



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

ISSN 1517-3747

Dezembro, 2002

## **Documentos 134**

# **Controle do Carrapato por Meio de Vacina – Situação Atual e Perspectivas**

Renato Andreotti  
Alberto Gomes  
Kelly Cristina Malavazi-Piza  
Aparecida Sadae Tanaka

Campo Grande, MS  
2002

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Gado de Corte**

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

Caixa Postal 154

Fone: (67) 368 2064

Fax: (67) 368 2180

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

E-mail: [sac@cnpgc.embrapa.br](mailto:sac@cnpgc.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *Cacilda Borges do Valle*

Secretário-Executivo: *Liana Jank*

Membros: *Antonio do Nascimento Rosa, Arnildo Pott, Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima, Ezequiel Rodrigues do Valle, José Raul Valério, Liana Jank, Maria Antonia Martins de Ulhôa Cintra, Rosângela Maria Simeão Resende, Tênisson Waldow de Souza*

Supervisor editorial: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

Revisor de texto: *Sylvia Odinei Cesco*

Normalização bibliográfica: *Maria Antonia M. de Ulhôa Cintra*

Capa: *Paulo Roberto Duarte Paes*

Editoração eletrônica: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

**1ª edição**

1ª impressão (2002): 500 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

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

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Gado de Corte.

---

Controle do carrapato por meio de vacina - situação atual e perspectivas / Renato Andreotti... [et al.]. -- Campo Grande : Embrapa Gado de Corte, 2002.

58 p. ; 21 cm. -- (Documentos / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1517-3747 ; 134)

ISBN 85-297-0148-8

1. Sanidade. 2. Bovino. 3. *Boophilus microplus*. 4. Vacina. I. Andreotti, Renato. II. Gomes, Alberto. III. Malavazi-Piza, Kelly Cristina. IV. Tanaka, Aparecida Sadae. V. Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). VI. Título. VII. Série.

---

CDD 636.0896968 (21. ed.)

© Embrapa 2002

# **Autores**

## **Renato Andreotti**

Médico-Veterinário, Ph.D., CRMV-MS Nº 510, Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, Caixa Postal 154, 79002-970 Campo Grande, MS. Correio eletrônico: andreott@cnpqg.embrapa.br

## **Alberto Gomes**

Médico-Veterinário, Ph.D., CRMV-MS Nº 0104, Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262, Km 4, Caixa Postal 154, 79002-970 Campo Grande, MS. Correio eletrônico: gomes@cnpqg.embrapa.br

## **Kelly Cristina Malavazi-Piza**

Biomédica, M.Sc. em Biofísica, Doutoranda em Biologia Molecular, Universidade Federal de São Paulo – Unifesp, Departamento de Bioquímica, Rua 3 de Maio, 100, Vila Clementino, 04044-020 São Paulo, SP. Correio eletrônico: kelly.bioq@epm.br

## **Aparecida Sadae Tanaka**

Química, Doutora em Biologia Molecular, Universidade Federal de São Paulo – Unifesp, Departamento de Bioquímica, Rua 3 de Maio, 100, Vila Clementino, 04044-020 São Paulo, SP. Correio eletrônico: tanaka.bioq@epm.br



# Sumário

<b>Resumo</b> .....	<b>7</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>9</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>10</b>
<b>O carrapato do boi</b> .....	<b>10</b>
Classificação do <i>Boophilus microplus</i> .....	11
Ciclo de vida do <i>Boophilus microplus</i> .....	12
<b>Importância econômica</b> .....	<b>14</b>
<b>Relação parasito-hospedeiro</b> .....	<b>16</b>
Ação do hospedeiro .....	16
Resistência dos bovinos ao carrapato .....	16
Resposta imune dos bovinos contra o carrapato .....	18
Sistema complemento .....	20
Ação do parasito .....	20
Fixação e alimentação da larva do carrapato .....	20
Imunossupressão .....	22
Glândula salivar do carrapato .....	22
<i>Saliva do carrapato</i> .....	24
Atividades protéicas na hemolinfa e no tubo digestivo do carrapato .....	26
Anti-hemostáticos presentes em carrapatos .....	27
Inibidores de serinoproteases presentes em carrapatos .....	28
<i>Inibidores de tripsina de Boophilus microplus (BmTIs)</i> .....	29
<b>Transmissão de patógenos pelo carrapato</b> .....	<b>32</b>

