

AVALIAÇÃO COMPARATIVA *IN VITRO* DA SENSIBILIDADE DE *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* A ACARICIDAS COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE ROLIM DE MOURA, RONDÔNIA, BRASIL

COMPARATIVE *IN VITRO* ASSESSMENT OF THE SENSITIVITY OF *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* TO ACARICIDES COMMERCIALIZED IN ROLIM DE MOURA, RONDÔNIA, BRAZIL

R. SILVA¹, M. P. A. SANTOS¹, M. A. P. FIGUEIREDO^{2*}

RESUMO

Objetivou-se avaliar *in vitro* a sensibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas comercializados no município de Rolim de Moura, Rondônia, Brasil. Foram coletadas 400 partenóginas de *R. (B.) microplus* de bovinos naturalmente infestados, pertencentes a duas propriedades rurais. As partenóginas foram separadas em sete grupos homogêneos de 10 indivíduos cada, para análise dos perfis de sensibilidade ao diclorvós 45% + cipermetrina 5%, cipermetrina 15%, cipermetrina 20%, amitraz 12,5%, deltametrina 2,5% e fipronil 1% e o grupo controle. Foram adotados o Teste de Imersão de Adultos (TIA) e o Teste de Imersão de Larvas (TIL). Para cada grupo de 10 partenóginas foi determinado, o índice de produção de ovos, a eficiência reprodutiva e a eficiência do produto. Na propriedade 1 o produto com ação mais rápida sobre as partenóginas foi o fipronil 1%, que matou 70% (7/10) delas em menos de três dias, tendo também inibido a postura dos ovos nas sobreviventes. Enquanto na propriedade 2, a mortalidade das partenóginas só iniciaram a partir do terceiro dia com o uso do amitraz 12,5%, com 50% (5/10) de morte no vigésimo dia, porém nas partenóginas sobreviventes não houve inibição de postura. Na propriedade 1 a cipermetrina 20% e o amitraz 12,5%, inibiram 100% da eclosão dos ovos e a associação de diclorvós 45% + cipermetrina 5% obteve 98% de eficiência de produto. No entanto, na propriedade 2 não houve inibição de eclosão em nenhum grupo teste e a eficiência do produto, de 44,49% com amitraz 12,5% foi o maior, não se mostrando, mesmo assim, eficiente, dentro das normas vigentes. Quanto ao TIL, na propriedade 1, diclorvós 45% + cipermetrina 5% matou 100% das larvas e na propriedade 2 esse resultado foi observado com o fipronil 1%. Esses primeiros resultados reforçam a necessidade de controle estratégico do carrapato e o uso constante de bioensaios - testes laboratoriais de eficácia de acaricida, antes da prescrição, sobretudo no ambiente amazônico.

PALAVRAS-CHAVE: Biocarrapaticidograma. Carrapaticidas. Carrapatos. Controle. Piretróides. Organofosforados.

SUMMARY

The objective of this study was to evaluate *in vitro* the sensitivity of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* to acaricides sold in the municipality of Rolim de Moura, Rondônia, Brazil. The 400 *R. (B.) microplus* female ticks were collected from naturally infested cattle, belonging to two rural properties. The ticks were separated into seven homogeneous groups of 10 individuals each, to analyze the sensitivity profiles to dichlorvos 45% + cypermethrin 5%, cypermethrin 15%, cypermethrin 20%, amitraz 12.5%, deltamethrin 2.5% and fipronil 1% and the control group. The Adult Immersion Test (AIT) and the Larvae Immersion Test (LIT) were adopted. For each group of 10 ticks, the egg production index, reproductive efficiency and product efficiency were determined. At property 1, the product with the fastest action on ticks was fipronil 1%, which killed 70% (7/10) of them in less than three days, and also inhibited the laying of eggs on survivors. While on property 2, the mortality of the ticks only started from the third day with the use of amitraz 12.5%, with 50% (5/10) of death on the twentieth day, however, in the surviving ticks, there was no posture inhibition. In property 1, cypermethrin 20% and amitraz 12.5% inhibited 100% of the eggs hatching and the association of dichlorvos 45% + cypermethrin 5% obtained 98% product efficiency. However, in property 2 there was no hatching inhibition in any test group and the product's efficiency, of 44.49% with amitraz 12.5%, was the highest, not even being efficient, within the current rules. As for LIT, in property 1, dichlorvos 45% + cypermethrin 5% killed 100% of the larvae and in property 2 this result was observed with fipronil 1%. These first results reinforce the need for strategic control of the tick and the constant use of bioassays - laboratory tests for the effectiveness of acaricide, before prescription, especially in the Amazonian environment.

