

Manutenção de culturas *in vitro* da mosca da bicheira, *Cochliomyia hominivorax*

Márcia Cristina de Sena Oliveira¹
Luciana Gatto Brito²
Rodrigo Giglioti³
Ana Carolina de Souza Chagas⁴

Introdução

Cochliomyia hominivorax, a mosca-da-bicheira, é um díptero pertencente à família Calliphoridae e suas larvas são parasitos obrigatórios de animais de sangue quente. Sua área de distribuição estende-se por toda a América Latina, desde o México até o norte do Chile e Argentina, uma vez que através de trabalhos de erradicação, foi eliminada dos Estados Unidos (OLIVEIRA-SEQUEIRA; AMARANTE, 2002). As miíases provocadas pelas larvas de *C. hominivorax* causam grande morbidade e mortalidade, sobretudo em animais domésticos como bovinos e ovinos, acarretando grandes prejuízos econômicos ao agronegócio (LEITE, 2004). Essas larvas provocam miíases obrigatórias (larvas biontófagas que se desenvolvem exclusivamente em tecidos vivos) e as práticas de rotina no manejo dos bovinos nas fazendas produtoras, como castração e descorna, predispõem os animais ao parasitismo. Porém, as maiores perdas são devido aos altos custos dos tratamentos que são feitos normalmente para prevenir e curar os animais doentes (LIMA et al., 2004).

Em estudos com vários dípteros que produzem miíases, verificou-se que a produção de enzimas digestivas secretadas e/ou excretadas pelas larvas é responsável pelo estabelecimento e sobrevivência dessas parasitas nos hospedeiros (MUHARSINI et al., 2000). O interesse no estudo das proteínas produzidas

por essas larvas se intensificou devido ao seu potencial de utilização no desenvolvimento de novos imunógenos e na produção de novos medicamentos.

Apesar da importância econômica do parasitismo por larvas de *C. hominivorax*, são escassos os estudos que abordam os aspectos da relação entre parasita e hospedeiro, que possam servir de base para o desenvolvimento de novas alternativas para o seu controle, o que atualmente, depende exclusivamente do uso de inseticidas. Para o desenvolvimento de pesquisas com *C. hominivorax* torna-se necessário a manutenção das culturas "in vitro", que atuam como importante fonte de material para estudo.

A mosca *Cochliomyia hominivorax*

A mosca *C. hominivorax* é conhecida como a mosca-da-bicheira e mosca do "Novo Mundo". Nos Estados Unidos os grandes prejuízos gerados por essas miíases levou ao desenvolvimento de um grande programa de erradicação, baseado na criação da mosca em laboratório e esterilização de machos com raios gama (JEFFERSON, 1960; BAUMHOVER, 1966). Os machos estéreis foram soltos em grande quantidade na natureza, e como as fêmeas copulam uma única vez, ocorreu uma diminuição vertiginosa da população desses dípteros que foram rapidamente erradicados.

¹ Médica Veterinária, D.Sc. em Medicina Veterinária, Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos- SP, márcia@cnpse.embrapa.br

² Médica Veterinária, D.Sc. em Ciências Veterinárias - Parasitologia, pesquisadora da Embrapa Rondônia, Porto Velho, RO, luciana@cnpafro.embrapa.br

³ Biólogo, Mestrando em Zootecnia da Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP, rodrigogiglioti@yahoo.com.br

⁴ Bióloga, D.Sc. em Ciência Animal, Pesquisadora da Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos- SP, carolina@cnpse.embrapa.br

A atual distribuição dessa espécie se restringe à pequena parte da América Central e da América do Sul (MARCONDES, 2001).

De acordo com *Food and Agriculture Organization - FAO* (1992), em grande parte das Américas, *C. hominivorax* é considerada como a principal miíase dos bovídeos e a segunda mais importante dentre as doenças causadas por artrópodes. No Brasil as miíases provocadas por *C. hominivorax* ocorrem em 94% dos municípios dos 26 Estados, sendo as regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste as que apresentam maior número de notificações da ocorrência em bovinos (BRASIL, 1983).

