia, tóxica para as larvas e sendo nauseante para os manipuladores.

O agente gelificante Water-Lock, é considerado, por Taylor e Mangan (1987), produto com várias qualidades tais como, dar consistência ao meio facilitando o manuseio, absorver as substâncias metabólicas do substrato, e reduzir o odor emitido durante o crescimento larval. Além destas características, Taylor, Bruce e Garcia (1991) consideram a redução dos custos de mão-de-obra como um fator muito importante.

Porém, o uso deste agente representa a metade do valor total da dieta, por isso a tentativas de redução dos custos passa pela adição de substâncias como o farelo de sabugo de milho e serragem que, de acordo com Brewer (1992), pode diminuir em até 50% a utilização do

Water-Lock, sem efeitos adversos para as larvas. Deve-se considerar ainda, como fator determinante à substituição do Water-Lock porque é um produto tóxico ao ambiente; não biodegradável e, constituir-se, ainda contaminante para fontes de água, haja vista os procedimentos posteriores para o seu descarte. Babilonia e Maki (1991) citam que os resíduos de dietas com esse produto são colocados em tanques de decantação; a água após nitrificação, é reutilizada no sistema e a parte sólida é enterrada em aterros sanitários.

O consumo dos substratos pelas larvas, quer seja em SA ou MA, é variável e está associada a fatores como: temperatura, umidade do ar, características da colônia, ingredientes misturados imprópriamente, etc. que poderão interferir na sua utilização pelas larvas, ou seja, em certos períodos é necessário adicionar meios de cultura ao cultivo e em outros não, conforme descreveu Smith (1960); Babilonia e Maki (1991).

O Meio Artificial (MA) testado produziu menos pupas e com menor peso do que aquelas do Substrato Artificial (SA). No entanto os resultados demonstram ser possível utilizar outros meios artificiais, sem Water Lock, que permitam a produção de larvas, pupas e indivíduos adultos viáveis. O meio artificial testado necessita ser aprimorado tanto na composição quanto nos aspectos de manipulação para a recuperação de pupas mais pesadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BABILONIA, E. S.; MAKI, D. L. Mass production of sterile New World screwworm flies in southern Mexico. **World Animal Review, FAO – New World screwworm response to emergency-** 1991. Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGa/AGAP/WAR/waral/u422b/u4220b0j.htm>. Acesso em 23 de jun. 2004.

BAUMHOVER, A. H.; GRAHAM, A.J.; BITTER, B. A.; HOPKINS, D. E.; NEW, W. D.; DUDLEY, F. H.; BUSCHLAND, R. C. Screw-worm control through release of sterilized flies. **J. Econ. Entomol.**, v. 48, n. 4, p. 462 – 466, aug 1955.

BREWER, F. D. Gel extenders in larval diet of *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). **J. Econ. Entomol.**, v. 85, n. 2, p. 445-459, april 1992.

BUSHLAND, R. C.; HOPKINS, D. E. Experiments with screw-worm flies sterilized by x-rays. **J. Econ. Entomol.**, v. 44, n. 5, p. 725 – 731, oct 1951.

CRYSTAL, M. M. Reproductive behavior of laboratory-reared screw-worm flies (Diptera: Calliphoridae). **J. Med. Ent.** v. 4, n. 4, p. 443 – 450, nov 1967.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G. E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, Ano 21, n. 125, jan/fev 2002.

GUIMARÃES, J. H.; PAPAVERO, N. **Myiasis in man animals in the neotropical region**, São Paulo, Pleiade/FAPESP cap. 1, p. 15-18, 97-117, cap. 6, p. 97- 117, 1999.

JAMES, M. T. The flies that cause myiases in man. **Misc. Public.** n. 631, p. 175, Washington, USDA, 1947.

MORAIS, C. M.; SANAVRIA, A.; BARBOSA, C. G.; SILVA, H. M. K. Alterações clínicas em bovinos infestados experimentalmente com larvas de *Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 12, n 4, p. 154 – 158, 2003.

OLIVEIRA, C. M. B. **Biologia, flutuação populacional e patologia da *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) (Díptera: Calliphoridae)**, 1980, 92 f. Tese (Doutorado Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1980.

SANAVRIA, A. Alterações Clínicas hematológicas e seroproteicas provocadas por larvas de *Cochliomyia hominivorax* em bovinos. **VIII Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, Londrina, Pr, 1993.