KEY-WORDS: Immersion test. Acaricide, Ticks. Control. Pyrethroid. Organophosphate.

¹ PIBIC-CNPq. Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Rondônia, *Campus* Rolim de Moura, Av. Norte Sul, 7300 - Nova Morada, Rolim de Moura, CEP 76940-000. Rolim de Moura - RO, Brasil.

² Laboratório de Parasitologia, Entomologia e Biologia Molecular voltado à Saúde Única-LAPEMSU. Departamento de Medicina Veterinária e Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, Universidade Federal de Rondônia, *Campus* Rolim de Moura, Av. Norte Sul, 7300 - Nova Morada, Rolim de Moura, CEP 76940-000. Rolim de Moura - RO, Brasil.

*Autor correspondente: Profa. Dra. Mayra Araguaia Pereira Figueiredo. mayra.araguaia@unir.br

INTRODUÇÃO

Rhipicephalus (Boophilus) microplus, comumente chamado de “carrapato do boi” é um dos principais ectoparasitos de bovinos e o mais importante para a pecuária brasileira, tanto de corte quanto de leite. As regiões tropicais e subtropicais possuem clima favorável para o desenvolvimento dos carrapatos, que ocorre de forma endêmica ao longo de todo ano, sendo um desafio o controle dos mesmos nessas regiões. Os prejuízos gerados no Brasil são estimados 3,24 bilhões de dólares (GRISI et al., 2014).

Adicionalmente, este carrapato pode inocular pela saliva parasitos como *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*, conhecidos, em conjunto, como complexo tristeza parasitária bovina, além de inocular substâncias tóxicas nos animais provocando irritação e diminuição do apetite (PEREIRA et al., 2010).

Historicamente, o controle é realizado por meio de produtos químicos, fitoterápicos e até homeopáticos, no entanto, na maioria dos casos, aplicados de forma incorreta, que não respeitam os conhecimentos básicos do ciclo do parasito, gerando uma pressão seletiva de cepas de *R. (B.) microplus* resistentes aos acaricidas (VARGAS et al., 2003; RAYNAL et al., 2020), o que não permite um controle estratégico. Este último, aumentaria a eficiência e prolongaria a vida útil dos produtos (FURLONG, 1993).

O controle estratégico é baseado em bioensaios, chamado no Brasil de biocarrapaticidograma, como teste de imersão de adultos recomendados pelo Grupo de Trabalho sobre Resistência à Parasitos da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO, 2004).

A luz desse desafio, este trabalho objetivou avaliar *in vitro* a sensibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a acaricidas comercializados no município de Rolim de Moura, Rondônia, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados, manualmente, 400 partenóginas de *R. (B.) microplus* de bovinos naturalmente infestados, pertencentes a duas propriedades rurais de gado com aptidão leiteira no município de Rolim de Moura (11°43'48" S, 61°46'47" O), localizado na Zona da Mata do estado de Rondônia.

Para a escolha das propriedades, foram adotados critérios de maiores infestações e a não utilização de acaricidas há pelo menos 30 dias e ivermectina por 45 dias. Para a seleção das propriedades foi realizado um estudo piloto e realizado a contagem de mais de 20 carrapatos sobre toda a superfície do lado direito do animal, com tamanho igual ou maior a 3,0 mm, segundo metodologia modificada de Wharton e Utech (1970).

