

Lúisa Nogueira Domingues

Práticas de controle e perfil de suscetibilidade de *Haematobia irritans irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) à cipermetrina e clorpirifós na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, 2010

Tese apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como pré-requisito para conclusão do curso de doutorado em Ciência Animal.

Área de Concentração: Medicina Veterinária Preventiva.

Orientador: Prof. Romário Cerqueira Leite

Belo Horizonte
Escola de Veterinária - UFMG
2011

D671p Domingues, Luísa Nogueira, 1982-

Práticas de controle e perfil de suscetibilidade de *Haematobia irritans irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) à cipermetrina e clorpirifós na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, 2010 / Luísa Nogueira Domingues. – 2011.

62 p. :il.

Orientador: Romário Cerqueira Leite

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

1. Bovino – Parasito – Teses. 2. Carrapato de bovino – Controle - Teses. 3. Carrapato – Resistência aos inseticidas – Teses. 4. Mosca-do-Chifre – Teses. I. Leite, Romário Cerqueira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 636.208 696 8

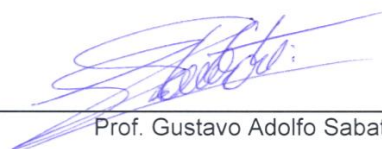
Tese defendida e aprovada em 30 de maio de 2011, pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Romário Cerqueira Leite
Presidente



Prof.^a Márcia Cristina Mendes



Prof. Gustavo Adolfo Sabatini



Prof.^a Carolina Maria Vianna de Freitas



Prof. Zenón Rodrigues Batista

*À minha mãe Edna Martha, meus irmãos
Felipe e Martha e meu namorado Cleiton
Abílio pelo apoio e cumplicidade.
Aos meus amigos Ana Bello, Arildo Cunha e
Ricardo Dalla Rosa por toda ajuda. A
realização deste trabalho não seria possível
sem a cooperação de vocês.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar e abençoar com mais esta conquista.

Aos meus orientadores Dr. Romário Cerqueira Leite, Dr. Antonio Thadeu Medeiros de Barros e Dr. Paulo Roberto Oliveira por me apoiarem nesta pesquisa e pela dedicação e contribuição à minha formação.

Aos membros das bancas de qualificação, pré-defesa e defesa pelas sugestões e correções que enriqueceram este trabalho.

Aos professores e funcionários da Escola de Veterinária, em especial ao professor Dr. Rômulo Cerqueira Leite, pela ajuda na confecção das redes entomológicas e preparo das placas de Petri.

À minha mãe Edna Martha N. Domingues, meus irmãos, Felipe N. Domingues e Martha N. Domingues, tios e primos pela compreensão nos momentos de ausência e apoio nos momentos de angústia.

À Tia Marlúcia L. Nogueira e sua família pela recepção dos carrapatos.

À Tia Rita Knop pela correção ortográfica e gramatical.

Aos meus colegas do Laboratório de Doenças Parasitárias da EV/UFMG, pela ajuda durante todo o desenvolvimento deste trabalho e introdução às expressões e realidades do “mundo veterinário”, especialmente à Ana Cristina P. P. Bello, Arildo P. da Cunha e Ricardo C. Dalla Rosa, companheiros essenciais para o desenvolvimento deste estudo. À Patrícia V. B. Leite e Daniel S. Rodrigues por tornarem possível a realização dos testes pilotos. Luiza B. Leite e Talita P. Resende pela ajuda na realização dos bioensaios.

À Dr. Márcia C. Mendes pelos ensinamentos relacionados à realização dos bioensaios com o carrapato-do-boi e pela doação da cepa Porto Alegre.

Ao Dr. João Ricardo de S. Martins pela doação da cepa Mozo.

Ao Dr. Felix Guerrero pela doação da cepa *San Felipe*.

À Dr. Lygia Maria F. Passos, Dr. Kurt Pfister, Dr. Cornelia Silaghi e todos os funcionários do Instituto de Parasitologia e Medicina Tropical Comparada da *Ludwig-Maximilians-Universität* por me receberem, ensinar e possibilitar a realização de experimentos nessa instituição.

Ao Sr. Robert Pohl, Sra. Marianne Pohl e sua família por me receberem e me hospedarem na Alemanha, tornando a minha estadia nesse país ainda mais fascinante.

À Associação Brasileira dos Criadores de Girolando pela ajuda na organização das visitas.

Ao IFTM – Instituto Federal do Triângulo Mineiro e todos os proprietários e funcionários que participaram deste trabalho, por nos receberem com educação e gentileza e permitirem a coleta de informações e a realização dos bioensaios.

Às empresas AllVet e Ouro Fino pela doação dos princípios ativos utilizados nos bioensaios.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelas bolsas de doutorado e de doutorado-sanduíche a mim concedidas.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	10
2. REVISÃO DA LITERATURA	11
2. 1 - <i>Haematobia irritans irritans</i> (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae)	11
2. 2 - <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae).....	12
2. 3 – Resistência a inseticidas/acaricidas.....	14
3. OBJETIVOS	16
3. 1 - Objetivo geral	16
3. 2 - Objetivos específicos	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	17
4. 1 - Período de realização dos experimentos e localização das propriedades.....	17
4. 2 - Caracterização das práticas de controle.....	17
4. 3 - Bioensaios com <i>H. irritans</i>	17
4. 3. 1 - Preparação dos papéis de filtro impregnados com cipermetrina e clorpirifós	18
4. 3. 2 - Realização dos bioensaios	20
4. 4 - Bioensaios com larvas de <i>R. (B.) microplus</i>	20
4. 4. 1 - Preparação dos papéis de filtro impregnados com cipermetrina e clorpirifós	20
4. 4. 2 - Realização do Teste do Pacote com Larvas	22
4. 5 - Avaliação da ocorrência do mecanismo de resistência a piretróides - insensibilidade do sítio de ação	22
4. 5. 1 - Extração de <i>DNA</i>	22
4. 5. 2 - Realização do <i>PCR alelo específico</i>	23
4. 6 - Análise estatística	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5. 1 - Caracterização das práticas de controle.....	24
5. 2 - Bioensaios com <i>H. irritans</i>	34
5. 3 - Bioensaios com larvas de <i>R. (B.) microplus</i>	38
5. 4 - Avaliação da ocorrência do mecanismo de resistência a piretróides - insensibilidade do sítio de ação	43
6. CONCLUSÕES	45
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
9. ANEXOS	56
Anexo I	56
Anexo II	58
Anexo III	61
Anexo IV	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Ocorrência de <i>Haematobia irritans</i> e <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010	25
Tabela 2: Número de tratamentos anuais realizados para o combate de <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.	26
Tabela 3. Composição dos produtos utilizados para o controle de <i>Haematobia irritans</i> e <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.	29
Tabela 4. Suscetibilidade de populações de <i>Haematobia irritans</i> a inseticidas, avaliada em bioensaios com papel de filtro impregnado, na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, em abril/2010.	35
Tabela 5. Suscetibilidade de populações de <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> à cipermetrina e clorpirifós, avaliada pelo Teste do Pacote com Larvas, na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, em abril/2010	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Bioensaio com <i>Haematobia irritans</i> . A: diluição do princípio ativo. B e C: impregnação dos papéis de filtro (laboratório de Doenças Parasitárias DMVP EV/UFMG, abril/2010). D a G: realização do bioensaios (propriedades da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, abril/2010). H: aspirador manual (confeccionado de acordo com A. T. M. Barros).....	19
Figura 2. Bioensaio com larvas de <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> (laboratório de Doenças Parasitárias DMVP EV/UFMG). A: diluição dos princípios ativos. B: impregnação dos papéis de filtro (abril/2010). C: transferência dos ovos para recipientes de vidro. D, E, F: exposição das larvas aos princípios ativos. G: leitura da mortalidade (abril a junho/2010).....	21
Figura 3: Tamanho dos rebanhos de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010. .	24
Figura 4: Tipo do rebanho de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.	24
Figura 5: Uso de equipamentos de aspersão para controle parasitário em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.	30
Figura 6: Local de realização dos banhos de aspersão para controle parasitário em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.....	30
Figura 7: Critérios utilizados para escolha de produtos inseticidas/carrapaticidas em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.....	33
Figura 8: Fontes de informação sobre o controle de <i>Haematobia irritans</i> e <i>Rhipicephalus (B.) microplus</i> em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.	34
Figura 9: PCR alelo específico com larvas de <i>R. (B.) microplus</i> de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais e da população suscetível de referência, abril/2010. Reação utilizando primer FG-227 e FG-221 (S) ou FG-227 e FG-222 (R). Controle positivo = Cepa <i>San Felipe</i> e controle negativo contém água ao invés de DNA na reação. Foto Representativa.	43

RESUMO

Este estudo teve como objetivos caracterizar práticas adotadas para o controle da mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans*, e do carrapato-do-boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG; avaliar a suscetibilidade destes parasitos ao piretróide cipermetrina e ao organofosforado clorpirifós; e verificar a ocorrência do mecanismo de resistência à piretróides, insensibilidade do sítio de ação, mediado pela substituição T2134A, no segmento S6 do domínio III, do canal de sódio, nas populações de *R. (B.) microplus*. Em abril/2010, 23 propriedades foram visitadas e foram realizadas entrevistas semiestruturadas, para caracterização das práticas de controle dos ectoparasitos. A suscetibilidade das populações de mosca-dos-chifres foi avaliada por bioensaios com papéis de filtro impregnados com cipermetrina ou clorpirifós, em nove e duas propriedades, respectivamente. A suscetibilidade das populações de carrapato-do-boi aos referidos princípios ativos foi analisada pelo Teste do Pacote com Larvas, com populações provenientes de sete propriedades. A ocorrência da mutação T2134A foi averiguada por PCR alelo específico, em larvas de *R. (B.) microplus*, de 10 propriedades. A maioria dos entrevistados conhecia características relativas à epidemiologia dos parasitos, mas realizava o controle sem critérios técnicos. Apesar do reconhecimento da importância de *H. irritans*, o controle, da mesma, não era uma prática rotineira em 82,61% das propriedades. Todas as populações de mosca-dos-chifres avaliadas foram resistentes à cipermetrina ($47,3 < FR < 400,6$) e suscetíveis ao clorpirifós ($FR < 0,01$), enquanto todas as populações de *R. (B.) microplus* foram resistentes à cipermetrina ($16,0 < FR < 25,0$) e 85,71% ao clorpirifós ($2,2 < FR < 15,6$). Todas as larvas do carrapato-do-boi foram homozigotas suscetíveis para a mutação pesquisada.

Palavras-chave: mosca-dos-chifres, carrapato-do-boi, resistência, bioensaios, PCR alelo específico, insensibilidade do sítio de ação

ABSTRACT

This study aimed to characterize control practices adopted for controlling the horn fly, *Haematobia irritans*, and the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, in cattle ranches in the regions of Triângulo Mineiro and Alto Paranaíba, Minas Gerais state, as well as to evaluate the susceptibility of these parasites to the pyrethroid cypermethrin and the organophosphate chlorpyrifos, and verify the occurrence of the mechanism of resistance to pyrethroids - target site insensitivity – mediated by the T2134A substitution in the segment S6 domain III of the sodium channel, in *R. (B.) microplus* populations. Twenty-three ranches were visited on April/2010 and structured interviews were conducted to characterize parasite control practices. Insecticide susceptibility of horn flies to cypermethrin and chlorpyrifos was assessed in nine and two ranches, respectively, by the impregnated filter paper bioassay. Susceptibility of cattle tick populations to both active ingredients was evaluated by the Larval Packet Test, in individuals from seven ranches. Mutation occurrence was evaluated by an allele specific PCR in larvae of *R. (B.) microplus* from 10 ranches. Most of the interviewees were aware of characteristics regarding the epidemiology of parasites, but control of parasites was made without technical criteria. Despite recognizing the importance of *H. irritans*, its control was not a routine practice in 82.61% ranches. All horn fly populations were resistant to cypermethrin ($47.3 < RF < 400.6$) and susceptible to chlorpyrifos ($RF < 0.01$), while all *R. (B.) microplus* populations were resistant to cypermethrin ($16.0 < RF < 25.0$) and 85.71% to chlorpyrifos ($2.2 < RF < 15.6$). All cattle tick larvae were homozygous susceptible to the studied mutation.

Keywords: horn fly, cattle tick, resistance, bioassays, allele specific PCR, target site insensitivity

1. INTRODUÇÃO

As parasitoses dos animais determinam um significativo entrave para a pecuária nacional, pois causam redução na produtividade, mortalidade de animais, aumento dos custos de produção, além de gastos com as tentativas de controle. Considerando as vendas realizadas pela indústria de medicamentos veterinários no Brasil, pode-se estimar o impacto das parasitoses nos sistemas de produção. Para um faturamento da indústria de medicamentos veterinários de quase três bilhões de reais no ano de 2009, 34,02% (R\$ 960.983.211,00) foram de produtos antiparasitários, valores estes que apresentaram tendência crescente nos últimos cinco anos (Mercado, 2011).

A mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e o carrapato-do-boi, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) são considerados importantes ectoparasitos da pecuária bovina brasileira, causando prejuízos estimados em U\$865 milhões e U\$2 bilhões anuais, respectivamente (Grisi *et al.*, 2002; Bianchin *et al.*, 2006). Tais prejuízos estão relacionados ao hábito alimentar destas espécies - a hematofagia, que gera uma intensa irritação aos animais, no caso da mosca-dos-chifres e espoliação sanguínea, no caso de *R. (B.) microplus*. Este quadro provoca redução na produção (carne e leite) e fertilidade, aumento na mortalidade e consumo de produtos para controle destes parasitos, além de danos ao couro.

A mosca-dos-chifres atua, ainda, como vetor do nematódeo *Stephanofilaria* spp. (Filarioidea: Filariidae) (Dies e Pritchard, 1985; Miyakawa *et al.*, 2009) e de ovos de *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae) (Rodríguez *et al.*, 1998). O carrapato é vetor dos hemoparasitos *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale*, agentes causadores da Tristeza Parasitária Bovina, um importante complexo parasitário dos rebanhos brasileiros (Gonzáles, 1995).

O controle destes ectoparasitos baseia-se primordialmente na aplicação de ectoparasiticidas comerciais, sendo empregados produtos compostos por piretróides, organofosforados, formamidinas, reguladores de crescimento de insetos, fenilpirazol e lactonas macrocíclicas. O uso rotineiro de tais produtos, juntamente com as práticas inadequadas utilizadas para o combate dos parasitos e a falta de especificidade dos ectoparasiticidas, tem colaborado para a rápida seleção de populações resistentes.

Devido ao alto custo e às dificuldades técnicas associadas ao desenvolvimento e produção de novas classes de inseticidas é fundamental a implantação de estratégias eficazes de controle de parasitos, que utilizem os antiparasitários de maneira racional, retardando o desenvolvimento de resistência e prevenindo a presença de resíduos destes produtos no ambiente e em alimentos de origem animal. A falta de cuidados, neste sentido, pode resultar em limitações na comercialização dos produtos derivados do leite e da carne, em âmbito nacional e internacional.

Os bovinos costumam estar parasitados por diferentes endo e ectoparasitos simultaneamente no campo. Propostas de controle envolvendo o combate, de mais de um parasito, concomitantemente, são mais viáveis econômica e operacionalmente e podem ter maior aceitação pelos produtores rurais. O conhecimento das características culturais e socioeconômicas das propriedades e das práticas adotadas para o controle dos parasitos, bem como do perfil de suscetibilidade dos parasitos frente aos produtos disponíveis para seu combate, são essenciais para o sucesso no desenvolvimento e implantação dos programas de controle no campo.

Sendo assim, este estudo procurou caracterizar as práticas adotadas para o controle dos ectoparasitos *H. irritans* e *R. (B.) microplus* em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto

Paranaíba, MG, averiguar os níveis de suscetibilidade destes parasitos aos ectoparasitocidas cipermetrina e clorpirifós e verificar a ocorrência do mecanismo de resistência à piretróides, insensibilidade do sítio de ação, nas populações do carrapato-do-boi estudadas, por intermédio do uso combinado de técnicas de estudos sociais, testes biológicos e moleculares, cotejando os resultados encontrados nas duas espécies parasitárias.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - *Haematobia irritans irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae)

Haematobia irritans irritans, popularmente conhecida como mosca-dos-chifres, apresenta uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo na Europa, norte da África, Ásia e América. A introdução deste parasito no continente americano ocorreu no final do século XIX com bovinos trazidos da Europa (Riley, 1889). No Brasil, foi primeiramente registrado na região Norte, no final da década de 70, descrita em 1983 (Valério e Guimarães, 1983) e atualmente, encontra-se distribuída em todas as regiões do país (Collares, 1990; Saueressig, 1993; Oliveira e Freitas, 1997; Barros, 2001; Martins *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2005; Bianchin *et al.*, 2006).

Sua adaptação às condições climáticas do Brasil pode ser evidenciada por sua ocorrência em todo o país e pelo aumento gradativo das infestações em algumas regiões, como demonstrado por Oliveira e Freitas (1997) e Barros *et al.* (2008) nos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, respectivamente. Segundo Barros *et al.* (2008), infestações médias durante os picos populacionais da mosca-dos-chifres no Pantanal, não ultrapassavam 85 moscas por animal pouco após a introdução da mosca na região (1993-1995), entretanto, foram superiores a 240 moscas por animal pouco mais de uma década depois (2006-2007).

Machos e fêmeas adultos são parasitos hematófagos obrigatórios e permanecem dia e noite sobre seus hospedeiros. Parasitam

especialmente bovinos, mas podem atacar bubalinos, equinos e até o homem (Honer *et al.*, 1991). Têm maior atração por animais adultos, machos, de pelagem escura, taurinos e seus cruzamentos (Schreiber e Campbell, 1986; Honer *et al.*, 1991; Bianchin *et al.*, 2006). Localizam-se na parte dorsal do corpo dos hospedeiros, principalmente em regiões de maior dificuldade de acesso pelo hospedeiro, entretanto, nos horários mais quentes do dia são comumente encontradas na região ventral dos animais (McLintock e Depner, 1954; Bruce, 1964; Schreiber e Campbell, 1986; Kumarochoi, 2000).

As fêmeas só deixam o hospedeiro para ovipor nas fezes recém-defecadas e logo retornam ao parasitismo. A oviposição ocorre de forma parcelada (11 a 24 ovos), totalizando 100 a 200 ovos/fêmea. Em menos de 24 horas as larvas eclodem e iniciam seu desenvolvimento nas fezes até atingirem a fase de pupa, a qual ocorre na própria massa fecal ou no solo, logo abaixo destas (McLintock e Depner, 1954; Bruce, 1964; Mendes e Linhares, 1999; Kumarochoi, 2000).

O período de desenvolvimento de ovo a adulto depende primariamente da temperatura e há uma clara correlação negativa entre estas variáveis (Lysyk, 1992). No Brasil, Barros (2002) demonstrou que o período mínimo de desenvolvimento variou de menos de 10 dias no verão e início do outono e de 17 dias durante o inverno, o que sugere a ocorrência de 22 gerações anuais. Esta espécie apresenta diapausa na fase de pupa, mecanismo que permite a sobrevivência das moscas em regiões com baixas temperaturas durante os meses de inverno, contribuindo para manutenção da espécie mesmo em condições desfavoráveis para seu desenvolvimento (Mendes e Linhares, 1999).

Estudos realizados em diferentes estados do Brasil demonstraram que a dinâmica populacional da mosca-dos-chifres segue um padrão geral, no qual temperaturas elevadas e moderada pluviosidade são favoráveis ao seu desenvolvimento. Ocorre um aumento populacional no final da

primavera, seguindo o aumento da temperatura e pluviosidade após uma estação seca e fria (inverno) e outro no outono, após a redução das chuvas mais intensas do verão (Collares, 1990; Saueressig, 1993; Oliveira e Freitas, 1997; Barros, 2001; Bianchin *et al.*, 2006). Nos estados da região sul do país as infestações são nulas ou próximas a zero durante os meses de inverno (Martins *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2005).

No início da década de 90, Honer *et al.* (1990) publicaram o “Programa de controle da mosca-dos-chifres. I. Brasil Central”. Este programa baseava-se na literatura norte-americana e australiana e preconizava o uso racional de inseticidas em todo o rebanho, no início (setembro/outubro) e final (maio) da época chuvosa, além da liberação do predador natural da mosca-dos-chifres, *Digitonthophagus gazela* (Coleoptera: Scarabaeidae), nas propriedades, como medida auxiliar ao controle químico. Barros *et al.* (1992), a partir de observações da dinâmica populacional da mosca-dos-chifres no Mato Grosso do Sul, reiterou as recomendações de Honer *et al.* (1990) e acrescentou a necessidade da observação do comportamento do rebanho, grau de inquietação dos animais, como medida essencial para decisão sobre a necessidade de novos tratamentos (“tratamentos táticos”) no decorrer do ano.

Leite (2000), Domingues *et al.* (2008) e Leite *et al.* (2010) também recomendaram dois tratamentos ao ano na região Sudeste do país, sendo um no início da estação chuvosa e outro no fim desta estação. Contudo, para estes autores, o segundo tratamento deve ser realizado somente se observado um elevado grau de infestação e consequente inquietação do rebanho. Os referidos autores ressaltaram ainda a necessidade de infraestrutura adequada para aplicação dos produtos inseticidas, bem como a possibilidade de tratamento concomitante em propriedades vizinhas para evitar a rápida reinfestação do rebanho com moscas de propriedades próximas.

Na região Sul do país, onde os picos de infestação foram registrados no mês de

março (Martins *et al.*, 2002), estes autores indicaram tratamentos no respectivo mês, a fim de minimizar os prejuízos econômicos ao produtor e diminuir o crescimento exponencial da população de mosca-dos-chifres.

Antes da descoberta dos inseticidas sintéticos, os primeiros a serem utilizados foram os pós de piretro e de tabaco, seguidos pelo *spray* de piretro. Após a segunda guerra mundial, o DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) tornou-se disponível para uso contra diversas pragas, inclusive a mosca-dos-chifres. Na década de 50 surgiram os organofosforados, seguidos dos carbamatos, na década de 60. A partir dos anos 70 foram lançados no mercado os piretróides sintéticos e os reguladores de crescimento de insetos (IGRs). Posteriormente, foram introduzidas as lactonas macrocíclicas (década de 80), os fenilpirazóis (década de 90) e, mais recentemente, as spinosinas (Barros, 2003).

Em detrimento do conhecimento técnico científico sobre a dinâmica populacional da mosca-dos-chifres no país, dos programas de controle existentes e das diferentes classes de produtos inseticidas disponíveis para o combate desta espécie, o controle é rotineiramente realizado de maneira incorreta (Saueressig e Barros, 2003; Rodrigues *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2007). Os produtos mais utilizados são aqueles pertencentes à classe dos piretróides, com frequência de tratamentos acima do necessário e uso sequencial ou rotação aleatória dos produtos, sem preocupação com alteração das bases químicas (Saueressig e Barros, 2003; Rodrigues *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2007).

