



**AValiação DA RESISTÊNCIA A PIRETRÓIDES ASSOCIADA A PRESENÇA DAS MUTAÇÕES C190A E T2134A NO CANAL DE SÓDIO DO CARRAPATO *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.**

Ana Livia Alves Batista **Rodrigues**<sup>1</sup>; Deborah Mirela de Melo **Romano**<sup>2</sup>; Fernanda Calvo **Duarte**<sup>3</sup>; Leonardo Costa **Fiorini**<sup>4</sup>, Márcia Cristina **Mendes**<sup>5</sup>.

**Nº 22805**

**RESUMO** – O carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é a espécie de carrapato mais encontrada no Brasil, causando prejuízos estimados em mais de 3 milhões de dólares anuais. Uma das formas mais eficazes de combater esse parasita é a partir do controle químico com carrapaticidas. Os piretróides fazem parte de uma das classes de compostos químicos empregados no combate desses parasitas, porém existem muitos trabalhos evidenciando o desenvolvimento de mutações no gene codificador do canal de sódio, que geram cepas de *R. microplus* resistentes a carrapaticidas dessa classe. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resistência aos piretróides cipermetrina e flumetrina em larvas provenientes de uma única fêmea de *R. microplus* através a dose diagnóstica (DD) e verificar a presença das mutações C190A e T2134A no canal de sódio das fêmeas que apresentarem alta resistência aos piretróides. Os resultados obtidos mostraram que 70% das amostras analisadas apresentou resistência alta para a cipermetrina e a flumetrina. Teste com larvas provenientes de uma única fêmea de *R. microplus* contribuiu para o conhecimento do perfil da população e o processo de resistência, devido a presença de população homogênea ou heterogênea. O resultados moleculares com dez fêmeas com porcentagens de mortalidade abaixo de 20% para verificar a presença das mutações C190A e T2134A no canal de sódio foi inconclusivo com reações inespecíficas após vários ensaios. O uso da dose diagnóstica com larvas provenientes de uma única fêmea é um meio que pode favorecer o monitoramento da resistência com a mudança imediata do grupo químico carrapaticida.

**Palavras-chaves:** Controle químico, Dose diagnóstica, Carrapato dos bovinos.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Paulista - UNIP, São Paulo-SP; anarodrigues6962@gmail.com

2 Colaborador, Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Anhembi Morumbi, São Paulo-SP.

3 Colaborador: Pesquisador do Instituto Biológico, São Paulo-SP.

4 Colaborador: Pesquisador do Instituto Biológico, São Paulo-SP.

5 Orientador: Pesquisador do Instituto Biológico, São Paulo-SP; leonardo.fiorini@sp.gov.br



**ABSTRACT** – The tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* is the most common tick species in Brazil, causing losses estimated at more than 3 million dollars annually. One of the most effective ways to combat this parasite is through chemical control with ticks. Pyrethroids are part of one of the classes of chemical compounds used to combat these parasites, but there are many studies showing the development of mutations in the gene encoding the sodium channel, which generate *R. microplus* strains resistant to ticks of this class. The objective of this work was to evaluate the resistance to the pyrethroids cypermethrin and flumethrin in larvae from a single female of *R. microplus* through the diagnostic dose (DD) and to verify the presence of mutations C190A and T2134A in the sodium channel of the females that show high resistance. to pyrethroids. The results obtained showed that 70% of the analyzed samples showed high resistance to cypermethrin and flumethrin. Test with larvae from a single female of *R. microplus* contributed to the knowledge of the population profile and the resistance process, due to the presence of a homogeneous or heterogeneous population. The molecular results with ten females with mortality percentages below 20% to verify the presence of C190A and T2134A mutations in the sodium channel was inconclusive with nonspecific reactions after several assays. The use of the diagnostic dose with larvae from a single female is a means that can favor the monitoring of resistance with the immediate change of the acaricide chemical group.

