

Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil



ISSN 1983-974X

Dezembro, 2010

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Gado de Corte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

Documentos 180

**Situação atual da resistência do
carrapato-do-boi *Rhipicephalus*
(*Boophilus*) *microplus* aos
acaricidas no Brasil**

Renato Andreotti

Embrapa Gado de Corte
Campo Grande, MS
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Gado de Corte

Rodovia BR 262, Km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 3368 2083

Fax: (67) 3368 2180

<http://www.cnpvc.embrapa.br>

E-mail: publicacoes@cnpvc.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Cleber Oliveira Soares*

Secretário-Executivo: *Grácia Maria Soares Rosinha*

Membros: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima, Elane de Souza Salles, Fabiane Siqueira, Grácia Maria Soares Rosinha, Jaqueline Rosemeire Verzignassi, Lucimara Chiari, Paulo Henrique Nogueira Biscola, Roberto Giolo de Almeida, Websten Cesario da Silva*

Supervisão editorial: *Rodrigo Carvalho Alva*

Revisão de texto e Editoração Eletrônica: *Rodrigo Carvalho Alva*

Normalização bibliográfica: *Elane de Souza Salles*

Foto da capa: *Jaqueline Matias*

1ª edição

Versão online (2010)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Gado de Corte.

Andreotti, Renato

Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil / Renato Andreotti. – Dados eletrônicos. – Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2010.

36 p. ; 21 cm. (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1983-974X ; 180).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<http://www.cnpvc.embrapa.br/publicacoes/doc/DOC180.pdf>>

Título da página da Web (acesso em 30 de dezembro de 2010)

1. Sanidade animal. 2. Carrapato. 3. Controle químico. 4. Acaricida. 5. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. I. Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). II. Título. III. Série.

CDD 636.0896968 (21. ed.)

© Embrapa Gado de Corte 2010

Autores

Renato Andreotti

Médico Veterinário, D.Sc., em Biologia Molecular,
pesquisador da Embrapa Gado de Corte, Campo
Grande, MS, andreott@cnpqg.embrapa.br

Sumário

Resumo.....	7
Abstract.....	8
Introdução.....	9
Classes dos acaricidas.....	10
Organofosforados.....	10
Amidinas (diamínicos).....	11
Piretroides.....	12
Fipronil.....	13
Thiazolina.....	13
Lactonas macrocíclicas.....	13
Fluazuron (inibidor do crescimento).....	14
Desenvolvimento da resistência.....	14
Detecção da resistência.....	16
Testes para monitorar a resistência dos carrapatos.....	17
Cuidados na coleta e no transporte de carrapatos para os testes.....	17
Condições em laboratório.....	18

Teste de imersão de adultos (AIT).....	18
Teste de pacote de larvas (LPT).....	18
Teste de imersão de larvas (LIT).....	19
Detecção de atividade esterásica.....	19
Diagnóstico molecular.....	20
Resistência no Brasil.....	22
Resistência aos organofosforados (OP).....	22
Resistência a piretroides sintéticos (SP).....	23
Resistência ao amitraz.....	24
Resistência a lactonas macrocíclicas	24
Avaliações regionais da resistência.....	25
Referências	28

Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil

Renato Andreotti

Resumo

Rhipicephalus microplus é o principal ectoparasita hematófago dos bovinos, presente nas diversas regiões do país. É causador de enormes perdas econômicas pela espoliação que causa ao hospedeiro, além de ser transmissor da tristeza parasitária bovina. O principal método de controle utilizado atualmente é o controle químico, mas é crescente o número de relatos que apontam um aumento das populações resistentes de carrapatos a diversos princípios químicos presentes nos acaricidas. As bases moleculares da resistência em *R. microplus* ainda não são totalmente conhecidas, mas muitos estudos indicam alguns mecanismos associados. O estudo dos mecanismos de resistência no carrapato aos acaricidas é de fundamental importância para a eficiência do seu controle no rebanho bovino. O objetivo deste trabalho é apresentar uma visão geral da resistência dos carrapatos aos acaricidas e a situação atual deste problema no Brasil.

Termos para indexação: Bovino; Ectoparasita; Carrapato; Controle químico; Acaricida; *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Current status of resistance of the cattle-tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to acaricides in Brazil

Abstract

R. microplus is the main hematophagous ectoparasite of cattle in different regions of this country. It has caused great economic losses due to the spoliation that it causes to the host, besides being the transmitter of cattle tick. The main control method currently used is chemical control, but a growing number of reports indicate an increase in tick populations resistant to various chemical principles present in acaricides. The molecular basis of resistance in *R. microplus* are not yet entirely known, but many studies indicate some mechanisms. The study of mechanisms of resistance to acaricides in ticks is of fundamental importance to the efficiency of its control in cattle. This work aims to present an overview of ticks resistance to acaricides and the current situation in Brazil.

Index terms: Bovine; Ectoparasites; Tick; Chemical control; Acaricides; *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

Introdução

O carrapato-do-boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, causa prejuízos econômicos na pecuária brasileira levando a perdas na produção de leite e carne e danos no couro causados por reações inflamatórias nos locais de fixação do carrapato e pela transmissão de doenças, como a tristeza parasitária bovina (causada por protozoários do gênero *Babesia* e pela bactéria do gênero *Anaplasma*).

Também acarreta prejuízos ao produtor relacionados à mão-de-obra, despesas com instalações, aquisição de carrapaticidas e de equipamentos de suporte para aplicação dos mesmos nos rebanhos.

De uma maneira geral, a contaminação com resíduos químicos da carne e do leite, assim como do ambiente, tem sido para a sociedade uma das maiores preocupações quanto ao uso sistemático de pesticidas químicos.

A pecuária brasileira movimenta mais de 170 milhões de bovinos (ANUALPEC, 2009), mas a produtividade do setor é minada pelo carrapato *R. microplus* (CANESTRINI, 1887) (Acari: Ixodidae), que, sozinho, é responsável por prejuízos anuais de mais de US\$ 2 bilhões (GRISI et al., 2002). Neste cenário, a resistência do carrapato aos acaricidas é um motivo de preocupação permanente entre produtores, indústrias, agências governamentais e técnicos.

O mercado de parasiticidas no Brasil movimenta cerca de US\$ 960 milhões por ano e constitui 34% do mercado de produtos veterinários (SINDAN, 2010). Para serem registrados, os novos produtos para o controle do carrapato devem apresentar pelo menos 95% de eficácia, segundo critérios do Ministério da Agricultura e Abastecimento (Mapa).

Não existe no país um programa oficial de controle do carrapato atualmente em vigor e, por esta razão, os critérios para a gestão de infestações são definidos exclusivamente pelos produtores. Em geral, informações sobre a epidemiologia regional do parasita são negligenciadas;

acaricidas são escolhidos por critérios que não a eficácia, e a aplicação desses é inadequada, desafiando o sucesso do tratamento. Além disso, efetua-se o controle da mosca-do-chifre (*Haematobia irritans*) com produtos de ação acaricida (piretroides e organofosforados), mas aplicados em doses insuficientes para garantir o controle do carrapato, o que contribui indiretamente para o aumento da resistência do carrapato (MARTINS, 2004, BARROS et al., 2007).

Neste contexto, a detecção precoce da resistência é essencial para evitar a seleção de carrapatos resistentes em situações de uso contínuo do mesmo princípio ativo, bem como para atrasar a propagação da resistência.