SMITH, C. L. Mass production of screw-worms (*Callitroga hominivorax*) for the eradication program in the southeastern states. **J. Econ. Entomol.** v. 53, n. 6, p. 1110 - 1116, dec 1960.

TAYLOR, D. B.; MANGAN, R. L. Comparison Gelled and meat diets for rearing screwworm, *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae), larvae. **J. Econ. Entomol.** v 80, n. 2, p. 427 - 432, april 1987.

TAYLOR, D. B. Comparison of two gellings agents for screwworm (Diptera: Calliphoridae) larval diets. **J. Econ. Entomol.** v. 81, n. 5, p. 1414 - 1419, oct 1988.

TAYLOR, D. B.; BRUCE, J. C.; GARCIA, R. Gelled dieta for screwworm (Diptera: Calliphoridae) mass production. **J. Econ. Entomol.** v 84, n. 3, p. 927 - 935, june 1991.

VAN DER VLOEDT, A.M.; KLASSEN, W. The development and application of the sterile insect technique (SIT) for New World screwworm eradication. **World Animal Review, FAO – New World screwworm response to emergency - 1991**. Disponível em <http://www.fao.org/ag/AGa/AGAP/WAR/waral/u422b/u4220b0j.htm>. Acesso em 23 de jun. 2004.

TESTES PROSPECTIVOS PARA TRATAMENTO DE MIÍASES POR LARVAS DE *Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858)

TESTS FOR TREATMENT OF MYIASIS CAUSED BY *Cochliomyia hominivorax* (COQUEREL, 1858)

YARZON, R. M. G. B¹; PAIVA, F²

ABSTRACT: Myiasis due to *C. hominivorax* causes enormous economic losses to the animal industries, demanding permanent monitoring and treatment of the lesions on the animals. Two comparative trials of efficiencies with artificially induced lesions with larvae had been carried out, using bovines male with approximately two years of age and kept the field condition. In the first test, it was used commercial formulation of Ivermectin 1% and homeopathic formulation as curative and/or prophylactic intention; in this it was gotten reduction of myiasis in the experimental animals, respectively in 14%, 60% and 0%. In the second trial, only the homeopathic formulations R and S was tested, the reduction it was of 40% for formulation R; being the formulation S did not promote reduction in the lesion numbers such as control group. The experiments had been carried out in different dates and animals.

KEYWORDS: Screwworms, *Cochliomyia hominivorax*, ivermectin, myiases, homeopathy

RESUMO: Miíases causadas por *C. hominivorax* causam sérios prejuízos a pecuária, exigindo permanente vigilância e tratamento das lesões nos animais. Foram executados dois testes comparativos de eficiências com lesões induzidas artificialmente com larvas desse díptero, em bovinos machos com aproximadamente dois anos de idade e mantidos a campo. No primeiro teste, utilizou-se a formulação comercial Ivermectina 1% e formulação homeopática curativa e profilática; neste obteve-se a redução das miíases, respectivamente em 14%, 60% e 0%. No segundo teste, apenas com as formulações homeopáticas R e S, a redução foi de 40% para a formulação R; sendo que a formulação S não promoveu redução tal qual ao grupo controle. Os experimentos foram realizados em diferentes datas e animais.

PALAVRA CHAVE: Miíase, *Cochliomyia hominivorax*, pecuária, ivermectina, homeopatia

¹Médica Veterinária, Fiscal Estadual Agropecuário da Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal de Mato Grosso do Sul.

yarzon@nin.ufms.br

²Departamento de Patologia, CCBS, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS. fernando@nin.ufms.br

INTRODUÇÃO

A pecuária apresenta-se como a maior expressão econômica no Brasil, possuindo um rebanho com mais de cento e noventa milhões de cabeças, e Mato Grosso do Sul contribui com mais de vinte e quatro milhões desse total (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2003). Como evidência desta importância, entre novembro de 2004 e outubro de 2005, as exportações brasileiras de carne bovina excederam em três bilhões de dólares (28,8%) dos dois bilhões e trezentos milhões registrados entre novembro de 2003 e outubro de 2004 (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC, 2005).