Os prejuízos ocasionados por esta mosca, especialmente à pecuária brasileira, são muito expressivos e devem-se à mutilação dos animais, redução na produtividade, danos ao couro, mortalidade e gastos com o controle, causando ainda, redução acentuada na fertilidade, quando a miíase se localiza no escroto de reprodutores (OLIVEIRA-SEQUEIRA; AMARANTE, 2002).

Ciclo biológico

As moscas *C. hominivorax* só realizam a postura nos bordos de ferimentos de mamíferos de sangue quente. As larvas, com ajuda das enzimas proteolíticas contidas na saliva, alimentam-se de fluídos corporais e de tecido muscular do hospedeiro, onde se estabelecem através de seus ganchos orais (Fig. 1). Estas lesões liberam um odor desagradável, que serve para atrair mais moscas, que fazem postura de mais ovos e também moscas de outras espécies como *Phaenicia* spp., *Lucilia* spp. e *Cochliomyia macellaria*, que normalmente se proliferam em carcaças, mas podem crescer em animais vivos, originando miíases cutâneas secundárias (OLIVEIRA et al., 1982).



Fig. 1. Ganchos orais presentes na extremidade anterior da larva de *Cochliomyia hominivorax*.

A fêmea pode fazer até 5 posturas durante a sua vida, sendo que o número de ovos por postura pode ser de até 390 ovos, podendo chegar a um total de

2.800 ovos depositados durante a fase adulta (Fig. 2). O período de incubação dos ovos varia entre 11 e 21 horas. Após a eclosão dos ovos (Fig. 3) as larvas penetram no tecido e iniciam o período parasitário. Em laboratório o período de L₁ e L₂ é de cerca de 24 horas, e de L₃ entre quatro e cinco dias. Em infestações naturais essas larvas alimentam-se do tecido do hospedeiro, conservando seus espiráculos respiratórios voltados para o exterior. O desenvolvimento de todos os estágios larvais se dá entre 4 e 8 dias, quando as larvas se desprendem do hospedeiro para a pupação. O período de pupa varia de acordo com as condições ambientais (principalmente temperatura e umidade). Em condições favoráveis (normalmente na época de temperatura mais elevada), o período de pupa ocorre em cerca de sete dias, enquanto que nas épocas mais frias este período pode se estender por até dois meses. As fêmeas copulam uma única vez durante sua vida, iniciando seu período de postura, com cerca de dez dias após terem emergido do pupário (OLIVEIRA-SEQUEIRA; AMARANTE, 2002).



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 2. Postura de ovos realizada por *Cochliomyia hominivorax* "in vitro".

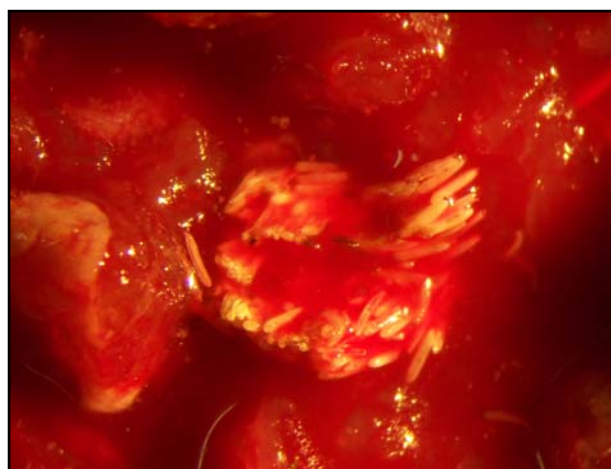


Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 3. Larvas de *Cochliomyia hominivorax* após a eclosão em meio de cultura.

Características para identificação

Várias moscas de colorido metálico são freqüentemente confundidas com *C. hominivorax*,

portanto além da cor, existem certas características importantes para sua identificação. As moscas adultas medem de 8 a 10 mm de comprimento, sendo a coloração metálica e de tonalidade verde-azulada (Fig. 4). A cabeça é de um amarelo brilhante com os olhos amarelo-avermelhados, aparelho bucal do tipo lambedor e com palpos curtos e filiformes. O mesonoto tem três faixas longitudinais negras, sendo a do meio, mais curta (Fig. 5). A basicosta (visível pela parte anterior) é preta e a parte inferior da parafrontália possui cerdas pretas (MARCONDES, 2001).