Classes dos acaricidas

O uso de acaricidas passou a ser feito de forma sistemática a partir do uso do arsênico no controle de carrapatos em bovinos no ano de 1896 que, a partir de 1910, foi liberado nos Estados Unidos criando um mercado internacional para esse produto. A evolução da resistência dos carrapatos ao arsênico após 1937 na Austrália, o risco à saúde e as preocupações relacionadas a resíduos motivou o desenvolvimento de novos produtos, gerando os produtos organoclorados em 1946, ciclo-dienos e toxafeno em 1947, formamidinas em 1975, piretroides em 1977 e lactonas macrocíclicas em 1981 (GEORGE et al., 2008).

Os acaricidas também são classificados por sua via de ação: a) por contato, quando o produto é aplicado por meio de pulverização, imersão ou “pour on”; b) sistêmicos, quando o princípio ativo que atua na circulação sanguínea é metabolizado e distribuído por todo o corpo, aplicado por meio de injeções ou no dorso do animal. Os acaricidas utilizados atualmente no Brasil são classificados em sete grupos distintos, descritos a seguir.

Organofosforados

É o grupo mais antigo de carrapaticida ainda comercializado para bovinos. Apareceram em torno de 1955 para substituir os organoclorados,

como DTT e BHC, por apresentarem resistência cruzada a diferentes espécies de carrapatos, gerando preocupações com relação à sua persistência no ambiente e pela acumulação na gordura corporal de animais (GEORGE et al., 2008).

Os organofosforados não apresentam poder residual quando aplicados sob a forma de pulverização, sugerindo um intervalo de tratamento de 21 dias. Podem ser encontrados em associação com piretroides ou com bernicidas.

São derivados orgânicos do ácido fosfórico, caracterizados por um mesmo mecanismo de ação, e inibem a enzima acetilcolinesterase, ocasionando um aumento de acetilcolina em níveis tóxicos para os carrapatos e causando um aumento das contrações dos músculos até atingir a paralisia.

Neste grupo, a resistência do carrapato está relacionada normalmente a um único gene semidominante, ou seja, os indivíduos heterozigotos também apresentam resistência, embora menor do que os homozigotos resistentes. Os mecanismos da resistência aos organofosforado ainda precisam ser melhor explicados, mas sabe-se que existe relação com a insensibilidade da acetilcolinesterase (FOIL et al., 2004), com o aumento do metabolismo das esterases localizadas no integumento de teleóginas resistentes e com a superexpressão dessas enzimas em larvas (VILLARINO, 2001).

Amidinas (diamínicos)

É um grupo de carrapaticidas que sucedeu aos fosforados sendo lançado em 1975. Caracteriza-se por ter poder residual de 14 dias, permitindo intervalos maiores de tratamentos. Após penetrar no carrapato, a amidina é metabolizada em um composto denominado de N – 2,4 – dimetilfenil N – metilformamidina. Possui uma intensa ação sobre a postura de ovos das teleóginas, é tóxico para as fases do carrapato, em especial para as larvas. A sua ação direta está relacionada com a inibição de algumas enzimas importantes para o metabolismo do carrapato, como as monoaminoxidases.

Foi amplamente aceito pelos produtores e continua sendo um dos mais utilizados no mercado, mesmo depois de mais de 20 anos de comercialização. O período de carência para leite é de 24 horas e para carne é de 14 dias.

Até o momento, foi encontrado em algumas cepas de *R. microplus* resistentes um aumento da atividade esterásica e glutatona-S-transferases, podendo estar relacionado com a insensibilidade de um sítio de ligação de um receptor de octopamina (LI et al., 2004).

Piretroides

Apareceu em 1977. Com o aparecimento de resistência aos acaricidas de grupos à base de organofosforados tradicionalmente usados no país na década de 1980, foi estimulado o uso extensivo de piretroides. Existem no mercado produtos originários de pelo menos três subgrupos dessa família (Deltametrina, Cipermetrina e Alfametrina). Esses acaricidas não apresentam poder residual quando aplicados sob a forma de pulverização, devendo obedecer a um intervalo de tratamento sugerido de 21 dias. Com aplicação “pour on”, o período residual é de 7 dias. Não deve ser utilizado para consumo humano o leite de animais tratados antes de decorridas 24 horas da aplicação do produto. Não se deve abater animais tratados antes de decorridos 7 dias da aplicação do produto.

Para aumentar a eficiência dos piretroides, também foram desenvolvidas novas formulações, nas quais os piretroides passaram a ser associados aos fosforados, aumentando, assim, a eficiência. É importante lembrar que os piretroides apresentam baixa toxicidade aos mamíferos quando comparados aos organofosforados.

Foram identificados dois padrões de resistência para este grupo: um é a forma de alteração do sítio de ação das esterases, tornando-os insensíveis por mutações do gene relacionados aos canais de sódio. A proteína codificada por esse gene altera sua estrutura, o que o torna resistente ao piretroide (HE, 1999).

O segundo mecanismo, menos entendido, envolve detoxificação metabólica mediada pela ação de esterases e de citocromo P450 (MILLER et al., 1999). Porém, podem ser encontradas variações genéticas em diferentes populações para esses mecanismos (GUERRERO et al., 2001).

Fipronil

Sua ação é semelhante às avermectinas, isto é, age sobre o sistema nervoso dos carrapatos, paralisando-os. Ainda não existe relato de resistência do *R. microplus* ao fipronil. Não pode ser usado em animais em lactação e é aplicado de forma “pour on”.

Thiazolina

Possui formulação em associação com piretroide, e é utilizado na forma de pulverização ou imersão. Liberado para uso em animais em lactação, tem carência de apenas três dias para a utilização da carne. Ainda não existe relato de resistência do *R. microplus* à thiazolina.

Lactonas macrocíclicas

Esses produtos surgiram no início da década de 1980 (1981) e produziram grande revolução no mercado mundial dos antiparasitários. Além de apresentarem maior poder residual que os piretroides, são também eficientes contra vermes e bernes, sendo por isso chamados de “endectocidas”. São derivados de produtos obtidos com a fermentação do fungo *Streptomyces avermitiles*, e existem quatro subgrupos no mercado (Ivermectin, Moxidectin, Doramectin e Abamectin) (FURLONG; MARTINS, 2000).

Esses carrapaticidas agem bloqueando a transmissão dos impulsos nervosos nos carrapatos, que por isso morrem paralisados. O mecanismo de desenvolvimento da resistência ainda não está esclarecido.

Não podem ser utilizados em animais em lactação e em gado de corte 30 dias antes do abate. O Eprinex é a única exceção.

Fluazuron (inibidor do crescimento)

O fluazuron tem a capacidade de interferir na produção de quitina, uma substância que possibilita o endurecimento da cutícula dos carrapatos. Completamente diferente de todos os carrapaticidas já citados, ele não permite que os carrapatos mudem de fase e cresçam, além de impedir que se reproduzam, controlando a população. De maneira semelhante aos derivados das avermectinas, também não pode ser utilizado nos animais em lactação. É aplicado na forma “pour on”, sendo metabolizado pelo organismo, com circulação sistêmica. O único representante no mercado até o momento é o Acatlak (FURLONG; MARTINS, 2000).

Desenvolvimento da resistência

Os mecanismos de resistência do *R. microplus* a cada classe de acaricida ainda não foram completamente elucidados.

Com o decorrer do uso de um produto químico, parte da população de carrapatos sobrevive. Às vezes, a resistência está instalada em uma população de carrapatos até mesmo antes de estes entrarem em contato com aquele produto. Acontece que já existem na população alguns indivíduos naturalmente resistentes, cerca de um a cada um milhão ou mais de indivíduos (ROUSH, 1993). Ou então, como é mais comum, o uso frequente do produto causa alterações (mutações) em alguns indivíduos da população, tornando-os resistentes. É o chamado estabelecimento do alelo resistente (FURLONG; MARTINS, 2000).