No Brasil, taxas de mortalidade de bezerros, de zero a doze meses de idade, na região pantaneira, variaram de 10 a 20%, sendo as miíases uma das principais causadoras, ao lado de picadas de cobras, ataques por onça e outras doenças (SERENO, J.; CATTO; SERENO, F.,

1996). Mais recentemente, foi estimado que os prejuízos causados pelos principais ectoparasitas de bovinos excederiam a dois bilhões de dólares por ano e as miíases responderiam por 150 milhões de dólares anuais (GRISI *et al.*, 2002). Em 2003, as perdas com couros defeituosos, no Brasil, foram de quatrocentos e vinte milhões de dólares, determinados principalmente por miíases, bernese, mosca-do-chifre e carrapatos. Cifras ainda maiores poderiam ser atingidas se forem computados 20% de perdas no peso do animal, durante a infestação, associado ao tipo de exploração extensiva de gado, em nosso país (COUROBUSINESS, 2003).

Entre as miíases, conhecida como “bicheiras” aquelas causadas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) são mais significativas, por serem primárias.

O parasitismo por *C. hominivorax* é de caráter obrigatório no período larval, sendo o principal díptero Calliphoridae causador de miíase em animais no novo mundo, infestando principalmente bovinos, caprinos, ovinos, suínos e outros, incluindo silvestres. Eventualmente, os seres humanos podem ser infestados com larvas desta mosca.

Muitos produtos são utilizados para o tratamento das miíases tais como os organofosforados, que tem eficácia residual relativamente curta. Nos últimos anos foram descobertas as avermectinas, com excelentes propriedades endectocidas, algumas moléculas deste grupo apresentam alta eficácia nesse tipo de infestação (MOYA BORJA, 2003).

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção de colônia de *C. hominivorax*

Com a finalidade de indução de infestação foi necessário estabelecer e manter uma colônia dessa mosca em laboratório

Testes Prospectivos

Avaliação comparativa da eficiência entre uma formulação homeopática e droga comercial

O teste foi realizado em uma fazenda localizada à 20 Km de Campo Grande, com acesso pela rodovia BR 163, no distrito de Anhanduí. Foram utilizados 40 bovinos, machos inteiros, com idade aproximada de 24 meses, mantidos em pastagem cultivada de *Brachiaria decumbens*, identificados individualmente com brincos numerados, sem exposição prévia a drogas endo/ectoparasiticidas nos trinta dias anteriores à indução da infecção. Os animais foram divididos em quatro lotes: o lote A como lote controle; o lote B tratado com ivermectina à 1% (IvomecTM – Merial[®]) na dosagem de 200 mcg/Kg PV por via sub-cutânea; o lote C tratado com formulação homeopática Curativa da empresa Real H Nutrição e Saúde Animal e o lote D tratado com formulação homeopática Profilática, também da Real H, ambas na dose de 10 mL/animal da formulação por via sub-cutânea. Todos os lotes foram mantidos no mesmo piquete durante todo o período experimental.

No dia -1, o lote D foi tratado; no dia 0, procedeu-se à indução das infestações em todos os animais. Para indução da infecção com larvas de *C. hominivorax*, foi feita uma incisão cutânea, após anestesia local, com cerca de 3 cm, com lâmina de bisturi, expondo o tecido sub-cutâneo, no terço posterior da tábua do pescoço. Imediatamente foram depositadas 20 a 30 larvas, com idade de 12 a 18 horas, eclodidas em SA, separadas no momento da indução com auxílio de uma espátula de madeira.

No dia 2, os animais foram examinados e as lesões confirmadas para a presença de larvas, aqueles portadores de miíases foram tratados segundo o previsto para o lote experimental.

No dia 6, todos os animais foram examinados para verificação da presença de miíases com larvas vivas ou outros tipos de lesões caso existentes, os dados obtidos foram anotados e os animais tratados com formulações convencionais sob forma de spray (Sporlam™ - Elanco®) e unguento (Unguento Pearson™ - Pearson®).

A eficácia dos produtos testados no tratamento e prevenção de miíases induzidas foi calculada pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Eficácia} = \frac{\text{N}^\circ \text{ miíases dia 2} - \text{N}^\circ \text{ miíases dia 6}}{\text{N}^\circ \text{ miíases dia 2}} \times 100$$

Avaliação de eficácia de duas formulações homeopáticas

O experimento foi realizado na mesma propriedade do teste citado anteriormente. Foram utilizados 45 animais, machos inteiros, com cerca de 16 meses de idade, mantidos no campo, identificados individualmente com brincos numerados, sem exposição prévia às drogas endo/ectoparasiticidas nos trinta dias anteriores à indução da infecção. Foram divididos em três lotes sendo: o lote A tratado com formulação homeopática R; o lote B tratado com formulação homeopática S, ambas as formulações injetadas por via subcutânea na dosagem de 12 mL/animal, e o lote C mantido sem tratamento.