As partenóginas, foram coletadas em vários animais da mesma propriedade uma única vez. As mesmas foram acondicionadas em recipientes plásticos que permitiam aeração adequada para o transporte até o laboratório.

As partenóginas foram lavadas em água corrente usando um tamiz de inox de malha (24 x 24 x 9 mm, diâmetro de 100 mm), depois foram secas com papel

absorvente. Em seguida foram pesadas em balança analítica e separadas em sete grupos homogêneos de 10 indivíduos cada, de acordo com tamanho, peso, motilidade, integridade física e ingurgitamento (LEITE et al., 1995).

Para análise dos perfis de sensibilidade, foram admitidos seis produtos comerciais mais vendidos no município de Rolim de Moura-RO (dados não publicados), com os respectivos princípios ativos: diclorvós 45% + cipermetrina 5% (Alatox – Zoetis, Grupo 1), cipermetrina 15% (Barrage – Zoetis, Grupo 2), cipermetrina 20% (Ectic – Fabiani, Grupo 3), amitraz 12,5% (Carvet – Bimeda, Grupo 4), deltametrina 2,5% (Bultox P CE 25 – Merck Sharp & Dohme Saúde Animal, Grupo 5) e fipronil 1% (Boviguard - Vallé, Grupo 6), seguindo o padrão de diluição de acordo com a recomendação do fabricante em balão volumétrico. E um grupo controle (Grupo 7) para cada propriedade.

Foram adotados o Teste de Imersão de Adultos (TIA) aplicado às fêmeas semi-ingurgitadas (partenóginas) descrita por Drummond et al. (1973), conhecido como biocarrapaticidograma, e o Teste de Imersão de Larvas (TIL), desenvolvido por Shaw (1966).

Testes de Imersão de Adultos (TIA)

A técnica realizada conforme descrito por Drummond et al. (1973), com modificação do tempo de imersão. As partenóginas foram imergidas em solução de cada um dos princípios ativos, acima descritos, por um período de um minuto e, em seguida foram retiradas e colocadas sobre papel absorvente para retirar o excesso do fármaco, posteriormente foram colocadas dorsalmente aderidas a dupla fita em placa de Petri e incubadas em demanda bioquímica de oxigênio (BOD) à 27°C-28°C e 80%-95% de umidade, com posterior observação da inibição de ovipostura e da eclosão larval em comparação com o grupo controle. O grupo controle foi mergulhado em água destilada por um minuto e colocado sob as mesmas condições dos grupos experimentais.

Após duas semanas foi observado e quantificado por grupo a mortalidade das partenóginas e peso da postura dos ovos. Os ovos foram pesados e acondicionados em tubos de vidro fechados com algodão e incubados sob as mesmas condições supracitadas até a eclosão.

Para cada grupo de 10 partenóginas foi determinado, o índice de produção de ovos (IPO), de acordo com Lage et al. (2013) e Matos et al. (2014) modificado.

$$\text{IPO} = \frac{\text{Peso da massa de ovos} \times 100}{\text{Peso das partenóginas}}$$

Após a liberação das larvas, foram calculadas a Eficiência Reprodutiva (ER) e a Eficiência do Produto (EP) descritas por Drummond et al. (1973).

$$\text{ER} = \frac{\text{Peso da massa de ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000^*}{\text{Peso das partenóginas}}$$

*A constante 20.000 significa o número estimado de larvas em 1g de ovos de *R. (B.) microplus*.

$$EP = \frac{(ER \text{ controle} - ER \text{ tratado}) \times 100}{ER \text{ controle}}$$

Os resultados obtidos foram comparados com as normas estabelecidas, que determinam que um produto só pode ser considerado eficiente se seu efeito for maior ou igual a 95 % sob uma cepa sensível (MAPA, 1987; BRASIL, 1997).