2.2 - *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)

O carrapato *R. (B.) microplus* está presente nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, entre os paralelos 32°N e 32°S, sendo encontrado na América do Sul e Central, México, ilhas do Caribe, Austrália, África do Sul e alguns países da Ásia

(González, 1995). De acordo com Nuñez *et al.* (1982), este parasito chegou à América do Sul por meio dos colonizadores ibéricos entre os séculos XVI e XVIII e foi introduzido no Brasil devido à importação do gado zebu da Ásia. Seu principal hospedeiro é o gado bovino, com maiores infestações nas raças taurinas do que nas zebuínas (Gomes *et al.*, 1989; Oliveira e Alencar, 1990; Veríssimo *et al.*, 2002).

O carrapato-do-boi é um parasito monoxeno, realizando suas duas mudas em um único hospedeiro. Seu ciclo biológico pode ser dividido em duas fases, uma de vida livre, seguida de outra parasitária. A fase de vida livre inicia-se quando a teleógina se desprende do corpo do hospedeiro, cai no solo e faz a ovipostura. No ovo desenvolve-se a larva e posteriormente, no ambiente, esta se torna ativa e com capacidade infestante. Este processo demora cerca de três dias para pré-postura, duas a três semanas para a postura, que pode resultar em aproximadamente 3.000 ovos por fêmea, 22 a 30 dias para a eclosão das larvas e dois a três dias para o fortalecimento de suas cutículas, transformando-as em larvas infestantes. A fase de vida parasitária inicia-se com a chegada da larva infestante no hospedeiro, onde se alimenta e se transforma em metalarva. Deste ínstar origina-se a ninfa e, posteriormente, há o desenvolvimento dos adultos, machos ou fêmeas. Na fase parasitária são necessários, em média, 18 a 26 dias para a fixação, alimentação, troca de cutícula, fase adulta e acasalamento, assim como para alimentação, ingurgitamento e queda das fêmeas (Furlong, 1993; González, 1995).

As condições médias de temperatura e umidade do Brasil Central permitem a ocorrência de quatro gerações de carrapatos que se desenvolvem ao longo de todo o ano, tendo o ciclo mais curto e maiores infestações na estação quente e chuvosa, entre setembro e março (Oliveira *et al.*, 1974; Costa, 1982; Magalhães, 1989; Guaragna *et al.*, 1992; Lima *et al.*, 2000; Pereira *et al.*, 2008). Na região Sul, o frio do inverno elimina a maioria dos ovos e as larvas das pastagens, bem como retarda a

postura, diminuindo as infestações sobre os bovinos, resultando em apenas três gerações anuais (Souza *et al.*, 1988; González, 1995; Pereira *et al.*, 2008).

A partir do conhecimento sobre os aspectos biológicos, ecológicos e de dinâmica populacional de *R. (B.) microplus* em diversos estados do Brasil, alguns autores desenvolveram propostas de controle deste parasito, com destaque para Magalhães e Lima (1991), Oliveira (1993), Furlong *et al.* (2003), Domingues *et al.* (2008), Pereira *et al.* (2008), Leite *et al.* (2010) e Cunha (2011), na região Sudeste do país.

Magalhães e Lima (1991) propuseram o controle de *R. (B.) microplus* com banhos de imersão a cada 21 dias, durante quatro meses, com início no mês de novembro, época em que as formas de vida livre apresentam períodos mais curtos de desenvolvimento (Magalhães, 1989). Oliveira (1993) propôs uma estratégia de seis tratamentos carrapaticidas, entre os meses de outubro e março, com intervalos máximos de 28 dias, considerando um período modal de 22 dias de vida parasitária e um período médio de seis dias de atividade residual do produto carrapaticida. Estratégia similar a de Pereira *et al.* (2008).

Segundo Furlong *et al.* (2003), o controle do carrapato-do-boi na região central do Brasil (Sudeste e Centro-Oeste) deve ser iniciado na primavera, com uma série de cinco ou seis tratamentos com banhos de aspersão em intervalos de 21 dias, ou três a quatro aplicações de carrapaticidas *pour-on* a cada 30 dias. Novas aplicações devem ser realizadas somente nos animais mais parasitados, caso se perceba, nestes animais, 25 ou mais fêmeas ingurgitadas em um lado do corpo.

Domingues *et al.* (2008), Leite *et al.* (2010) e Cunha (2011) preconizaram tratamentos durante um período de 120 dias, com início no mês de abril, com banhos de aspersão em todo o rebanho sempre que forem observadas partenóginas (fêmeas semi-ingurgitadas ≥ 3 mm), em pelo menos um animal. Após este período, serão tratados

somente os animais mais parasitados ou aqueles adquiridos de outros rebanhos.

Apesar da existência de diversas publicações relacionadas à epidemiologia e ao controle do carrapato-do-boi, estudos em vários estados brasileiros têm demonstrado que o controle desta espécie é rotineiramente realizado sem considerar os conhecimentos técnicos disponíveis na literatura: a rotação de produtos é feita de maneira indiscriminada, sem considerar os princípios ativos dos mesmos; ocorre um número excessivo de aplicações; o volume de solução por animal costuma ser menor que o recomendado pelo fabricante; e formulações caseiras ou produtos de uso agrícola são utilizados para o controle do carrapato-do-boi (Leite, 1988; Santos Junior *et al.*, 2000; Rocha *et al.*, 2006; Mendes *et al.*, 2008; Koller *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009; Mendes *et al.*, 2011).

2.3 - Resistência a inseticidas/acaricidas

Resistência a pesticidas é definida como a habilidade de uma população de parasitos de tolerar doses de tóxicos que seriam letais para a maioria dos indivíduos de uma população, de uma mesma espécie (Stone, 1972). Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, sigla em inglês) (Guidelines, 2004) a resistência pode ser descrita como a redução da suscetibilidade de um parasito aos pesticidas, quando estas drogas são usadas na concentração recomendada e de acordo com todas as recomendações de uso. Resistência é uma característica hereditária que se desenvolve na população devido à seleção de genes resistentes, inicialmente presentes em baixas frequências nas populações (Rousch e McKenzie, 1987).

A velocidade de desenvolvimento de resistência depende de fatores genéticos, biológicos e operacionais (Stone, 1972; Georghiou e Taylor, 1977; Jonsson *et al.*, 2000; Bianchi *et al.*, 2003; Rodriguez-Vivaz *et al.*, 2006). Os fatores genéticos dizem respeito à frequência inicial do gene de resistência, ao grau de dominância do gene, à seleção prévia por outros inseticidas e ao

grau de adaptação do genótipo (Stone, 1972, Georghiou e Taylor, 1977). Os fatores biológicos referem-se ao potencial biótico da espécie, como número de gerações ao ano e tamanho da prole, e ao comportamento do parasito (Georghiou e Taylor, 1977). Os fatores ligados ao controle são a natureza do pesticida, a relação com produtos anteriormente utilizados, a persistência do produto, o uso frequente de um mesmo produto, o número de tratamentos realizados por ano, o método de aplicação e o modo de ação do produto (Georghiou e Taylor, 1977; Jonsson *et al.*, 2000; Bianchi *et al.*, 2003; Rodriguez-Vivaz *et al.*, 2006).

O primeiro relato de resistência da mosca-dos-chifres a inseticidas ocorreu na década de 60, nos Estados Unidos, a partir da constatação da ineficiência do controle com DDT e toxapheno (McDuffie, 1960). Resistência ao organofosforado fenclorfós foi comprovada em 1962, após três anos de uso intenso (Burns e Wilson, 1963). Na década de 80, pouco tempo após a introdução de brincos impregnados com piretróides no mercado americano, estudos relataram a resistência de *H. irritans* a esta classe, quadro que pode ter sido acelerado pela resistência cruzada entre piretróides e DDT (Quisenberry *et al.*, 1984; Byford *et al.*, 1985). A ocorrência de resistência cruzada entre inseticidas organofosforados foi observada por Barros *et al.* (2001).

Embora populações de *H. irritans* resistentes a piretróides e organofosforados tenham sido encontradas no México (Kunz *et al.*, 1995; García *et al.*, 2004), a ocorrência de resistência no Uruguai, Argentina, Brasil e Chile ainda encontra-se restrita aos piretróides (Marques *et al.*, 1997; Guglielmone *et al.*, 2001; Barros *et al.*, 2002; Oyarzún *et al.*, 2011).

No Brasil, a primeira descrição de resistência em populações de *H. irritans* ocorreu no ano de 2001, em estudo realizado no sul do país e Argentina por Guglielmone *et al.* (2001). Populações de mosca-dos-chifres, colhidas de 95 propriedades dos dois países, sendo três do Brasil, foram avaliadas quanto à suscetibilidade ao piretróide cipermetrina e

ao organofosforado diazinon, tendo sido encontrada resistência ao primeiro. Desde então, resistência a cipermetrina foi constatada em outros estados brasileiros como Piauí, Maranhão, Roraima, Goiás, Tocantins, Distrito Federal, Alagoas, Bahia, Sergipe, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais (Girão *et al.*, 2002; Braga e Barros, 2003; Saueressig e Barros, 2003; Oliveira *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2007; Sabatini *et al.*, 2009).

Populações de *R. (B.) microplus* resistentes aos diversos princípios ativos disponíveis estão presentes em quase todos os países onde este parasito ocorre (Alonso-Díaz *et al.*, 2006). No Brasil, na década de 50, houve o primeiro relato de resistência aos organoclorados no Rio Grande do Sul (Freire, 1953, 1956). Também neste estado, na década de 70, surgiram comprovações de resistência aos organofosforados (Arteche, 1972; Arregui *et al.*, 1974; Souza *et al.*, 1984). Posteriormente, detectou-se resistência aos piretróides (Laranja *et al.*, 1989; Vargas *et al.*, 2003; Farias *et al.*, 2008; Camillo *et al.*, 2009) e às lactonas macrocíclicas (Martins e Furlong, 2001).

Na região Sudeste, os relatos de resistência aos organofosforados ocorreram ainda nas décadas de 70 e 80 por Patarroyo e Costa (1980) e Oliveira *et al.* (1986), em Minas Gerais e Rio de Janeiro, respectivamente. Também na década de 80, houve a primeira descrição de resistência aos piretróides (Leite, 1988). Desde então, houve registros de resistência à formamidina e associações entre piretróides e organofosforados (Arantes *et al.*, 1995; Furlong e Martins, 2000). No estado de São Paulo, há comprovações de resistência às lactonas macrocíclicas e ao fenilpirazol (fipronil) além das classes anteriormente citadas (Pereira, 2006; Klafke *et al.*, 2006; Mendes *et al.*, 2007; Castro-Janer *et al.*, 2010; Mendes *et al.*, 2011).

Na microrregião leiteira de Goiânia/GO, populações de *R. (B.) microplus* apresentaram resistência a piretróides e organofosforados, segundo estudos de Sobrinho Reinaldo *et al.* (1997) e Silva *et al.* (1997, 2000). No estado do Mato Grosso do

Sul, foi encontrada resistência a estas duas classes e à formamidina (Koller *et al.*, 2009).

Segundo estudo realizado no estado de Sergipe por Oliveira e Azevedo (2002) somente uma associação de organofosforados foi eficiente no controle de *R. (B.) microplus*, enquanto piretróides, associações entre piretróide e organofosforado, e formamidina não obtiveram eficácia média de 95%. Quadro similar ao relatado por Campos Junior e Oliveira (2005) em propriedades do município de Ilhéus/BA.

Alguns autores têm ressaltado a possível correlação entre resistência em *R. (B.) microplus* e o controle da mosca-dos-chifres. Jonsson *et al.* (2000), em estudo realizado na Austrália, encontraram correlação entre resistência à piretróides em populações do carrapato-do-boi e o tratamento frequente com piretróides contra a mosca-dos-chifres. Segundo documento da FAO (Guidelines, 2004), o controle de mosca-dos-chifres com produtos em concentrações inferiores às necessárias para o controle do carrapato-do-boi, contribuiu para um aumento na taxa de evolução de resistência aos acaricidas na América Latina, quadro igualmente observado por Faria *et al.* (2008) no Rio Grande do Sul. No mesmo documento, é ressaltado que o controle do carrapato também pode manter pressão de seleção indireta nas populações da mosca-dos-chifres, contribuindo assim para o aumento ou manutenção da resistência nesta espécie, situação discutida por Kunz *et al.* (1995) e García *et al.* (2004) no México.

Genes resistentes surgem em decorrência de mutações naturais, que incluem amplificação gênica, alterações na regulação gênica e alterações em genes estruturais (Devonshire e Field, 1991; Scott, 1995; Soderlund e Kniple, 2003). As mutações resultam em alterações estruturais ou metabólicas que diminuem o efeito do fármaco no parasito. Estas alterações incluem: menor penetração da droga no tegumento do parasita, devido à modificação do exoesqueleto (Stone, 1972); resistência metabólica ou detoxificação, a

qual consiste na inativação da droga por enzimas detoxificativas como monooxigenases dependentes do citocromo P450, glutationa-S-transferases (GSTs) e esterases (Stone, 1972; Cilek *et al.*, 1995; Sheppard, 1995); insensibilidade do sítio de ação (denominada *knockdown resistance-kdr* e *super-kdr* no caso de resistência a piretróides), na qual ocorre uma alteração na estrutura de receptores celulares que afetam a ligação do fármaco com seu sítio de ação e conseqüentemente reduzem seu efeito farmacológico (Stone, 1972; Williamson *et al.*, 1996; Pittendrigh *et al.*, 1997; Soderlund e Kniple, 2003).

Os inseticidas piretróides exercem seu efeito inseticida/acaricida ao alterar a função dos canais de sódio voltagem-dependentes nas membranas nervosas (Soderlund e Kniple, 2003; Dong, 2007). Os piretróides se ligam a estes canais, que são proteínas transmembrânicas responsáveis pela condução do sinal elétrico nos neurônios, e prolongam sua abertura, inibindo assim a desativação do canal e estabilizando a configuração aberta dos mesmos. Desta forma, há continuidade na condução dos impulsos nervosos e o parasito morre por paralisia (Soderlund e Kniple, 2003; Dong, 2007). Mutações pontuais nos canais de sódio podem ocasionar alterações estruturais nestes canais e assim diminuir a interação entre os piretróides e seu sítio alvo, reduzindo a sensibilidade dos parasitos aos acaricidas desta classe (Wang *et al.*, 2001; Soderlund e Kniple, 2003; Tan *et al.*, 2005; Dong, 2007).

Insensibilidade do sítio de ação (*kdr* ou *super kdr*) é um dos principais mecanismos de resistência a piretróides nos artrópodes, tendo sido descrito em populações de *Drosophila melanogaster* (Pittendrigh *et al.*, 1997), *Musca domestica* (Williamson *et al.*, 1996) e *H. irritans* (Guerrero *et al.*, 1997).

He *et al.* (1999) identificaram uma mutação pontual no segmento S6, do domínio III, do canal de sódio de cepas mexicanas de *R. (B.) microplus* sabidamente resistentes a permetrina, resultante da mudança do aminoácido fenilalanina por isoleucina. Esta mutação foi pesquisada na cepa brasileira

Santa Luiza, resistente a permetrina, não tendo sido encontrada (Li *et al.*, 2008). Entretanto, a referida mutação foi encontrada, em baixas frequências, em populações de campo de *R. (B.) microplus* do estado de São Paulo (Mendes *et al.*, 2010).

Outras mutações relacionadas à insensibilidade do sítio de ação e resistência a piretróides foram descritas no segmento S4-5, do domínio II, do canal de sódio, em cepas do carrapato-do-boi australianas. Morgan *et al.* (2009) encontraram a substituição do nucleotídeo citosina por adenina na posição 190, que resulta em mudança do aminoácido leucina no indivíduo suscetível para isoleucina no indivíduo resistente, enquanto Jonsson *et al.* (2010) descreveram a mutação G214T (substituição do nucleotídeo guanina por uma timina) segmento S4-5 do domínio II do canal de sódio, que gera uma alteração do aminoácido glicina para valina nos indivíduos suscetíveis e resistentes, respectivamente.

3. OBJETIVOS

3.1 - Objetivo geral

Averiguar a ocorrência de resistência a pesticidas em populações de *Haematobia irritans irritans* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais.

3.2 - Objetivos específicos:

- ✓ Caracterizar o controle de moscas-dos-chifres e carrapatos-dos-bovinos, em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais;
- ✓ Avaliar a suscetibilidade de populações destes ectoparasitos ao piretróide cipermetrina e ao organofosforado clorpirifós, em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais;
- ✓ Verificar a ocorrência da mutação T2134A no segmento transmembrânico S6, do domínio III, do canal de sódio, em

populações de *R. (B.) microplus*, de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 – Período de realização dos experimentos e localização das propriedades

No mês de novembro de 2009, foram visitadas 25 propriedades da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, no estado de Minas Gerais, região com o maior rebanho e produção de leite do estado (Pesquisa, 2009). Escolheu-se esta mesorregião porque seus rebanhos constituem-se, principalmente, por animais mestiços do cruzamento *Bos taurus* x *Bos indicus*, nas diferentes proporções genéticas, o que propiciaria a presença simultânea de *H. irritans* e *R. (B.) microplus* nos animais. Em cinco propriedades foram realizadas entrevistas-piloto, compostas por perguntas semiabertas e fechadas, baseadas em um questionário, previamente utilizado em pesquisas realizadas em diversos estados do país por A. T. M. Barros e colaboradores. Estas foram entrevistas-piloto que foram realizadas com o intuito de adequar o conteúdo e a aplicação para a realidade da região em questão.

As visitas às propriedades foram articuladas com o apoio da Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, com sede em Uberaba-MG; sendo que, 21 propriedades eram cadastradas no Serviço de Controle Leiteiro desta associação. Este programa prevê o acompanhamento das fêmeas através da pesagem periódica do leite, com o objetivo de aumentar o retorno econômico ao produtor, a partir da seleção dos animais mais produtivos e a comercialização de seus embriões.

Com o intuito de selecionar as concentrações de clorpirifós que seriam utilizadas nos bioensaios com a mosca-dos-chifres, em fevereiro e abril/2010, foram realizados testes pilotos com este princípio ativo em populações de mosca-dos-chifres de duas propriedades do estado de Minas

Gerais, localizadas nos municípios de Sete Lagoas e Teófilo Otoni.

Na segunda quinzena de abril/2010, uma segunda visita foi realizada em 23 propriedades, não tendo sido permitido o acesso da equipe de pesquisa às demais. As propriedades localizam-se nos municípios de Uberlândia (n = 8), Uberaba (n = 4), Ituiutaba (n = 5), Campo Florido (n = 2), Conquista (n = 1), Água Comprida (n = 1), Monte Alegre (n = 1) e Araxá (n = 1). Neste momento, realizarem-se entrevistas semiestruturadas em todas as propriedades (Anexo I), em 12 foram realizados bioensaios com as populações de mosca-dos-chifres e em 10 foram coletadas teleóginas de *R. (B.) microplus*.

4.2 - Caracterização das práticas de controle

A entrevista semiestruturada tinha como objetivo caracterizar a propriedade (localização, tipo e tamanho do rebanho) e as práticas adotadas para o controle da mosca-dos-chifres e do carrapato-do-boi, tais como: principais produtos utilizados, histórico de uso de pesticidas (inseticidas, acaricidas e endectocidas), percepção de controle e/ou resistência pelos produtores, frequência de tratamento do rebanho, intervalo, critérios de substituição e modo de aplicação dos produtos e número de animais tratados por aplicação, entre outros aspectos.

A realização das entrevistas, bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo II), foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais em 03 de dezembro de 2008 (Processo nº ETIC 592/08) (Anexo III).

4.3 - Bioensaios com *H. irritans*

Com o intuito de verificar a suscetibilidade das populações de *H. irritans* ao piretróide cipermetrina e ao organofosforado clorpirifós, foram conduzidos bioensaios com moscas-dos-chifres em 12 propriedades. Estes princípios ativos foram

escolhidos porque estão presentes em grande parte dos produtos inseticidas/carrapaticidas, disponíveis no mercado brasileiro, para o combate da mosca-dos-chifres e do carrapato-do-boi, inclusive em associações (Compêndio, 2011). Nos bioensaios foi utilizada a metodologia do papel de filtro impregnado descrita por Sheppard e Hinkle (1987).

4.3.1 - Preparação dos papéis de filtro impregnados com cipermetrina e clorpirifós

Kits inseticidas, constituídos por papéis de filtro impregnados com distintas concentrações dos inseticidas cipermetrina (AilVet, 93,59% de pureza) e clorpirifós (Ouro Fino, 97,43% de pureza), foram confeccionados no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, da Escola de Veterinária, da Universidade Federal de Minas Gerais (DMVP EV/UFMG), em abril/2010, para uso nos bioensaios com mosca-dos-chifres.

Inicialmente, calculou-se qual a quantidade necessária de cada um dos princípios ativos para a confecção dos *kits*. Estes cálculos consideraram a pureza dos princípios ativos, o volume necessário de cada solução/concentração, a maior concentração de cada princípio ativo a ser utilizada e a área do papel de filtro. Após a pesagem da cipermetrina e do clorpirifós, em balança analítica digital, os referidos princípios ativos foram diluídos em acetona P. A.¹ (Merck) resultando em onze concentrações do piretróide (819,2; 409,6; 204,8; 102,4; 51,2; 25,6; 12,8; 6,4; 3,2; 1,6 e 0,8 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e 14 concentrações do organofosforado (6,4; 3,2; 1,6; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,25; 0,20; 0,15; 0,1; 0,05 e 0,025 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Figura 1 A).

A faixa de concentrações, utilizada neste estudo, foi estabelecida com base na literatura, consulta a especialista (A. T. M. Barros) e aos testes-piloto, de modo a possibilitar a avaliação da suscetibilidade em populações de campo, com distintos históricos de exposição a produtos inseticidas e, conseqüentemente, diferentes níveis de suscetibilidade.

Papéis de filtro (Whatmann nº 1 com 9 cm de diâmetro) foram previamente distribuídos sobre uma bancada forrada com papel-alumínio e, logo após a diluição, 1 ml de cada solução/concentração, foi aplicado aos papéis de filtro, em ordem crescente de concentrações (Figura 1 B, C). Foram utilizados três papéis de filtro por concentração (triplicatas). Os papéis permaneceram por duas horas à temperatura ambiente para secagem, sendo cada concentração (três papéis) embalada, individualmente, em papel-alumínio e armazenada em refrigerador (Brastemp BRA34A), até próximo à viagem, para realização dos bioensaios. Além dos papéis impregnados com inseticidas, cada *kit* continha um grupo controle, constituído por três papéis impregnados exclusivamente com acetona P. A.

Durante a elaboração dos *kits* inseticidas, utilizados nos bioensaios a campo, foram produzidos *kits* com concentrações menores de cipermetrina (1,0; 0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1 e 0,05 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) e de clorpirifós (0,8; 0,6; 0,5; 0,4; 0,3; 0,25; 0,2; 0,15; 0,1; 0,05 e 0,025 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) para envio ao *Knipling-Bushland US Livestock Insects Research Laboratory, USDA-ARS, Kerrville, Texas, EUA*, onde foram realizados bioensaios com uma cepa suscetível de referência. Os resultados obtidos, com a população de referência, permitiram avaliar o nível de suscetibilidade/resistência das populações testadas a campo.