Com o uso contínuo do produto, há o aumento de indivíduos com essa característica de resistência, uma vez que morrem os sensíveis, não resistentes, e os resistentes acasalam entre si, produzindo descendentes cada vez mais resistentes e em maior número na população. É a chamada propagação do alelo resistente por pressão de seleção (FURLONG; MARTINS, 2000). Ou seja, a pressão de seleção aumenta a proporção da população de carrapatos que carregam os genes para estes fatores de resistência.

A taxa na qual um alelo resistente torna-se estabelecido na população e o tempo que leva para o acaricida se tornar ineficaz no controle de carrapatos depende de muitos fatores. Estes incluem a frequência das mutações na população original antes do tratamento, o modo de herança do alelo resistente (dominante, codominante ou recessiva), a frequência do tratamento carrapaticida, o gradiente de concentração do acaricida e a proporção da população de carrapatos total que não é exposta ao acaricida (refúgios) (FAO, 2003).

Como, ao longo destas últimas cinco décadas, têm sido utilizados acaricidas baseados em diferentes princípios químicos (arsenicais, organoclorados, organofosforados, carbamatos, nitroguanidinas, fenilpirazoles, formamidinas, piretróides, lactonas macrocíclicas e fenil ureias), diversos mecanismos de resistência foram sendo desenvolvidos como estratégia de sobrevivência pelo carrapato (FREITAS et al., 2005).

A pressão de seleção acarretada pelo uso de acaricidas favorece o surgimento de populações com diferentes características genéticas em diferentes graus. Estas características variam desde a redução do poder de penetração do pesticida ao aumento do poder sequestrante de moléculas tóxicas ou mesmo insensibilidade a compostos tóxicos. Além do aumento da detoxificação celular (OAKESHOTT et al., 2003), o que torna os pesticidas utilizados defasados em curto espaço de tempo, sendo necessário aumentar a concentração de uso, mudar o princípio ativo ou utilizar outros princípios ativos combinados (SUTHERST et al., 1983).

Os mecanismos fisiológicos da resistência estão relacionados, principalmente, com a diminuição de penetração cuticular da droga, a resistência metabólica e a resistência por insensibilidade de sítio de ação.

A resistência metabólica é caracterizada por um aumento na capacidade que os indivíduos resistentes têm de detoxificar e/ou eliminar os produtos acaricidas utilizados no tratamento. Esse aumento pode ser resultado: a) do aumento de expressão de enzimas responsáveis pelo metabolismo de drogas (por exemplo, citocromo P450 monooxigenases, esterases e glutathione-S-transferases); e b) do aumento da especificidade dessas enzimas pelo substrato (PEREIRA et al., 2008).

A resistência por insensibilidade de sítios de ação é o segundo mecanismo mais encontrado. Caracteriza-se, principalmente, por uma mutação de nucleotídeo na região codificadora de um gene. Essa mutação pode conferir uma mudança de aminoácido e, conseqüentemente, uma alteração tridimensional na proteína formadora do receptor. Essa mudança estrutural pode alterar a habilidade da molécula de se ligar ao sítio de ação, resultando em resistência (PEREIRA et al., 2008).

O modo de ação das lactonas macrocíclicas (MLs) em artrópodes é atribuído à sua alta afinidade com os canais de cloreto-glutamato (Glu-Cl) que estão presentes em músculos e nervos. A abertura desses canais causa um lento e irreversível aumento da condutância da membrana, resultando na paralisia da musculatura somática e a conseqüente morte do parasita (CULLY et al., 1994).

As resistências podem ser explicadas em função das ações moleculares em três tipos: aumento de expressão de genes ou aumento da atividade de enzimas envolvidas em metabolismo de xenobióticos/detoxicadoras; mutações em neurorreceptores; e mutações em canais de sódio (MARTIN et al., 2003; OAKESHOTT et al, 2003; RUFINGIER et al, 1999). Três famílias de proteínas são as principais responsáveis pelo metabolismo de acaricidas: os citocromos P450; as esterases (Est); e as glutathione S-transferases (GSTs) (RANSON et al., 2002). As proteínas dessas famílias também estão envolvidas na síntese e na lixe de vários metabólitos endógenos, na proteção contra o estresse oxidativo, na transmissão de sinais nervosos e no transporte celular (HEMINGWAY et al., 2002).

Detecção da resistência

A resistência do *R. microplus* aos acaricidas existe nas diferentes regiões do mundo onde é realizado o controle químico. Esse evento faz parte da habilidade da população de carrapatos em buscar alternativas de sobrevivência no ambiente. Em condições de uma forte pressão seletiva, o desenvolvimento da resistência é inevitável. Assim, o seu monitoramento em situações regionais é fundamental para avaliação da situação e propostas de ações para contornar esse problema.

Testes para monitorar a resistência dos carrapatos

Para realização dos testes de resistência, alguns procedimentos e cuidados na coleta e no transporte de amostras devem ser observados.

Cuidados na coleta e no transporte de carrapatos para os testes

Independentemente do tipo de teste a ser utilizado, a coleta de teleóginas deve ser realizada. Como a maioria das teleóginas cai do hospedeiro no início da manhã, é importante manter os animais infestados contidos em locais durante a noite e realizar a coleta nos animais, e/ou em torno deles, no início da manhã seguinte.

É importante lembrar que a coleta da amostra deve ser realizada após um período mínimo do último tratamento realizado em função do efeito residual, e esse tempo depende do acaricida utilizado no manejo da propriedade. As amostras devem ser coletadas e imediatamente identificadas com o nome do produtor, data de coleta, local e tratamento utilizado.

O número de carrapatos coletados vai depender do teste a ser aplicado. Para o AIT, em geral, pode ser usado um número mínimo de 10 teleóginas para cada acaricida e o mesmo para o controle. Para LPT, a amostra pode conter de 10 a 50 teleóginas. O Teste LPT vai ser desenvolvido com as larvas que eclodirem dos ovos e poucas teleóginas fornecem material suficiente para o ensaio.

As teleóginas podem ficar em temperatura de geladeira (4°C) por um período de até 5 dias sem efeitos adversos, se forem imediatamente refrigeradas. Para AIT, podem ser refrigeradas por até dois dias se forem mantidas em temperatura moderada para campo um dia antes da refrigeração. Fatores que influenciam a viabilidade da teleóquina vão ter um efeito direto nos resultados do AIT, mas não nos resultados do LPT (FAO, 2003).

No transporte das teleóginas, é importante acondicioná-las em caixas protegidas de pressão, com papel toalha umedecido no seu interior. O transporte até ao laboratório deve ser em baixa temperatura, dentro de caixa com gelo, por exemplo, e o mais rápido possível.

Condições em laboratório

Ao chegar ao laboratório as teleóginas devem ser lavadas com água para remover os ovos provenientes de postura durante o transporte. As teleóginas que começaram a postura não devem ser utilizadas para o AIT. A condição de incubação de teleóginas, ovos e larvas antes e durante o teste deverá ser de 27 a 28 °C e 85-95% de umidade relativa (UR) e sem iluminação.

A qualidade das teleóginas deve ser observada: utilizar indivíduos acima de 15 mg de peso; não realizando postura; indivíduos que apresentam algum tipo de alteração na coloração e/ou algum dano também devem ser descartados.