Teste de Imersão de Larvas (TIL)

Para a realização do TIL foram usadas somente larvas de partenóginas sobreviventes do primeiro teste que, realizaram ovoposição e as larvas possuíam boa motilidade. Para que o número de indivíduos de cada grupo de larvas também fosse homogêneo, foram selecionadas 100 larvas com maior motilidade.

As larvas (n=100) foram separadas em tubos de ensaio e adicionado solução de cada um dos princípios ativos, diluídos como descritos para TIA, em que foram mergulhadas por cinco minutos, em seguida o conteúdo dos tubos foram transferidas para um papel-filtro (virando

o líquido dentro do papel-filtro). Logo em seguida as 100 larvas foram transferidas para pacotes de papéis-filtro secos que foram dobrado e selados com clips. Estes foram incubados a 27-28°C e 80-95% de umidade do ar durante 24 horas, após foram abertos para a avaliação da mortalidade das larvas (SHAW, 1966).

Foi adotado como critério de avaliação a morte ou a incapacidade de movimentação das larvas após 24h de incubação. Este teste é simples para avaliação de resistência, eficiente e econômico, sendo recomendado pela FAO (2004).

Os dados foram dispostos de forma descritiva.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes aos parâmetros reprodutivos, peso das partenóginas, número de partenóginas mortas e índice de produção de ovos para as duas propriedades após o bioensaio com cada produto estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Demonstrativo do peso do grupo de 10 partenóginas de *R. (B.) microplus* no dia da coleta, número de partenóginas mortas até o terceiro dia após o bioensaio e inibição da postura dentro dos vinte dias analisados.

Grupo experimental*	Propriedade 1			Propriedade 2		
	Peso das partenóginas (g)	Nº de partenóginas mortas (em 3 dias)	IPO %	Peso das partenóginas (g)	Nº de partenóginas mortas (em 3 dias)	IPO %
Grupo 1	0,418	2	3,58	0,45	0	28,88
Grupo 2	0,427	4	15,69	0,428	0	32,71
Grupo 3	0,432	4	4,16	0,425	0	30,58
Grupo 4	0,409	6	*	0,482	0	22,82
Grupo 5	0,402	4	7,46	0,491	0	32,58
Grupo 6	0,412	7	*	0,47	0	27,65
Grupo 7	0,424	0	25,23	0,456	0	32,89

*Grupo 1: diclorvós 45% + cipermetrina 5%; Grupo 2: cipermetrina 15%; Grupo 3: cipermetrina 20%; Grupo 4: amitraz 12,5%; Grupo 5: deltametrina 2,5%; Grupo 6: fipronil 1%; Grupo 7: controle; IPO: índice de produção de ovos.

O fipronil foi produto com ação mais rápida quanto a morte de partenóginas, 70% (7/10), em menos de três dias, na propriedade 1, enquanto na propriedade 2, neste período, nenhum dos produtos causou morte das partenóginas. Nesta última, a mortalidade das partenóginas só foram observadas a partir do décimo dia.

O fipronil faz parte do grupo dos fenilpirazóis, que ficaram disponível no mercado na década de 90. A primeira cepa de *R. (B.) microplus* resistente ao fipronil foi detectada no Uruguai em testes *in vitro* e *in vivo* (a campo) (CUORE et al., 2007). No Brasil, no entanto, ainda existe controvérsia sobre a resistência à campo ao fipronil, visto que, os trabalhos realizados com cepa oriundas dos estados do Mato Grosso do Sul, São Paulo e Rio Grande do Sul usaram o ensaio de teste de imersão de larvas (CASTRO-JANER et al., 2010; SOUSA et al., 2014).

Os testes *in vitro* e *in vivo* ainda são favoráveis ao uso do fipronil no Brasil, mesmo após seis administrações consecutivas a eficiência do produto caiu de 100% para 98,1% (SOUSA et al., 2014).