**Keywords:** Chemical control, Diagnostic dose, Cattle tick.

## 1. INTRODUÇÃO

O *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido genericamente como carrapato-do-boi devido sua preferência por parasitar bovinos, é a espécie de carrapato mais comumente encontrada no Brasil, cujo clima tropical favorece o seu desenvolvimento ao longo do ano. O impacto econômico dessa espécie de carrapato deve-se às perdas econômicas de cerca de 3,24 milhões de dólares anuais (GRISI *et al.*, 2014).

A aplicação de produtos químicos para o controle de carrapatos é reconhecida por décadas como a forma mais eficaz e econômica de controle, porém notou-se que o uso descontrolado e incorreto favorece a seleção de cepas mais resistentes a maior parte dos carrapaticidas disponíveis comercialmente (FURLONG, *et al.*, 2007; ALBUQUERQUE, *et al.*, 2010; HIGA *et al.*, 2016; PEREIRA *et al.*, 2010; PEREIRA, 2003; SAUERESSIG, 1999). As principais classes de compostos utilizados no controle químico de carrapatos são os organofosforados, amidinas, piretróides, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis e fluazuron (FURLONG; PRATA, 2000).

Entende-se como resistência, métodos de defesa de um determinado organismo contra efeitos negativos e nocivos de substâncias tóxicas ou da invasão ou da proliferação de microrganismos patogênicos e agentes infecciosos que possuem dependência de fatores genéticos, imunidade, nutrição, da competência do organismo em reagir a estímulos do meio e entre outros fatores (PEREIRA, 2004). Diversos mecanismos fisiológicos são utilizados pelas cepas resistentes de carrapatos para sobreviver a aplicação de carrapaticidas, como a diminuição da porcentagem de absorção do composto, alterações no metabolismo do parasito (resistência metabólica), no estoque e na eliminação da substância a partir de modificações no local de ação do composto (BRITO *et al.*, 2006). A geração de uma resistência pode ser explicada em relação a funções moleculares de três tipos: mutações em canais de sódio; aumento de expressão de genes ou das atividades de enzimas envolvidas no metabolismo de detoxificação e mutações em neurorreceptores (ANDREOTTI, 2010; OAKESHOTT *et al.*, 2003; RUFINGIER *et al.*, 1999).

Os piretróides possuem ação neurotóxica, atuando nos canais de sódio dependentes de voltagem vistos nos neurônios dos invertebrados, o bom funcionamento deles são importantes na transmissão de impulsos nervosos (ANREOTTI *et al.*, 2019; WAKELING *et al.*, 2012; NAHARASHI, 1971; HAYES JR., 1982). O mecanismo de ação desses compostos baseia-se na hiperexcitação dos canais de sódio dependentes de voltagem a partir da alteração da sua permeabilidade iônica, levando o invertebrado a morte (ANREOTTI *et al.*, 2019; VIJVERBERG *et al.*, 1982; NAHARASHI, 1971). Dessa forma, mutações genéticas causadas por substituições de nucleotídeos nos éxons do gene codificador do canal de sódio geram cepas de *R. microplus* resistentes a piretróides (GUERRERO *et al.*, 2002; MILLER *et al.*, 1999; HE *et al.*, 1999). Foram relatadas oito mutações nesse gene associadas à resistência aos piretróides em diversas partes do mundo, sendo que no Brasil foram identificadas duas, as mutações C190A e a T2134A (MENDES *et al.*, 2010; KUMAR *et al.*, 2020; SANTOS, 2021).

O objetivo de estudo foi avaliar a resistência aos piretróides cipermetrina e flumetrina em larvas provenientes de uma única fêmea de *R. microplus* através a dose diagnóstica (DD) e verificar a presença das mutações C190A e T2134A no canal de sódio das fêmeas que apresentarem alta resistência aos piretróides.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de carrapatos *R. microplus* foram coletadas em 12 fazendas localizadas na região noroeste do Estado de São Paulo no período de Junho/2021 a Dezembro/2021.