Teste de imersão de adultos (AIT)

O AIT com dose de discriminação tem sido recomendado como um ensaio preliminar para a resistência porque é relativamente simples. É um bioensaio aplicado em fêmeas ingurgitadas (teleóginas) de carrapatos. A metodologia do teste AIT foi descrita por Drummond et al. (1973) e foi utilizada para determinar a eficácia relativa de acaricidas contra carrapatos.

Teste de pacote de larvas (LPT)

A Organização das Nações Unidas para agricultura e alimentação (FAO) tem escolhido para uso o teste de pacote de larvas (LPT) para estudos de campo sobre resistência acaricida. O Centro Mundial de Referência para a Resistência a Acaricidas (WARRC) apoia os países membros da FAO na determinação dos padrões de resistência, especialmente a organofosforados e piretroides. No entanto, outros métodos continuam sendo utilizados e melhorados.

O teste conhecido como LPT baseia-se na utilização do carrapaticida em diferentes concentrações e no índice de sobrevivência de larvas expostas a estas concentrações. Os resultados deste bioensaio de larvas para o diagnóstico de resistência em *R. microplus* leva cerca de 6 semanas.

Neste teste, as larvas são expostas a papéis de filtro impregnado quimicamente e sua mortalidade subsequente é quantificada após 24 horas do desafio. O kit contém materiais padronizados e processos obtidos a

partir de dados que permitem comparar ensaios em diferentes partes do mundo. Porém, um treinamento adequado é essencial para atingir um elevado grau de confiança na técnica.

Mais recentemente, os protocolos foram adaptados para lactonas macrocíclicas (LM), porém, existem alguns problemas com a aplicação do LPT padrão, AIT e protocolos para a susceptibilidade ao amitraz, exigindo modificações específicas para esse acaricida.

Miller et al. (2002), adaptando tecido de nylon ao LPT, produziram resultados que melhor se adequam ao modelo log-porbit. É recomendado o uso de larvas de 14 a 21 dias de idade (FAO, 2003).

Teste de imersão de larvas (LIT)

O teste de imersão larval (LIT) foi modificado por Sabatini et al. (2001) e usado para testar cepas de *R. microplus* com LMs para determinar as concentrações letais DL 50% e 99,9% e definir uma dose de discriminação (DD) que poderia ser usada para diagnosticar a resistência LMs.

Esse bioensaio de larvas (SHAW, 1966) não é tão amplamente utilizado para o diagnóstico de resistência e não foi escolhido pela FAO. O método proporciona um resultado em seis semanas, mesmo tempo que o LPT. Estudos comparativos têm indicado que os resultados do LIT podem ser comparados com os resultados LPT. A incapacidade do LPT para diagnosticar a resistência potencial para fluazuron também se aplica ao LIT.

O LIT foi utilizado pela primeira vez para detecção de resistência a ivermectinas com sucesso para diferenciar população resistente de população sensível, apesar de ainda não ser recomendado pela FAO (KLAFKE, et al., 2006).

Detecção de atividade esterásica

A relação entre o aumento na atividade da acetilcolinesterase (AChE), com resistência aos organofosforados em linhagens de carrapato foi demonstrado por Baxter e Barker (1998).

Foi desenvolvido um teste para avaliar carrapatos baseado na atividade de AChE identificada em singânglio ou “cérebro” extraído a partir de teleóginas e inibida na presença do propoxur (carbamato). Este ensaio pode ser usado para diagnosticar insensibilidade para organofosforados e segregar os resultados em genótipos resistentes e susceptíveis (BAXTER; BARKER, 1999).

Uma otimização do método de extração da AChE em singânglios de machos e fêmeas de carrapatos adultos por meio de sonificação forneceu extração homogênea entre as amostras e aumento da quantidade de AChE para ensaios bioquímicos quantitativos, levando a resultados mais seguros (PRUETT, POUND, 2006).

Jamroz et al. (2000) encontraram um aumento na atividade carboxiesterase (CaEs) em cepa mexicana resistente a piretroide. Li et al. (2005a) identificaram um acaricida insensível a AChE em uma cepa resistente ao organofosforado do México.

Uma análise comparativa feita entre padrões de sensibilidade para esterase em malation e deltametrina em carrapatos sensíveis, revelou quatro bandas de esterases contra acetato anaphthyl, duas das quais foram carboxilesterases e duas foram AchEs – sendo que uma delas com grande atividade em carrapatos resistentes ao malation (BAFFI et al., 2008).

Diagnóstico molecular

Os ensaios biológicos para a determinação da resistência do carrapato mostram resultados relacionados com o fenótipo, sendo necessária uma média de seis semanas para verificar o seu efeito. Já o diagnóstico molecular, realizado por meio da amplificação do DNA, mostra o genótipo da população em apenas um dia, permitindo identificar mutações específicas.

O papel da carboxilesterases (CaES) e acetylcholinesterases (AChEs) na resistência do *R. microplus* tem sido investigado demonstrando que o fenômeno pode estar relacionado com o número de cópias do gene e mutações pontuais em genes que codificam esterases (VILLARINO et al.,

2003; OAKESHOTT et al., 2005). Dois genes codificando AChE foram identificados e sequenciados (AChE1 e AChE2) em cepas resistentes (BAXTER; BARKER, 2002).

Hernandez et al. (2000) identificaram um ponto de mutação em um fragmento de DNA de cerca de 372 pares de base de uma carboxiesterase em larvas e hemolinfa de adultos resistentes a piretroides em uma população de carrapatos mexicana. Esta mutação (G → A, substituição no nucleotídeo 1120) gera um local de reconhecimento para a enzima de restrição EcoRI (CTTAAG), que foi identificado pela digestão dos produtos amplificados.

Hernandez et al. (2002) encontraram uma alta frequência do genótipo homozigoto mutante em uma cepa resistente a permetrina (96% das larvas resistentes e 33% de fêmeas adultas resistente) e identificaram que a transcrição contendo o ponto de mutação foi mais abundante na cepa resistente.

Por meio da técnica de PCR, foram identificadas mutações em linhagens mexicanas de *B. microplus* que ocorrem por substituição de dois aminoácidos em uma proteína de canal de sódio. Essas mutações, com as substituições de Phe para Ile e Asp para Asn, são responsáveis por conferir a estas linhagens de carrapato resistência a piretroides (GUERRERO et al., 2002).

Por meio da PCR, foi possível detectar uma mutação específica em genes de canal de sódio associada com resistência a permetrina utilizando um único carrapato em qualquer estágio de desenvolvimento e em poucas horas. Também por PCR, é possível detectar um gene esterase responsável pela metabolização de permetrina, CzEst9 (FOIL et al., 2004).

Pontos de mutação em genes codificadores para esterase constituem um dos principais mecanismos de resistência em *R. microplus*. A reação de polimerase em cadeia/polimorfismo do comprimento de fragmento de restrição (PCR-RFLP) foi usada para investigar a presença de mutações em um fragmento de uma carboxiesterase importante em carra-

patos com história de resistência. Digestão de um fragmento com 372 pb utilizando EcoRI revelou diferentes frequências de três genótipos. Comparação de sequências indicou a presença de outras mutações e polimorfismo EcoRI em cepas moderadamente resistentes e resistentes (BAFFI et al., 2007).

Resistência no Brasil

Os primeiros registros de resistência do *R. microplus* ao arsênio no Brasil datam de 1953 (FREIRE, 1953). A resistência foi confirmada para organoclorados em 1953 (MARTINS et al., 2003), organofosforados em 1963 (FURLONG, 1999), piretroides sintéticos em 1989 (ARANTES et al., 1995), amidinas em 1995 (MARTINS, 1995) e lactonas macrocíclicas em 2001 (MARTINS; FURLONG, 2001; MARTINS et al., 2003; KLAFKE et al., 2006). Para fluazurom e spinosad a resistência, no entanto, ainda não foi detectada.