O amitraz também apresentou bons resultados na propriedade quanto a mortalidade das partenóginas, mas não apresentou o mesmo desempenho na propriedade 2. Esta última teve comportamento semelhante ao observado no Rio Grande do Sul (CAMILLO et al., 2009), Rio de Janeiro (FLAUSINO et al., 1995) e Minas Gerais (FURLONG, 1999), de baixa suscetibilidade. Para melhor ação do amitraz ele vem sendo utilizado em associação com outro princípio ativo (ANDREOTTI et al., 2011).

O grupo que apresentou maior índice de produção de ovos na propriedade 1 (15,69%) foi o submetido a ação da cipermetrina 15%, assim como, na propriedade 2 (32,71%), demonstrando que esse produto não apresentou ação ovoposição. Resistência a cipermetrina tem sido relatado no estado de São Paulo com resultados variando de 70% a 41,7%. (MENDES

Os resultados referentes à eficiência reprodutiva e eficiência de cada produto testado estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 - Ação dos princípios ativos dos diferentes produtos mais comercializados no município de Rolim de Moura-RO sobre a eficiência reprodutiva grupo de 10 partenóginas de *R. (B.) microplus* e porcentagem de eficiência do produto.

Grupo experimental	Propriedade 1		Propriedade 2	
	ER	EP (%)	ER	EP (%)
Grupo 1	7.177,03	98,22	520.000,00	7,01
Grupo 2	75.316,16	81,35	425.233,60	23,95
Grupo 3	*	*	385.411,80	31,07
Grupo 4	*	*	310.373,40	44,49
Grupo 5	29.850,75	92,61	488.798,40	12,59
Grupo 6	**	**	387.234,00	30,75
Grupo 7	403.773,60	-	559.210,50	-

Grupo 1: diclorvós 45% + cipermetrina 5%; Grupo 2: cipermetrina 15%; Grupo 3: cipermetrina 20%; Grupo 4: amitraz 12,5%; Grupo 5: deltametrina 2,5%; Grupo 6: fipronil 1%; Grupo 7: controle; ER – eficiência reprodutiva; EP – eficiência do produto. *sem ovoposição; **morte das partenóginas.

Na propriedade 1, dentre os grupos testados que realizaram ovoposição, a eficiência do produto foi maior com a associação de diclorvós + cipermetrina (grupo 1) e na propriedade 2 foi o amitraz com 44,49%, no entanto, abaixo do valor preconizado pela legislação (MAPA, 1987; BRASIL, 1997).

Com o aparecimento de cepas multirresistentes de *R. (B.) microplus*, principalmente aos organofosforados e aos piretróides, a indústria farmacêutica veterinária vem trabalhando com associações de moléculas, ou

principalmente de grupo químicas, disponíveis no mercado, como por exemplo, diclovós e cipermetrina (PUERTA et al., 2015). Na América do Sul, a literatura tem diversos relatos de resistência citando grupos químicos em vários países, como Argentina, Uruguai, e o Brasil a resistência chega 100% (CUORE; SOLARE, 2014).

A Tabela 3 demonstra os resultados do TIL após 24 horas do teste.

Tabela 3 - Ensaio de imersão de larvas de *R. (Boophilus) microplus* e contagem do número de mortas após 24 horas.

	Propriedade 1			Propriedade 2		
	Larvas vivas	Larvas mortas	Total de larvas	Larvas vivas	Larvas mortas	Total de larvas
Grupo 1	0	100	100	2	98	100
Grupo 2	14	86	100	13	87	100
Grupo 3	*	*	*	3	97	100
Grupo 4	**	**	**	55	45	100
Grupo 5	3	97	100	12	88	100
Grupo 6	**	**	**	0	100	100
Grupo 7	99	1	100	99	1	100

Grupo 1: diclorvós 45% + cipermetrina 5%; Grupo 2: cipermetrina 15%; Grupo 3: cipermetrina 20%; Grupo 4: amitraz 12,5%; Grupo 5: deltametrina 2,5%; Grupo 6: fipronil 1%; Grupo 7: controle. *Ovos sem eclosão; **morte de partenóginas/sem ovoposição.