¹ P. A. = Pronta para Análise



Figura 1: Bioensaio com *Haematobia irritans*. A: diluição do princípio ativo. B e C: impregnação dos papéis de filtro (laboratório de Doenças Parasitárias DMVP EV/UFGM, abril/2010). D a G: realização do bioensaios (propriedades da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paraíba, MG, abril/2010). H: aspirador manual (confeccionado de acordo com A. T. M. Barros).

4.3.2 - Realização dos bioensaios

No dia anterior à realização dos bioensaios no campo, os papéis de filtro foram acondicionados em placas de Petri descartáveis (plásticas, lisas, 90 x 15 mm), ficando os *kits* prontos para os bioensaios. As placas de Petri foram previamente furadas no centro de sua parte inferior e foram utilizadas de modo invertido, sendo o papel de filtro depositado na tampa. O orifício tinha aproximadamente 1 cm de diâmetro, de modo a permitir a colocação das moscas no interior das placas.

Todos os bioensaios foram realizados no período da manhã, quando as temperaturas eram mais amenas, evitando assim maior mortalidade das moscas, devido às elevadas temperaturas do período vespertino. Os bovinos foram presos em bretes de contenção e as moscas foram coletadas, de, no mínimo, dez animais, com o auxílio de redes entomológicas. Após a coleta, aproximadamente 25-30 moscas foram transferidas para cada placa de Petri, com a ajuda de um aspirador manual (A. T. M. Barros, Figura 1 H), sendo o orifício das placas tampado com etiqueta adesiva (Figura 1 D, E, F, G).

Após duas horas de exposição foi realizada a leitura da mortalidade em cada placa, sendo consideradas mortas, as moscas incapazes de se locomover. Posteriormente, foi contado o número total de moscas por placa, para cálculo do percentual de mortalidade em cada concentração. Em cada propriedade, optou-se por realizar primeiramente o bioensaio com cipermetrina e havendo número suficiente de moscas, realizou-se o teste com clorpirifós.

4.4 - Bioensaios com larvas de *R. (B.) microplus*

Foram coletadas teleóginas (fêmeas ingurgitadas) de, no mínimo, 10 animais, de 10 propriedades. As teleóginas foram acondicionadas em recipientes plásticos com tampas perfuradas, os quais foram

identificados por propriedade e enviados, via Sedex, para o Laboratório de Doenças Parasitárias (DMVP EV/UFMG), onde se realizou o Teste do Pacote com Larvas (Stone e Haydock, 1962), recomendado pela FAO (Guidelines, 2004), para avaliação da suscetibilidade das populações de *R. (B.) microplus* à cipermetrina e ao clorpirifós.

4.4.1 - Preparação dos papéis de filtro impregnados com cipermetrina e clorpirifós

Inicialmente, calculou-se a quantidade necessária de cada princípio ativo para a impregnação dos papéis de filtro. Estes cálculos consideraram a pureza dos princípios ativos, o volume total da solução e a maior concentração de cada princípio ativo a ser utilizada. Após a pesagem da cipermetrina e do clorpirifós em balança analítica digital, os princípios ativos foram diluídos em uma solução de Tricloroetileno P. A. (Synth) e Óleo de oliva (Sigma-Aldrich) na proporção de 2:1 (volume: volume), resultando em 10 concentrações de cipermetrina (5%; 4%; 2,4%; 2,04%; 1,632%; 0,9792%; 0,58752%; 0,352512%; 0,2115072%; 0,126943%) e 10 concentrações de clorpirifós (0,128%; 0,064%; 0,032%; 0,016%; 0,008%; 0,004%; 0,002%; 0,001%; 0,0005%; 0,00025%) (Figura 2 A). A faixa de concentrações utilizada neste estudo foi estabelecida com base na literatura e consultas a especialistas (M. C. Mendes).

Dois papéis de filtro Whatmann nº 1 (8,5 x 7,5 cm) foram impregnados com 0,67 ml de cada solução/concentração, além do controle (somente a solução de tricloroetileno com óleo de oliva) (Figura 2 B). Após a impregnação, os papéis permaneceram à temperatura ambiente por 24 horas para secagem, foram embalados em papel-alumínio e armazenados em refrigerador (Brastemp BRA34A), onde permaneceram até o dia da realização dos bioensaios.

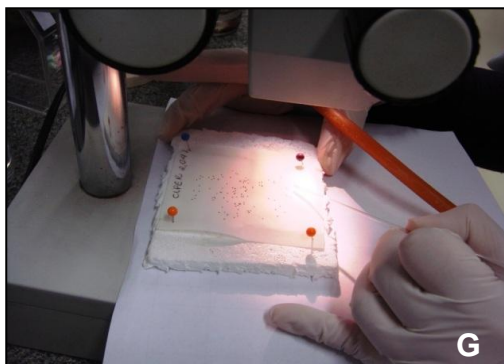
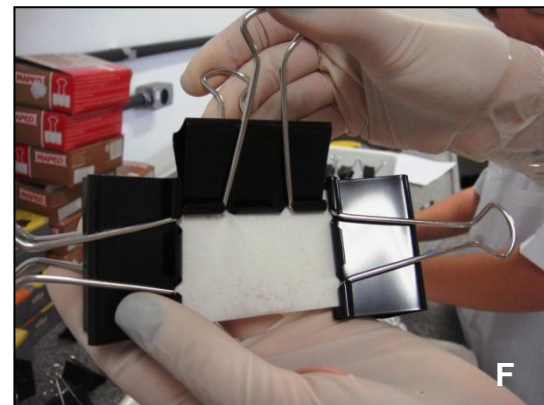
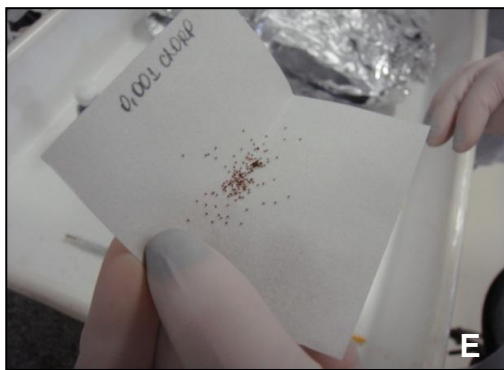
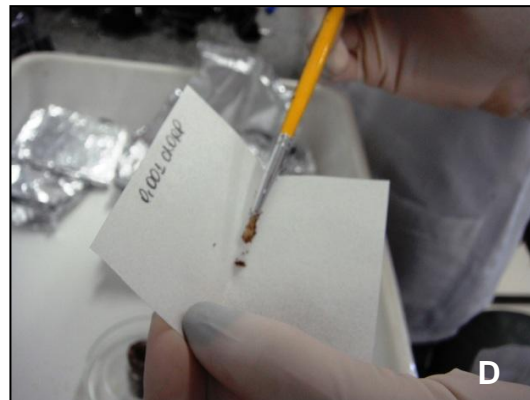
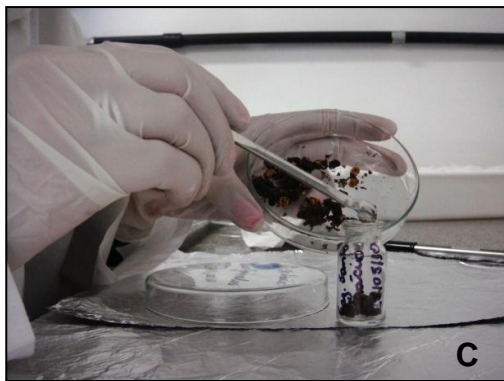
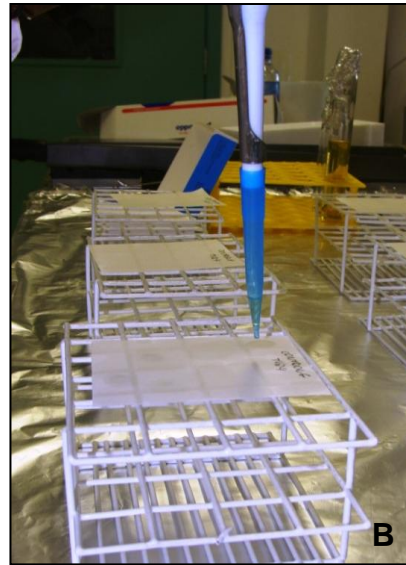
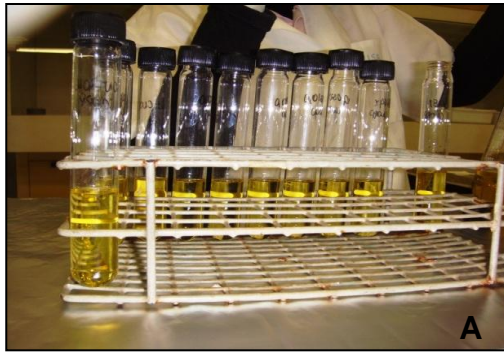


Figura 2. Bioensaio com larvas de *Rhipicephalus (B.) microplus* (laboratório de Doenças Parasitárias DMVP EV/UFMG). A: diluição dos princípios ativos. B: impregnação dos papéis de filtro (abril/2010). C: transferência dos ovos para recipientes de vidro. D, E, F: exposição das larvas aos princípios ativos. G: leitura da mortalidade (abril a junho/2010).

4.4.2 - Realização do Teste do Pacote com Larvas

No laboratório, as teleóginas de cada propriedade foram divididas em grupos de 30 e acondicionadas em placas de Petri de vidro, as quais foram identificadas com o nome das propriedades e o dia de chegada das teleóginas ao laboratório. As placas de Petri foram mantidas por 14 dias, em câmaras incubadoras B.O.D.² (Fanem, 347CD), a 28°C ± 2°C e 85% de umidade relativa (UR) para oviposição. Ao final deste período, os ovos foram recolhidos com auxílio de uma espátula e transferidos para recipientes de vidro (Figura 2 C), que foram fechados com algodão hidrofóbico, identificados e novamente mantidos em câmaras incubadoras B.O.D., sob as mesmas condições citadas para as teleóginas. Os ovos foram misturados para assegurar que larvas de várias teleóginas fossem usadas nos bioensaios.

Quatro semanas após a transferência dos ovos para os recipientes de vidro, 100 larvas com idade entre 14 a 21 dias foram retiradas destes recipientes com o auxílio de um pincel e colocadas nos papéis de filtro impregnados com os princípios ativos, que foram dobrados ao meio (Figura 2 D, E), fechados com cliques, tipo *bulldog*, nas laterais e extremidade superior (Figura 2 F), dispostos em bandejas plásticas, sendo mantidos em câmaras incubadoras B.O.D., por 24 horas, sob as condições anteriormente descritas.

Após este período, foi realizada a contagem do número de larvas vivas e mortas em cada um dos papéis, com auxílio de uma bomba de vácuo (Primar, 141/2VC) e um microscópio estereoscópico (Micronal, Brasesit 11/37) (Figura 2 F). Larvas incapazes de se locomover foram consideradas mortas.

O mesmo procedimento foi realizado com a cepa suscetível Porto Alegre, cujas larvas foram expostas a papéis de filtro contendo 0,1%; 0,06%; 0,0216%; 0,013%; 0,0078%;

0,0047%; 0,0028%; 0,0017% de cipermetrina e 0,128%; 0,064%; 0,032%; 0,016%; 0,008%; 0,004%; 0,002%; 0,001%; 0,0005%; 0,00025% de clorpirifós. Os resultados obtidos com a população de referência permitiram avaliar o nível de suscetibilidade/ resistência das populações testadas a campo. Esta cepa vem sendo mantida no Instituto Biológico de São Paulo sem contato com acaricidas há várias gerações

4.5 - Avaliação da ocorrência do mecanismo de resistência a piretróides - insensibilidade do sítio de ação

Larvas, que não foram utilizadas no Teste do Pacote com Larvas, foram armazenadas em microtubos plásticos (tipo eppendorf), contendo etanol 99% e congeladas a -20°C (Metafrio, DA400), por sete meses. Em novembro/2010, foram levadas para o Instituto de Parasitologia e Medicina Tropical Comparada da *Ludwig-Maximilians-Universität München* em Munique, Alemanha, onde foram realizadas as análises moleculares.

4.5.1 - Extração de DNA³

O DNA foi extraído, individualmente, de 30 larvas de cada propriedade e da cepa suscetível Porto Alegre, com *kit DNA Purification from Blood or Body Fluids (Spin Protocol)* (Qiagen), seguindo as instruções do fabricante, com algumas modificações: as larvas foram transferidas, com o auxílio de uma pinça, para uma placa de Petri contendo água destilada, cortadas ao meio, com uma lâmina de bisturi e transferidas para microtubos plásticos (tipo eppendorf) de 1,5 ml contendo 20 µl de proteinase K e 100 µl de Buffer AL.

Os tubos contendo os pedaços das larvas e os reagentes foram centrifugados (Eppendorf 5417R) (10 s, 12.000 rpm) e incubados durante a noite, a 56°C. Na manhã seguinte, realizou-se uma nova centrifugação (10 s, 12.000 rpm) e adicionou-se 200 µl de Buffer AL a cada

² Demanda Bioquímica de Oxigênio (B.O. D sigla em inglês)

³ Ácido Desoxirribonucleico (DNA, sigla em inglês)

tubo. Outra centrifugação foi realizada e as amostras foram incubadas por 10 min, a 70°C. Após este período, adicionou-se 200 µl de etanol a cada amostra e a solução foi transferida para uma coluna (*spin-column*).

Esta coluna foi então centrifugada (1 min, 8.000 rpm) e transferida para um novo tubo, sendo adicionados 500µl de Buffer AW1. Após outra centrifugação (1 min, 8.000 rpm), a coluna foi transferida para um novo tubo e adicionou-se 500 µl de Buffer AW2. Centrifugou-se novamente (3 min, 13.000 rpm), descartou-se o líquido e outra centrifugação foi realizada (1 min, 13.000 rpm). As colunas foram, então, transferidas para tubos de 1,5 ml, identificados com o número e a origem de cada amostra, adicionou-se 100 µl de Buffer AE e incubou-se por 5 min, à temperatura ambiente. Após esta etapa, realizou-se uma nova centrifugação (1 min, 8.000 rpm) e adicionou-se mais 100 µl de Buffer AE. Outra centrifugação foi realizada (1 min, 8.000 rpm) e a coluna foi descartada, restando no tubo plástico somente a solução contendo *DNA*. A leitura de absorbância do *DNA* de cada amostra foi realizada no aparelho NanoDrop (Thermo Fisher Scientific).

4.5.2 - Realização do PCR⁴ alelo específico

O PCR alelo específico para detecção da substituição T2134A, no segmento transmembrânico S6, do domínio III, do canal de sódio, descrita por He *et al.* (1999), foi realizado de acordo com Guerrero *et al.* (2001).

Cada reação continha no total 50 µl, sendo 5 µl Buffer 10x (Qiagen), 1 µl dNTPs (10 mM) (Qiagen), 0,25 µl HotStar Taq Plus (5 U/µl) (Qiagen), 2 µl MgCl₂ (2,5 µM) (Qiagen) e 5 µl do *DNA* de cada uma das larvas. Para determinação do alelo suscetível foi utilizado 0,5 µl do primer FG221 (100 µM) (5' - TTATCTTCGGCTCCTTCT - 3') (Eurofins MWG/Operon) e do primer FG227 (100 µM) (5' - TTGTTTCATTGAAATTGTCTGA - 3')

⁴ Reação em cadeia de polimerase (PCR, sigla em inglês)

(Eurofins MWG/Operon); para o alelo resistente foi utilizado 0,5 µl do primer FG222 (100 µM) (5' - TTATCTTCGGCTCCTTCA - 3') (Eurofins MWG/Operon) e do primer FG227 (100 µM) (5' - TTGTTTCATTGAAATTGTCTGA - 3') (Eurofins MWG/Operon). As amplificações foram realizadas no termociclador ABVeriti (Applied Biosystems) nas seguintes condições: 95°C por 5 min, 37 ciclos de 94°C por 1 min, 60°C por 1 min, 72°C por 1 min e um passo final de 72°C por 7 min. Os produtos da reação (amplicons) foram separados em gel de agarose 2% com *GelRed Nucleic Acid Stain* (Biotium) e Ladder 50 pares de base (pb) e visualizados em luz ultravioleta (UV).

Os amplicons tinham 68 pb e larvas exibindo amplificação somente em uma das reações foram consideradas homocigotas suscetíveis (SS) ou homocigotas resistentes (RR), enquanto as larvas com amplificação nas duas reações foram consideradas heterocigotas (SR).

A cepa resistente *San Felipe*, mantida sob pressão de seleção com o piretróide permetrina, por várias gerações no *USDA-ARS Cattle Fever Tick Research Laboratory (CFTRL)* em Mission, Texas/EUA, foi utilizada como controle positivo.

4.6 - Análise estatística

As respostas, das perguntas semiabertas dos formulários, foram categorizadas e agrupadas de acordo com seus significados e cada pergunta tornou-se uma variável. Os dados foram transformados em frequência relativa e analisados com estatística descritiva, no software Sphinx Léxica V5.

A mortalidade dos bioensaios com a mosca-dos-chifres e com o carrapato-do-boi foi analisada no programa POLO-PC (Leora Software, 1987), que calculou, por análise proibit, a concentração letal à metade da população testada (CL₅₀) e seus respectivos intervalos de confiança a 95% (IC 95%). As diferenças entre as CL₅₀ da população de campo e da população suscetível (*Kerrville*, para bioensaios com mosca-dos-chifres, ou Porto Alegre, para bioensaios com

carrapato-do-boi) foram consideradas significativas, quando não houve sobreposição dos IC 95%. O nível de suscetibilidade das populações de campo foi expresso pelo fator de resistência, que foi calculado a partir da divisão da CL_{50} dessa população, pela CL_{50} da população suscetível de referência. A mortalidade observada nas concentrações foi corrigida com base no grupo controle (Abbott, 1925) e bioensaios, com mortalidade superior a 10% no grupo controle, foram excluídos das análises.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 - Caracterização das práticas de controle

Dezoito propriedades (78,25%) possuíam mais de 100 animais (Figura 3), destacando-

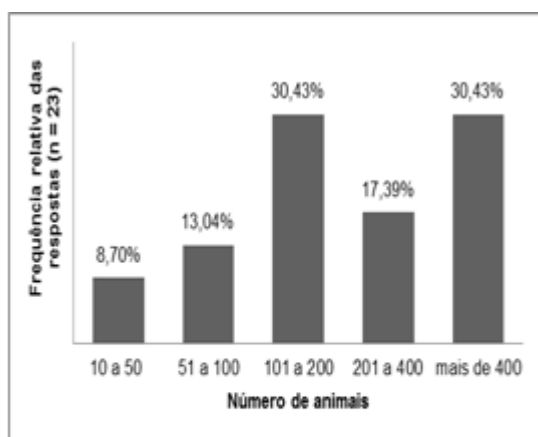


Figura 3: Tamanho dos rebanhos de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

Segundo 22 entrevistados (95,65%), ambos os parasitos ocorriam nas propriedades, o que justifica a escolha da região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba para a realização do estudo. No início da década de 90, época em que a mosca-dos-chifres alcançou os estados da região Sudeste do país (Honer *et al.*, 1991), os pecuaristas da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto

se a bovinocultura leiteira como a principal atividade pecuária desenvolvida entre as propriedades visitadas (Figura 4). A maior frequência de propriedades leiteiras resultou da articulação das visitas por meio da Associação Brasileira dos Criadores de Girolando, sendo a maioria (n = 21) das propriedades cadastrada nesta associação.

Dentre os entrevistados, 7 (30,43%) eram proprietários e 16 (69,57%) eram funcionários. Não foi possível restringir as entrevistas somente aos funcionários ou aos proprietários, pois muitas das propriedades eram familiares, nas quais a única mão-de-obra eram os proprietários ou, em algumas situações, os proprietários não estavam presentes e a entrevista foi realizada com os funcionários disponíveis.

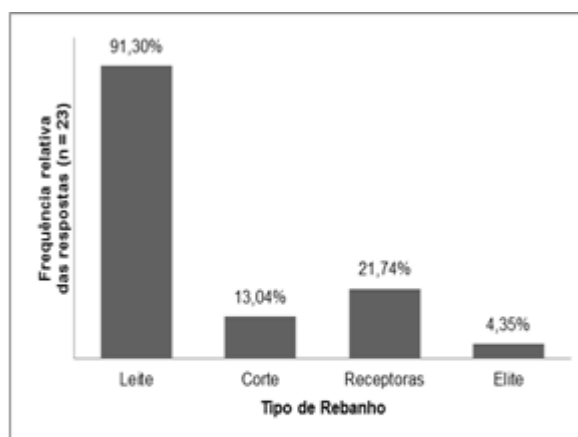


Figura 4: Tipo do rebanho de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010. Era permitida mais de uma resposta.

Paranaíba reclamaram da presença e dos prejuízos causados por este parasito aos rebanhos bovinos, quando, então, foi realizado um dos primeiros programas de controle desta espécie no município de Canápolis (Leite R. C., comunicação pessoal).

Vinte e dois entrevistados (95,65%) afirmaram que havia diferença de infestação por ambos os parasitos entre os animais. Dentre estes, 18 entrevistados (81,81%) disseram que os animais de maior grau de sangue taurino eram preferencialmente acometidos pelos parasitos, enquanto os demais não souberam especificar quais eram os animais mais parasitados. A predileção da mosca-dos-chifres e do carrapato-do-boi por animais de sangue taurino tem sido demonstrada em diversos estudos (Schreiber e Campbell, 1986;

Gomes *et al.*, 1989; Oliveira e Alencar, 1990; Honer *et al.*, 1991; Lima *et al.*, 2000; Veríssimo *et al.*, 2002; Bianchin *et al.*, 2006).

No presente estudo, 16 entrevistados (69,57%) afirmaram que ambos os parasitos ocorrem em maior número no período quente e chuvoso (Tabela 1), tendo um afirmado, inclusive, haver dois aumentos expressivos na população de mosca-dos-chifres durante o ano.

Tabela 1: Ocorrência de *Haematobia irritans* e *Rhipicephalus (B.) microplus* na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

Época/mês	Mosca-dos-chifres FA (FR) (n = 23)	Carrapato-do-boi FA (FR) (n = 23)
Todo o ano	0 (0,00%)	1 (4,35%)
Fevereiro e Março	1 (4,35%)	1 (4,35%)
Abril	1 (4,35%)	1 (4,35%)
Abril a Junho	2 (8,69%)	2 (8,69%)
Setembro	1 (4,35%)	1 (4,35%)
Quente e chuvoso	16 (69,57%)	16 (69,57%)
Seca	2 (8,69%)	1 (4,35%)

FA (FR) – Frequência Absoluta (Frequência Relativa)

Segundo estudos realizados no Distrito Federal (Saueressig, 1993), São Paulo (Oliveira e Freitas, 1997) e Mato Grosso do Sul (Barros, 2001) a ocorrência da mosca-dos-chifres está relacionada ao período quente e chuvoso do ano, com as maiores infestações acontecendo no início das chuvas da primavera e após a redução das chuvas do verão (outono).