## 2.1. Teste Dose Diagnóstica (DD)

Papéis filtros Whatman nº1 nas dimensões de 7,5cm x 8,5cm foram impregnados com os princípios ativos cipermetrina (0,2%) e flumetrina (0,01%) conforme o quadro 1. Cada princípio ativo foi diluído em solvente (tricloroetileno e azeite de oliva na proporção de 2:1, respectivamente), enquanto no controle foi utilizado somente o solvente. Em cada papel foi aplicado o volume de 700µl, começando pelo controle e depois com os princípios ativos, para evitar posteriormente uma possível contaminação das amostras. As concentrações usadas foram baseadas na cepa POA do Instituto Desidério Finamor, com exceção da flumetrina, cuja concentração foi de acordo com Vargas et al. (2003). Os pacotes impregnados foram armazenados em geladeira por até seis meses.

Quadro 1. Preparação das concentrações dos princípios ativos cipermetrina e flumetrina

Princípio ativo	Solução estoque (SE)	Solução impregnação
Cipermetrina 0,2%	0,1g cipermetrina + 30mL solvente	24mL solvente + 6mL SE
Flumetrina 0,01%	0,1g flumetrina + 30mL de solvente	29mL solvente + 1mL SE

## 2.2. Bioensaios com *R. microplus*

Sete fêmeas de *R. microplus* foram separadas individualmente para a postura de ovos no período de 15 dias. Em seguida os ovos foram colocados em microtubos 1,5ml para eclosão das larvas. Aproximadamente 100 larvas com idade de 7 a 14 dias serão inseridas nos papéis impregnados, que foram fechados nas laterais com cliques de metal e incubados em B.O.D. à temperatura de 28°C e umidade de 80%. Após 24h a porcentagem de mortalidade larval foi feita a contagem do número total de indivíduos mortos e vivos. As larvas que estiverem paralisadas ou movendo apenas seus apêndices, sem a capacidade de andar, foram consideradas mortas. Para cada concentração foi feita duas repetições.

## 2.3. Análise dos dados

Os dados de porcentagem de mortalidade obtido de cada teste foi submetido a classificação dos níveis de resistência (NR) de acordo com o método estabelecido pelo Instituto Desidério Finamor (Quadro 2)

Quadro 2. Classificação do nível de resistência de acordo com a média de mortalidade pelo teste de Dose Diagnóstica (DD)

Nível de resistência (NR)	Mortalidade média
Ausente ou muito baixo (MB)	>95%
Baixo (B)	entre 75 e 95%
Intermediário (I)	entre 40 e 75%
Alto (A)	< 40%

#### 2.4. Extração e amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para detecção da resistência ao piretróides

Dez fêmeas com resistência alta (A) e porcentagem de mortalidade abaixo de 20% teve o seu DNA genômico extraído utilizando o Reagente DNAzol® da Invitrogen™ Thermo Fisher Scientific, seguindo orientações do fabricante. As amostras extraídas foram submetidas à técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para amplificação segmentos gênicos diferentes.

Para amplificação dos alelos com a mutação C190A foi utilizado o primer de alelo resistente 5' – TTATCTTCGGCTCCTTCT – 3'. Na amplificação do alelo tipo selvagem (suscetíveis) será utilizado o primer 5' – TTATCTTCGGCTCCTTCA – 3'. E para amplificar a fita reversa de ambos os alelos, foi utilizado o primer inespecífico 5' – TTGTTTCATTGAAATTGTCGA – 3'. Também foram feitas reações de controle positivo e controle negativo (substituindo DNA por água ultrapura) para todas as amostras de PCR. As condições aplicadas para amplificação foram: 96°C por 2 min para, seguidas por 37 ciclos a 94°C por 1 min, 60°C por 1 min, 72°C por 1 min e por fim uma extensão final a 72°C por 7 min.