Na propriedade 1 o diclorvós 45% + cipermetrina 5% provocou a morte das 100 larvas testadas, assim como, o fipronil 1% na propriedade 2.

Os ensaios *in vitro* de TIA e TIL são rápidos, eficientes e econômicos, podendo ser usados como projetos de governo em estado brasileiros com grande produção de bovinos e alta carga parasitária nos animais, para que o controle seja realizado por técnico capacitado e não pelos produtores de forma aleatória.

Ao juntarmos as informações levantadas nas duas propriedades sobre a conduta de uso de acaricidas e observado os resultados, podemos identificar que a propriedade 1 apesar dos problemas de sensibilidade

apresentar mais critérios no uso dos produtos que a propriedade 2, que relatou um período de intervalo entre as aplicações inferior ao descrito pelos fabricantes, também a rotatividade de produtos foi relatado ser sem critério, apenas para mudar o “produto”, mas muitas vezes era apenas o nome comercial do mesmo.

Mais pesquisas devem ser desenvolvidas no estado de Rondônia, com repetições, dentro da mesma amostra, e com aumento do número de propriedades, para caracterizar a circulação de cepa ou cepas resistentes de *R. (B.) microplus*.

CONCLUSÃO

O fipronil 1% foi mais efetivo na propriedade 1, na qual matou 70% das partenóginas e impediu a ovoposição. Na propriedade 2 nenhum princípio ativo apresentou efetividade. Dessa forma, esses primeiros resultados reforçam a necessidade de utilização de testes de eficácia antes das prescrições de carrapaticidas e da implantação de controle estratégico do carrapato, sobretudo no ambiente amazônico.