Para indução da infecção com larvas de *C. hominivorax* foi adaptado um dispositivo de inoculação constituído por seringas descartáveis com capacidade de três mL, cortadas logo após o canhão da agulha, com o êmbolo retraído em espaço suficiente para 1,5 mL, no qual foi colocado cerca de 0,5 mL de uma mistura de carne moída fresca macerada em gral e pistilo, homogeneizada com soro e solução fisiológica, na quantidade necessária para a obtenção de consistência pastosa. Na superfície desse substrato foram depositados 40 a 50 ovos colhidos em posturas recentes. Estes dispositivos foram mantidos na posição vertical, em estantes de tubos de ensaio, dentro de uma B.O.D. com temperaturas entre 32 e 36 °C e umidade relativa em torno de 80%. Após 12-16 horas, os dispositivos foram examinados sob estereomicroscópio, para avaliação da viabilidade do inóculo, sendo considerados viáveis e aptos à indução aqueles com larvas ativas no substrato. A indução da infecção foi realizada com os mesmos procedimentos do teste anterior.

No dia 2, os animais foram examinados para presença de miíases com larvas vivas ou outras intercorrências, como por exemplo, lesões purulentas. Os animais dos lotes A e B, com lesões ativas de *C. hominivorax*, foram tratados com as formulações previstas no delineamento, ficando o lote C como controle. Ao final, no dia 6, todos os animais foram examinados para a presença de miíases com larvas vivas que, casos existentes, eram tratadas com formulações convencionais sob forma de spray (Sporlam™ - Elanco®) e unguento (Unguento Pearson™ - Pearson®).

A eficácia dos produtos testados no tratamento e prevenção de miíases induzidas foi calculada pela mesma fórmula do teste anterior.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Testes Prospectivos

Foram utilizadas formulações homeopáticas produzidas por indústria local que tinha interesse em testar os produtos com desafio no campo. Como os produtos homeopáticos fornecidos estão em desenvolvimento, fase de testes experimentais, e por razões de segredo industrial a composição das formulações testadas não foram fornecidas pela empresa.

Avaliação comparativa da eficiência entre uma formulação homeopática e droga comercial

O número de miíases efetivamente instaladas no dia 2 não obteve êxito tanto quanto o número de induções. Atribuiu-se esta baixa fixação ao processo de inoculação, realizado com auxílio de espátula de madeira para transferir cerca de 20 a 30 larvas à incisão; ao fato de o volume de substrato carreado ser variável como também, pelo processo ter sido executado sem auxílio de estereomicroscópio, o que impediu a confirmação do número de larvas a serem implantadas e pelas próprias condições do mangueiro e demais instalações. Apesar destas limitações o número de animais com lesões permitiu uma avaliação preliminar do teste.

Após seis dias da indução das miíases, o número de miíases diminuiu nos lotes tratados e permaneceu inalterado (6/6) no lote controle (lote A). No lote B, tratado com Ivermectina à 1%, apenas um animal (6/7) apresentou-se sem lesão, representando 14 % de eficácia. No Lote C, tratado de forma curativa com formulação homeopática, constatou-se ausência de lesões em 2 animais (2/5), representando uma eficácia de 60%; no lote D, tratado profilaticamente, todos os animais apresentaram lesões (5/5) (Tabela 1).

Avaliação de eficácia de duas formulações homeopáticas

A adoção do dispositivo de indução da infecção reduziu o volume de substrato em cada inóculo, acelerou o processo de inoculação das larvas e mostrou ser prático, pois permitiu maior controle da quantidade do inóculo permitindo a seleção de inoculos com larvas viáveis, ao estereomicroscópio, para descarte daqueles considerados inadequados. No entanto, o percentual de aproveitamento das preparações foi de 63%, considerado baixo quando o número de animais para experimentação for elevado.

Este problema deverá ser solucionado quando for melhor entendido todo o processo de eclosão dos ovos, ou mesmo quando a indução da eclosão for provocado por algum processo estimulador, desta forma as larvas poderão migrar para o substrato e atingir a idade adequada para implantação nos animais experimentais.