Para amplificação dos alelos com a mutação T2134A foi utilizado o primer de alelo resistente 222S (5' – TTATCTTCGGCTCCTTCA – 3'). Na amplificação do alelo tipo selvagem (suscetíveis) foi utilizado o primer 221S (5' – TTATCTTCGGCTCCTTCT – 3'). E para amplificar a fita reversa de ambos os alelos, foi usado o primer inespecífico 227I (5' – TTGTTTCATTGAAATTGTCGA – 3'). Também foram feitas reações de controle positivo e controle negativo (substituindo DNA por água ultrapura) para todas as amostras de PCR. As condições aplicadas para amplificação foram: 96°C por 2 min para, seguidas por 42 ciclos a 94°C por 1 min, 58°C por 1 min, 72°C por 1 min e por fim uma extensão final a 72°C por 7 min.

Os produtos de PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose, para análise do padrão de migração das bandas dos fragmentos amplificados, de acordo com o esperado a partir de sequências similares disponíveis no banco de dados público GenBank, sob números de acesso MH986342 (C190A) e KM073935 (T2134A).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram analisadas doze fazendas com duas repetições para cada teleóginas (Tab. 1 e 2). Em cinco propriedades foram testadas a cipermetrina (19 fêmeas) e para a flumetrina sete propriedades (24 fêmeas).

A figura 1 apresenta os dados de porcentagem de mortalidade e os níveis de resistência com os testes de dose diagnóstica. Para Cipermetrina, dos 38 pacotes, 29 (74,36%) apresentaram NR Alta, 7 (20,51%) NR Intermediário e 2 (5,13%) com NR Baixo. Foram observadas 4 teleóginas heterogênea com NR Alta e Intermediário (Tab. 1). Os resultados dos 48 testes de DD obtidos para a flumetrina, 35 apresentaram NR Alta, 12 com NR Intermediário e 1 com NR Baixo. Das amostras analisadas 36 foram homogênea e 6 foram heterogênea sendo 5 com resistência Alta e Intermediária e 1 fêmea com resistência Baixa e Intermediária (Tab. 2).

O resultados moleculares com dez fêmeas com porcentagens de mortalidade abaixo de 20% para verificar a presença das mutações C190A e T2134A no canal de sódio foi inconclusivo com reações inespecíficas após vários ensaios.

O uso da DD é um meio que agiliza o diagnóstico da resistência baseado numa dose discriminante cujo resultado é duas vezes a dose que mata 100% uma cepa sensível (FAO, 2004). Além disso, esse teste não requer uma grande quantidade de carrapatos. A aplicação desta ferramenta é importante, principalmente para a região sudeste do Brasil, cuja presença do carrapato *R. microplus* se dá ao longo do ano (cinco gerações) devido aos fatores, temperatura e umidade altos.

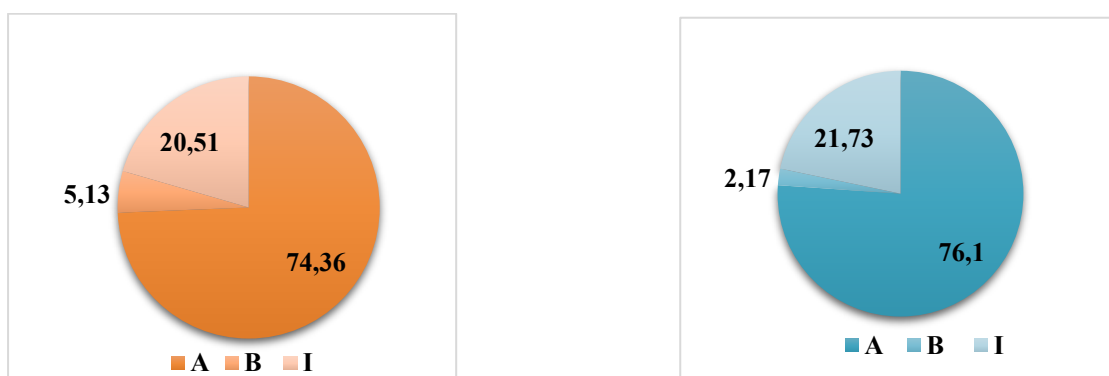
Neste trabalho foi realizado a DD com larvas provenientes de uma única fêmea de *R. microplus* dado que contribui para o conhecimento do perfil da população e o processo de resistência como foi verificado a presença de população homogênea ou heterogênea. Acima de 70% das amostras analisadas para os dois princípios ativos, cipermetrina e flumetrina, o nível de resistência foi Alta.