A característica mais utilizada para a distinção entre os machos e as fêmeas da espécie, é o espaço entre os olhos compostos dessas dípteras, sendo que nos machos (Fig. 4) essa separação se apresenta muito mais estreita do que na fêmea (Fig. 5).



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 4. L Detalhe de cabeça do macho de *Cochliomyia hominivorax*. Notar estreita separação entre os olhos compostos.



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 5. Detalhe da cabeça da mosca fêmea de *Cochliomyia hominivorax*.

Para a identificação dos diferentes ínstares larvais (L₁, L₂ e L₃), podem ser utilizadas as aberturas dos espiráculos respiratórios, presentes na extremidade posterior da larva. Após a eclosão, a L₁ apresenta um único espiráculo respiratório que não é facilmente

observado devido a ausência de pigmentação. A Fig. 6 mostra os troncos traqueais da L₁ já bem desenvolvidos. Após cerca de 24 horas a L₁ sofre a primeira muda passando à L₂, a qual apresenta dois espiráculos respiratórios, que podem ser observados na Fig. 7. Após cerca de 24 horas, a L₂ sofre uma segunda muda passando a L₃, que apresenta três espiráculos respiratórios (Fig. 8).



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 6. Larva de primeiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*: troncos traqueais nos 3-4 últimos segmentos, presentes na extremidade posterior da larva.



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 7. Larva de segundo estágio de *Cochliomyia hominivorax*: notar a presença de dois espiráculos respiratórios.



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 8. Larva de terceiro estágio de *Cochliomyia hominivorax*. Notar a presença de três espiráculos respiratórios.

Manutenção da cultura de *Cochliomyia hominivorax* "in vitro"

Para o estabelecimento das culturas, as larvas são colhidas em animais naturalmente infestados. No laboratório as posturas são colocadas em placa de Petri contendo o meio de cultura (sangue citratado, e carne moída). As larvas juntamente com o meio de cultura contidos na placa de Petri são colocadas dentro de um recipiente plástico contendo terra autoclavada (Fig. 9). e mantidas em estufa a 37 °C. É importante a manutenção da umidade durante o período de desenvolvimento larval, o que se consegue utilizando-se um recipiente plástico contendo água. No meio de cultura as larvas se alimentam e se desenvolvem, sofrendo duas mudas, quando na fase final do estágio de L₃, abandonam o meio e procuram a terra para iniciarem seu período de pupação (Fig. 10).



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 9. Larvas de *Cochliomyia hominivorax* mantidas em meio de cultura.



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 10. Larvas de *Cochliomyia hominivorax* iniciam seu período de pupação na terra.

Ao final do período de pupação, as pupas são retiradas da estufa e colocadas em gaiola que passará a ser mantida em estufa tipo BOD (*Biologic Oxygen Demand*) com temperatura de 28 °C e umidade superior a 85% (Fig. 11).

À medida que ocorre a emergência das moscas, estas podem ser separadas por sexo e passam a ser

tratadas com água açucarada oferecida em tiras de gaze, para evitar afogamento. Nas fêmeas existe a necessidade de promover a maturação dos ovários, para se evitar a postura de ovos não embrionados. Para a maturação dos ovários e evitar a cópula precoce, as fêmeas podem ser separadas dos machos e alimentadas por cerca de sete dias com carne moída adicionada de mel. Após esse período os machos são colocados junto com as fêmeas para iniciarem o período de cópula, que dura cerca de sete dias.



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 11. Gaiola contendo as moscas *Cochliomyia hominivorax*, mantidas sob condições controladas de temperatura e umidade (em BOD a 28 °C).