O processo de indução das miíases apresentou número de lesões menor do que o esperado em todos os lotes experimentais, apenas cinco em cada lote (5/15). Isto também se atribui ao maior rigor nos critérios adotados para classificação das lesões: apenas aquelas com larvas visíveis e aglomeradas eram consideradas ativas. Lesões apenas com sangramento ou secreções purulentas não eram consideradas. Além destes aspectos, suspeita-se de que a forma da incisão possa ter contribuído para a morte das larvas; a incisão reta colapsou os bordos e o processo de cicatrização pela deposição de fibrina dos coágulos, impedindo a respiração das larvas que morreram antes de instalarem a miíase propriamente dita. Para contornar este problema, sugere-se em novos trabalhos de pesquisa a adoção de pequenas incisões circulares que manterão a abertura aerada sem fechamento dos bordos, fato este já descrito por Oliveira *et al.* (1993).

Os animais do lote A, tratados com a formulação homeopática R, apresentaram uma redução de 40% nas lesões (3/5) quando comparados ao lote B, tratados com a formulação

homeopática S, e o lote C, controle, que não apresentaram redução no número de lesões (5/5). Este resultado sugere uma eficácia curativa da formulação homeopática R sobre as miíases induzidas com larvas de *C. hominivorax* (Tabela 2).

Bianchin *et al* (1992), testando diferentes formas de tratamento profilático para miíases umbilicais naturalmente adquiridas, utilizaram as seguintes combinações: álcool iodado à 10%, álcool iodado à 10% com ivermectina à 1%, e apenas ivermectina à 1%; sendo que a incidência de miíases foi de 40,7% e não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos.

Entre as formulações de ação sistêmicas mais empregadas, a doramectina possui relatos com 100% de eficácia para a prevenção de miíases até doze dias, tanto em infestações induzidas (OLIVEIRA, 1993; MOYA BORJA *et al*, 1997a) como naturalmente adquiridas por bezerros neonatos e vacas pós-parto, (MUNIZ *et al*, 1995) e, também, em castrações (SANAVRIA *et al* 1996). Em testes de persistência de atividade com doramectina e ivermectina, Caproni *et al* (1998) obtiveram eficácia de 94,6% e 43,7%, respectivamente, com aplicação das moléculas dez dias antes da castração.

Usando ivermectina como agente profilático à instalação de miíases pós-castração em bovinos, Usher *et al* (1997) constataram que menos de 2% dos animais tratados desenvolveram lesões. Em experimento de longa duração, Mercier *et al*. (2001), sobre a ação profilática de doramectina, abamectina e ivermectina, aplicadas 24 horas antes da castração de machos, com finalidade de controle de miíases, obtiveram 100% de eficácia até sete dias pós-tratamento para todas as drogas. E, considerando todo o período experimental de 28 dias, os níveis de proteção variaram, respectivamente para as drogas testadas, em 92, 85 e 69%.

Quanto ao uso de fipronil *pour on*, Moya Borja (1997b) relata eficácia maior que 95% na prevenção de miíases, pós-castração de bovinos. Com esta molécula, Lima *et al* (2004) registraram eficácia de 95% até 17 dias após a cirurgia.

Os resultados obtidos com as formulações homeopáticas em teste sugerem certo grau de eficácia sobre as miíases ulcerativas induzidas com larvas de *C. hominivorax*, principalmente como tratamento curativo.

Tabela 1 – Comparação da eficiência entre ivermectina a 1% e formulação homeopática, no tratamento de miíases induzidas com larvas de *Cochliomyia hominivorax*.

	Dose (mL)	Lesões Ativas 2 ^o dia	Lesões Ativas 6 ^o dia	Redução %
Ivermectina 1%	1mL / 50kg/PV	7	6	14
Homeopatia Curativa	10mL / animal	5	2	60
Homeopatia Profilática	10mL / animal	5	5	0
Controle	-	6	6	0

Tabela 2 – Comparação entre as formulações homeopáticas R e S no tratamento curativo de miíases induzidas em bovinos.

	Dose (mL)	Lesões Ativas 2 ^o dia	Lesões Ativas 4 ^o dia	Redução %
Homeopatia R	12mL / animal	5	3	40
Homeopatia S	12mL / animal	5	5	0
Controle	-	5	5	0

CONCLUSÃO

A proposição e teste de um dispositivo de inoculação de larvas de *C. hominivorax* facilita a indução da infecção, diminui o tempo de contenção do animal, é prático e permite maior controle da quantidade de inoculo ainda no laboratório.