Oliveira *et al.* (1974) e Magalhães (1989), em estudos realizados no Rio de Janeiro e Minas Gerais, respectivamente, demonstraram que o desenvolvimento da fase não parasitária do carrapato *R. (B.) microplus* ocorreu de forma mais rápida no período quente e chuvoso do ano. Lima *et al.* (2000) ao estudarem a variação sazonal do carrapato-do-boi na região metalúrgica do estado de Minas Gerais, a partir da contagem de fêmeas ingurgitadas sobre os bovinos, observaram a presença de adultos durante todo o ano, com redução do número

de parasitos por animal na estação seca (maio a setembro).

O fato dos entrevistados reconhecerem as diferenças de infestação entre os animais do rebanho, bem como o período do ano em que há maiores infestações, contribui para a implantação de programas de controle nas propriedades visitadas, pois, de acordo com Bello (2010), o conhecimento do trabalhador rural a respeito da epidemiologia dos parasitos é um fator crucial para a eficácia dos programas de controle.

Segundo Barros *et al.* (2007), em propriedades do Mato Grosso do Sul, o controle da mosca-dos-chifres é considerado uma importante operação na criação bovina e é rotineiramente realizado. Situação relativamente divergente do encontrado no presente estudo, no qual, 22 entrevistados (95,65%) reconheceram a importância desta espécie, entretanto

somente 4 (17,39%) realizavam controle específico deste parasito. Este controle era realizado quando se observava uma alta carga parasitária dos animais e o número de tratamentos realizados durante o ano era superior a seis, nas quatro propriedades. É sabido que, devido a diferenças de manejo, a mosca-dos-chifres tende a ter maior importância em gado de corte que em rebanhos leiteiros, o que pode explicar o menor número de propriedades nas quais era realizado o controle deste parasito no presente estudo.

As recomendações para o controle da mosca-dos-chifres na região do Brasil Central (Sudeste e Centro-Oeste) incluem dois tratamentos ao ano, em todo o rebanho, sendo um no início e outro no final da estação chuvosa (Honer *et al.*, 1991; Barros, 1992; Leite, 2000; Domingues *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2010). Tratamentos auxiliares devem ser realizados somente quando a infestação for muito alta e causar incômodo excessivo aos animais que então podem apresentar movimentos intensos de cauda e cabeça (Barros, 1992; Domingues *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2010). A infestação em equídeos e bezerros também são indícios de uma alta infestação nos bovinos adultos (Leite, 2000). Portanto, as práticas realizadas nas propriedades da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba não estão de acordo com o preconizado para o controle da mosca-dos-chifres no país e, a elevada frequência de tratamentos relatada

em algumas propriedades pode, inclusive, contribuir para acelerar o desenvolvimento de resistência nas populações de mosca-dos-chifres destes locais (Georghiou e Taylor, 1977).

O controle do carrapato-do-boi era uma prática rotineira em 22 propriedades (95,65%). Entre estas, 2 entrevistados (9,09%) afirmaram utilizar tratamento homeopático e 3 (13,64%) empregavam produto composto por diflubenzuron, diariamente misturado ao sal. Em 12 propriedades (54,54%) realizava-se o controle mediante o grau de infestação do rebanho, em 4 (18,18%) seguia-se um calendário anual e em 1 (4,54%) o controle era feito de acordo com o tamanho do carrapato. Nas quatro propriedades que seguiam um calendário sanitário anual, o controle era realizado quinzenalmente, mensalmente, a cada 21 dias ou nos meses de março, maio e dezembro. Quanto ao número de tratamentos realizados por ano, a maioria dos entrevistados (72,22%) afirmou realizar mais de seis (Tabela 2).

Na única propriedade onde o controle do carrapato-do-boi não era realizado, o rebanho era composto somente por fêmeas, de elevado grau de sangue zebu, receptoras de embriões. Embora este fosse um dos maiores rebanhos, dentre as propriedades visitadas, não havia preocupação com o controle de endo e ecto parasitos.

Tabela 2: Número de tratamentos anuais realizados para o combate de *Rhipicephalus (B.) microplus* na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

	Número de citações	Frequência relativa das respostas (n = 18)
Nenhum	1	5,55%
1 a 6 tratamentos	3	16,67%
Mais de 6 tratamentos	13	72,22%
Não sabe	1	5,55%

Nota: Não considera as propriedades que utilizavam tratamento homeopático ou diflubenzuron diariamente.

O tratamento dos animais, mediante a observação das formas adultas do carrapato sobre os bovinos e a realização de mais de seis tratamentos durante o ano, são práticas comuns em diversos estados brasileiros.

Leite (1988) relatou que o intervalo entre banhos carrapaticidas em propriedades do Rio de Janeiro variou de 20 a 30 dias, dependendo da época do ano. Santos Júnior *et al.* (2000) observaram em três propriedades do Rio de Janeiro, que os tratamentos para o combate do carrapato-do-boi eram realizados após a visualização do parasito no hospedeiro, sendo que, em uma das propriedades, eram realizados 15 tratamentos por ano e nas demais, os tratamentos eram feitos 21 vezes por ano. Em estudo realizado por Farias *et al.* (2008) no Rio Grande do Sul, o controle do carrapato-do-boi era realizado exclusivamente com a aplicação de acaricidas, após a observação de elevadas infestações nos bovinos, com frequência superior a seis aplicações durante o ano. Rocha *et al.* (2006), ao estudarem a percepção dos produtores de leite do município de Passo, MG, sobre o carrapato dos bovinos, observaram que em 64% das propriedades os produtos carrapaticidas eram aplicados de acordo com a infestação dos animais e o número de aplicações variou de oito a 24, com média de 12 por ano. Na região do Vale do Paraíba, SP, em 95% das propriedades visitadas, as aplicações eram feitas apenas quando os animais se apresentavam altamente infestados (Mendes *et al.*, 2011).

De acordo com os trabalhos de Magalhães e Lima (1991), Oliveira (1993), Furlong *et al.* (2003), Domingues *et al.* (2008), Pereira *et al.* (2008), Leite *et al.* (2010) e Cunha (2011), o controle do carrapato-do-boi deve ser realizado considerando-se os aspectos bioecológicos e de dinâmica populacional da espécie, de modo a concentrar as ações de combate em somente um período do ano, reduzir o número de tratamentos realizados por ano, os gastos com mão-de-obra e produtos carrapaticidas e os resíduos de antiparasitários nos produtos de origem animal.

Para Magalhães e Lima (1991), Oliveira (1993), Furlong *et al.* (2003) e Pereira *et al.* (2008), na região Sudeste do Brasil, o controle do carrapato-do-boi deve ser iniciado no período quente e chuvoso do ano (primavera), com intervalos de 21 dias ou de acordo com a duração do ciclo não parasitário e o período residual do produto carrapaticida, e deve perdurar por, no mínimo, quatro meses. De acordo com Domingues *et al.* (2008), Leite *et al.* (2010) e Cunha (2011), o tratamento deve ser iniciado no mês de abril e mantido por 120 dias, com aplicações dos produtos em todo o rebanho sempre que se observar partenógina em pelo menos um animal do rebanho. Tratamentos além destes devem ser realizados somente nos animais comumente mais parasitados ou animais adquiridos de outro rebanho (Furlong *et al.*, 2003; Domingues *et al.*, 2008; Pereira *et al.*, 2008; Leite *et al.*, 2010; Cunha, 2011).

Percebe-se que a prática adotada para o controle de *R. (B.) microplus* nas propriedades visitadas neste estudo e em outros estados brasileiros não está de acordo com as informações disponíveis na literatura e ainda contribui para o desenvolvimento de resistência nas populações do parasito, pois, como demonstrado por Jonsson *et al.* (2000), Bianchi *et al.* (2003) e Rodrigues-Vivaz *et al.* (2006), a realização de mais de seis tratamentos durante o ano é um fator de risco para o desenvolvimento de resistência à piretróides no carrapato-do-boi.

É interessante ressaltar que mesmo em propriedades que utilizavam tratamento homeopático ou diflubenzuron diariamente, fazia-se uso de outros produtos quando a infestação alcançava níveis considerados inaceitáveis pelo produtor (Propriedades 1, 5, 10, 20, 21; Tabela 3), o que evidencia que estes produtos não mantinham as infestações em níveis baixos durante todo o ano. Situação semelhante foi encontrada por Bello (2010), no estado do Rio de Janeiro, sendo considerado que os produtores mantinham o uso dos produtos homeopáticos devido ao acompanhamento mensal feito pelos representantes da

empresa fornecedora e à praticidade de seu uso, que exige apenas que o produto (em pó) seja espalhado no cocho.

Com relação ao uso de produtos para o controle da mosca-dos-chifres (Tabela 3), de modo geral, os produtos inseticidas utilizados na região estudada coincidem com o observado em outros estados, onde os piretróides e suas associações com os organofosforados são os produtos mais utilizados (Saueressig e Barros, 2003; Rodrigues *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2007). Segundo dados do Compêndio de Produtos Veterinários (2011), existem 95 produtos registrados para o controle da mosca-dos-chifres no Brasil, sendo 29 compostos por piretróides e 25 por associações entre piretróides e organofosforados. Portanto, a realidade encontrada nas propriedades reflete o mercado nacional de produtos parasitários e demonstra a dificuldade que o produtor tem de mudar de classe inseticida, uma vez que as opções, dentro de uma faixa de preços mais acessível, são restritas.

Para o combate do carrapato-do-boi eram utilizados produtos de quase todas as classes disponíveis no mercado, sendo empregados com maior frequência os piretróides e suas associações com organofosforados (Tabela 3), o que coincide com o observado para o controle da mosca-dos-chifres e com a situação encontrada por Mendes *et al.* (2011) no estado de São Paulo. No Rio Grande do Sul, os piretróides eram mais utilizados entre 1997 e 2000,

quando, então, foram gradativamente substituídos pelas formamidinas (2000 a 2006), devido ao desenvolvimento de resistência a piretróides nas populações de *R. (B.) microplus* em decorrência de seu uso com maior frequência e em menores concentrações para o controle da mosca-dos-chifres (Farias *et al.*, 2008).

Enquanto na região Sul do país, o método de aplicação por imersão ainda é o mais empregado para o combate ao carrapato-do-boi (Farias *et al.*, 2008; Santos *et al.*, 2009), nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste predomina o uso de aspersão com bombas costais para ambos os parasitos (Leite, 1988; Santos Junior *et al.*, 2000; Saueressig e Barros, 2003; Rocha *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2006; Barros *et al.*, 2007; Mendes *et al.*, 2011). A realidade encontrada neste estudo não foi diferente: entre as 17 propriedades, nas quais se utilizava produtos alopáticos, em 11 (64,71%) a aspersão era o principal método de aplicação dos produtos e, dentre estas, sete faziam uso da bomba costal (Figura 5).

O uso de bomba costal contribui para aplicação de volumes muito aquém do recomendado, devido ao grande esforço necessário para sua utilização (Rocha *et al.*, 2006). A aspersão foi, inclusive, considerada um fator de risco para resistência a piretróides em populações do carrapato-do-boi da Austrália e Nova Caledônia (Jonsson *et al.*, 2000; Bianchi *et al.*, 2003).

Tabela 3. Composição dos produtos utilizados para o controle da mosca-dos-chifres e do carrapato-do-boi em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

Propriedades	Município	Composição dos produtos	
		Mosca-dos-chifres	Carrapato-do-boi
1	Ituiutaba	-	Diflubenzuron; cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + citronelal; clorpirifós + diclorvós; fluazuron.
2	Ituiutaba	-	Cipermetrina + ethion; clorpirifós + diclorvós; amitraz; ivermectina.
3	Ituiutaba	Cipermetrina + clorpirifós + citronelal	Clorpirifós + diclorvós; amitraz.
4	Ituiutaba	Cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + butóxido de piperonila.	Cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + butóxido de piperonila.
5	Ituiutaba	-	Homeopatia; cipermetrina + clorpirifós + citronelal.
6	Monte Alegre	Cipermetrina + ethion	Fluazuron
7	Uberlândia	-	Cipermetrina; clorfenvinfós + diclorvós; amitraz.
8	Uberlândia	-	Flumetrina; cipermetrina + diclorvós; cipermetrina + clorpirifós + citronelal.
9	Uberlândia	-	Cipermetrina + clorpirifós; cipermetrina + clorpirifós + citronelal; ivermectina.
10	Uberlândia	-	-
11	Uberlândia	-	Diflubenzuron; cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + butóxido de piperonila; cipermetrina + clorpirifós + citronelal; fipronil.
12	Uberlândia	-	Diclorvós + clorpirifós; fipronil.
13	Uberlândia	-	Cipermetrina + clorpirifós + citronelal; amitraz; fluazuron.
14	Uberlândia	-	Cipermetrina; deltametrina; fluazuron; ivermectina.
15	Uberaba	-	Cipermetrina + clorpirifós + citronelal; fipronil.
16	Uberaba	-	Cipermetrina; diclorvós + clorfenvinfós; fluazuron.
17	Conquista	Cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + citronelal; fluazuron.	Ivermectina
18	Uberaba	-	Cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + butóxido de piperonila + citronelal; cipermetrina + clorpirifós + citronelal; fluazuron.

continua

continuação

Propriedades	Município	Composição dos produtos	
		Mosca-dos-chifres	Carrapato-do-boi
19	Uberaba	-	Cipermetrina + fenitrotion; abamectina.
20	Água Comprida	-	Diflubenzuron; cipermetrina; fluazuron.
21	Campo Florido	-	Homeopatia; alfacipermetrina; cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + citronelal.
22	Campo Florido	-	Flumetrina; cipermetrina + clorpirifós + citronelal; fluazuron; ivermectina.
23	Araxá	-	Cipermetrina; cipermetrina + clorpirifós + citronelal.

Dentre os entrevistados que utilizavam o método de aspersão (n = 11), 6 (54,54%) afirmaram diluir os produtos na concentração recomendada pelo fabricante. Em 8 (72,72%) propriedades os animais

eram banhados com menos de cinco litros de calda e em 45,45% das propriedades as aplicações dos ectoparasiticidas eram realizadas com os animais soltos no curral (Figura 6).

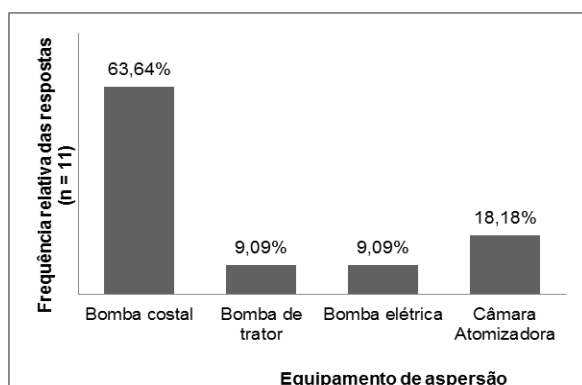


Figura 5: Uso de equipamentos de aspersão para controle parasitário em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

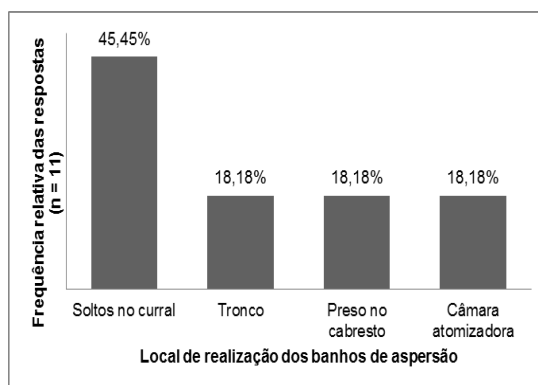


Figura 6: Local de realização dos banhos de aspersão para controle parasitário em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

Em propriedades de Tocantins, Distrito Federal, Goiás (Saueressig e Barros, 2003), Alagoas, Sergipe e Piauí (Oliveira *et al.*, 2006) e Mato Grosso do Sul (Rodrigues *et al.*, 2004; Barros *et al.*, 2007) foi igualmente observado o uso mais frequente de aspersão por bombas costais para o controle da mosca-dos-chifres, bem como a aplicação de um volume menor de inseticida do que o recomendado. Rocha *et al.* (2006)

relataram que, em propriedades do município de Passos, MG, 32% dos produtores utilizavam três litros de calda carrapaticida por animal para controlar o carrapato-do-boi, 24% utilizavam menos de um litro e 16% disseram não saber qual o volume utilizado.

De acordo com Pereira *et al.* (2008), o uso de quatro a cinco litros de calda inseticida/carrapaticida por animal adulto (um litro por 100 kg de peso vivo), bem como a contenção dos animais são práticas obrigatórias para a eficácia do banho. Segundo estes autores, assim como Furlong *et al.* (2003), Domingues *et al.* (2008), Leite *et al.* (2010) e Cunha (2011), a infraestrutura adequada para os tratamentos carrapaticidas, como os bretes de aspersão, é outro fator crucial para que o controle seja alcançado.

Embora os produtos *pour-on* sejam mais fáceis de serem aplicados e apesar de, em algum momento, terem sido utilizados em todas as propriedades que faziam o controle da mosca-dos-chifres e do carrapato-do-boi com produtos alopáticos (n = 17), este método era empregado rotineiramente em 6 (35,29%) propriedades, sendo utilizado em parte do rebanho nas demais. Esta situação também foi encontrada por Oliveira *et al.* (2006) e Barros *et al.* (2007) ao estudarem o controle da mosca-dos-chifres em propriedades de Alagoas, Bahia, Sergipe e Mato Grosso do Sul e por Rocha *et al.* (2006) ao pesquisarem as práticas de controle do carrapato-do-boi em propriedades do sul do estado de Minas Gerais. Em São Paulo, Mendes *et al.* (2011) relataram que 65,4% das propriedades usavam apenas aspersão, 30,8% medicamentos injetáveis e 3,8% *pour-on*.

Quando questionados sobre o número de animais tratados em um mesmo dia (aplicações de banhos por aspersão e/ou produtos *pour-on*), a maioria (54,55%) dos entrevistados afirmou que as aplicações eram realizadas de acordo com a categoria animal (animais jovens, lactantes ou solteiros), 27,27% afirmaram tratar todos os animais da propriedade e 18,18% relataram tratar somente os animais mais infestados. Rocha *et al.* (2006) encontraram situação diferente nas propriedades de Passos, MG. Em seu estudo, 80% dos entrevistados disseram banhar todos os animais no mesmo dia, 12% o faziam de acordo com os lotes e 8% banhavam somente os mais infestados. Há que se considerar que os rebanhos das propriedades de Passos

tinham em média 122 animais, enquanto no presente estudo 47,82% das propriedades tinham mais de 200 animais (Figura 1). A falta de infraestrutura adequada para aplicação dos produtos nas propriedades visitadas é outro fator que pode ter contribuído para o tratamento de somente parte do rebanho em um mesmo dia.

A alternância de produtos era realizada em quase todas as propriedades (n = 18) e as justificativas utilizadas foram: perda da eficácia (55,56%), preço do produto (16,67%), disponibilidade nas lojas (5,55%) e período de carência exigido (5,55%). Alguns entrevistados (16,67%) afirmaram não saber o porquê de trocar de produto. O motivo mais citado para a perda de eficácia (n = 10) foi a percepção de surgimento de resistência no carrapato ou na mosca (n = 8), seguido de problemas na fabricação de produtos (n = 1) e um entrevistado não soube responder.

Rodrigues *et al.* (2004) observaram, em propriedades do Mato Grosso do Sul, que a troca de produtos para o controle da mosca-dos-chifres era realizada de forma aleatória, sem nenhum critério técnico para escolha do próximo produto a ser utilizado, devido principalmente à observação de perda de eficácia. Esta mesma situação foi observada por Barros *et al.* (2007) em outras propriedades do Mato Grosso do Sul. Rocha *et al.* (2006) relataram que 64% dos produtores alternavam o produto devido a perda de eficácia, 28% devido ao preço e 24% por considerarem uma ação importante.

É interessante observar que nenhum entrevistado citou como causa, para perda de eficácia, a má utilização dos produtos; o que demonstra a falta de percepção desses indivíduos de que a grande frequência de tratamentos por ano, a falta de infraestrutura adequada e segura aos aplicadores e o tratamento de um número de animais maior do que o recomendado por carga/bomba sejam práticas incorretas, que contribuem para uma menor eficácia dos produtos. Há que se considerar que, como as informações foram obtidas através de entrevistas, existe a possibilidade de o entrevistado não ter citado a má utilização

como um dos motivos para perda de eficácia do produto, por não querer admitir o seu erro. Entretanto, a má aplicação dos produtos foi apresentada como motivo para o surgimento de resistência aos carrapaticidas, em 24% das propriedades em que Rocha *et al.* (2006) realizaram entrevistas.

O uso de misturas ou formulações domésticas para o controle da mosca-dos-chifres ou do carrapato-do-boi não foi comum entre os entrevistados (n = 2), contudo esta foi uma opção para o combate de miíases causadas por *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Caliphoridae) em todas as propriedades visitadas (Anexo IV). Em propriedades do Distrito Federal, Goiás, Tocantins e Mato Grosso do Sul foram relatados o uso de medicamentos misturados com álcool e/ou óleo de soja na forma de *pour-on* e a aplicação de produtos indicados para agricultura no controle da mosca-dos-chifres e do carrapato-do-boi (Saueressig e Barros, 2003; Koller *et al.*, 2009).

A Lei nº 6.514 de 22 de dezembro de 1977 da Consolidação das Leis do Trabalho, relativa à Segurança e Medicina do Trabalho, regulamenta o uso do Equipamento de Proteção Individual (EPI) (Brasil, 1977). De acordo seu artigo 166 “a empresa é obrigada a fornecer aos empregados, gratuitamente, equipamento de proteção individual adequado ao risco e em perfeito estado de conservação e funcionamento, sempre que as medidas de ordem geral não ofereçam completa proteção contra os riscos de acidentes e danos à saúde dos empregados” (Brasil, 1977). Segundo sua norma regulamentadora 6 (NR 6) “EPI é todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, destinado à proteção de riscos suscetíveis de ameaçar a segurança e a saúde no trabalho” (Brasil, 1977).

No presente estudo o uso de EPI era adotado somente em 7 propriedades (31,82%) e em apenas três todo o equipamento (roupa, boné, luvas, máscaras e botas) era utilizado. Entre as sete

propriedades, em quatro os produtos eram aplicadas por aspersão com bomba costal, em duas por aspersão com bomba elétrica e em uma, eram utilizados produtos *pour-on*. Em várias propriedades havia o equipamento, porém o trabalhador preferia não utilizá-lo.

A falta de hábito do uso de EPI demonstra a pouca preocupação com a possibilidade de intoxicação dos trabalhadores rurais, o que foi igualmente observado por Rocha *et al.* (2006) em propriedades do sul do estado de Minas Gerais e Bello (2010) em propriedades do Rio de Janeiro. Segundo Bello (2010) os trabalhadores justificavam o não uso do EPI por calor, falta de hábito ou falta de praticidade dentro da rotina de trabalho, queixas que também foram apresentadas pelos entrevistados do presente estudo. Esta autora ressalta a necessidade de um programa de educação continuada dos trabalhadores rurais, visando sua conscientização sobre a importância do uso de equipamentos de proteção, com esforços concretos para redução dos problemas de saúde nas áreas rurais.