<b>Controle do carrapato .....</b>	<b>33</b>
Controle alternativo .....	33
Controle químico .....	33
Controle por meio de imunização .....	34
Adjuvantes .....	37
<b>Perspectivas da imunoproteção .....</b>	<b>38</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>40</b>

# Controle do Carrapato por Meio de Vacina – Situação Atual e Perspectivas

---

*Renato Andreotti*

*Alberto Gomes*

*Kelly Cristina Malavazi-Piza*

*Aparecida Sadae Tanaka*

## Resumo

O *Boophilus microplus* causa grandes prejuízos econômicos à exploração pecuária no Brasil em função da espoliação dos bovinos, pela transmissão de patógenos, e do alto custo operacional das técnicas atuais de controle. O combate sistemático ao carrapato do boi faz-se necessário, principalmente nos rebanhos de produção estabelecidos com base em raças européias ou mestiças. O uso de acaricidas vem sendo a medida de controle profilático e terapêutico mais comum contra esses ectoparasitos. Os principais problemas relacionados com essa prática dizem respeito ao desenvolvimento de linhagens resistentes de carrapatos frente a diversas gerações de acaricidas, ao aparecimento de resíduos químicos nos produtos de origem animal e à poluição ambiental proveniente do uso dos acaricidas no controle. Uma alternativa que vem sendo pensada e desenvolvida é o controle do carrapato por meio de vacina usando proteínas identificadas como estratégicas para a sobrevivência do carrapato. Atualmente, as vacinas são desenvolvidas a partir da proteína Bm86, conferindo proteção parcial aos bovinos contra futuras infestações por *B. microplus* pela redução do número de carrapatos, da produção de ovos e da fertilidade. Esses resultados não asseguram a proteção desejada na produção bovina, sugerindo a necessidade de mais de um antígeno protetor. O uso de uma vacina polivalente, usando diferentes antígenos com ação em diferentes fases de vida e impedindo o funcionamento de pontos vitais para a sobrevivência do carrapato, vai permitir aumentar a eficiência no controle.

**Palavras-chave:** *Boophilus microplus*, bovino, controle, imunização.



# Tick Control Using Vaccine – Current Situation and Perspectives

---

## Abstract

*The hard tick, Boophilus microplus, has been a problem for the cattle production because of its ability of spoliation, by pathogen transmission, and because of the current control technology high costs. The tick systematic control is important, mainly in herds based in European or crossbreed production system. The acaricides have been the system usually adopted in prophylactic and therapeutic control against those ectoparasites. The most important point related to this system is the development of resistant ticks lines against different generations of acaricides, the appearing of chemical residues in animal products and the environmental pollution. A new form of control has been developed: the tick control vaccine using proteins related to strategic phases of the tick life. Nowadays, the vaccines have been developed from Bm86 protein, offering bovine partial protection against Boophilus microplus future infestations by decreasing the tick number, the egg production and the fertility. These results are not assuring a desired protection in the bovine production suggesting the necessity of more than one protector antigen. Using polyvalent vaccine with different antigens with different action in the life cycle and obstructing important points of survive functions of the tick will arise the control efficiency.*

**Keywords:** Boophilus microplus, cattle, control, immunization.

## Introdução

Os registros mais antigos sobre a presença do carrapato datam de 1.500 a.C: uma figura em uma tumba egípcia apresentando um animal semelhante à hiena com três protuberâncias no pavilhão auricular interno (Arthur, 1965). Atualmente, existe registro de 800 espécies de carrapatos, das quais, pelo menos 700 possuem especificidade de hospedeiro (Cordovés, 1997). Aproximadamente, 50 espécies de carrapato são conhecidas como causadoras de intoxicação (Gothe et al., 1979).

Os prejuízos econômicos causados pelo carrapato ocorrem de forma direta pelo efeito da picada e suas conseqüências: irritabilidade, perda de sangue, acarretando perda de peso e de produção de leite; pelas mífases secundárias e danos no couro, prejudicando a qualidade destes; e ainda pela possibilidade de transmissão dos agentes da tristeza parasitária bovina. Entre as perdas indiretas, podem ser citados: o custo do controle químico, os resíduos deixados nos produtos de origem animal e os danos ambientais decorrentes do uso desses produtos, acarretando prejuízos superiores a um bilhão de dólares anuais apenas no Brasil (Horn, 1983).