Os piretróides são acaricidas extraídos das flores de crisântemo e a partir da década de 70 foram produzidos compostos sintéticos que eram estáveis à luz e temperatura ambiente (MATSUO & MORI, 2012). Os princípios ativos cipermetrina, ciflutrina, deltametrina e flumetrina tem sido usados

como carrapaticidas, entretanto, a resistência a esses princípios tem sido relatadas desde a década de oitenta. O princípio ativo mais usado como carrapaticida é a cipermetrina em associação com outros princípios ativos principalmente os organofosforados.

Os dados de resistência encontrados neste estudo para a população de carrapatos coletados na região noroeste do Estado de São Paulo são semelhantes aos relatados por Lovis et al. (2012) e Santos (2021) com fatores de resistência elevados para a cipermetrina.

A resistência dos piretróides relacionada com as mutações no canal de sódio relatadas no Brasil são C190A, Domínio II; L64I, Domínio II e T2134A, Domínio III S6 (MENDES et al., 2010; LOVIS et al., 2012; SANTOS, 2021). A dificuldade na determinação molecular da resistência neste trabalho pode ser devido à ausência da mutação ou a outros fatores relacionados aos procedimentos da análise.



**Figura 4.** Porcentagem de Nível de Resistência nos Testes de Dose Diagnóstica com Cipermetrina (esquerda) e Flumetrina (direita) em Carrapatos *R. microplus*

A: resistência Alta; B: resistência Baixa e I: resistência Intermediária

**Tabela 1.** Dados de porcentagem de mortalidade e nível de resistência de larvas de *R. microplus* testadas com o princípio ativo cipermetrina

Fazenda	Teleogina	Pacote	% mortalidade	Nível de resistência
1	1	a	44,0	I
		b	48,1	I
	2	a	84,0	B
		b	62,8	I
	3	a	22,5	A
		b	34,2	A
	4	a	5,8	A
		b	19,9	A
	5	a	1,5	A
		b	37,0	A
	6	a	15,8	A
		b	2,2	A
	7	a	1,8	A
		b	1,6	A
	8	a	5,1	A
		b	15,5	A
2	1	a	36,7	A
		b	77,4	B
	2	a	53,3	I
		b	57,5	I
	3	a	5,6	A
		b	7,2	A
	4	a	14,3	A
		b	7,1	A
	5	a	4,1	A
		b	3,9	A
3	1	a	12,2	A
		b	15,3	A
	2	a	13,5	A
		b	8,9	A
	3	a	77,6	I
		b	67,6	I
	4	a	10,2	A
		b	7,7	A
4	1	a	28,2	A
		b	27,0	A
5	1	a	3,4	A
		b	6,3	A





**Tabela 2.** Dados de porcentagem de mortalidade e nível de resistência de larvas de *R. microplus* testadas com o princípio ativo flumetrina