Os três critérios mais citados para a escolha dos produtos ectoparasiticidas foram: escolha pelo dono, indicação do veterinário e preço (Figura 7). A escolha pelo dono pode ser influenciada pela indicação do balconista, do veterinário ou até mesmo pelo preço, entretanto os entrevistados não diferenciaram estas situações. Somente um entrevistado citou como critério de escolha, o período de carência do produto. Talvez isto tenha ocorrido porque os produtos de aspersão, que eram os mais utilizados nas propriedades, possuem um pequeno período de carência ou pela falta de comprometimento ou conhecimento dos produtores rurais em relação às exigências do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento quanto aos resíduos de antiparasitários nos produtos de origem animal (Brasil, 1999; Brasil, 2002).

Santos Júnior *et al.* (2000) relataram que nas três propriedades do estado do Rio de Janeiro, participantes de seu estudo, a escolha dos produtos era feita mediante

propaganda do fabricante. Bello (2010) observou que nas propriedades do Rio de Janeiro o produto era escolhido de acordo com o preço, o conselho de vizinhos ou a indicação do balconista. Nas propriedades de São Paulo, os critérios eram indicação do balconista (25%), de vizinhos (21,4%), de veterinários (21,4%), propaganda (18%), resultado do teste de imersão de teleóginas (3,4%) e 10,8% não tinham critério (Mendes *et al.*, 2011).

A maioria dos entrevistados (95,65%) afirmou que havia assistência técnica de médicos veterinários nas propriedades. Entretanto, estes profissionais eram consultados somente em casos de emergência em 52,71% das propriedades e eram fonte de informação sobre os métodos

de controle dos parasitos, em apenas 7 (31,82%) (Figura 8). Na maioria das propriedades visitadas havia uma grande preocupação com a produtividade animal, entretanto os fatores sanitários do rebanho não recebiam tanta atenção por parte dos proprietários.

Segundo Santos Junior *et al.* (2000) e Bello (2010) a assistência técnica veterinária não era comum em propriedades do estado do Rio de Janeiro. Rocha *et al.* (2006) relataram que estes profissionais eram as fontes de informação em 64% das propriedades do estado de Minas Gerais, que participaram de seu estudo, enquanto as revistas foram citadas em 28% e os vizinhos ou amigos em 20%.

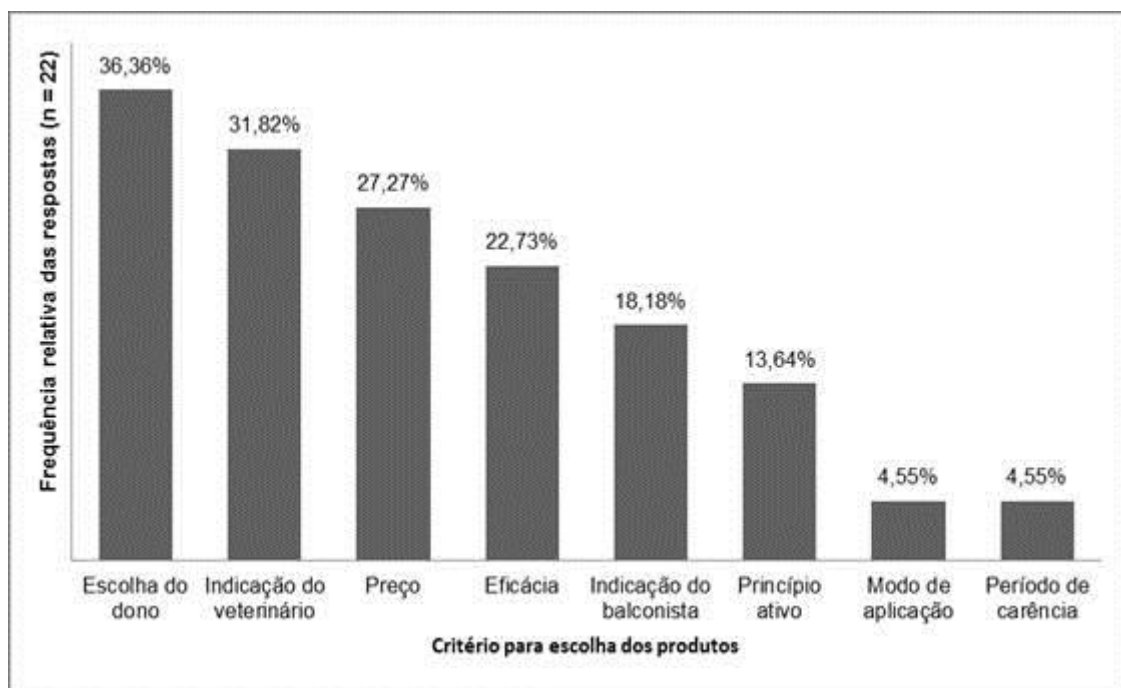


Figura 7: Critérios utilizados para escolha de produtos inseticidas/carrapaticidas em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010. Era permitida mais de uma resposta.

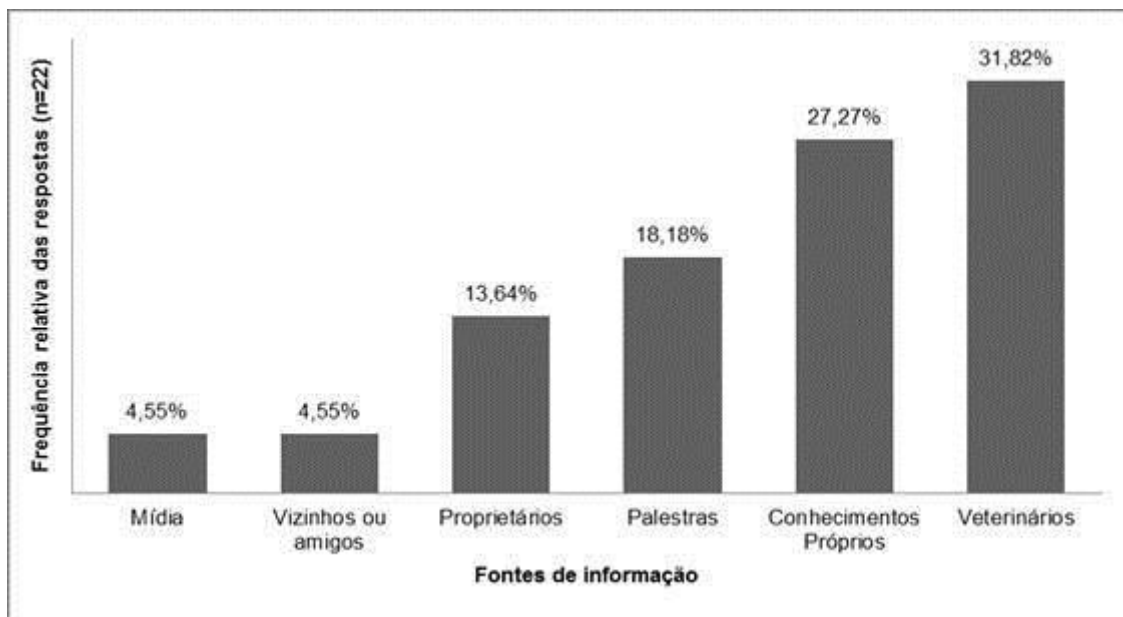


Figura 8: Fontes de informação sobre o controle de *Haematobia irritans* e *Rhipicephalus (B.) microplus* em propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, MG, segundo entrevistas realizadas em abril/2010.

Ressalta-se a necessidade de uma maior participação dos médicos veterinários, instituições de pesquisa, cooperativas e associações ligadas ao setor, na divulgação dos programas de controle existentes e na capacitação dos trabalhadores rurais, para que se alcance sucesso na implantação de programas sanitários nas propriedades pecuárias estudadas, conforme sugerido por Arteche (1972), Leite (1988), Santos Júnior *et al.* (2000) e Bello (2010).

5.2 - Bioensaios com *H. irritans*

Devido às infestações relativamente baixas na maioria das propriedades visitadas, os testes de suscetibilidade da mosca-dos-chifres com os princípios ativos cipermetrina e clorpirifós foram realizados em 12 e nove propriedades, respectivamente. Excluindo-se os ensaios que apresentaram mais de 10% de mortalidade no grupo controle e aqueles que não permitiram a obtenção da CL_{50} ou de seu intervalo de confiança, 11 bioensaios foram analisados, sendo nove

com cipermetrina e dois com clorpirifós (Tabela 4).

As populações de campo avaliadas nos bioensaios com cipermetrina apresentaram CL_{50} marcadamente superiores à CL_{50} da população suscetível de referência e consequentemente, altos fatores de resistência para este princípio ativo (Tabela 4). Estes valores indicam que todas as populações de *H. irritans* avaliadas eram resistentes à cipermetrina. Segundo Guglielmone *et al.* (1998), tratamentos com cipermetrina *pour-on* não controlaram populações de mosca-dos-chifres com fatores de resistência para cipermetrina entre 16,8 e 36,5, menores do que aqueles encontrados no presente estudo. Sendo assim, pode-se esperar uma baixa eficácia de produtos piretróides nas propriedades onde foram realizados estes bioensaios, confirmando as observações dos entrevistados sobre a perda de eficácia de alguns produtos.

Tabela 4. Suscetibilidade de populações de *Haematobia irritans* a inseticidas, avaliada em bioensaios com papel de filtro impregnado, na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, em abril/2010.

Propriedade	Município	Cipermetrina					Clorpirifós				
		n	Slope (EP)	χ^2 (gl)	CL ₅₀ (IC 95%)	FR	n	Slope (EP)	χ^2 (gl)	CL ₅₀ (IC 95%)	FR
3	Ituiutaba	479	1,40 (0,17)	1,55 (3)	52,08 (40,71 - 66,10)	400,6					**
4	Ituiutaba	901	1,46 (0,12)	4,67 (6)	50,95 (39,98 - 63,02)	391,9	1080	2,82 (0,20)			***
6	Monte Alegre	394	3,20 (0,46)	0,44 (1)	33,23 (26,88 - 38,66)	255,6	589	27,64 (3,92)			***
9	Uberlândia	399	3,07 (0,39)	0,49 (1)	23,16 (20,23 - 27,77)	178,1					-
10	Uberlândia	490	1,55 (0,16)		***						-
13	Uberlândia	524	2,53 (0,23)	3,70 (3)	6,15 (4,43 - 8,05)	47,3	683	6,96 (1,89)			***
14	Uberlândia	604	2,48 (0,19)		***		445	9,45 (1,10)	1,42 (2)	0,22 (0,21 - 0,23)	0,008
15	Uberaba	648	2,23 (0,16)	5,81 (4)	6,41 (4,95 - 8,03)	49,3	986	4,35 (0,34)			***
18	Uberaba	642	1,72 (0,14)	5,57 (4)	12,06 (8,30 - 16,48)	92,8					-
19	Uberaba	514	2,45 (0,23)	7,38 (3)	9,24 (5,89 - 14,26)	71,1	753	4,07 (0,29)			***
21	Campo Florido	637	1,59 (0,14)		***		348	8,65 (1,12)	0,04 (1)	0,16 (0,15 - 0,17)	0,006
22	Campo Florido	633	1,30 (0,14)	9,26 (4)	11,79 (4,13 - 20,92)	90,7					**
<i>Kerrville*</i>	Texas/EUA	575	3,12 (0,28)	2,49 (5)	0,13 (0,12 - 0,15)	-	575	1,39 (0,28)	1,70 (5)	27,88 (13,48 - 133,31)	-

n = número de moscas utilizado para o cálculo da CL₅₀

χ^2 (gl) = Qui-quadrado (grau de liberdade)

CL₅₀ (IC95%) = Concentração letal à 50% da população, expressa em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de ingrediente ativo (Intervalo de Confiança a 95%)

FR (Fator de Resistência) = CL₅₀ da população de campo/ CL₅₀ da população de referência de *Kerrville*, Texas, EUA

* População suscetível de referência, mantida em laboratório em *Kerrville*, Texas, EUA;

** Mortalidade maior que 10% no grupo controle;

*** Resultados dos bioensaios não permitiram a obtenção da CL₅₀, IC 95% e FR

Resistência à cipermetrina foi previamente registrada nos estados do Rio Grande do Sul (Guglielmo *et al.*, 2001), Piauí e Maranhão (Girão *et al.* 2002), Goiás e Distrito Federal (Saueressig e Barros, 2003), Roraima (Braga e Barros, 2003), Alagoas e Sergipe (Oliveira *et al.*, 2006) e Mato Grosso do Sul (Barros *et al.*, 2007) e em países vizinhos como Uruguai (Marques *et al.*, 1997), Argentina (Guglielmo *et al.*, 1998; Guglielmo *et al.*, 2001) e Chile (Oyarzún *et al.*, 2011).

A CL_{50} da população suscetível de referência (*Kerrville*) ($0,13 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) e seu intervalo de confiança a 95% ($0,12 - 0,15 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) do presente estudo foram menores do que a CL_{50} desta mesma população exposta a outro *kit* de cipermetrina nos anos de 2001 ($CL_{50} = 0,43 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, IC 95% = $0,29 - 0,70 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) e 2002 ($CL_{50} = 0,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, IC 95% = $0,64 - 2,11 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Os últimos valores de CL_{50} foram utilizados para a comparação dos resultados de bioensaios realizados a campo por Girão *et al.* (2002), Braga e Barros (2003), Saueressig e Barros (2003), Oliveira *et al.* (2006) e Barros *et al.* (2007). Essa diferença pode ser explicada por diferença nos *kits* utilizados (Sheppard e Joyce, 1992), na idade e gênero das moscas (Pruett *et al.*, 2000) e/ou na contagem da mortalidade realizada por diferentes observadores.

Em contrapartida, as CL_{50} dos bioensaios com cipermetrina das populações de campo do presente estudo (Tabela 4) foram similares à CL_{50} de populações de *H. irritans* dos estados do Piauí e Maranhão ($16,87$ a $27,96 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Girão *et al.* 2002), Distrito Federal e Goiás ($8,75$ a $60,99 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Saueressig e Barros, 2003), Roraima ($0,71$ a $45,77 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Braga e Barros, 2003), Mato Grosso do Sul ($15,84$ a $39,27 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Barros *et al.*, 2007) e inferiores aquelas observadas em Alagoas e Sergipe ($19,94$ a $1928,30 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Oliveira *et al.*, 2006). Em estudo realizado por Sabatini *et al.* (2009), populações de mosca-dos-chifres de todas as regiões do Brasil apresentaram o alelo *kdr*, responsável pelo mecanismo de resistência a piretróides caracterizado pela insensibilidade do sítio de ação (Guerrero *et al.*, 1997), com exceção de populações da

região Nordeste. Este trabalho utilizou inclusive espécimes dos estados de Alagoas e Sergipe. Portanto, a diferença entre as CL_{50} das populações de campo do presente estudo e das populações dos estados de Alagoas e Sergipe talvez possa ser explicada por diferentes mecanismos de resistência presentes nestas populações, como demonstrado por Sabatini *et al.* (2009).

A resistência encontrada à cipermetrina nas populações estudadas resulta do uso rotineiro e quase exclusivo de produtos piretróides, em sua maioria contendo este princípio ativo (Tabela 3) e ao número exagerado de tratamentos realizados ao ano. A utilização de somente uma classe de produto inseticida e a alta frequência de tratamentos durante o ano são práticas equivocadas, que contribuem para o desenvolvimento de resistência nas populações tratadas (Georghiou e Taylor, 1977; Byford *et al.*, 1999).

É interessante observar que em seis, das nove propriedades em que os bioensaios com cipermetrina foram realizados, os entrevistados afirmaram não fazer controle específico para a mosca-dos-chifres, isto é, a preocupação principal era combater o carrapato-do-boi, sendo a aplicação de ectoparasiticidas direcionada primordialmente a este parasito. Entretanto, nas outras três propriedades (Propriedades 3, 4 e 6; Tabela 4), o controle específico da mosca-dos-chifres era realizado; não coincidentemente, as populações da mosca nestas propriedades apresentaram fatores de resistência marcadamente superiores em relação às demais (Tabela 4).

Uma vez que a maioria dos produtos carrapaticidas possui amplo espectro, não sendo específicos para o carrapato, é provável que a resistência à cipermetrina, detectada mesmo nas populações da mosca-dos-chifres não submetidas a um controle químico específico, tenha sido resultante da pressão de seleção causada pelo controle do carrapato. Nas três propriedades com os maiores fatores de resistência, é provável que o controle químico de ambos os parasitos tenha

aumentado a pressão de seleção sobre as populações da mosca-dos-chifres, contribuindo para a ocorrência dos elevados níveis de resistência detectados nos bioensaios. Segundo Kunz *et al.* (1995) o uso sequencial de piretróides contra o carrapato-do-boi contribuiu para o desenvolvimento de resistência nas populações de mosca-dos-chifres do México. Percebe-se a necessidade de se adotar práticas de controle que considerem as características epidemiológicas dos parasitos e envolvam o controle integrado das diferentes espécies presentes nos animais de forma a reduzir a pressão de seleção aleatória em diferentes parasitos de um mesmo hospedeiro e aumentar a sustentabilidade e eficiência das estratégias de controle parasitário.

Em relação aos bioensaios realizados com clorpirifós, observa-se que as CL_{50} das duas populações foram substancialmente menores que a CL_{50} da população de referência *Kerrville* (Tabela 4), demonstrando o alto nível de suscetibilidade destas populações ao referido organofosforado. Até o momento, resistência da mosca-dos-chifres a organofosforados foi encontrada apenas nos EUA (Burns e Wilson, 1963; Barros *et al.*, 2001) e México (Kunz *et al.*, 1995; García *et al.*, 2004).

No Brasil, os estudos realizados em Mato Grosso do Sul (Barros *et al.*, 2002, 2007), Tocantins, Goiás e Distrito Federal (Saueressig e Barros, 2003), Alagoas, Bahia e Sergipe (Oliveira *et al.*, 2006) demonstraram elevada suscetibilidade das populações da mosca-dos-chifres ao organofosforado diazinon. Estes autores salientaram que a ausência de resistência ao organofosforado resultou do maior uso de produtos piretróides nas propriedades onde os bioensaios foram realizados, o que também foi observado nas propriedades deste estudo (Tabela 3). O presente trabalho foi o primeiro no Brasil realizado com o organofosforado clorpirifós e, apesar do número limitado de amostras, fornece informações importantes sobre as CL_{50} de populações suscetíveis, as quais poderão ser utilizadas em comparações futuras.

A CL_{50} da população suscetível de referência (*Kerrville*) e seu respectivo intervalo de confiança a 95% foram muito altos (Tabela 4). Esta cepa apresentou 18,67% de mortalidade na concentração de 6,4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, após duas horas de exposição, a qual é quatro e 10 vezes maior do que aquela que matou 100% dos indivíduos nas populações das propriedades nove e 10, respectivamente. Uma explicação para este fato pode ser uma baixa atividade das enzimas oxidases de função mista na população suscetível de *Kerrville*. Sabe-se que alguns organofosforados, como o diazinon e o clorpirifós, em sua forma inativa possuem pouca afinidade pela enzima acetilcolinesterase, seu sítio de ação (Fukuto, 1990). Estes inseticidas precisam ser ativados metabolicamente por enzimas, como as oxidases de função mista, para aumentar sua afinidade pelo seu sítio de ação e, conseqüentemente, sua toxicidade (Fukuto, 1990). Se a população de *Kerrville* possuir uma baixa atividade destas enzimas, pode ser que o clorpirifós não tenha sido ativado para a sua forma ativa e assim apresentou baixa toxicidade para a referida população.

Um aumento do metabolismo oxidativo (e conseqüentemente da ativação do organofosforado) pode ter contribuído para a alta suscetibilidade detectada ao clorpirifós nos bioensaios, apesar dos organofosforados também serem utilizados para o combate da mosca-dos-chifres na região estudada, principalmente em associações com piretróides (Tabela 3). Segundo Cilek *et al.* (1995), populações de *H. irritans* resistentes a piretróides e com uma maior atividade das oxidases de função mista apresentaram alta sensibilidade ao organofosforado diazinon. Neste estudo demonstrou-se que as oxidases metabolizaram o diazinon para diazoxon, sua forma ativa/tóxica, aumentando a suscetibilidade das populações de mosca-dos-chifres ao organofosforado, mecanismo conhecido como resistência cruzada negativa. O mesmo mecanismo foi relatado por Hatano *et al.* (1992) em relação ao clorpirifós em populações de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) com alta atividade de oxidase e resistentes ao

organoclorado dicofol. De acordo com Barros (2004), a detoxificação por oxidases de função mista é o principal mecanismo de resistência a piretróides das populações brasileiras de mosca-dos-chifres, o que fundamenta a hipótese de que a elevada suscetibilidade observada ao clorpirifós nas populações estudadas seja resultante de uma resistência cruzada negativa.

Em princípio, produtos organofosforados podem ser considerados uma alternativa viável para o controle da mosca-dos-chifres na região, uma vez que as populações estudadas foram suscetíveis ao clorpirifós. Entretanto, este controle deve ser realizado com cautela e de acordo com programas que considerem as características epidemiológicas do parasito, os princípios ativos, o número de aplicações por ano e o método de aplicação dos produtos (Georghiou e Taylor, 1977).

Li *et al.* (2009) observaram em populações de *H. irritans* resistentes à permetrina que a substituição do uso de produto pour-on composto por ciflutrina (1%) por brincos impregnados com diazinon (40%), diminuiu as infestações e os fatores de resistência das populações à permetrina, contudo não reduziu a frequência dos alelos (*kdr* e *super-kdr*) responsáveis pela resistência a piretróides na população estudada. O uso de piretróide associado ao sinergista butóxido de piperonila reduziu significativamente o desenvolvimento de resistência em populações de *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) quando a resistência devia-se à detoxificação via oxidases de função mista (Kumar *et al.*, 2002).

Entretanto, quando baseada exclusivamente na alternância entre duas classes inseticidas, esta estratégia não se mostrou eficiente no controle de populações resistentes aos piretróides (Barros *et al.*, 1999). Estes autores demonstraram que a rotação anual, durante sete anos, entre

brincos impregnados com o piretróide λ -cialotrina + butóxido de piperonila (inibidor de oxidases) e brincos impregnados com o organofosforado metil-pirimifós não aumentou a eficácia do primeiro e não preveniu o desenvolvimento de resistência ao organofosforado em populações de *H. irritans* dos EUA resistentes a piretróides. Contudo, não foram estudados os mecanismos de resistência presentes nas populações.

5.3 - Bioensaios com larvas de *R. (B.) microplus*

Foram coletadas teleóginas em 10 propriedades, contudo, em três destas não foi possível obter a CL_{50} ou seu intervalo de confiança. Desta forma, foram considerados os resultados dos bioensaios de sete propriedades para cada princípio ativo (Tabela 5).