O combate sistemático ao carrapato do boi faz-se necessário, principalmente, nos rebanhos de produção de leite, em função da base desta produção ter sido estabelecida em raças européias ou mestiças, mais suscetíveis. Recentemente, o sistema de produção de gado de corte vem recebendo pressão por incremento em produtividade, aumentando, desta forma, o uso de raças européias no cruzamento industrial e sinalizando a tendência da necessidade maior do controle sistemático do carrapato (Gomes, 1995).

No mundo inteiro, o interesse por formas alternativas de controle do carrapato vem aumentando, sendo que o controle por meio de vacinas, com a indução da resposta imune em bovinos, contra os carrapatos, tem mostrado resultados promissores.

## O carrapato do boi

A designação genérica *Boophilus*, do grego “amigo do boi”, foi introduzida por Curtice, em 1891, sendo o *Boophilus microplus* a única, das cinco espécies conhecidas, reconhecida como presente no Brasil (Pereira, 1982).

O *B. microplus* é originário da Ásia, notadamente da Índia e da Ilha de Java. Em função das expedições exploradoras registradas na História, com a movimentação de animais e mercadorias, ocorreu a sua expansão e introdução na maioria das regiões tropicais e subtropicais: Austrália, México, América Central, América do Sul e África, tendo se estabelecido dentro dos climas demarcados pelos paralelos 32° Norte e 32° Sul, com alguns focos no 35° Sul (Nuñez et al., 1982).

No Brasil, a introdução do *B. microplus* parece ter-se dado pela vinda de animais comprados do Chile, no início do século XVIII, via Estado do Rio Grande do Sul, encontrando-se distribuído atualmente em todo o País, variando de intensidade de acordo com as condições climáticas e os tipos raciais de bovinos explorados (Gonzales, 1995).

### **Classificação do *Boophilus microplus***

De acordo com Flechtmann (1990), o *B. microplus* (Fig. 1) possui a seguinte posição sistemática:

Filo – Arthropoda Von Siebold & Slannius, 1845

Subfilo – Chelicerata Heymons, 1901

Classe – Aracnida Lamarck, 1802

Subclasse – Acari Leach, 1817

Ordem – Parasitiformes Renter 1909

Subordem – Metastigmata Canestrini, 1891  
Ixodides Leach, 1815

Família – Ixodidae Murray, 1887

Gênero – *Boophilus* Canestrini, 1887



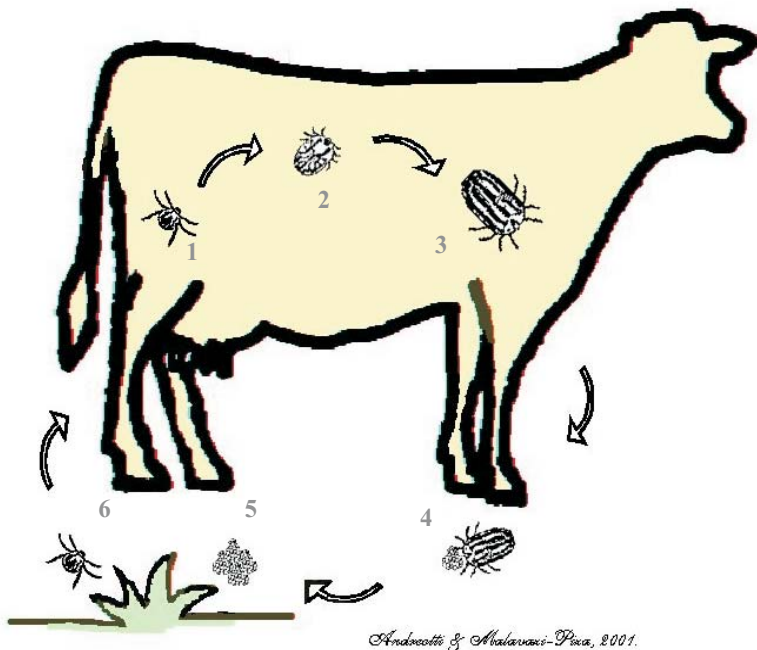
**Fig. 1.** Fêmea ingurgitada de *Boophilus microplus*, teleóquina, fixada na pele de bovino. O tamanho da teleóquina varia de 1,9 a 2,5 mm de comprimento por 1,1 a 1,6 mm de largura antes de ingurgitar e atinge 13 mm de comprimento por 8 mm de largura quando ingurgitada.