Na avaliação comparativa de eficiência entre Ivermectina à 1%, e a Formulação Homeopática R na redução de lesões de miíases por larvas de *C. hominivorax*, os animais tratados com a Formulação Homeopática sob forma curativa apresentaram maior eficácia, 60 %. No teste comparativo das eficácias das formulações homeopáticas, a Formulação R apresentou uma eficácia de 40%. Os resultados obtidos nos dois testes descritos, são indicativos de que o princípio homeopático testado exerce ação na eliminação das larvas de *C. hominivorax* instaladas nas lesões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE – ABIEC. **Exportação de carne bovina será recorde apesar da aftosa – 17/11/2005.** Disponível em <http://www.abiec.com.br/abiec/vernociaphp?id=853>. Acesso em 02 de dez. 2005.
- BIANCHIN, I; CORRÊA, E. S.; GOMES, A.; HONER, M. R.; CURVO, J. B. E. Uso de ivermectina na prevenção das miíases umbilicais em bezerros de corte criados extensivamente. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 1, n. 2, p. 121 – 124, 1992.
- CAPRONI, J. R; UMEHARA, O.; GONÇALVES, L. C. B.; MORO, E. Persistent efficacy of doramectina and ivermectina in the prevention of natural *Cochliomyia hominivorax* infestations in cattle castrated 10 days after treatment. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 7, n. 1, p. 57 – 61, 1998.
- COUROBUSINESS, O site da indústria do couro do Brasil. **Qualidade do couro: De quem é a conta?** Mai/junho de 2003. Disponível em <http://www.courobusiness.com.br/20038.php>. Acesso em 11/12/2005.
- GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, Ano 21, n. 125,

- jan/fev 2002.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Efetivos dos Re-Banhos – Cabeças**. Fonte: Pesquisa Pecuária Municipal (PPM), 2003. Disponível em <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=20&ul1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>. Acesso em 02 de dez. 2005.
- LIMA, W. S.; MALLACO, M. A. F.; BORDIN, E. L.; OLIVEIRA, E. L. Evaluation of the prophylactic effect and curative efficacy of fipronil 1% *pour on* (Topline) on post-castration scrotal myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Vet. Parasitol.** n. 125, p. 373 -377, 2004.
- MOYA BORJA, G. E.; MUNIZ, R. A.; UMEHARA, O.; GONÇALVES, L. C. B.; SILVA, D. S. F.; MACKENZIE, M. E. Protective efficacy of doramectin and ivermectin against *Cochliomyia hominivorax*. **Vet. Parasitol.** v. 72, n. 1, p. 101 -109, 1997a.
- MOYA BORJA, G. E.; SALANI, E. C. Eficácia do fipronil *pour on* (Topline) na prevenção da infestação da bicheira, *Cochliomyia hominivorax* em bovinos castrados. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 12, n. 4, suplemento 1, A24, agosto 1997b.
- MOYA BORJA, G. E. Erradicação ou manejo integrado das miíases neotropicais das Américas? **Pesq. Vet. Bras.** v. 23, n. 32, p. 131 – 138, jul/set 2003.
- MUNIZ, R. A.; ANZIANI, O. S.; ERRECALDE, J.; MORENO, J.; REW, R. S. Efficacy of doramectin in the protection of neonatal calves and post-parturient cows against field strikes of *Cochliomyia hominivorax*. **Vet. Parasitol.** n. 58, p. 155 – 161, 1995.
- OLIVEIRA, C. M. B.; MUNIZ, R. A.; GONÇALVES, L. C. B.; OLIVEIRA, L. O. Eficácia de doramectin contra infestações induzidas por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) em bovinos do Rio Grande do Sul, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 2, n. 1, p. 07 -10, 1993.
- SANAVRIA, A. Eficácia profilática de doramectin contra infestações naturais por *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) em bovinos após castração. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 5, n. 1, p. 07 – 10, 1996.
- SERENO, J. R. B.; CATTO, J. B.; SERENO, F. T. P. S. Prevenção de miíases umbilicais em bezerros criados extensivamente, no Pantanal, através da utilização de ivermectin. **Comunicado Técnico EMBRAPA CPAP**, Corumbá, MS, v. 16, n. 16, p. 1 -5, 1996.
- USHER, C. B.; CRUZ, J.; CARVALHO, L.; BRIDI, A.; FARRINGTON, D.; BARRICK, R. A.; EAGLESON, J. Prophylatic use of ivermectin against cattle myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel, 1858) **Vet. Parasitol.** v. 72, p. 215 – 220, 1997.