REFERÊNCIAS

- ANDREOTTI, R.; GUERRERO, F.D.; SOARES, M.A.; BARROS, J.C.; MILLER, R. J.; LÉON, A.P. Acaricide resistance of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in State of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Online)*, v. 20, n. 2, p. 127-133, 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n.90, de 04 de dezembro de 1989. Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários. *Diário Oficial*, 22 jan. 1990, séc. 1, col. 2.
- CAMILLO, G.; VOGELI, F.F.; SANGION, L.A.S.; CADORE, G.C.; FERRARI, R. Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, v. 39, n. 2, p. 490-495, 2009.
- CASTRO-JANER, E.; MARTINS, J.R.; MENDES, M.C. et al. Diagnoses of fipronil resistance in Brazilian cattle ticks *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* using *in vitro* larval bioassays. *Veterinary Parasitology*, v.173, p.300-306, 2010.
- CUORE, U.; TRELLES, A.; SANCHIS, J.; GAYO, V.; SOLARI, M.A. Primer diagnóstico de resistencia al Fipronil en la garrapata común del ganado *Boophilus microplus*. *Veterinaria (Montevideo)*, v. 42, p. 35-41, 2007.
- CUORE, U.; SOLARI, M.A. Poblaciones multirresistentes de garrapatas *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* en Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, v. 50, 2014.
- DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E; TREVINO, J. L.; GLADNEY, W. J.; GRAHAM, O. H. *Boophilus annulatus* and *Boophilus microplus*: laboratory tests for insecticides. *Journal Economic Entomology*, v.66, p130-133, 1973.
- FAO. Food and Agriculture Organization. 2004. Working Group on Parasite Resistance. "Acaricide resistance: diagnosis, management and prevention", in *Guidelines Resistance Management and Integrated Parasite Control in Ruminants*, pp. 25-77. (<http://www.fao.org/ag/aga.html>).
- FAUSTINO, M.A.G.; PENA, E. J. M.; GURGEL, A. E. B. Eficiência *in vitro* de produtos carrapaticidas em fêmeas ingurgitadas de cepas de *Boophilus microplus* da sub-região da Zona da Mata de Pernambuco. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.4, sup.1, p.58, 1995.
- FURLONG J. Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil. *Bolm Téc.* 8, Escola de Veterinária, UFMG, Belo Horizonte, p.40-61, 1993.
- FURLONG, J. Diagnosis of the susceptibility of the cattle tick, *Boophilus* spp. to acaricides in Minas Gerais State, Brazil. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 4, 1999, Puerto Vallarta, México. *Proceedings...Puerto Vallarta: CONASAGA*, 1999. p.41-46.
- GRISI, L.; LEITE, R.C.; MARTINS, J.R.; BARROS, A.T.; ANDREOTTI, R.; CANÇADO, P.H.; LEÓN, A.A.; PEREIRA, J.B.; VILLELA, H.S. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 23:150-156, 2014.
- LAGE, T.C.A.; MONTANARI, R.M.; FERNANDES, A.S.; MONTEIRO, C.M.O.; SENRA, T.O.S.; ZERINGOTA, F.C.; MATOS, R.S.; DAEMON, E. Activity of essential oil of *Lippia triplinervis* Gardner (Verbenaceae) on *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, 112(2):863-869, 2013. doi: 10.1007/s00436-012-3209-y.
- LEITE, R. C.; LABRUNA, M.B; OLIVEIRA, P.R; MONTEIRO, A.M.F; CAETANO JUNIOR, J. *In vitro* susceptibility of engorged females from different populations of *Boophilus microplus* to commercial acaricides. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.4, p.283-294, 1995.
- MATOS, R.S.; MELO, D.R.; MONTEIRO, C.M.O.; ZERINGÓTA, V.; SENRA, T.O.S.; CALMON, F.; MATURANO, R.; PRATA, M.C.A.; DAEMON, E. Determination of the susceptibility of unengorged larvae and engorged females of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) to different methods of dissolving thymol. *Parasitology Research* 113:669-673, 2014. doi: 10.1007/s00436-013-3694-7
- MENDES, M.C.; OLIVEIRA, O.R.; VIEIRA-BRESSAN, M.C.R. Determination of minimal immersion times for use in *in vitro* resistance tests with *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) engorged females and pyrethroid acaricides. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.9, n.1, p.33-39, 2000.
- 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.
- MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Normas para registros de parasiticidas de uso pecuário no Brasil. Brasília: Ministério da Agricultura, 1987. 19p.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M.B.; SZABO, M. P. J.; Klafke, G.M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Biologia, controle e resistência. 1. ed. São Paulo: MedVet Livros, 2010. v. 1. 169.

PUERTA, J. M.; CHAPARRO, J. J.; LOPEZ-ARIAS, A.; ARROYAVE, S. A.; VILLAR, D. Loss of in vitro Efficacy of Topical Commercial Acaricides on *Rhipicephalus microplus (Ixodida: Ixodidae)* from Antioquian Farms, Colombia. *Journal of Medical Entomology*, V. 52, Issue 6, Pages 1309–1314, 2015.

RAYNAL, J. T.; BASTOS, B. L.; SILVA, M. C.; BAHIENSE, T. C.; MEYER, R.; PORTELA, R. W. Acaricide efficacy against a Brazilian *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* isolated field population over a five-year period. *PUBVET*, v.14, n.4, a546, p.1-3, Abr., 2020.

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

SOUZA, A.P.; PAIM, F.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; MOURA, A.B.; ROSA, L.D.; MIQUELLUTI, D.J. Avaliação da eficácia do fipronil em *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* em tratamentos consecutivos. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 66, n. 1, p. 55-60, 2014.

VARGAS, M. S.; CÉSPEDES, N. S.; SÁNCHEZ, H. F.; MARTINS, J. R.; CÉSPEDES, C.O.C. Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente à Amitraz. *Ciência Rural*, v. 33(4), p. 737-742, 2003.

WHARTON, R. H.; UTECH, K. B. W. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. *Journal Australian Entomological Society*, v.9: p. 171 - 182, 1970.