Fonte: *Boophilus microplus*, 2001.

### **Ciclo de vida do *Boophilus microplus***

O carrapato do boi, *B. microplus*, é um parasita monóxeno, isto é, depende de apenas um hospedeiro em seu ciclo de vida, preferencialmente os bovinos. Outras espécies podem comportar-se como hospedeiros, entre os quais búfalos, jumentos, ovinos, caprinos, cães, gatos, porcos, veados, onças, preguiças, cangurus e coelhos (Arthur, 1960).

Seu ciclo de vida apresenta duas fases complementares (Fig. 2): a de vida livre ou não parasitária, que se inicia com o desprendimento da teleóquina do hospedeiro e a sua queda ao solo; e a de vida parasitária, que se inicia quando a larva se fixa no hospedeiro.



**Fig. 2.** Esquema simplificado do ciclo de vida do carrapato *Boophilus microplus*. Fase parasitária: 1) larva infectante realizando a fixação no bovino; 2) ninfa; 3) teleógina em estágio final de ingurgitamento. Fase de vida livre: 4) teleógina logo após desprendimento, em período de postura no solo; 5) ovos, no solo, em período de incubação; 6) larva, no solo, em período de incubação.

A teleógina inicia a postura três dias após sua queda ao solo, com período de postura em torno de 15 dias. O peso total dos ovos, após o término da postura, equivale a 52% do peso vivo da teleógina. Seis dias após a eclosão, a larva está pronta para subir nas pastagens por geotropismo negativo, localizando o hospedeiro pelo odor, pelas vibrações, pelo sombreamento, pelo estímulo visual e pelo gradiente de concentração de  $\text{CO}_2$  (Sonenshine, 1993) e alcançar o hospedeiro. A larva infectante, ao entrar em contato com o bovino, fixa-se em regiões do corpo do hospedeiro que favorecem seu desenvolvimento, tais como: úbere, mamas, regiões perineal, perianal, vulvar e entrepernas. Essas regiões preferenciais de fixação são determinadas em função da espessura, vascularização e temperatura da pele, bem como pela dificuldade de acesso às lambidas do hospedeiro (Wagland, 1978).

O período de larva é o mais vulnerável em baixas temperaturas. No entanto, em presença de alta umidade relativa as larvas podem sobreviver até oito meses (Hitchcock, 1955). Em condições favoráveis, a fase de vida livre dura em torno de 32 dias (Gonzales, 1995), durante os quais o carrapato não se alimenta e sobrevive exclusivamente das suas reservas (Farias, 1995).

A fase parasitária se inicia com a fixação das larvas no hospedeiro, desenvolvendo-se até a fecundação e ingurgitamento total das teleóginas. Nesta fase, o carrapato é pouco afetado pelas condições climáticas ambientais (Riek, 1965) mas, mesmo assim, ele procura regiões da pele onde a temperatura varia de 31°C a 38°C (Double & Kemp, 1979).

As larvas de *B. microplus* alimentam-se preferencialmente de plasma, apenas nos momentos que precedem o rápido ingurgitamento das ninfas e das fêmeas, é que o sangue torna-se o principal constituinte alimentar (Bennett, 1974). O acasalamento acontece a partir do 17º dia que se segue à infestação (Londt & Arthur, 1975) com rápido ingurgitamento após a cópula, nas horas que antecedem a queda do hospedeiro. A fêmea de *B. microplus*, durante os seis primeiros dias de fixação, ingere apenas 3,8 µL de sangue, porém, nos momentos que precedem a sua queda (12 a 24 horas), esta ingestão atinge valores em torno de 300–500 µL (Tatchell et al., 1972), podendo aumentar o seu peso em até 200 vezes (Kemp et al., 1982).