Resistência aos organofosforados (OP)

A resistência aos organofosforados foi notada inicialmente em 1963, no Rio Grande do Sul, estado mais afetado por carrapatos bovinos devido ao fato de seu rebanho ser composto principalmente de raças europeias (WHARTON, ROULSTON, 1977) e, posteriormente, na década de 1970 (MARTINS, 1995).

No primeiro estudo bioquímico de resistência de *R. microplus* no Brasil, por Mendes et al. (2001), as larvas da cepa susceptível Mozo (MZ) e da cepa de campo Mancilha (MC) foram testadas para atividade de acetilcolinesterase (AChE), corroborando os dados do bioensaio. Acetato de alfa-naftil foi hidrolisado mais rápido na cepa MC do que na cepa MZ, demonstrando resistência a piretroides, mais especificamente, a deltametrina. A máxima inibição da atividade de AChE foi obtida com propoxur 50 mM.

Resistência a piretroides sintéticos (SP)

A resistência a piretroides foi relatada no final de 1980 no Rio de Janeiro (LEITE, 1988) e no Rio Grande do Sul (LARANJA et al., 1989) e, posteriormente, em várias fazendas nos dois Estados (ALVES-BRANCO et al., 1992, 1993, MARTINS et al., 1992; FLAUSINO et al., 1995). Em 1992, 81% dos banheiros carrapaticidas em fazendas no Rio Grande do Sul continham piretroide (MARTINS, 1995). Atualmente, a resistência a piretroides sintéticos tem ocorrência generalizada também nos estados de São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais (NOLAN, 1994).

Com o objetivo de controlar a susceptibilidade de *R. microplus* aos acaricidas, Fernandes (2001) investigou os efeitos de cipermetrina, deltametrina e permetrina sobre larvas coletadas em Goiânia, no estado de Goiás. As taxas de mortalidade média após 24 horas variaram de 76,3%, para deltametrina 25 ppm, a 100%, para permetrina 2.500 ppm, mas os carrapatos foram resistentes às concentrações comerciais de deltametrina e cipermetrina. Apenas permetrina a 2.500 ppm alcançou o nível de eficácia oficialmente recomendado no Brasil.

A cepa de *R. microplus* Santa Luiza, originada no sul do Brasil é resistente a permetrina e amitraz. As investigações sobre a base genética da resistência a permetrina, com experimentos de conjugação cruzada, e os mecanismos de resistência a permetrina, por meio de bioensaios sinérgico e análise bioquímica da esterase, sugerem a presença de um gene responsável pela resistência a permetrina na cepa Santa Luiza (LI et al., 2008).

A seleção de larvas F3 da cepa Santa Luiza para permetrina ou amitraz levou a um aumento de resistência significativo para ambos os acaricidas, indicando uma estreita ligação entre os genes responsáveis pela resistência a permetrina e amitraz. Os resultados sugerem

que outros mecanismos, incluindo uma possível mutação no canal de sódio distinta da que atualmente é conhecida, podem ser responsáveis pela resistência a permetrina nesta cepa (LI et al., 2008).

Resistência ao amitraz

Traços de resistência a amitraz foram inicialmente detectados no Rio Grande do Sul (NOLAN, 1994) e a confirmação da resistência para *R. microplus* alguns anos mais tarde (FURLONG, 1999).

Na cepa Santa Luiza, a resistência ao amitraz foi até 154 vezes maior do que em uma cepa sensível. Esse foi o nível mais elevado de resistência entre todas as cepas de *R. microplus* estudadas até o momento com a versão modificada do bioensaio da FAO (MILLER et al., 2002).

Em um teste de pacote de larvas da FAO modificado para medir os níveis de susceptibilidade de larvas de cepas parentais, F1, retrocruzadas, F2, e gerações de F3, o uso da cepa Santa Luiza como parental resistente revelou que a resistência ao amitraz deve ser herdada como um recessivo incompleto envolvendo mais de um gene, com forte efeito materno na expressão da resistência amitraz na progênie larval. Taxas de CL50 de 0,0024% para cepa susceptível (Muñoz) homocigoto (SS), 0,45% para carrapatos homocigotos resistentes, 0,022% para os heterocigotos com um macho susceptível e uma fêmea parental resistente, e 0,0089% para os heterocigotos com um macho resistente e uma fêmea sensível (LI et al., 2005a).

Resistência a lactonas macrocíclicas

A resistência a lactonas macrocíclicas (MLs) em *R. microplus* foi primeiramente relatada no Rio Grande do Sul em um estudo com a cepa São Gabriel, que se mostrou resistente a doramectina. Nesse estudo, a cepa foi submetida ao teste de imersão de adultos (AIT), com MLs utilizando o protocolo proposto por Sabatini et al. (2001). A cepa São Gabriel foi capaz de sobreviver e produzir ovos viáveis após o trata-

mento com imersão 200-1.000 ppm de ivermectina e moxidectina, enquanto a cepa suscetível de Porto Alegre alcançou 100% de mortalidade nas mesmas concentrações (MARTINS; FURLONG, 2001).

Uma investigação realizada no Vale do Paraíba, estado de São Paulo, em uma área endêmica de *R. microplus* com altos níveis de resistência acaricida, levou à primeira detecção *in vitro* de *R. microplus* resistentes a ivermectina utilizando o teste de imersão larval (LIT) proposto por Sabatini et al. (2001). Outras investigações permitiram desenvolver a resistência de *R. microplus* a ivermectina em condições de laboratório pela primeira vez (KLAFKE et al., 2010).

Avaliações regionais da resistência

No Brasil, o carrapato tem sido mais estudado nas regiões: Sul, por onde passa o paralelo 32° S e onde a pecuária é baseada em animais de origem europeia causando situações de instabilidade enzoótica para doenças transmitidas por carrapatos; no Sudeste, onde o setor é mais tecnificado; e, mais recentemente, na região Centro-Oeste do país, com a grande expansão da pecuária. No Nordeste, há pouca informação a respeito e, na região Norte, não há relatos.

Após a detecção inicial de traços de resistência ao amitraz no Rio Grande do Sul (NOLAN, 1994), a sensibilidade/resistência de *R. microplus* e a dinâmica de utilização de acaricidas foram investigados no estado na última década por Farias et al. (2008), aplicando o teste de imersão de fêmeas ingurgitadas coletadas em 124 propriedades. O surgimento de resistência aos piretroides foi detectado durante os três primeiros anos estudados, e a resistência ao amitraz nos últimos três anos (eficácia de 79% nos últimos três anos vs 95% nos três primeiros).

Outro estudo mostrou uma comparação de médias de desempenho entre serra e encosta no estado, mostrando resistência para cipermetrina de 50-58% e deltametrina de 37-54%, respectivamente. Para o amitraz apesar da média estar em torno de 94%, foram observados valores mínimos de 8-56%, respectivamente (SANTOS et al., 2008).

Em outro estudo no mesmo estado, Camillo et al., (2009) revelaram maior eficácia para a associação de amitraz e clorpirifós, com resultados desejáveis em 100% das propriedades testadas. Associações com cipermetrina-clorpirifós-citronelol foram eficientes nos carrapatos em 61% das propriedades e cipermetrina/ethion, em 37%. A cipermetrina foi eficiente em 20,7% e o amitraz, um dos produtos mais utilizados nas propriedades, foi eficiente em 14,2% das propriedades. Estes resultados demonstram a baixa efetividade da maioria dos medicamentos utilizados regionalmente para o controle de *R. microplus*, medida *in vitro*.