Fazenda	Teleogina	Pacote	% mortalidade	Nível de resistência
1	1	a	26,2	A
		b	36,0	A
	2	a	69,5	I
		b	27,3	A
	3	a	10	A
		b	14,8	A
	4	a	19,4	A
		b	18,9	A
	5	a	56,6	I
		b	81,1	B
	6	a	11,6	A
		b	25,3	A
2	1	a	54,1	I
		b	36,4	A
	2	a	29,5	A
		b	28,1	A
	3	a	20,8	A
		b	22,6	A
3	1	a	23,6	A
		b	14,6	A
4	1	a	70,7	I
		b	63,2	I
5	1	a	59,2	I
		b	30,3	A
	2	a	21,6	A
		b	25,5	A
	3	a	5,04	A
		b	2,5	A
	4	a	10,1	A
		b	8,6	A
	5	a	8,2	A
		b	30,0	A
	6	a	12,1	A
		b	20,3	A
	7	a	18,6	I
		b	19,4	A
6	1	a	73,3	I
		b	60,5	I
	2	a	71,8	I
		b	42,0	I
	3	a	32,8	A
		b	3,6	A
	4	a	40,0	A
		b	26,9	A
	5	a	40,7	I
		b	26,0	A
7	1	a	16,3	A
		b	9,5	A



#### 4. CONCLUSÃO

O uso da dose diagnóstica com larvas provenientes de uma única fêmea é um meio que pode favorecer o monitoramento da resistência, propiciando principalmente, a mudança imediata do grupo químico carrapaticida.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela bolsa concedida.

#### 6. REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, G.R.; SPAGNOL, F.H.; PARANHOS, E.B. **Avaliação in vitro da ação de acaricidas sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1887 (Acari: Ixodidae) de bovinos leiteiros no município de Itamaraju, Bahia, Brasil.** Ciência Animal Brasileira, [s.l.], v. 11, n. 3, p.01-14, Universidade Federal de Goiás, 2010.

ANDREOTTI, R., GARCIA, M.V., REIS, F.A., RODRIGUES, V.S., BARROS, J.C. **Controle de carrapatos em sistemas de produção de bovinos associado ao manejo nutricional no campo.** 1. ed. Mato Grosso do Sul: Embrapa Gado de Corte, p. 1-242, 2019.

ANDREOTTI, R. **Situação atual da resistência do carrapato-do-boi *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* aos acaricidas no Brasil.** Embrapa Gado de Corte, Mato Grosso do Sul, n. 1, p. 1-36, 2010.

BRITO, L. G, SILVA-NETO, F.G., OLIVEIRA, M.C., BARBIERI, F.S. **Bio-ecologia, importância médico-veterinária e controle de carrapatos, com ênfase no carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.** Embrapa Rondônia, Rondônia, n. 1, p. 1-24, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (FAO). **Guidelines on Prevention and Management of Pesticide Resistance.** September E-ISBN 978-92-5-107348-3.2012. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-bt561e.pdf>

FLECHTMANN, C. A. W. **Ácaros de importância médico-veterinária.** 3.ed. São Paulo: Nobel, p. 192, 1990.

FURLONG, J., PRATA, M.C.A., MARTINS, J.R. **O carrapatos dos bovinos e a resistência: temos o que comemorar?.** A hora Veterinária, v. 27, n. 159 p. 1-7, 2007.



GRISI, L., LEITE, R.C., MARTINS, J.R.S., BARROS, T. M., ANDREOTTI, R., CANÇADO, P.H.D., LEON, A.A.P., PEREIRA, J. B., VILLEAL, H.S. **Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil**. Braz. J. Vet. Parasitol., v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

GUERRERO, F. D., LI, A.Y., HERNANDEZ, R. **Molecular Diagnosis of Pyrethroid Resistance in Mexican Strains of Boophilus microplus (Acari: Ixodidae)**. Journal of Medical Entomology, p. 1-8, 2002.

HAYES JR, W. J. **Pesticides studied in man**. Williams and Wilkins, p. 672, 1982.

HE, H., CHEN, A.C., DAVEY, R.B., IVIE, G.W., GEORGE, J.E. **Identification of a point mutation in the para-type sodium channel gene from pyrethroid-resistant cattle tick**. Biochem. Biophys., v. 261, n. 3, p. 558-561, 1999.