As condições ambientais e o grau de resistência do hospedeiro influenciam no tempo de duração do ciclo de vida do carrapato (Roberts, 1968) e no peso das teleóginas (Hewetson, 1972).

## Importância econômica

*B. microplus* é um ectoparasita de bovinos, com distribuição geográfica em regiões tropicais e subtropicais do mundo (Willadsen & Jongejan, 1999). Os carrapatos são artrópodes hematófagos, importantes vetores de arboviroses, rickettsioses, espiroquetoses e protozooses para o homem e animais domésticos (Kaufman, 1989), destacando-se no Brasil dois gêneros: a rickettsia *Anaplasma* e o protozoário *Babesia*, responsáveis pelo complexo conhecido como “tristeza parasitária bovina” que causa importantes prejuízos ao sistema de produção. Ao picar, o carrapato causa irritabilidade nos animais, provocando desconforto e perda de sangue devido à sua ação hematófaga, influenciando no ganho de

peso, no estado nutricional e, em conseqüência, na produção, dependendo da intensidade da infestação parasitária, podendo levar à morte do animal (Horn, 1983). A lesão causada na pele dos animais pode favorecer o aparecimento de infecções secundárias como as miíases cutâneas. Essas lesões também acarretam prejuízos no mercado do couro (González & Serra-Freire, 1992).

No Brasil, o carrapato *B. microplus* representa um grande problema na produção de bovinos em diferentes regiões e o uso de acaricidas vem sendo a medida de controle profilático e terapêutico mais comum contra esse ectoparasito. Os principais problemas relacionados com essa prática dizem respeito ao desenvolvimento de linhagens resistentes de carrapatos frente a diversas gerações de acaricidas, ao aparecimento de resíduos químicos nos produtos de origem animal, principalmente leite e carne, e à poluição ambiental proveniente do uso dos acaricidas no controle (Bullman et al., 1996).

O perfil estimado dos prejuízos causados pelos carrapatos no mundo não é nada otimista e, no Brasil, a estimativa é em torno de dois bilhões de dólares. Os ectoparasitos, principalmente o carrapato, além do berne e da mosca-do-chifre, são responsáveis por 40% das lesões no couro bovino, enquanto que, para a marcação e uso de ferrões para condução são imputadas 20% das lesões (Grisi et al., 2002).

Uma infestação com uma média de 40 carrapatos *Amblyomma americanum*, por bovino, causa perda na produção de US\$ 40/animal (Ervin et al., 1987). No mundo, esses valores alcançam, anualmente, a cifra de 7 bilhões de dólares (Castro, 1997).

Nos Estados Unidos, o *B. microplus* foi considerado erradicado em 1943, por meio do controle químico e do manejo da população do veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*). Em 1952, em Porto Rico, mediante controle químico e eliminação da população de cervídeos da ilha, assim como na Nova Guiné, o *B. microplus* foi erradicado em algumas regiões (Graham & Hourrigan, 1977).

Nos últimos anos, o controle do carrapato, realizado principalmente com produtos químicos – acaricidas, vem se tornando cada vez mais difícil pelo desenvolvimento da resistência dos carrapatos frente a diversas gerações de acaricidas, agravando ainda mais a poluição química do ambiente e dos produtos alimentícios provenientes de bovinos e elevando o custo do controle (Nolan et al., 1989).

## Relação parasito-hospedeiro

O sucesso da associação dos hematófagos com os hospedeiros está baseado na habilidade destes animais de interferir nas reações anti-hemostática e inflamatória do seu hospedeiro vertebrado (Arocha-Piñango et al., 1999). Segundo Wikel et al. (1994), o sucesso da relação parasito-hospedeiro é um balanço entre as limitações do parasito pelas defesas do hospedeiro e a habilidade do parasito em modular, evadir ou restringir a resposta imune. A saliva dos artrópodes hematófagos contém substâncias que são antagonistas de muitas reações de reparação dos seus hospedeiros que poderiam impedir o fluxo sangüíneo no local de alimentação ou interromper a alimentação (Ribeiro, 1995).

Dados disponíveis na literatura mostram a complexidade das reações inflamatórias e imunológicas envolvidas nas interações entre os carrapatos e os diversos hospedeiros. Na busca de nichos de sobrevivência das suas populações, algumas espécies de animais se adaptaram em parasitar outras espécies, tirando seus nutrientes diretamente do meio interno dos seus hospedeiros.