Também no Rio Grande do Sul, um estudo dos efeitos de acaricidas estratégicos, mais seletiva contra *R. microplus*, como uma prática com um potencial de criação de refúgios para os carrapatos foi avaliada.

Um ensaio foi desenvolvido para investigar os efeitos de tratamento estratégico seletivo dentro de um rebanho *Bos taurus* com o objetivo de reduzir os custos de tratamento e oferecer um “refúgio” para os carrapatos não submetidos ao tratamento. Um grupo foi tratado estrategicamente com avermectina e projetado para atuar diretamente contra a primeira e terceira gerações de *R. microplus*. O outro grupo, na mesma área, não foi tratado e a infestação foi monitorada em todo o rebanho. Os bovinos tratados tiveram altas infestações fora do período de tratamento em níveis que seriam inaceitáveis pelos fazendeiros. O grupo não tratado mostrou altas infestações nos dois períodos e as pastagens também se mostraram com altas infestações (MARTINS et al., 2002).

Em um estudo no Brasil Central, a sensibilidade do carrapato-do-boi foi monitorada durante 10 anos (1.603 testes de imersão), revelando que apenas as associações entre cipermetrina-clorpirifós e cipermetrina-clorpirifós-citronela-butóxido de piperonila apresentaram eficácia de pelo menos 95%, satisfazendo as exigências do Ministério da Agricultura e Abastecimento (FURLONG et al., 2007).

No estado de Minas Gerais, a sensibilidade/resistência do carrapato aos acaricidas foi avaliada de 1997 a 1999. Em geral, a eficácia acaricida

foi baixa, sendo que os amidínicos apresentaram o melhor desempenho, com apenas 61%, o que pode explicar o contínuo e longo prazo de sucesso de vendas da família de acaricidas (FURLONG; MARTINS, 2000).

No Vale do Paraíba (São Paulo), ensaios laboratoriais conduzidos em 2001-2004 avaliaram a eficácia de ixodicidas comerciais contra teleóginas de *R. microplus* utilizando a técnica de imersão. A eficácia foi baixa para os piretroides sintéticos (28,24%), amitraz (47,19%) e a associação de piretroides sintéticos e organofosforados (88,64%) (PEREIRA, 2006). Na mesma região, a resistência de *R. microplus* a cipermetrina, deltametrina e clorpirifós, bem como práticas de controle de carrapato, foram investigadas em 12 fazendas. A utilização do teste do pacote de larvas (LPT), aprovado pela FAO, revelou resistência estabelecida a piretroides (cipermetrina e deltametrina) e resistência emergente a organofosforados (clorpirifós).

Um questionário aplicado aos agricultores mostrou que as combinações de piretroides e organofosforados foram as preparações mais comuns utilizadas na região para controlar os carrapatos, seguido por amitraz e lactonas macrocíclicas (MENDES et al., 2007).

Em Ilhéus, no estado da Bahia, nos testes de imersão *in vitro* utilizando quatro carrapaticidas foram realizados com fêmeas ingurgitadas de *R. microplus* coletadas em 30 propriedades rurais aleatoriamente selecionadas. Os níveis de eficácia foram de 30,95% para amidina, 65,04% para deltametrina, 75,73% para cipermetrina-diclorvos e 75,13% para triclorfon-coumaphos ciflutrina (CAMPOS JUNIOR; OLIVEIRA, 2005).

Na região semi-árida do Nordeste, no estado da Paraíba, a resistência foi avaliada utilizando *R. microplus* ingurgitadas e *R. sanguineus*. Para ambas as espécies, a eficácia foi maior para amitraz (97,70% e 100%, respectivamente) do que para cipermetrina (70,5% e de 80,5%, respectivamente) (SILVA et al., 2005).

No estado do Mato Grosso do Sul, uma avaliação da susceptibilidade *R. microplus* a carrapaticidas piretroides mostrou que a eficácia foi geralmente inferior a 70%, tornando-os não recomendados para as

fazendas investigadas. Dos 12 produtos avaliados, apenas dois (DDVP-clorfenvinfos e cipermetrina-clorpirifós-butóxido de piperonila-citronela) apresentaram níveis de eficácia superiores a 95% (97,68% e 100%, respectivamente) (KOLLER et al., 2009).

Em geral, o diagnóstico da resistência contribui na escolha das bases químicas que compõem os carrapaticidas a serem empregados na população de carrapato de uma determinada propriedade. Além disso, a aplicação correta também é um fator crucial na tentativa de prolongar o período de eficácia de acaricidas existentes, haja vista que é pequena a expectativa, pelo menos em princípio, para que novos ingredientes ativos com novos mecanismos de ação sejam lançados comercialmente no curto prazo em função do custo de desenvolvimento desses novos produtos. Desta forma, as informações disponibilizadas neste texto encorajam o desenvolvimento de novos estudos para ampliar o entendimento desses mecanismos e novas formas de abordagem para buscar soluções para essa questão.

Referências

- ALVES-BRANCO, F. de P. J.; SAPPER, M. F. M.; ARTILES, J. M. Diagnóstico de resistência de *Boophilus microplus* a piretróides. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 11., 1992, Gramado. **Anais...** Gramado: SOVERGS, 1992. p. 44.
- ALVES-BRANCO, F. de P. J.; SAPPER, M. F. M.; PINHEIRO, A. C. Estirpes de *Boophilus microplus* resistentes a piretróides. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 7., 1993, Londrina. **Anais...** Londrina: CBPV, 1993. p. A4.
- ANUALPEC 2009. São Paulo: AgraFNP, 2009. 360 p.
- ARANTES, G. J.; MARQUES, A. O.; HONER, M. R. O carrapato do bovino, *Boophilus microplus*, no município de Uberlândia, MG: análise da sua resistência contra carrapaticidas comerciais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 4, n.2, p. 89–93, 1995.
- BAFFI, M. A.; SOUZA, G. R. L.; VIEIRA, C. U.; SOUZA, C. S.; GOULART, L. R.; BONETTI, A. M. Identification of point mutations in a putative carboxylesterase and their association with acaricide resistance in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.148, p. 301–309, Sept. 2007. Issue 3-4.

BAFFI, M. A.; SOUZA, G. R. L. de; SOUZA, C. S. de; CERON, C. R.; BONETTI, A. M. Esterase enzymes involved in pyrethroid and organophosphate resistance in a Brazilian population of *Rhipicephallus (Boophilus) microplus* (Acari, Ixodidae). **Molecular and Biochemistry Parasitology**, v.160, p.70–73, July 2008. Issue 1.

BARROS, A. T. M.; GOMES, A.; KOLLER, W. W. Insecticide susceptibility of horn flies, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 16. n. 3, p. 145-151, jul./set. 2007.

BAXTER, G. D.; BARKER, S. C. Acetylcholinesterase cDNA of the cattle tick *Boophilus microplus* : characterization and role in organophosphate resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.28, p. 581–589, Aug.1998. Issue 8.

BAXTER, G. D.; BARKER, S. C. Comparison of acetylcholinesterase genes from cattle ticks. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1765–1774, Nov. 1999. Issue 11.

BAXTER, G. D.; BARKER, S. C. Analysis of the sequence and expression of a second putative acetilcolinesterase cDNA from organophosphate-suscetible and resistant cattle ticks. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.32, p. 815–820, 2002. Issue 7.

GEORGE, J. E.; POUND, J. M.; DAVEY, R. B. Acaricides for controlling ticks on cattle and the problem of acaricide resistance. In: BOWMAN, A. S.; NUTTALL, P. A. **Ticks: biology, disease and control**. Cambridge, UK: Cambridge.University Press, 2008. p. 415-416.