Segundo Bianchi *et al.* (2003), populações de *R. (B.) microplus* com fatores de resistência menores que três, entre três e cinco, entre cinco e cinquenta e maiores do que 50 são suscetíveis, tolerantes, resistentes e super-resistentes à permetrina, respectivamente. A partir da classificação de Bianchi *et al.* (2003), Mendes *et al.* (2007) propuseram a seguinte classificação: amostras com fatores de resistência menores ou iguais a 2,4 são suscetíveis, entre 2,5 e 5,4 são resistentes nível I, entre 5,5 e 50 são resistentes nível II e maiores que 50 são resistentes nível III, à deltametrina ou cipermetrina.

Como os fatores de resistência das populações do carrapato-do-boi da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba à cipermetrina, variaram entre 16,0 e 25,0 (Tabela 5), todas as populações testadas podem ser consideradas resistentes nível II a este piretróide, segundo a classificação proposta por Mendes *et al.* (2007).

Tabela 5. Suscetibilidade de populações de *Rhipicephalus (B.) microplus* à cipermetrina e clorpirifós, avaliada pelo Teste do Pacote com Larvas, na mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais, em abril/2010.

Propriedades	Município	Cipermetrina					Clorpirifós				
		n	Slope (EP)	χ^2 (gl)	CL ₅₀ (IC 95%)	FR	n	Slope (EP)	χ^2 (gl)	CL ₅₀ (IC 95%)	FR
2	Ituiutaba	1871	3,14 (0,13)		**		2043	1,42 (0,52)		**	
7	Uberlândia	1134	4,24 (0,27)	6,56 (4)	0,48 (0,43 – 0,53)	16,0	1563	1,05 (0,11)	6,41 (5)	0,04 (0,03 – 0,05)	4,4
9	Uberlândia	862	3,02 (0,24)	11,31 (6)	0,56 (0,45 – 0,67)	18,7	1088	1,96 (0,17)	11,39 (6)	0,04 (0,03 – 0,05)	4,4
10	Uberlândia	1725	2,39 (0,12)	13,25 (10)	0,56 (0,51 – 0,62)	18,7	2338	1,45 (0,07)	10,65 (10)	0,05 (0,04 – 0,05)	5,5
11	Uberlândia	1485	3,37 (0,15)	15,63 (10)	0,69 (0,63 – 0,75)	23,0	1924	1,87 (0,10)	9,03 (7)	0,06 (0,05 – 0,07)	6,7
12	Uberlândia	1440	2,55 (0,21)	11,86 (6)	0,75 (0,58 – 0,88)	25,0	1126	1,85 (0,30)	9,51 (4)	0,14 (0,09 – 0,32)	15,6
14	Uberlândia	1777	2,70 (0,17)	15,34 (8)	0,53 (0,44 – 0,63)	17,7	1224	1,87 (0,17)	9,14 (4)	0,02 (0,01 – 0,03) *	2,2
15	Uberaba	1510	3,15 (0,17)		**		901	1,63 (0,13)	7,08 (3)	0,05 (0,04 – 0,09)	5,5
16	Uberaba	2578	2,32 (0,17)	11,75 (8)	0,73 (0,57 – 0,86)	24,3	935	1,74 (0,21)		**	
21	Campo Florido				***		2023	6,47 (0,35)		**	
Cepa Porto Alegre	São Paulo	1057	2,98 (0,16)	10,41 (6)	0,03 (0,02 – 0,03)	-	1278	3,00 (0,29)	13,25 (8)	0,009 (0,008 – 0,01)	-

n = número de larvas de *R. (B.) microplus* utilizado para o cálculo da CL₅₀

χ^2 (gl) = Qui-quadrado (grau de liberdade)

CL₅₀ = Concentração letal para 50% da população, expressa em % de ingrediente ativo; IC95% = Intervalo de Confiança a 95%

FR (Fator de Resistência) = CL₅₀ da população de campo/ CL₅₀ da cepa suscetível Porto Alegre

*IC95% coincide com o IC95% da cepa suscetível

** Resultados dos bioensaios não permitiram a obtenção da CL₅₀, IC95% e FR

***Mortalidade maior que 10% no grupo controle

Nolan *et al.* (1989) ao estudarem populações de campo do carrapato-do-boi australianas, descreveram três diferentes perfis de resistência, de acordo com os resultados do Teste do Pacote com Larvas: cepa *Marmor* que apresentou moderada resistência a cipermetrina (fator de resistência igual a 6) e cialotrina (fator de resistência igual a 9,5); cepa *Lamington* com elevada resistência flumetrina (fator de resistência igual a 29), porém com alta suscetibilidade a cipermetrina, cialotrina e deltametrina; cepa *Parkhurst* com altos níveis de resistência aos piretróides cipermetrina, cialotrina, deltametrina e flumetrina, com fatores de resistência iguais a 114, 130, 152 e 446, respectivamente. Estes autores realizaram ainda testes de estábulo com gado infestado com as referidas cepas e aplicações de produtos comerciais, de acordo com as recomendações dos fabricantes.

Em relação aos resultados destes testes, um produto composto por cialotrina (0,007%) atingiu 90,2% de eficácia contra a cepa *Marmor* e 33,4% para a cepa *Parkhurst*. Considerando estes resultados, pode se esperar que os produtos compostos por piretróides não tenham eficácia adequada frente às populações do carrapato-do-boi do presente estudo, pois estas populações apresentaram fatores de resistência para cipermetrina aproximadamente duas vezes maiores do que o fator de resistência da cepa *Marmor* (Tabela 5). O fator de resistência da cepa *Marmor* foi calculado de acordo com a CL₅₀ da cepa suscetível *Yeerongpilly* que foi de 0,0037% para cipermetrina, valor similar ao CL₅₀ da cepa Porto Alegre no presente estudo (Tabela 5).

Segundo Jonsson *et al.* (2000) 54% das propriedades de Queensland, Austrália, apresentavam o perfil *Parkhurst* de resistência a piretróides, pelo Teste do Pacote com Larvas, quando seu estudo foi realizado. Rodrigues-Vivaz *et al.* (2006) ao estudarem populações do carrapato-do-boi mexicanas, demonstraram 66,32% de prevalência do perfil *Parkhurst*. Cabrera-Jimenez *et al.* (2008) ao pesquisarem a resistência a cipermetrina em populações de

campo de *R. (B.) microplus* também mexicanas, pelo Teste do Pacote com Larvas, encontraram resistência em 31,25% das populações pesquisadas e fatores de resistência variando entre 5,15 e 2297,8. Segundo estes autores, as três populações com os maiores fatores de resistência haviam sido pressionadas com deltametrina nos últimos três anos, por mais de 12 vezes ao ano, o que poderia explicar os elevados fatores de resistência encontrados para cipermetrina.

No Brasil, os primeiros relatos de resistência do carrapato-do-boi a piretróides datam do final da década de 80 (Leite, 1988; Laranja *et al.*, 1989). Leite (1988), ao estudar uma amostra de carrapatos da Estação Experimental de Itaguaí – PESAGRO – RIO, pela técnica de Shaw (1966), demonstrou que esta população era resistente aos piretróides flumetrina, fenvalerato, alfacetrina e deltametrina, confirmando as suspeitas levantadas com os testes “in vivo” e o Teste de Imersão de Adultas (Drummond *et al.*, 1973) realizados pelo autor. Não foi encontrada resistência em amostras de carrapato-do-boi de propriedades vizinhas à PESAGRO, pelo teste de Shaw (1966), a nenhum dos piretróides testados.

Estudos realizados em diversos estados brasileiros, utilizando a Teste de Imersão de Adultas, relataram resistência a piretróides (Arantes *et al.*, 1995; Sobrinho Reinaldo *et al.*, 1997; Silva *et al.*, 1997; Furlong e Martins, 2000; Silva *et al.*, 2000; Oliveira e Azevedo, 2002; Vargas *et al.*, 2003; Campos Junior e Oliveira, 2005; Pereira, 2006; Farias *et al.*, 2008; Camillo *et al.*, 2009; Koller *et al.*, 2009).

O Teste de Imersão de Adultas consiste na avaliação da eclodibilidade e viabilidade da postura de teleóginas expostas a concentrações comerciais dos produtos carrapaticidas diluídos em água, conforme as recomendações dos fabricantes. A partir da comparação entre os resultados da eclodibilidade de ovos oriundos de teleóginas expostas aos produtos ou à água (grupo controle) tem-se a porcentagem de eficácia dos produtos testados. Entretanto,

este teste não fornece informações a respeito da CL_{50} e, conseqüentemente, dos fatores de resistência das populações. Portanto, devido a diferença de metodologia utilizada, não é possível fazer uma comparação direta entre os resultados do presente estudo e aqueles encontrados nos estudos que utilizaram o Teste de Imersão de Adultas.

Exatamente para padronizar e possibilitar a comparação entre testes realizados em diversos países, a FAO (Guidelines, 2004) elegeu o Teste do Pacote com Larvas como padrão para os estudos de suscetibilidade de *R. (B.) microplus*. Por esse motivo o referido teste foi escolhido para caracterização da suscetibilidade das populações do carrapato-do-boi da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba no presente estudo.

No presente estudo, a CL_{50} (0,03%) e seu respectivo intervalo de confiança a 95% (IC95%) (0,02% – 0,03%) da cepa suscetível Porto Alegre à cipermetrina (Tabela 5) estão próximos a CL_{50} (0,03291%) e IC95%, (0,02863% - 0,03782%) da cepa Mozo utilizada nos estudos de Vieira-Bressan *et al.* (1999). Porém foi aproximadamente duas vezes maior do que os valores relatados por Mendes *et al.* (2007) e Mendes *et al.* (2011), para a cepa Mozo, que foram, 0,0123% (0,0059% - 0,0193%) e 0,0147% (0,014% - 0,0155%), respectivamente.

Considerando as diferenças entre as CL_{50} da cepa Porto Alegre do presente estudo e da cepa Mozo nos estudos de Mendes *et al.* (2007) e Mendes *et al.* (2011), pode-se dizer que os fatores de resistência dos bioensaios com cipermetrina encontrados no presente estudo são maiores do que aqueles descritos por Mendes *et al.* (2007) e similares aos observados por Mendes *et al.* (2011). Esta divergência pode ter ocorrido devido a diferença entre os produtos utilizados nos últimos anos nas propriedades. Mendes *et al.* (2007) relataram que na maioria das propriedades onde foram coletadas as teleóginas de seu estudo, utilizava-se amitraz nos últimos cinco anos, enquanto nas propriedades

pesquisadas por Mendes *et al.* (2011) os produtos utilizados nos últimos 3 anos foram associação entre piretróides e organofosforados (30,2%), piretróides (21,4%), lactonas macrocíclicas (19,3%) e amitraz (16%), situação semelhante à encontrada nas propriedades do presente estudo (Tabela 3).

Em relação aos bioensaios realizados com o clorpirifós, com exceção da propriedade cujo IC95% apresentou sobreposição com o IC95% da cepa Porto Alegre, duas propriedades eram resistentes nível I e quatro eram resistentes nível II ao organofosforado (Tabela 5), segundo critérios de Mendes *et al.* (2007). De acordo com estes autores, populações com fatores de resistência menores ou iguais a 1,4 são suscetíveis ao clorpirifós, entre 1,5 e 4,4 são resistentes nível I, entre 4,5 e 50 são resistentes nível II e maior que 50 são resistentes nível III a este organofosforado.

Patarroyo e Costa (1980), ao estudarem amostras do carrapato-do-boi do sul de Minas Gerais, observaram fatores de resistência para clorpirifós entre 1,42 e 132,90. Segundo estes autores, fatores de resistência maiores que seis para este organofosforado, inviabilizaria seu uso a campo. Oliveira *et al.* (1986) encontraram fatores de resistência para clorpirifós entre 8,94 e 46,71 em populações do carrapato-do-boi do Rio de Janeiro. Contudo, estes autores utilizaram a metodologia de Grillo e Gutierrez (1969), a qual consiste em expor as larvas a diferentes concentrações dos produtos comerciais diluídos em solução de Tween 80 a 1% em água desclorada. Devido a diferença entre as metodologias destes trabalhos e a metodologia utilizada no presente estudo não é adequada a comparação entre os fatores de resistência encontrados.

A mesma dificuldade ocorre em relação aos estudos realizados por Arteche (1972) Arantes *et al.* (1995), Sobrinho *et al.* (1997), Silva *et al.* (1997), Furlong e Martins (2000), Silva *et al.* (2000), Oliveira e Azevedo (2002), Vargas *et al.* (2003), Campos Junior e Oliveira (2005), Pereira (2006), Farias *et al.* (2008), Camillo *et al.* (2009), Koller *et al.*

(2009) que detectaram resistência a organofosforados em diversos estados do país pelo Teste de Imersão de Adultas (Drummond *et al.*, 1973), conforme anteriormente explicado.

Mendes *et al.* (2007) e Mendes *et al.* (2011) utilizaram o Teste do Pacote com Larvas, mesma utilizada no presente trabalho, em seus estudos com populações de carrapato-do-boi do estado de São Paulo. Entretanto, estes autores utilizaram a cepa Mozo para as comparações com as CL₅₀ das populações de campo obtidas com bioensaios com o clorpirifós. A CL₅₀ da cepa Mozo foi 0,0141% (IC95% = 0,0015% - 0,0022%) e 0,0179% (IC95% = 0,0169% - 0,0190%) nos trabalhos de Mendes *et al.* (2007) e Mendes *et al.* (2011), respectivamente. Estas CL₅₀ são aproximadamente duas vezes maiores do que as encontradas para a cepa Porto Alegre nos bioensaios com clorpirifós do presente estudo (Tabela 5).

Considerando as diferenças entre as CL₅₀, os fatores de resistência encontrados ao clorpirifós no presente trabalho são um pouco maiores do que aqueles encontrados por Mendes *et al.* (2007) e menores do que aqueles relatados por Mendes *et al.* (2011). Novamente, ressalta-se a diferença de uso de produtos nos três estudos. Nas propriedades do presente estudo, bem como nas propriedades visitadas por Mendes *et al.* (2011) utilizava-se, principalmente, associações entre piretróides e organofosforados, seguido pelos piretróides, enquanto nas propriedades, participantes do trabalho de Mendes *et al.* (2007), utilizava-se, principalmente, amitraz.

Analisando-se os fatores de resistência ao clorpirifós nas sete propriedades, percebe-se que foram relativamente próximos em seis. Entretanto, em uma das propriedades (Propriedade 12; Tabela 5), o fator de resistência encontrado foi, aproximadamente, duas vezes superior ao maior fator de resistência encontrado nas demais. A propriedade 12 possuía mais de 400 animais e realizava tratamento carrapaticida a cada 15 dias, com câmara

atomizadora, utilizando produto composto por associação entre dois organofosforados há um ano (Tabela 3), tendo sido a única propriedade na qual o entrevistado afirmou que a mosca-dos-chifres não ocorria. Esta propriedade possuía assistência técnica de médico veterinário rotineiramente e era este quem indicava o produto a ser utilizado para o combate do carrapato-do-boi. O número excessivo de tratamentos e o uso de um produto composto exclusivamente por organofosforados, explica o maior fator de resistência encontrado nesta propriedade, pois, segundo Georghiou e Taylor (1977), estas práticas podem contribuir para o desenvolvimento de resistência.

Em relação à propriedade com a população de carrapato-do-boi, considerada suscetível ao clorpirifós (Propriedade 14, Tabela 5), ela possuía mais de 400 animais e fazia uso de bomba elétrica, com um volume de calda carrapaticida por animal menor que o recomendado. O tratamento era realizado com os animais soltos no curral e alternava-se, constantemente, os produtos utilizados, principalmente devido ao preço. Contudo, dentre os produtos citados pelo entrevistado, nenhum continha organofosforado em sua formulação, sendo utilizados produtos compostos por piretróides, lactonas macrocíclicas e regulador de crescimento de insetos (Tabela 3), o que explica o fato desta população não ser resistente ao clorpirifós.

Os resultados encontrados nos testes de suscetibilidade evidenciam as práticas adotadas para o controle do carrapato-do-boi nas propriedades da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, haja vista que o número excessivo de banhos, o uso de aspersão, principalmente com bomba costal, a aplicação de um volume de calda carrapaticida menor do que o recomendado e a realização de banhos com os animais soltos, são fatores relacionados ao desenvolvimento de resistência (Stone, 1972; Georghiou e Taylor, 1977; Jonsson *et al.*, 2000; Bianchi *et al.*, 2003; Rodriguez-Vivaz *et al.*, 2006).

5.4 – Avaliação da ocorrência do mecanismo de resistência a piretróides - insensibilidade do sítio de ação

Todas as 30 larvas de cada uma das 10 populações de campo e da cepa suscetível Porto Alegre foram homocigotas, suscetíveis para a substituição T2134A, no segmento transmembrânico S6, do domínio III, do

canal de sódio (Figura 9). Portanto, o mecanismo de resistência, referente à insensibilidade do sítio de ação, o qual é mediado pela referida mutação, não está relacionado com a resistência à cipermetrina encontrada nas larvas do carrapato-do-boi pelos bioensaios (Tabela 5).

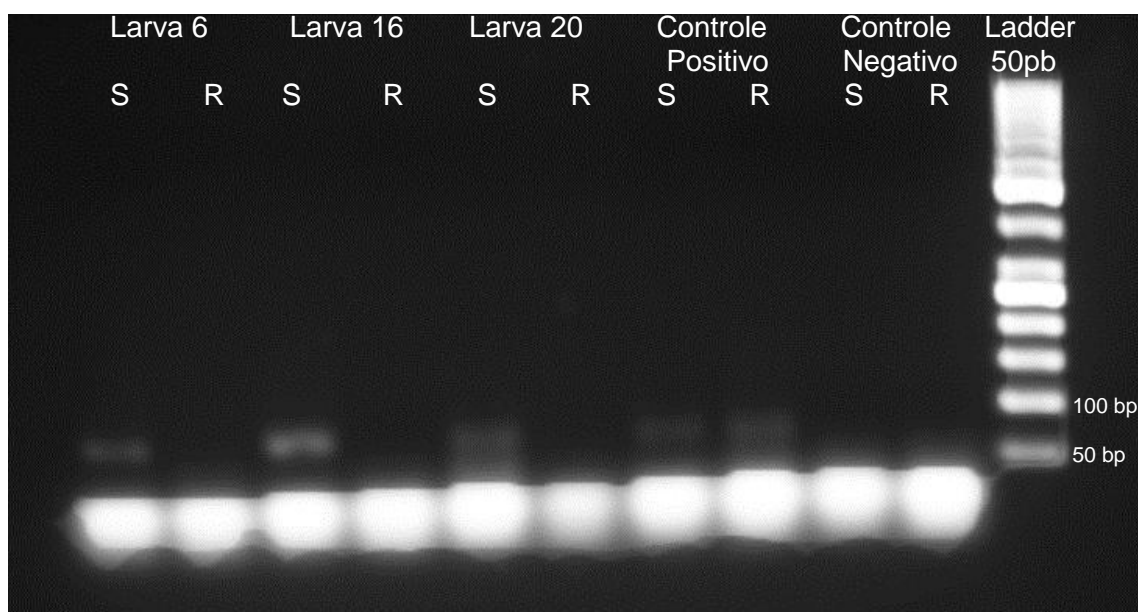


Figura 9: PCR alelo específico com larvas de *R. (B.) microplus* de propriedades pecuárias da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, Minas Gerais e da população suscetível de referência, abril/2010. Reação utilizando primer FG-227 e FG-221 (S) ou FG-227 e FG-222 (R). Controle positivo = Cepa *San Felipe* e controle negativo contém água ao invés de DNA na reação. Foto Representativa.

Detoxificação metabólica e insensibilidade do sítio de ação são os principais mecanismos de resistência de *R. (B.) microplus* a acaricidas piretróides (Guerrero *et al.*, 2001; Pruett, 2002; Li, 2004). Insensibilidade do sítio de ação é o nome dado ao mecanismo de resistência oriundo de mutações nos sítios alvos dos pesticidas que, no caso dos piretróides, é o canal de sódio. Três mutações neste canal foram associadas à resistência a piretróides em populações do carrapato dos bovinos (He *et al.*, 1999; Morgan *et al.*, 2009; Jonsson *et al.*, 2010).

A mutação descrita por He *et al.* (1999), pesquisada no presente estudo, envolve a substituição do nucleotídeo timina por adenina (T2134A), resultando na troca do aminoácido fenilalanina por isoleucina no segmento transmembrânico S6, no domínio III, do canal de sódio. Wang *et al.* (2001), ao introduzirem esta mutação em um canal de sódio de mamíferos demonstraram que ela reduziu a sensibilidade do canal a piretróides em 10 vezes. Tan *et al.* (2005) relataram que ela bloqueou a ligação do piretróide ao canal de sódio.

O fato das larvas da cepa suscetível Porto Alegre não terem apresentado a referida mutação era esperado, pois esta é uma população que vem sendo mantida há muitas gerações sem o contato com carrapaticidas, motivo pelo qual foi utilizada como referência de suscetibilidade para os cálculos dos fatores de resistência das populações de campo.

Miller *et al.* (2007), ao estudarem a cepa *San Andres*, coletada em Coahuila, México, demonstraram, pelo Teste do Pacote com Larvas com concentração discriminatória de 0,125% do ingrediente ativo permetrina (concentração letal para 99% das larvas da cepa suscetível *Muñoz* – CL₉₉), que esta cepa era resistente ao piretróide. Os autores relataram uma frequência de indivíduos homozigotos resistentes (substituição T2134A) de 99%.

Rosario-Cruz *et al.* (2009) observaram que a mutação T2134A estava relacionada com resistência a cipermetrina, flumetrina e deltametrina nas populações de campo de Yucatan, México. No referido estudo, 28 populações de *R. (B.) microplus* foram pesquisadas pelo Teste do Pacote com Larvas com dose discriminatória (duas vezes a CL₉₉ da cepa suscetível *Medía Joya*) de 0,05% para cipermetrina, 0,01% para flumetrina e 0,009% para deltametrina, e pelo PCR alelo específico, desenvolvido por Guerrero *et al.* (2001), o mesmo utilizado no presente estudo. Dentre as 28 populações estudadas, 24 foram resistentes a, pelo menos, um piretróide, tendo sido encontrada forte correlação entre a presença do alelo resistente e a baixa suscetibilidade aos piretróides.

Chen *et al.* (2009) não encontraram a mutação T2134A em cepas australianas moderadamente resistentes a piretróides e sugeriram que aparentemente diferentes mecanismos de resistência se desenvolveram independentemente nestas cepas e em cepas mexicanas, nas quais a mutação T2134A foi encontrada.