### Ação do hospedeiro

#### ***Resistência dos bovinos ao carrapato***

A busca da produtividade no sistema de produção de bovinos, tanto de corte como de leite, sustenta-se, principalmente, na saúde animal, no melhoramento genético e na alimentação adequada. A adaptação dos animais frente à diversidade de ambientes vem sendo buscada por programas de cruzamento de raças diferentes, como por exemplo, raças zebuínas e raças européias, na obtenção de um equilíbrio “produção-adaptabilidade”, cujos componentes são relacionados negativamente (Euclides Filho et al., 1988).

Zebuínos e taurinos, destituídos de experiência prévia com o carrapato *B. microplus*, são igualmente suscetíveis à infestação primária por larvas desta espécie de carrapato, concluindo-se que a resistência contra *B. microplus* é um fenômeno adquirido (Wagland, 1975).

A resistência adquirida dos bovinos, ao longo de infestações seguidas, acarreta uma diminuição no peso das teleóginas ingurgitadas influenciando no peso da postura e no tempo do ciclo parasitário (Hewetson, 1971; Rocha, 1984). Em animais resistentes, a rejeição aos carrapatos é freqüentemente baseada em reações de hipersensibilidade cutânea (Brown et al., 1984). Os bovinos *Bos*

*indicus* (Zebu) são mais resistentes aos carrapatos do que os *Bos taurus* (Europeu). Bovinos europeus apresentam, em média, 10,5 vezes mais carrapatos que os de cruzamentos com zebuínos (Francis & Little, 1964). Em cruzamentos, quanto maior a proporção de sangue zebu, menor será a população média de carrapatos (Honer & Gomes, 1990). Acredita-se que esta resistência se deve à seleção natural pelo tempo maior que o *Bos indicus* conviveu com os carrapatos (Gomes, 1995). Por outro lado, existem, dentre as raças européias, aquelas com maior resistência aos carrapatos, como é o caso da raça Jersey (Utech et al., 1978). Foi observado que a variação individual com relação à resistência aos carrapatos também acontece dentro de uma mesma raça (Gomes, 1995).

Com relação à época do ano, os bovinos apresentam-se mais sensíveis no outono do que no inverno (Gomes et al., 1989), estando relacionado com o fotoperíodo mais curto que afeta a resposta inflamatória no local da picada. O estado nutricional também influencia, diminuindo a resistência dos bovinos aos carrapatos (Sutherst et al., 1983).

A coloração da pele e do pêlo pode influenciar no comportamento dos bovinos, fazendo com que os de pelagem mais escura procurem locais mais protegidos do sol que são também locais de preferência dos carrapatos, facilitando o acesso das larvas aos animais, enquanto que os de pelagem mais clara são menos infestados (Oliveira & Alencar, 1987).

O bovino manifesta diferentes níveis de resistência a cada estágio parasitário do *B. microplus*, particularmente contra a fixação larval, sendo que mais de 50% das larvas que atingem o hospedeiro não conseguem completar o ciclo (Roberts, 1968). Somente 12,4% das larvas infectantes de *B. microplus* que se fixam no hospedeiro conseguem chegar à fase de fêmea ingurgitada (Nuñez et al., 1972).

A resistência adquirida pelos bovinos aos ixodídeos pode ser medida pelos seguintes indicadores: redução do peso final do carrapato ingurgitado, aumento do período de alimentação, decréscimo do número de ovos, redução da viabilidade dos ovos e dificuldade de realizar a muda e ingurgitamento (Wikel, 1996).

As reações de rejeição contra o carrapato são baseadas em abundante exsudato edematoso produzido por hospedeiro resistente no local da picada. O *Ixodes scapularis* é muito bem adaptado para prevenir edema no hospedeiro originado por bradiginina e anafilatoxina, mas não tem anti-histamínico na saliva. O

camundongo produz edema principalmente por bradicinina e anafilatoxina; por outro lado, cobaias produzem edemas principalmente a partir de histamina derivada de mastócitos. Isso pode explicar porque *I. scapularis* pode se alimentar repetidas vezes em camundongo, mas não em cobaias (Ribeiro, 1995).