CAMILLO, G.; VOGELL, F. F.; SANGIONIL, L. A.; CADORE, G. C.; FERRARI, R. Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.39, n.2, p. 490-495, abr. 2009.

CAMPOS JÚNIOR, D. A.; OLIVEIRA, P. R. Avaliação *in vitro* da eficácia de acaricidas sobre *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) de bovinos no município de Ilhéus, Bahia, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.35, n.6, p.1386-1392, nov./dez. 2005.

CULLY, D. F.; VASSILATIS, D. K.; LIU, K. K.; PARESS, P. S.; VAN DER PLOEG, L. H. T.; SCHAEFFER, J. M.; ARENA, J. P. Cloning of an avermectin-sensitive glutamate-gated chloride channels from *Caenorhabditis elegans*. **Nature**, v. 371, p.707–711, Oct. 1994.

DRUMMOND, R. O.; ERNEST, S. E.; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W.J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: Laboratory test of insecticides. **Journal of Economic Entomology**, v. 66, n.1, p. 130-133, Feb. 1973.

FAO. **Resistência a los antiparasitários: estado actual com énfasis en América Latina.**

Roma, 2003. 51 p. (Estudio FAO producción y sanidad animal, 157).

FARIAS, N. A.; RUAS, J. L.; SANTOS, T. R. B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região sul do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS, v.38, n.6, p. 1700-1704, set. 2008.

FERNANDES, F. F. Efeitos toxicológicos e resistência a piretróides em *Boophilus microplus* de Goiás. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.53, n.5, p. 538-543, out. 2001.

FLAUSINO, J. R. N.; GOMES, C. C. G.; GRISI, L. Avaliação da resistência do carrapato *Boophilus microplus* ao amitraz e a piretróides, no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.4, n.2, p. 45, ago. 1995. Suplemento 1. Edição dos Resumos do IX Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Campo Grande, MS, 1995.

FOIL, L. D.; COLEMAN, P.; EISLER, M.; FRAGOSO-SANCHEZ, H.; GARCIA-VAZQUEZ, Z.; GUERRERO, F. D.; JONSSON, N. N.; LANGSTAFF, I. G.; LI, A. Y.; MACHILA, N.; MILLER, R. J.; MORTON, J.; PRUETT, J. H.; TORR, S. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 125, p. 163-181, Oct. 2004. Issues 1-2.

FREIRE, J. J. Arseno e cloro resistência e emprego de tiofosfato de dietilparanitrofenila (Parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). **Boletim da Diretoria de Produção Animal**, v.9, n.17, p. 3-21, 1953.

FREITAS, D. R. J. de; POHL, P. C.; VAZ JR, I. da S. Caracterização da resistência para acaricidas no carrapato *Boophilus microplus*. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n.2, p. 109-117, 2005.

FURLONG, J.; PRATA, M. C. A.; MARTINS, J. R. O carrapato dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar? **A Hora Veterinária**, v.27, n.159, p. 26-32, set./out. 2007.

FURLONG, J. Diagnosis of the susceptibility of the cattle tick, *Boophilus microplus*, to acaricides in Minas Gerais state, Brazil. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 4., 1999, Puerto Vallarta, México. **Proceedings...** Puerto Vallarta : CONASAG, 1999. p. 41-46.

FURLONG, J.; MARTINS, J. R. S. Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 2000. 25 p. (Embrapa Gado de Leite. Circular técnica, 59).

GUERRERO, F. D.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J. Use of an allele-specific polymerase chain reaction assay to genotype pyrethroid resistant strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.38, n.1, p. 44-50, Jan. 2001.

GUERRERO, F. D.; LI, A.Y.; HERNANDEZ, R. Molecular diagnosis of pyrethroid resistance in Mexican strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.39, n.5, p. 70-776, Sept. 2002.

GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA-BORJA, G. E.; PEREIRA, J. B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. **A Hora Veterinária**, v.21, n.125, p. 8-10, jan./fev. 2002.

HE, H.; CHEN, A. C.; DAVEY, R. B.; IVIE, G. W.; WAGNER, G. G.; GEORGE, J. E. Sequence analysis of the knockdown resistance-homologous regions of the para-type sodium channel gene from pyrethroid-resistance *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.36, n.5, p.539-543, Sept. 1999.

HEMINGWAY, J.; FIELD, L.; VONTAS, J. An overview of insecticide resistance. **Science**, v. 298, n. 5591, p 96-97, Oct. 2002.

HERNANDEZ, R.; HE, H.; CHEN, A. C.; IVIE, G.W.; WAGHELA, S. D.; GEORGE, J. E.; WAGNER, G. G. Identification of a point mutation in an esterase gene in different populations of the southern cattle tick *Boophilus microplus*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 30, p. 969-977, Oct. 2000.

HERNANDEZ, R.; GUERRERO, F. D.; GEORGE, J. E.; WAGNER, G. G. Allele frequency and gene expression of a putative carboxylesterase- encoding gene in a pyrethroid resistant strain of the tick *Boophilus microplus*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 32, p. 1009-1016, Sept. 2002. Issue 9.

JAMROZ, R. C.; GUERRERO, F. D.; PRUETT, J. H.; OEHLER, D. D.; MILLER, R. J. Molecular and biochemical survey of acaricide resistance mechanisms in larvae from Mexican strains of the southern cattle tick, *Boophilus microplus*. **Journal of Insect Physiology**, v. 46, n.5, p. 685-695, Mar. 2000.

KLAFKE, G. M.; SABATINI, G. A.; ALBUQUERQUE, T. A. de; MARTINS, J. R.; KEMP, D. H.; MILLER, R. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Larval Immersion Tests with ivermectin in populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from State of Sao Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 386-390, Dec. 2006. Issues 3-4.

KLAFKE, G. M.; ALBUQUERQUE, T. A. de; MILLER, R. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Selection of an ivermectin-resistant strain of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 168, p. 97-104, 2010. Issues 1-2.

KOLLER, W. W.; GOMES, A.; BARROS, A. T. M. de. **Diagnóstico da resistência do carrapato-do-boi a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul**. Campo Grande, MS : Embrapa Gado de Corte, 2009. 47 p. il. Color. (Embrapa Gado de Corte. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, 25).

LARANJA, R. S.; MARTINS, J. R.; CERESER, V. H.; CORRÊA, B. L.; FERRAZ, C. Identificação de uma estirpe de *Boophilus microplus* resistente a carrapaticidas piretróides, no Estado do Rio Grande do Sul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 6., 1989, Bagé. **Anais...** Bagé: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1989. p. 83.

LEITE, R. C. *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiográficas da Baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro: uma abordagem epidemiológica. 1988. 144 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LI, A. Y.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J.; GEORGE, J. E. Resistance to coumaphos and diazinon in *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) and evidence for the involvement of an oxidative detoxification mechanism. **Journal of Medical Entomology**, v.40, n.4, p. 482-490, July 2003.

LI, A.Y.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J.; GEORGE, J. E. Detection and characterization of amitraz resistance in the southern cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n.2, p. 193-200, Mar. 2004.

LI, A. Y.; PRUETT, J. H.; DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E. Toxicological and biochemical characterization of coumaphos resistance in the San Roman strain of *Boophilus microplus* (Acari, ixodidae) **Pesticide Biochemical and Physiology**, v.81, p. 145-153, Mar. 2005a. Issue 3.