Morgan *et al.* (2009) ao estudarem os mecanismos de resistência na cepa *Parkhurst*, resistente à flumetrina,

deltametrina, cialotrina e cipermetrina, e em populações de campo australianas, resistentes à cipermetrina, de acordo com os resultados do Teste do Pacote com Larvas, encontraram a mutação pontual C190A [substituição do nucleotídeo citosina por adenina na posição 190 da sequência AF134216 de *R. (B.) microplus*] no segmento S4-5, do domínio II, do canal de sódio, que resulta em mudança do aminoácido leucina no indivíduo suscetível para isoleucina, no indivíduo resistente. Os autores demonstraram que a presença do alelo resistente estava fortemente relacionada a uma reduzida mortalidade observada nos bioensaios. Foi relatada ainda uma fraca relação entre a proporção de heterozigotos e a sobrevivência à cipermetrina nos bioensaios, sugerindo que esta mutação é uma característica recessiva.

Jonsson *et al.* (2010) ao estudarem populações de campo do carrapato-do-boi, também australianas, observaram que entre as populações sobreviventes à dose discriminatória de 0,3% de cipermetrina, houve uma forte correlação com o genótipo homozigoto resistente para a substituição C190A. Entretanto, entre as populações resistentes apenas à flumetrina, o genótipo homozigoto C190A não foi encontrado. Estas populações possuíam a mutação G214T (substituição do nucleotídeo guanina por uma timina) no segmento S4-5, do domínio II, do canal de sódio, que resulta na alteração do aminoácido glicina para valina nos indivíduos suscetíveis e resistentes, respectivamente. A resistência a flumetrina estava fortemente relacionada à presença do genótipo heterozigoto C190A/G214T ou homozigoto G214T.

Li *et al.* (2008) não identificaram os mecanismos de resistência presentes na cepa brasileira Santa Luiza, resistente à permetrina e amitraz, uma vez que esta não apresentou a mutação no canal de sódio descrita por He *et al.* (1999) e tampouco atividade de enzimas detoxificativas maior que a cepa suscetível *Muñoz*. No estudo realizado por Mendes *et al.* (2010), com populações do carrapato-do-boi de propriedades do estado de São Paulo, a

maioria dos indivíduos foi homocigota suscetível, enquanto menos de 25% da população demonstrou-se heterocigota ou homocigota resistente para a mesma mutação pesquisada no presente estudo. Não foi encontrada uma correlação entre a presença da mutação no canal de sódio e os baixos valores dos fatores de resistência destas populações, o que sugere a ocorrência de outro mecanismo de resistência nas populações estudadas por Mendes *et al.* (2010).

Portanto, as populações de carrapato-do-boi resistentes à cipermetrina, detectadas no presente estudo pelo Teste do Pacote com Larvas, podem apresentar mutações no canal de sódio diferentes da pesquisada e/ou mecanismos metabólicos de resistência que foram anteriormente relatados em populações de *R. (B.) microplus* resistentes à piretróides (Pruett, 2002; Li, 2004).

6. CONCLUSÕES

✓ Os produtores e funcionários entrevistados reconhecem características relativas à epidemiologia dos parasitos estudados, mas realizam o controle sem critérios técnicos, em detrimento dos programas de controle existentes;

✓ Apesar do reconhecimento da importância da *H. irritans* nos rebanhos, seu controle não é prática rotineira, sendo decorrente das ações de combate ao carrapato;

✓ As populações de *H. irritans* de propriedades rurais da mesorregião do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba avaliadas neste estudo são resistentes ao piretróide cipermetrina e suscetíveis ao organofosforado clorpirifós;

✓ As populações de *R. (B.) microplus* analisadas no presente estudo são resistentes à cipermetrina e ao clorpirifós, com exceção de uma população que não apresentou resistência ao organofosforado;

✓ O mecanismo de resistência a piretróides relativo à insensibilidade do sítio de ação, mediado pela substituição T2134A, no segmento transmembrânico S6, do domínio III, do canal de sódio, não explica a resistência a cipermetrina encontrada nas populações de *R. (B.) microplus* estudadas, uma vez que todas as larvas foram homocigotas suscetíveis para esta mutação.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na tentativa de encontrar simultaneamente, mosca-dos-chifres e carrapato-do-boi parasitando os animais, foram selecionadas propriedades de bovinocultura leiteira com animais mestiços, que possivelmente apresentariam parasitismo por ambas as espécies. Entretanto, esta realidade foi encontrada em poucas propriedades, o que inviabilizou a análise da relação entre as práticas de controle adotadas para um parasito e uma possível influência na aceleração do desenvolvimento de resistência na outra espécie.

Esta dificuldade nos mostrou que, em trabalhos futuros, talvez seja mais adequado procurar inicialmente propriedades com rebanhos que apresentem altas infestações por mosca-dos-chifres, pois os bioensaios com este parasito requerem um número grande de indivíduos adultos, enquanto as larvas para bioensaios com o carrapato-do-boi podem ser conseguidas com pequeno número de teleóginas. Desta forma, a procura deve priorizar a espécie mais difícil de ser encontrada em abundância. Além disto, há que se dispor de uma considerável quantia de recursos financeiros e estruturais para que se consiga visitar um grande número de propriedades. As visitas devem ser sempre agendadas com antecedência, como realizado no presente estudo, para evitar que os animais sejam tratados poucos dias antes das mesmas, inviabilizando as coletas.

Diante dos resultados iniciais, relatados no presente estudo, principalmente em relação aos fatores de resistência encontrados nos bioensaios com populações de mosca-dos-

chifres para o piretróide cipermetrina, o estudo da relação entre o desenvolvimento de resistência em uma espécie, devido ao controle feito para outra espécie, é um tema que merece atenção e deve ser abordado em trabalhos futuros.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, v. 18, n. 2, p. 265-267, 1925.

ALONSO-DIAZ, M. A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; FRAGOSO-SÁNCHEZ, H. *et al.* Resistência de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch. Med. Vet.*, v. 38, n. 2, p. 105-113, 2006.

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*. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 4, n. 2, p. 89-93, 1995.

ARREGUI, L. A.; LARANJA, R. J.; ARTECHE, C. C. P. Comparação "in vitro" de duas estirpes de *Boophilus microplus*, sensível e resistente, quanto ao seu comportamento frente ao Coumaphos 16 dado em concentração que inibe a postura viável de teleóginas em 50%: C.I.P.V 50. *Bol. Inst. Pesqui. Vet. Desidério Finamor*, v. 2, n. 2, p. 25-29, 1974.

ARTECHE, C. C. P. Contribuição ao estudo do combate ao *Boophilus microplus* no Rio Grande do Sul. *Bol. Inst. Pesqui. Vet. Desidério Finamor*, v. 1, n. 1, p. 74-80, 1972.

BARROS, A. T. M. General aspects of horn control and insecticide resistance with emphasis in Latin America. Redectopar, Conferencia Eletrônica 2004, Documentos. Disponível em: <http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/Conferencias/Hornflyresistance-ATMBarros1.pdf> Acessado em 20 mar 2011.

BARROS, A. T. M. Horn fly resistance to insecticides in South America: History and current status. In: INTERNATIONAL SEMINAR IN ANIMAL PARASITOLOGY, 5. 2003, Yucatán. **Anal...** Yucatan, 2003, p. 173-176.

BARROS, A. T. M. Desenvolvimento de *Haematobia irritans* em massas fecais de bovinos mantidas em laboratório. *Pes. Agropec. Bras.*, v. 37, n. 2, p. 217-221, 2002.

BARROS, A. T. M. Dynamics of *Haematobia irritans irritans* (Diptera: Muscidae) infestation on Nelore cattle in the Pantanal, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 96, n. 4, p. 445-450, 2001.

BARROS, A. T. M. **Recomendações para o controle da mosca-dos-chifres no Pantanal**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 1992.4p.(Embrapa Pantanal. Comunicado Técnico, 10).

BARROS, A. T. M.; ALISON, M. W.; FOIL, L. D. Evaluation of yearly insecticidal ear tag rotation for control of pyrethroid-resistant horn flies (Diptera: Muscidae). *Vet. Parasitol.*, v. 82, n. 4,p. 317-325, 1999.

BARROS, A. T. M.; CORRÊA, E. C.; RAVAGLIA, E. *et al.* **Aumento das infestações pela mosca-dos-chifres em bovinos Nelore no Pantanal Sul-Mato-Grossense**. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2008. 3p. (Embrapa Pantanal. Circular Técnica, 80).

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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 16, n. 3, p. 145-151, 2007.

BARROS, A. T. M.; GOMES, A.; ISMAEL, A. P. K. *et al.* Susceptibility to diazinon in populations of the horn fly, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), in Central Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 6, p. 905-907, 2002.

- BARROS, A. T. M.; OTTEA, J.; SANSON, D. *et al.* Horn fly resistance to organophosphates insecticides. *Vet. Parasitol.*, v. 96, n. 3, p. 243-256, 2001.
- BELLO, A. C. P. P. **A representação social do saber de trabalhadores rurais sobre o controle das parasitoses em propriedades produtoras de leite** 2010. 66f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- BIANCHI, M. W.; BARRÉ, N.; MESSAD, S. Factors related to cattle infestation level and resistance to acaricides in *Boophilus microplus* tick populations in New Caledonia. *Vet. Parasitol.*, v. 25, n. 11, p. 1-15, 2003.
- BIANCHIN, I.; KOLLER, W.; DETMANN, E. Sazonalidade de *Haematobia irritans* no Brasil Central. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 26, n. 2, p. 79-86, 2006.
- BRAGA, R. M.; BARROS, A. T. M. **Avaliação da susceptibilidade da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) a inseticida da classe dos piretróides em Roraima**. Boa Vista: Embrapa Roraima, 2003. 6p. (Embrapa Roraima. Comunicado Técnico, 10).
- BRASIL. Lei n. 6.514-22 dez. 1977. Da Consolidação das leis do trabalho, relativa à Segurança e Medicina do Trabalho. Brasília, 22 de dez. 1977. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6514.htm Acesso em: 30 abr 2011.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento (MAPA). Altera o Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. Instrução Normativa, n. 42 de 20 dez. 1999. **Diário Oficial da União**, Brasília, 22 dez. 1999, Seção 1, p. 213.
- BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento (MAPA). Aprova os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Instrução Normativa, n. 51 de 18 set. 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. 2002, Seção 1, p. 13.
- BRUCE, W. G. The history and biology of the horn fly, *Haematobia irritans* (Linnaeus); with comments on control. *NC. Agric. Exp. Stn. Tech. Bul.*, n. 157, p. 1-32, 1964.
- BURNS, E. C.; WILSON, B. H. Field resistance of horn flies to the organic phosphate insecticide Ronnel. *J. Econ. Entomol.*, v. 56, n. 5, p. 718, 1963.
- BYFORD, R. L.; QUISENBERRY, S. S.; SPARKS, T. C. *et al.* Spectrum of insecticide cross-resistance in pyrethroid-resistant populations of horn flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, v. 78, n. 1, p. 768-773, 1985.
- BYFORD, R. L.; CRAIG, M. E.; DeROUEN, S. M.; KIMBALL, M. D. *et al.* Influence of permethrin, diazinon, and ivermectin treatments on insecticide resistance in the horn fly (Diptera: Muscidae). *Int. J. Parasitol.* v. 29, p. 125-135, 1999.
- CABRERA-JIMENEZ, D.; RODRÍGUES-VIVAZ, R. I.; ROSADO-AGUILAR, J. A. Evaluación de la resistencia a la cipermetrina em cepas de campo de *Boophilus microplus* obtenidas de ranchos bovinos del estado de Yucatán, Mexico. *Téc. Pecu. Méx.*, v. 46, n. 4, p. 439-448, 2008.
- CAMILLO, G.; VOGEL, F. F.; SANGIONI, L. A. *et al.* Eficiência *in vitro* de acaricidas sobre carrapatos de bovinos do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciênc. Rural*, v. 39, n. 2, p. 490-495, 2009.

- CAMPOS JUNIOR, 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. *Ciênc. Rural*, v. 35, n. 6, p. 1386-1392, 2005.
- 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. *Vet. Parasitol.*, v. 173, n. 4, p. 300-306, 2010.
- CHEN, A. C.; HE, H.; TEMEYER, K. B. *et al.* A survey of *Rhipicephalus microplus* populations for mutations associated with pyrethroid resistance. *J. Econ. Entomol.*, v. 102, n. 1, p. 373-380, 2009.
- CILEK, J. E.; DAHLMAN, D. L.; KNAPP, F. W. Possible mechanism of diazinon negative cross-resistance in pyrethroid resistant horn flies (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, v. 88, n. 3, p. 520-524, 1995.
- COLLARES, N. C. P. **Biologia da *Haematobia irritans* em Roraima.** 1990. 67f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- COMPÊNDIO de produtos veterinários, 2009. SINDAN. Disponível em: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html> Acesso em: 01 abr. 2011.
- COSTA, A. L. **Bioecologia de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acarina: Ixodidae) no Estado do Rio de Janeiro:** ovoposição e sazonalidade. Considerações preliminares. 1982. 17f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí.
- CUNHA, A. P. **Controle integrado de parasitos em bovinos de leite.** 2011. 80f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- DEVONSHIRE, A. L.; FIELD, L. M. Gene amplification and insecticide resistance. *Annu. Rev. Entomol.*, v. 36, p. 1-23, 1991.
- DIES, K. H.; PRITCHARD, J. Bovine stephanofilarial dermatitis in Alberta. *Can. Vet. J.*, v. 26, n. 11, p. 361-362, 1985.
- DOMINGUES, L. N.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P. *et al.* Epidemiologia das principais parasitoses de bovinos no Brasil Central. Parte II: controle estratégico de parasitos. *V&Z em Minas*, v. 8, n. 1, p. 27-37, 2008.
- DONG, K. Insect sodium channels and insecticide resistance. *Invert. Neurosci.*, v. 7, n. 1, p. 17-30, 2007.
- DRUMMOND, R. O.; ERNST, S. E.; TREVINO, J. L. *et al.* *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: laboratory tests of insecticides. *J. Econ. Entomol.*, v. 66, n. 1, p. 130-133, 1973.
- FARIAS, N. M.; RUAS J. L.; SANTOS, T. R. B. Análise da eficácia de acaricidas sobre o carrapato *Boophilus microplus*, durante a última década, na região do Rio Grande do Sul. *Ciênc. Rural*, v. 38, n. 6, p. 1700-1704, 2008.
- FREIRE, J. J. Arseno e cloro-resistência e emprego do Tiofosfato de Dietilparanitrofenila (parathion) na luta anticarrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888). *Bol. Dir. Prod. Anim.*, v. 9, n. 1, p.3-31, 1953.
- FREIRE, J. J. Carrapato resistente as banhações carrapaticidas no Rio Grande do Sul. *Bol. Dir. Prod. Anim.*, v. 13, n. 1, p. 62-83, 1956.
- FUKUTO, T. R. Mechanism of Action of Organophosphorus and Carbamate Insecticides. *Environ. Health Perspect.*, v. 87, n. 1, p. 245-254, 1990.
- FURLONG, J. Controle do carrapato-dos-bovinos na região sudeste do Brasil. *Cad. Tec. Esc. Vet. UFMG*, n. 8, p. 49-61, 1993.

- FURLONG, J.; MARTINS, J. R. S.; PRATA, M. C. A. **Carrapato-dos-bovinos: controle estratégico nas diferentes regiões brasileiras.** Juiz de Fora: CNPGL-EMBRAPA, 2003. 6p. (Embrapa Gado de Leite. Comunicado Técnico, 36).
- FURLONG, J.; MARTINS, J. R. S. **Resistência dos carrapatos aos carrapaticidas.** Juiz de Fora: CNPGL-EMBRAPA, 2000. 25p. (Embrapa Gado de Leite. Circular Técnica, 59)
- GARCÍA, C. A.; COVARRUVIAS, A. T.; FLORES, A. V. *et al.* Horn fly (*Haematobia irritans*) resistance to cypermethrin and diazinon in the state of Tamaulipas. *Vet. Mex.*, v. 35, n. 3, p. 237-244, 2004.
- GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.*, v. 70, n. 3, p. 319-323, 1977.
- GIRÃO, E. S.; JUNIOR, L. M. C.; BRANCO, R. A. C. *et al.* Suscetibilidade da mosca-dos-chifres (Diptera: Muscidae) a inseticidas no Piauí e Maranhão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** 2002. CD-ROM.
- GOMES, A. M. R.; HONER, M. R.; SCHENK, M. A. M. *et al.* Populations of the cattle tick *Boophilus microplus* on purebred Nellore, Ibage and Nellore x European crossbreeds in the Brazilian Savanna. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 21, n. 1, p. 20-24, 1989.
- GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi.** 2.ed. Porto Alegre: J. C. Gonzales, 1995. 80p.
- GRILLO, J. M.; GUTIERREZ, R. O. Método para medir la actividad de los acaricidas sobre larvas de garrapata. Evaluación de sensibilidad. *Rev. Invest. Agropecu. Ser. 4. Patol. Anim.*, v. 6, n. 14, p. 135-158, 1969.
- GRISI, L.; MASSARD, C. L.; MOYA BORJA, G. E. *et al.* Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *Hora Vet.*, ano 21, n. 125, p. 8-10, 2002.
- GUARAGNA, G. P.; CARVALHO, J. B. P.; GAMBINI, L. B. *et al.* Resistência comparativa de tourinhos das raças holandesa e Mantiqueira à infestação artificial de carrapatos (*B. microplus*, CANESTRINI) em bovinos leiteiros. *B. Indústria Anim.*, v. 49, n. 2, p. 73-82, 1992.
- GUERRERO, F. D.; JAMROZ, R. C.; KAMMLAH, D. *et al.* Toxicological and molecular characterization of pyrethroid-resistant horn flies *Haematobia irritans*: identification of kdr and super kdr point mutations. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, v. 27, n. 9, p. 745-755, 1997.
- 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). *J. Med. Entomol.* v. 38, n. 1, p. 44 – 50, 2001.
- GUGLIELMONE, A. A.; CASTELLI, M. E.; VOLPOGNI, M. M. *et al.* Toxicity of cypermethrin and diazinon to *Haematobia irritans* in its American southern range. *Vet. Parasitol.*, v. 101, n. 1, p. 67-73, 2001.
- GUGLIELMONE, A. A.; KUNZ, S. E.; VOLPOGNI, M. M. *et al.* Diagnóstico de poblaciones de la *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) resistentes a la cipermetrina em Santa Fe, Argentina. *Rev. Med. Vet.*, v.79, n. 5, p. 353-356, 1998.
- GUIDELINES resistance management and integrated parasite control in ruminants. Roma: Food and agriculture organization of the United Nations, 2004.53p.
- HATANO, R.; SCOTT, J. G.; DENNEHY, T. J. Enhanced activation is the mechanism of negative cross-resistance to clorpyrifos in the dicofol-IR strain of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.*, v. 85, n. 4, p. 1088 – 1091, 1992.

- HE, H.; CHEN, A. C.; DAVEY, R. B. *et al.* Identification of a point mutation in the *para*-type sodium channel gene from a pyrethroid-resistant cattle tick. *Biophys. Res. Commun.*, v. 261, n. 3, p. 558-561, 1999.
- HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES A. **Mosca-dos-chifres: histórico, biologia e controle.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1991, 34p. (Embrapa Gado de Corte. Documentos, 45)
- HONER, M. R.; BIANCHIN, I.; GOMES A. **Programa de controle da mosca-dos-chifres. I. Brasil Central.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1990, 3p. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico, 34).
- JONSSON, N. N.; CUTULLÈ, C.; CORLEY, S. W. *et al.* Identification of a mutation in the *para*-sodium channel gene of the cattle tick *Rhipicephalus microplus* associated with resistance to flumethrin but not to cypermethrin. *Inter. J. Parasitol.*, v. 40, n. 14, p. 1659–1664, 2010.
- JONSSON, N. N.; MAYER, D. G.; GREEN, P. E. Possible risk factors on Queensland dairy farms for acaricide resistance in cattle tick (*Boophilus microplus*). *Vet. Parasitol.*, v. 88, n. 1, p. 79-92, 2000.
- KLAFKE, G. M.; SABATINI, G.; DE ALBUQUERQUE, T. A. *et al.* Larval immersion tests with ivermectin populations of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from state of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 142, n. 4, p. 386 – 390, 2006.
- KOLLER, W. W.; GOMES, A.; BARROS, A. T. M. **Diagnóstico da resistência do carrapato-do-boi a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul.** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2009, 47p. (Embrapa Gado de Corte. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 25).
- KUMAR, S.; THOMAS, A.; SAHGAL, A. *et al.* Effect of the synergist, piperonyl butoxide, on the development of deltamethrin resistance in yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, v. 50, n. 1, p. 1–8, 2002.
- KUMARACHI, K. Ovipositional Behavior of the Horn Fly (Diptera: Muscidae) in the Field. *J. Med. Entomol.*, v.37, n. 3, p. 461-466, 2000.
- KUNZ, S. E.; ORTIZ ESTRADA, M.; FRAGOZO SANCHES, H. Status of *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) insecticide resistance in northeastern Mexico. *J. Med. Entomol.*, v. 32, n. 5, p. 726-729, 1995.
- LARANJA, R. J.; MARTINS, J. R.; CERESÉR, V. H. 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: CBPV, 1989. p. 83.
- LEITE, R. C. Epidemiologia e controle da mosca-dos-chifres. In: ENCONTRO INTEGRADO DE MÉDICOS VETERINÁRIOS DA ZONA DA MATA – MG, 1., 2000, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: 2000. p.25-28.
- LEITE, R. C. ***Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) susceptibilidade, uso atual e retrospectivo de carrapaticidas em propriedades das regiões fisiogeográficas da Baixada do Grande Rio e Rio de Janeiro: uma abordagem epidemiológica.** 1988. 151f. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária) – Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica.
- LEITE, R. C.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P. *et al.*, Controle dos ectoparasitos em bovinocultura de corte. In: PIRES, A. V. ***Bovinoicultura de corte.*** Piracicaba: FEALQ, 2010, v. 2, 59, p. 1171–1196.