HIGA, L.O. S.; ANDREOTTI, R.; GARCIA M.V.; BARROS, J.C.; KOLLER, W.W. **Evaluation of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) resistance to different acaricide formulations using samples from Brazilian properties**. Braz. J. Vet. Parasitol, v.25, n. 2, p. 163-171, 2016.

KUMAR, R.; KLAFKE, G. M.; MILLER, R. J. **Voltage-gated sodium channel gene mutations and pyrethroid resistance in Rhipicephalus microplus**. Ticks and Tick-borne Diseases 11, 101404, 2020.

LOVIS, L., REGGI, J., BERGGOETZ, M., BETSCHART, B., SAGER, H. **Determination of Acaricide Resistance in Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) Field Populations of Argentina, South Africa, and Australia With the Larval Tarsal Test**. Journal of Medical Entomology, p. 1-10, 2012.

MATSUO, N.; MORI, T. **Progress and Future of Pyrethroids. Pyrethroids From Chrysanthemum to Modern Industrial Insecticide**, 2012.

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**. XIII International Congress of Acarology. Recife 152, 2010.

MILLER, R. J., DAVEY, R.B., GEORGE, J.E. **Characterization of pyrethroid resistance and susceptibility to coumaphos in Mexican Boophilus microplus (Acari: Ixodidae)**. J. Med. Entomol., 36(5):533-8, 1999.

NARAHASHI, T. **Mode of action of pyrethroids**. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé, v. 44, p. 337-345, 1971.



OAKESHOTT, J. G., OME, I., SUTERLAND, T.D., RUSSEL, R.J. **The genomics of insecticide resistance**. Genome Biology, v.4, p. 1-4, 2003.

PEREIRA, C. D. **Análise molecular e bioquímica da resistência do Boophilus microplus (Acari: Ixodidae) à cipermetrina**. 2003. 65 f. Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Genética e Bioquímica. Minas Gerais, 2003.

PEREIRA, C. D., LINO, G.R., FRANCO, M.M., KERR, W.E., GOULART FILHO, L.R. **Identificação de mutações no gene do canal de sódio associadas à resistência em Boophilus microplus por RT-PCR assimétrico de baixa estrigência**. Revista Bioscience Journal, v. 20, n. 1, p. 125-130, 2004.

PEREIRA, C. D., SOUZA, G.R.L., BAFFI, M.A. **Carrapatos dos Bovinos: métodos de controle e mecanismos de resistência a acaricidas**. Embrapa Cerrados, n. 1, p. 1-28, 2010.

RUFINGIER, C., PASTEUR, N., LAGNEL, J., MARTIN, C., NAVAJAS, M. **Mechanisms of insecticide resistance in the aphid Nasonovia ribisnigri (mosley) (homoptera: aphididae) from France**. Insect Biochemistry molecular biology. v. 29 n.4, p. 1-385, 1999.

SANTOS, M. L. **Rhipicephalus microplus: avaliação da resistência a organofosforados e piretroides e controle biológico empregando fungos entomopatogênicos**. São Paulo. 2021. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, 2021.

SAUERESSIG, T. M. **Carrapato e resistência a carrapaticidas**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, Guia técnico do produtor rural, ano IV, n. 24, 1999.

VIJVERBERG, H. P. M., ZALM, J.M.V, BERCKEN, J.V. **Similar mode of action of pyrethroids and DDT on sodium channel gating in myelinated nerves**. Nature, v. 295, n. 5850, p. 601-603, 1982.

WAKELING, E. N.; NEAL, A. P.; ATCHINSON, W. D. **Pyrethroids and their effects on ion channels**. In: SOUNDARARAJAN, R. P. Pesticides - Advances in chemical and botanical pesticides. Intech – Open Science, Open Minds, p. 39-66, 2012.