LI, A.Y.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J.; GEORGE, J. E. Mode of inheritance of amitraz resistance in a Brazilian strain of the southern cattle tick, *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 37, n.3-4, p. 183-198, 2005b.

LI, A.Y.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J.; GUERRERO, F. D., GEORGE, J. E. Genetics and mechanisms of permethrin resistance in the Santa Luiza Strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n.3, p. 427-438, May 2008.

MARTIN, T.; OCHOU, O. G.; VAISSAYRE, M.; FOURNIER, D. Oxidases responsible for resistance to pyrethroids sensitize *Helicoverpa armigera* (Hubner) to triazophos in West Africa. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 33, p. 883-887, Sept. 2003. Issue 9.

MARTINS, J. R. A situation report on resistance to acaricides by the cattle tick *Boophilus microplus* in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. In: SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 3., 1995, Acapulco, México. **Anais...** Acapulco: INIFAP, 1995. p.1-8.

MARTINS, J. R.; CORREA, B. L.; MALA, J. Z. Resistência de carrapatos a carrapaticidas piretróides no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 11, 1992, Gramado. **Anais...** Gramado: SOVERGS, 1992. p. 46.

MARTINS, J. R.; FURLONG, J. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. **Veterinary Record**, v. 149, n.2, p. 64, 2001.

MARTINS, J. R.; EVANS, D. E.; CERESÉR, V. H.; CORRÊA, B. L. Partial strategic control within a herd of European breed cattle in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.27, n.3, p. 241-251, 2002.

MARTINS, J. R.; LEITE, R. C.; FURLONG, J. First evaluation of doramectin against a strain of the cattle tick *Boophilus microplus* with characteristic of resistance to the macrocyclic lactones in the field. In: INTERNATIONAL SEMINAR of ANIMAL PARASITOLOGY, 5., 2003, Merida, Yucatan, México, **Anais...** Merida: CONASAG, 2003. p. 28-31.

MARTINS, J. R. Manejo da resistência aos carrapaticidas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, 2004. Suplemento 1. Edição dos Resumos do 13 Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses, Ouro Preto, MG, 2004.

MENDES, M. C.; SILVA, M. X.; BRACCO J. E. **Teste bioquímico para determinar a resistência de duas cepas do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887)** **Biochemical test to determine the resistance of two strains of the tick *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887).** **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n.2, p. 61-65, ago. 2001.

MENDES, M. C.; PEREIRA, J. R.; PRADO, A. P. Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphate in farms in the Vale do Paraíba region, São Paulo, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.2, p.81-85, 2007.

MILLER, R. J.; DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E. Characterization of pyrethroid resistance and susceptibility to coumaphos in Mexican *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.36, n.5, p. 533-538, Sept. 1999.

MILLER, R. J.; DAVEY, R. B.; GEORGE, J. E. Modification of the food and agriculture organization larval packet test to measure amitraz-susceptibility against Ixodidae. **Journal of Medical Entomology**, v.39, n.4, p. 645-651, July 2002.

NOLAN, J. Acaricide resistance in the cattle tick *Boophilus microplus*. In: REPORT OF WORKSHOP LEADER - FAO/UN consultant, Porto Alegre, RS, Brazil. **Abstract...** Porto Alegre, 1994. p.21-25.

OAKESHOTT, J. G.; HOME I.; SUTHERLAND, T. D.; RUSSELL, R. J. The genomics of insecticide resistance. **Genome Biology**, v.4, p. 1-4, Jan. 2003. Issue1. Article 202.

OAKESHOTT, J. G.; DEVONSHIRE, A. L.; CLAUDIANOS, C.; SUTHERLAND, T. D.; HORNE, I.; CAMPBELL, P. M.; OLLIS, D. L.; RUSSELL, R. J. Comparing the organophosphorus and carbamate insecticide resistance mutations in cholin- and carboxyl-esterases. **Chemico-Biological Interactions**, v.157-158, p. 269-275, Dec. 2005.

PEREIRA, J. R. Eficácia in vitro de formulações comerciais de carrapaticidas em teleóginas de *Boophilus microplus* coletadas de bovinos leiteiros do Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.2, p. 45-48, abr./jun. 2006.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P.; KLAFKE, G. M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (biologia, controle e resistência). São Paulo: MedVet, 2008. 169 p.

PRUETT, J. H.; POUND, J. M. Biochemical diagnosis of organophosphate-insensitivity with neural acetylcholinesterase extracted by sonication from the adult tick synganglion. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 355-363, Feb. 2006. Issues 3-4.

RANSON, H.; CLAUDIANOS, C.; ORTELLI, F.; ABGRALL, C.; HEMINGWAY J.; SHARAKHOVA, M. V.; UNGER, M. F.; COLLINS, F. H.; FEYEREISEN, R. Evolution of supergene families associated with insecticide resistance. **Science**, v.298, p. 179-181, Oct. 2002.

ROUSH, R. T. Occurrence, genetics and management of insecticide resistance. **Parasitology Today**, v.9, n. 5, p. 174-179, May 1993.

RUFINGIER, C.; PASTEUR, N.; LAGNEL, J.; MARTIN, C.; NAVAJAS, M. Mechanisms of insecticide resistance in the aphid *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Homoptera: Aphididae) from France. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 29, p. 385-391, Apr. 1999.

SABATINI, G. A.; KEMP, D. H.; HUGHES, S.; NARI, A.; HANSEN, J. Tests to determine LC50 and discriminating doses for macrocyclic lactones against the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 95, p. 53-62, Feb. 2001.

SANTOS, T. R. B. dos; FARIAS, N. A. da R.; CUNHA FILHO, N. A.; VAZ JUNIOR, I. da S. Uso de acaricidas em *Rhipicephalus (B.) microplus* de duas regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinarie**, v.36, n.1, p. 25-30, 2008.

SHAW, R. D. Culture of an organophosphorus resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. **Bulletin of Entomological Research**, v.56, p.389-405, 1966. Issue 3.

SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R.; ARAÚJO, G. M. B.; SANTOS, V. D. dos; SILVA NETO, A. B. da. Resistência de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE) a carrapaticidas no semi-árido paraibano: efeito da cipermetrina e do amitraz. **Agropecuária Científica no Semi-árido**, v. 1, n.1, p. 59-62, 2005.

SINDAN. **Sindicato Nacional da Indústria de produtos para Saúde Animal, 2010**. Mercado veterinário por classe terapêutica e espécie animal, 2009. Disponível em: < <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html> >. Acesso em: 12 jul. 2010.

SUTHERST, R.W.; MAYWALD, G. F.; KERR, J. D.; SIEGEMAN; D. A. The effect of the cattle tick (*Boophilus microplus*) on the growth of *Bos indicus* x *Bos taurus* steers. **Australian Journal Agricultural Research**, v.34, n.3, p. 317-327, 1983.

VILLARINO, M. A., WAGHELA, S. D., WAGNER, G. G. Histochemical localizations on esterases in integument of the female *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) Tick. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n.6, p. 780-782, Nov. 2001.

VILLARINO, M. A.; WAGHELA, S. D.; WAGNER, G. G. Biochemical detection of esterases in the adult female integument of organophosphate-resistant *Boophilus microplus* (Acari Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.40, n.1, p.52-57, Jan. 2003.

WHARTON, R. H.; ROULSTON, W. J. Acaricide resistance in *Boophilus microplus* in Austrália. In: WORKSHOP ON HEMOPARASITES (ANAPLASMOSIS AND BABESIOSIS), 1975, Cali, Colombia. **Proceedings...** Bogotá: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1977. v.2. p. 73-92.

Embrapa

Gado de Corte

CGPE 8843

**Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento**

**Governo
Federal**