- LI, A. Y. Status of resistance to acaricides in Mexican strains of the southern cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Resist. Pest Manag. Newsl.*, v. 13, p. 7 – 12, 2004.
- LI, A. Y.; DAVEY, R. B.; MILLER, R. J. *et al.* Genetics and mechanisms of permethrin resistance in the Santa Luiza strain of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 45, n. 3, p. 427-438, 2008.
- LI, A. Y.; LOHMEYER, K. H.; MILLER, J. A. Dynamics and mechanism of permethrin resistance in a field population of the horn fly, *Haematobia irritans irritans*. *Insect Science*, v. 16, n. 2, p. 175 – 184, 2009.
- LIMA, W. S.; RIBEIRO, M. F.; GUIMARÃES, M. P. Seasonal variation of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) in cattle in Minas Gerais state, Brazil. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 32, n. 6, p. 375-380, 2000.
- LYSYK, T. J. Simulating development of immature horn flies, *Haematobia irritans irritans* (L.) (Diptera: Muscidae), in Alberta. *Can. Entomol.*, v. 124, n. 5, p. 841-851, 1992.
- MAGALHÃES, F. E. P. **Aspectos biológicos e de controle do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) no município de Pedro Leopoldo-MG, Brasil.** 1989. 117f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- MAGALHÃES, F. E. P.; LIMA, J. D. Controle estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em bovinos da região de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.43, n.5, p.423-431, 1991.
- MARQUES, L.; MOON, R.; CARDOZO, H. *et al.* Primer diagnóstico de resistencia de *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae) em Uruguay. Determinación de susceptibilidad a cipermetrina y diazinón. *Veterinaria Montev.*, v. 33, n. 133, p. 20-23, 1997.
- MARTINS, J. R.; FURLONG, J. Avermectin resistance of the cattle tick *Boophilus microplus* in Brazil. *Vet. Rec.*, v. 149, n. 2, p. 64, 2001.
- MARTINS, J. R.; PORCIÚNCULA, J. A.; VIEIRA, M. I. B. Dinâmica populacional da mosca-dos-chifres, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae), em São Gabriel, região centro-oeste do Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 11, n. 2, p. 99-101, 2002.
- MCDUFFIE, W. C. Current status of insecticide resistance in livestock pests. *Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.*, v. 2, p. 49-54, 1960.
- MCLINTOCK, J.; DEPNER, K. R. A review of the life-history and habits of the horn fly, *Siphona irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). *Can. Entomol.*, v. 86, n. 1, p. 20-33, 1954.
- MENDES, J.; LINHARES, A. X. Diapause, pupation sites and parasitism of the horn fly, *Haematobia irritans*, in south-eastern Brazil. *Med. Vet. Entomol.*, v. 1, n. 13, p. 185-190, 1999.
- MENDES, M. C.; DUARTE, F. C.; RUIZ, V. L. A. Identification of pyrethroid resistance by a sodium channel mutation in population of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) collected from São Paulo, Brazil. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF ACAROLOGY, 23, 2010, Recife. **Anais...** Recife: 2010. p. 152.
- MENDES, M. C.; LIMA, C. K. P.; NOGUEIRA, A. H. C. *et al.* Resistance to cypermethrin, deltamethrin and chlorpyrifos in populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) from small farms of the state of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 178, n. 4, p. 383-388, 2011.
- MENDES, M. C.; PEREIRA, J. R.; PRADO, A. P. Sensitivity of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to pyrethroids and organophosphates in farms in the Vale do Paraíba Region, São Paulo, Brazil. *Arq. Inst. Biol.*, v. 74, n. 2, p. 81-85, 2007.

- MENDES, M. C.; PINTO LIMA, C. K; PEREIRA, J. R. Práticas de manejo para controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) em propriedades localizadas na região de Pindamonhangaba, Vale do Paraíba, São Paulo. *Arq. Inst. Biol.*, v. 75, n. 3, p. 371-373, 2008.
- MERCADO Veterinário, 2009. SINDAN. Disponível em: <http://www.sindan.org.br/sd/sindan/index.html> Acesso em: 27 mar. 2011
- MILLER, J. R.; RENTARIA, J. A. E.; MARTINEZ, H. Q. *et al.* Characterization of Permethrin-Resistant *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) Collected from the State of Coahuila, Mexico. *J. Med. Entomol.*, v. 44, n. 5, p. 895-897, 2007
- MIYAKAWA, V. I; REIS, A. C. F.; LISBÔA, J. A. N. Aspectos epidemiológicos e clínicos da estefanofilariose em vacas leiteiras e comparação entre métodos de diagnóstico. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 29, n. 11, p. 887-893, 2009.
- MORGAN, J. A. T., CORLEY, S. W., JACKSON, L. A. *et al.* Identification of a mutation in the *para*-sodium channel gene of the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* associated with resistance to synthetic pyrethroid acaricides. *Inter. J. Parasitol.*, v. 39, n. 7, p. 775-779, 2009.
- NOLAN, J.; WILSON, J. T.; GREEN, P. E; BIRD, P. E. Synthetic pyrethroid resistance in field samples in the cattle tick (*Boophilus microplus*). *Aust. Vet. J.*, v. 66, n. 6, p. 179-182, 1989.
- NUÑES, J. L.; COBEÑAS, M. E. M.; MOLTEDO, H. L. ***Boophilus microplus*, La garrapata comun del ganado vacuno.** Buenos Aires: Hemisferio Sur, 1982. 184p.
- OLIVEIRA, A. A. A.; AZEVEDO, H. C. Resistência do carrapato *Boophilus microplus* a carrapaticidas em bovinos de leite na região dos tabuleiros costeiros de Sergipe. *Rev. Cient. Rural*, v. 7, n. 2, p. 64-71, 2002.
- OLIVEIRA, A. A. A.; AZEVEDO, H. C.; MELO, C. B. *et al.* Susceptibilidade da mosca-dos-chifres (*Haematobia irritans*) a inseticidas nos tabuleiros costeiros de Alagoas, Bahia e Sergipe, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 15, n. 2, p. 65-70, 2006.
- OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos de seis graus de sangue Holandes-Guzerá ao carrapato (*Boophilus microplus*) e ao berne (*Dermatobia hominis*). *Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.*, v. 42, n. 2, p.127-135, 1990.
- OLIVEIRA, G. P.; COSTA, R. P.; MELLO, R. P.; MENEGUELLI, C. A. Estudo ecológico da fase não parasitária do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) no Estado do Rio de Janeiro. **Arq. Univ. Fed. Rural Rio J.**, v. 4, n. 1, p.1-10, 1974.
- OLIVEIRA, G. P.; FREITAS, A. R. Comportamento da *Haematobia irritans* em fazendas com diferentes manejos de bovinos. *Ciênc. Rural*, v. 27, n. 2, p. 279-284, 1997.
- OLIVEIRA, P. R. **Controle estratégico do *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) em bovinos de propriedades rurais dos municípios de Lavras e Entre Rio de Minas – Minas Gerais.** 1993. 97f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- OLIVEIRA, T. C. G.; PATARROYO, J. H.; MASSARD, C. L. Susceptibilidade de amostras de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887), do Rio de Janeiro, Brasil, à carrapaticidas organofosforados, *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 38, n. 2, p. 205-214, 1986.
- OYARZÚN, M. P.; LI, A. Y.; FIGUEROA, C. C. High levels of insecticide resistance in introduced horn fly (Diptera: Muscidae) populations and implications for management. *J. Econ. Entomol.*, v. 104, n. 1, p. 258-265, 2011.

- PATARROYO, J. H.; COSTA, J. O. Susceptibility of Brazilian samples of *Boophilus microplus* to organophosphorus acaricides. *Trop. Anim. Health Prod.*, v. 12, n. 1, p. 6-10, 1980.
- 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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 15, n. 2, p. 45-48, 2006.
- PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J. *et al.* **Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência.** São Paulo: MedVet, 2008. 169p.
- PESQUISA da pecuária municipal [s.L.]: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2009. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pesquisas/ppm/default.asp> Acesso em: 01 abr. 2011.
- PITTENDRIGH, B.; REENAN, R.; FFRENCH-CONSTANT, R. H. *et al.* Point mutations in the *Drosophila* sodium channel gene para associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, v. 256, n. 6, p. 602-610, 1997.
- POLO-PC a user's guide to probit or logit analysis.** Berkeley: LeOra Software, 1987, 22p.
- PRUETT, J. H. Comparative inhibition kinetics for acetylcholinesterases extracted from organophosphate resistant and susceptible strains of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Econ. Entomol.*, v. 95, n. 6, p. 1239-1244, 2002.
- PRUETT, J. H.; OEHLER, D. D.; KAMMLAH, D. M. *et al.* Evaluation of horn flies (Diptera: Muscidae) from a pyrethroid susceptible colony for general and permethrin esterases activities. *J. Econ. Entomol.*, v. 93, n. 3, p. 920-924, 2000.
- QUISENBERRY, S. S.; LOCKWOOD, J. A.; BYFORD, R. L. *et al.* Pyrethroid resistance in the horn fly, *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, v. 77, n. 5, p. 1095-1098, 1984.
- RILEY, C.V. The horn-fly. *Insect Life.*, v. 2, p. 93-103, 1889.
- ROCHA, C. M. B. M.; OLIVEIRA, P. R.; LEITE, R. C. *et al.* Percepção dos produtores de leite do município de Passos, MG, sobre o carrapato *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae), 2001. *Ciênc. Rural*, v. 36, n. 4, p. 1235-1242, 2006.
- RODRIGUES, S. R.; SANCHES C. S.; FIALHO, E. M. L. M. *et al.* **Comercialização e uso de produtos inseticidas para controle da mosca-dos-chifres em Aquidauana, MS.** Corumbá: Embrapa Pantanal, 2004. 23p. (Embrapa Pantanal. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 32).
- RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; ALONSO-DIAZ, M. A.; RODRIGUEZ-AREVALO, F. R. *et al.* Prevalence and potencial risk factors for organophosphate and pyrethroid resistance in *Boophilus microplus* ticks on cattle ranches from the state of Yucatan, Mexico. *Vet. Parasitol.*, v. 136, n. 4, p. 335-342, 2006.
- RODRÍGUEZ, Z.; LEITE, R. C.; FACCINI, J. L. H. *et al.* First report of *Haematobia irritans* (L.) (Diptera: Muscidae) as vector of *Dermatobia hominis* (L.Jr) (Diptera: Cuterebridae) in Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 93, n. 6, p. 747-748, 1998.
- ROSARIO-CRUZ, R.; GUERREO, F. D.; MILLER, R. J. *et al.* Molecular survey of pyrethroid resistance mechanisms in Mexican field populations of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *Parasitol. Res.*, v. 105, p. 1145-1153, 2009.
- ROUSCH, R. T.; MCKENZIE, J. A. Ecological genetics of insecticide and acaricide resistance. *Ann. Rev. Entomol.*, v. 32, p. 361-380, 1987.

- SABATINI G. A.; RIBOLLA, P. E. M.; BARROS, A. T. M.; *et al.*, Knockdown resistance in pyrethroid-resistant horn fly (Diptera: Muscidae) populations in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 18, n. 3, p. 8-14, 2009.
- SANTOS JÚNIOR, J. C. B.; FURLONG, J.; DAEMON, E. Controle do carrapato *Boophilus microplus* (ACARI: IXODIDAE) em sistemas de produção de leite da Microrregião Fisiográfica Fluminense do Grande Rio – Rio de Janeiro. *Ciênc. Rural*, v. 30, n. 2, p. 305-311, 2000.
- SANTOS, T. R. B.; FARIAS, N. A. R.; FILHO, N. A. C. *et al.* Abordagem sobre o controle do carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* no sul do Rio Grande do Sul. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 28, n. 1, p. 65-70, 2009.
- SAUERESSIG, T. M. Dinâmica populacional da mosca-dos-chifres *Haematobia irritans* em uma área do Distrito Federal. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA EM LÍNGUA PORTUGUESA, 6., 1993, Salvador. **Anais...** Salvador: 1993. p. 344-345.
- SAUERESSIG, T. M.; BARROS, A. T. M. **Diagnóstico da susceptibilidade de populações de mosca-dos-chifres a inseticidas em Goiás, Tocantins e Distrito Federal.** Planaltina/DF: Embrapa Cerrados, 2003. 16p. (Embrapa Cerrados, Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 82).
- SCHREIBER, E. T.; CAMPBELL, J. B. Horn fly (Diptera: Muscidae) distribution on cattle as influenced by host color and time of day. *Environ. Entomol.*, v. 15, p. 1307-1309, 1986.
- SCOTT, J. A. The molecular genetics of resistance: resistance as a response to stress. *Fla. Entomol.*, v. 78, n. 3, p. 399-414, 1995.
- SHAW, R. D. Culture of an organophosphorus-resistant strain of *Boophilus microplus* (Can.) and an assessment of its resistance spectrum. *Bull. Ent. Res.*, v. 56, p. 389-405, 1966.
- SHEPPARD, D. C. Oxidative metabolic resistance to cyanopyrethroids in the horn fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.*, v. 88, n. 6, p. 1531-1535, 1995.
- SHEPPARD, D. C.; HINKLE, N. C. A field procedure using disposable materials to evaluate horn fly insecticide resistance. *J. Agric. Entomol.*, v. 4, n. 1, p. 87-89, 1987.
- SHEPPARD, D. C.; JOYCE, J. A. High levels of pyrethroid resistance in horn flies (Diptera: Muscidae) selected with cyalothrin. *J. Econ. Entomol.*, v. 85, n. 5, p. 1587-1593, 1992.
- SILVA, M. C. L.; SOBRINHO REINALDO, N.; LINHARES, G. F. C. Avaliação "in vitro" da eficácia do clorfenvinfós e da cialotrina sobre *Boophilus microplus* colhidos em bovinos da bacia leiteira da microrregião de Goiânia, Goiás. *Cienc. Anim. Bras.*, v. 1, n. 2, p. 143-148, 2000.
- SILVA, M. C. L.; SOBRINHO REINALDO, N.; LINHARES, G. F. C. Estudo da eficácia *in vitro* do amitraz e da deltametrina como carrapaticida no controle de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na bacia leiteira da microrregião de Goiânia – Goiás. *An. Esc. Agron. Vet. Univ. Fed. Goiás*, v. 27, n. 2, p. 21-25, 1997.
- SOBRINHO REINALDO, N.; SILVA, M. C. L.; LINHARES, G. F. C. Avaliação antiixodídica de diazinon, coumafós e cipermetrina, através de testes *in vitro*, sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) na bacia leiteira da microrregião de Goiânia – Goiás. *An. Esc. Agron. Vet. Univ. Fed. Goiás*, v. 27, n. 2, p. 13-19, 1997.
- SODERLUND, D. M.; KNIPLE, D. C. The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, v. 33, n. 6, p. 563-577, 2003.

- SOUZA, A. P.; BELLATO, V.; RAMOS, C. I. *et al.* Variação sazonal de *Haematobia irritans* no planalto catarinense e eficiência do controle dirigido. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 14, n. 1, p. 11-15, 2005.
- SOUZA, A. P.; GONZALES, J. C.; RAMOS, C. I. *et al.* Variação sazonal de *B. microplus* no Planalto Catarinense. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 23, n. 6, p.627-630, 1988.
- SOUZA, A. P.; PALOSCHI, C. G.; BELLATO, V. *et al.* **Susceptibilidade do carrapato a carrapaticidas em diferentes propriedades do Planalto Catarinense.** Florianópolis: Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária, 1984, 9p. (Empresa Catarinense de Pesquisa Agropecuária, Comunicado Técnico, 72)
- STONE, B. F. The genetics of resistance by ticks to acaricides. *Aust. Vet. J.*, v. 48, n. 6, p. 345-350, 1972.
- STONE, B. F.; HAYDOCK, K. P. A method for measuring the acaricide susceptibility of the cattle *B. microplus* (Can.). *Bull. Entomol. Res.*, v. 53, n. 3, p. 563-578, 1962.
- TAN, J.; LIU, Z.; WANG, Z. Y. *et al.* Identification of aminoacid residues in the insect sodium channel critical for pyrethroid binding. *Mol. Pharmacol.*, v. 67, n. 2, p. 513 – 522, 2005.
- VALÉRIO, J. R.; GUIMARÃES, J. H. Sobre a ocorrência de uma nova praga, *Haematobia irritans* (L) (Diptera: Muscidae) no Brasil. *Rev. Bras. Zool.*, v. 1, n. 4, p. 417-418, 1983.
- VARGAS, M. S.; CÉSPEDES, N. S.; SÁNCHEZ, H. F. *et al.* Avaliação *in vitro* de uma cepa de campo de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) resistente a amitraz. *Ciênc. Rural*, v. 33, n. 4, p. 737-742, 2003.
- VERÍSSIMO, C. J.; OTZUK, I. P.; DEODATO, A. P. *et al.*, Infestação por carrapatos *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em vacas Gir, Holandesa e mestiça sob pastejo. *Arq. Inst. Biol.*, v. 69, p. 87-89, 2002.
- VIEIRA-BRESSAN, M. C. R.; OLIVEIRA, R. O.; DOS SANTOS, A. P. Determination of LD₅₀ and LD₉₉ in two susceptible strains of *Boophilus* for larval resistance tests. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 8, n. 2, p. 119-126, 1999.
- WANG, S. I.; BARLIE, M.; WANG, G. K. A phenyl-alanine residue at segment D3-S6 in Nav1.4 voltage-gated Na⁺ channels is critical for pyrethroid action. *Mol. Pharmacol.*, v. 60, n. 3, p. 620-628, 2001.
- WILLIAMSON, M. S.; MARTINEZ-TORRES, D.; HICK, C. A. *et al.* Identification of mutations in the housefly *para*-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen Genet.* v. 252, n. 1, p. 51-60, 1996

3. Barrage Alfa Pour On	7. Controller BCN <i>Pour-on</i>	11. Flytion <i>Pour-on</i>
4. Baytcol <i>Pour-on</i>	8. Controller CTO Puor-On	12. TopLine <i>Pour-on</i>
19. usa rotineiramente produtos <i>pour-on</i> ?		
20. Se sim, quando utiliza estes produtos?		
21. Muda os produtos?		
1. Sim	2. Não	
22. Se sim, por quê?		
1. Perda de eficiência	3. Acha importante trocar	
2. Troca por mais barato	4. Não sei	
23. Caso, na questão 22, a resposta seja alternativa 1, para quais produtos já percebeu perda de eficiência?		
24. Caso, na questão 22, a resposta seja alternativa 1, quais as causas para a perda de eficiência?		
1. Carrapato acostuma	4. Outros	
2. Má aplicação		
3. Problema de fabricação do produto		
25. Onde são realizados os tratamentos dos animais?		
1. Brete	2. Soltos no curral	3. Tronco
4. Outro		
26. Quantos animais são tratados em um mesmo dia?		
1. Todos	2. Por lote	3. Mais infestados
4. Outros		
27. Costuma usar formulações “próprias” ou misturas “domésticas”?		
1. Sim		2. Não
28. Se sim, quais formulações?		
29. Faz uso de EPI (equipamento de proteção individual) quando trata os animais?		
1. Sim		2. Não
3. As vezes		
30. Quais equipamentos utiliza?		
1. Luvas	2. Máscaras	3. Roupa
4. Tudo		
31. Qual a fonte de informação dos métodos de controle dos carrapatos e mosca?		
1. Veterinário	4. Vizinhos ou amigos	
2. Revistas	5. Balconista	
3. Vizinhos ou amigos	6. Outros	
32. Critérios para escolha do inseticida?		
1. Preço	5. Escolha do dono	
2. Eficácia	6. Princípio Ativo	
3. Modo de aplicação	7. Período de Carência	
4. Indicação		
33. Caso na resposta anterior, a resposta tenha sido a alternativa 4, quem faz a indicação do produto?		
1. Veterinário	3. Balconista	
2. Vizinhos ou amigos	4. Não sei	
34. Onde adquire o produto?		
35. Propriedade tem assessoria de um veterinário?		
1. Sim		2. Não
36. Se sim, com que frequência?		
1. Rotineiramente	3. Somente em casos de necessidade	
2. Mensalmente	4. Não sei	
37. Controle do berne e bicheira		
38. Vermifugação (produtos):		
39. Outras informações:		

ANEXO II



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma. Em caso de dúvida você pode procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG Av. Antônio Carlos, 6627 – Unidade Administrativa II – 2º andar – sala 2005 – CEP.: 31270-901 – BH – MG pelo Tel: (31) 3409-4592 – e-mail: coep@prpq.ufmg.br.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Título do Projeto: **Diagnóstico da resistência interespecífica em *Haematobia irritans irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em decorrência da utilização de ectoparasiticidas na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais.**

Pesquisador Responsável: Romário Cerqueira Leite

Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): (31) 3409-2098

Pesquisadores participantes: Romário Cerqueira Leite

Luísa Nogueira Domingues

Telefones para contato: (31) 3409-2098

Este trabalho tem como principal objetivo diagnosticar resistência interespecífica em *Haematobia irritans* (mosca-dos-chifres) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (carrapato dos bovinos) em decorrência da utilização de ectoparasiticidas na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais. Os resultados encontrados serão de grande valia para que se proponha novas estratégias de controle que contribuam para maximizar a eficiência dos tratamentos, reduzam os problemas de resistência, o uso abusivo de pesticidas, os gastos exacerbados com antiparasitários e os resíduos no ambiente e em alimentos.

Como parte da execução do projeto, serão aplicados questionários junto aos trabalhadores rurais diretamente envolvidos com a rotina de controle parasitário das propriedades selecionadas para o projeto. Todas as informações recolhidas através da aplicação de questionários durante o trabalho serão sigilosas e sem identificação do nome do trabalhador e da propriedade. Além disso, não haverá qualquer custo por parte dos indivíduos da pesquisa pela participação no projeto.

Os questionários tem duração máxima de 30 minutos e está garantido sigilo de todas as informações e a ausência de qualquer prejuízo para o entrevistado. Está também garantida a possibilidade do entrevistado poder retirar seu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de seu acompanhamento/assistência/tratamento.

Romário Cerqueira Leite

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu, _____, portador da carteira de identidade nº _____ e CPF _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo **Diagnóstico da resistência interespecífica em *Haematobia irritans irritans* (Linnaeus, 1758) (Diptera: Muscidae) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em decorrência da utilização de ectoparasiticidas na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais**, como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelos pesquisadores Romário Cerqueira Leite ou Luísa Nogueira Domingues sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve à qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/assistência/tratamento.

Local e data _____

Nome e Assinatura do sujeito ou responsável:

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e aceite do sujeito em participar

Testemunhas (não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

Observações complementares



ANEXO III

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

Parecer nº. ETIC 592/08

Interessado(a): Prof. Romário Cerqueira Leite
Depto. Medicina Veterinária Preventiva
Escola de Veterinária - UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 03 de dezembro de 2008, o projeto de pesquisa intitulado **"Dianóstico da resistência interespecífica em Haematobia irritans irritans (Linnaeus, 1758) (Díptera: Muscidae) e Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em decorrência da utilização de ectoparasiticidas na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais"** bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG

ANEXO IV

Bicheira	Frequência	%
Bezerros ao nascer e com dois meses de idade, aplica Dectomax	1	4,35
Dectomax no bezerro quando nasce e Matabicheira Azul nas outras categorias, quando tem bicheira	1	4,35
Formol, Creolin, Sulfato de zinco, Lepecid	1	4,35
Ivomec e matabicheira	1	4,35
Lava e aplica TopLine, Matabicheira Azul e Tanidil	1	4,35
Lava, tira as larvas, aplica óleo queimado com Neguvon	1	4,35
Lava, tira as larvas, aplica algum mata bicheira. Nos bezerros aplica dectomax ao nascer	2	8,70
Lepecid Aerosol	1	4,35
Lepecid ou Dectomax	1	4,35
Lepecid ou Tanidil	1	4,35
Limpa com Iodo e água, tira as larvas, aplica Matabicheira Azul	1	4,35
Limpa com Iodo, retira as larvas, coloca Lepecid	1	4,35
Aplica algum mata bicheira	6	26,09
Matabicheira da Fort Dodge com Facthal e Lepecid	1	4,35
Neguvon com óleo queimado e creolin	1	4,35
Lepecid com Creolin, lava, tira as larvas, aplica Iodo com Tanidil e pomada com unguento e terramicina	1	4,35
TopLine ou Bactrovet	1	4,35
Total de citações	23	100