Após o período de cópula, as fêmeas realizarão a postura de ovos dentro de um recipiente de vidro onde será colocada uma pequena placa de Petri contendo o meio de cultura, (carne e sangue citratado). O recipiente contendo a placa é colocado na estufa a 37 °C para que a carne seja aquecida e, então, as fêmeas são individualizadas, e colocadas dentro dos recipientes de vidro, os quais são fechados com gaze (Fig. 12), e novamente incubados a 37 °C para realizarem a postura de ovos. Diariamente deve ser feita a retirada da placa de Petri contendo a postura realizada no meio e, novo meio deve ser repostado para que a fêmea continue seu processo de oviposição.



Foto: Márcia Cristina de Sena Oliveira

Fig. 12. Fêmea de *Cochliomyia hominivorax* separada para realização da postura de ovos.

Feita a postura, que durará aproximadamente cinco dias, as fêmeas já poderão ser descartadas e os ovos poderão ser utilizados para experimentos, ou mantidos em meio de cultura de larvas em estufa para originarem novos instares larvais e adultos que também poderão ser utilizados em ensaios laboratoriais. Após a eclosão dos ovos é importante que o meio de cultura seja repostado diariamente para que as larvas possam continuar seu desenvolvimento. Desse modo, é possível a manutenção de uma cultura "in vitro" com todo o ciclo biológico da mosca ocorrendo em laboratório sob condições controladas.

Referências

- BAUMHOVER, A. H. Eradication of the screw-worm fly. **J. A. M. A.**, v. 196, n. 3, p. 240-248, 1966.
- FAO (Rome, Italy). The new world screwworm eradication programme, North África 1988-1992. Rome, p.192, 1992.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Secretaria de Defesa Sanitária Animal (Brasília, DF). **Carrapato, berne e bicheira no Brasil**. Brasília, DF, 1983. 153 p.
- JEFERSON, M. E. Irradiated males eliminate screw-worm flies. **Nucleonics**, v.18, n. 2, p. 74-76, 1960.
- LEITE, A. C. R., Biologia e controle de *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETISIOSES, 1., Ouro Preto, MG. **Anais...** Ouro Preto: SBPV, 2004.
- LIMA, W.S.; MALACCO, M.A.F.; BORDIN, E.L.; OLIVEIRA, E.L. Evaluation of the prophylactic effect and curative efficacy of fipronil 1% pour on (ToplineR) on post-castration scrotal myiasis caused by *Cochliomyia hominivorax* in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.125, p. 373-377, 2004.
- MARCONDES, C.B. **Entomologia Médica e Veterinária**. São Paulo: Athenem, 2001. p.125-147.
- MUHARSINI, S.; SUKARSIH, G.R.; PARTOUTOMO, S.; HAMILTON, S.; WILLADSEN, P.; WIJFFELS, G. Identification and characterization of the excreted/secreted serine proteases of larvae of the Old World Screw-worm Fly, *Chrysomya bezziana*. **International journal for Parasitology**, v. 30, p.705-714, 2000.
- OLIVEIRA, C.M.B.; MOYA-BORJA, G.E.; MELLO, R.P. Flutuação populacional de *Cochliomyia hominivorax* no município de Itaguaí, Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.2, p. 139-142, 1982.
- OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; AMARANTE, A. F. T. **Parasitologia animal: animais de produção**. Rio de Janeiro: EPUB, 2002. 149 p.

**Comunicado
Técnico, 339**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Rondônia
BR 364 km 5,5, Caixa Postal 406,
CEP 76815-800, Porto Velho, RO.
Fone: (69)3901-2510, 3225-9387
Telefax: (69)3222-0409
www.cpafro.embrapa.br

1ª edição

1ª impressão (2009): 100 exemplares

**Comitê de
Publicações**

Presidente: *Cléberson de Freitas Fernandes*
Secretária: *Marly de Souza Medeiros*
Membros: *Abadio Hermes Vieira*
André Rostand Ramalho
Luciana Gatto Brito
Michelliny de Matos Bentes-Gama
Vânia Beatriz Vasconcelos de Oliveira

Expediente

Normalização: *Daniela Maciel*
Revisão de texto: *Wilma Inês de França Araújo*
Editoração eletrônica: *Marly de Souza Medeiros*