### ***Resposta imune dos bovinos contra o carrapato***

A reação do hospedeiro por meio de degranulação de mastócitos e infiltração de eosinófilos no local da picada é capaz de dificultar a alimentação do carrapato e causar irritação cutânea no hospedeiro, suficiente para desencadear as reações de autolimpeza (Pereira, 1982).

A alimentação realizada pelo carrapato no hospedeiro induz uma resposta imune complexa nesse hospedeiro, envolvendo células apresentadoras de antígenos (APC), linfócitos T e B, anticorpos, complemento, basófilos, mastócitos e eosinófilos e um número de moléculas bioativas (Willadsen, 1980; Brossard & Wikel, 1997).

Durante a infestação de animais, sensíveis ou não, previamente expostos a ixodídeos, ocorre rápida infiltração de neutrófilos, aumentando gradativamente a presença de eosinófilos e basófilos. A ação vasodilatadora da prostaglandina presente na saliva, associada à histamina proveniente da degranulação de mastócitos e outros granulócitos, induz à lise dos tecidos e ao afluxo de sangue.

Decorridas três horas da fixação dos carrapatos, os eosinófilos terão penetrado a epiderme e degranulado tanto nela como na derme. O grau de infiltração é mais intenso nos animais com maior resistência. Em animais resistentes, o número de granulócitos aumenta significativamente no local da fixação do ixodídeo. O grande afluxo de basófilos, seguido da liberação de histamina e outros mediadores da resposta imune e complexo antigênico, induz a rejeição ao parasito (Ribeiro, 1989).

Em conseqüência dessas reações do hospedeiro, dificultando a alimentação, as fêmeas adultas pesam menos ao se destacarem do hospedeiro (Rocha, 1976). A administração de drogas anti-histamínicas em bovinos acarreta significativo aumento na produção de fêmeas ingurgitadas por animal (Tatchell & Bennett, 1969).

A histamina, o principal mediador da resposta inflamatória, é liberada em resposta a danos dos tecidos. Ela é, principalmente, secretada por mastócitos e basófilos e se liga nos receptores H1 e/ou H2 das células-alvo, aumentando a permeabilidade capilar dos vasos sanguíneos, permitindo a passagem de fatores de reparação de lesões (Ribeiro & Walker, 1994).

Os linfócitos são os elementos-chave nas funções efetoras e de regulação do sistema imune, incluindo produção de anticorpos, hipersensibilidade tardia e linfócitos T citotóxico (Green et al., 1983). Infestações repetidas com ninfa de *Ixodes ricinus* em camundongo BALB/c estimularam a migração dos linfócitos a partir dos linfonodos para o local da picada, produzindo significantes níveis de fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) e fator estimulador de macrófago (GM-CSF) quando estimulado in vitro com concanavalina A ou com anticorpo anti-CD3 (Ganapamo et al., 1997).

GM-CSF induz a maturação das células de Langerhans (células apresentadoras de antígenos) na epiderme e induz alta expressão de moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe II (Heufler et al., 1988). A migração dessas células da pele para os linfonodos regionais e sua acumulação nesses órgãos secundários são controladas pelo TNF- $\alpha$  (Cumberbatch & Kimber, 1995). Imunohistoquímica de pele de camundongo BALB/c, 72 horas após infestação com *I. ricinus*, revelou a presença de células CD4<sup>+</sup> e CD8<sup>+</sup> nos infiltrados celulares (Mbow et al., 1994a). Também foi observada a presença de RNA mensageiro de interferon (IFN $\gamma$ ) e interleucina 4 (IL-4), mas não de IL-2 após primeira infestação. Em camundongo re-infestado surgiram resultados positivos para os três, mas células identificadas para IL-4 foram em menor número do que para IFN $\gamma$  e IL-2, mostrando uma tendência de ocorrência de hipersensibilidade cutânea tardia em camundongos infestados por carrapatos (Mbow et al., 1994b).

Imunoglobulinas primárias e a resposta imune celular são induzidas durante a primeira exposição no início da alimentação do carrapato. A forma como um animal responde a um imunógeno depende da sua capacidade, definida geneticamente, para processar os imunógenos e apresentá-los aos linfócitos T no contexto do MHC (Wikel et al., 1994). As imunoglobulinas se ligam aos receptores Fc de mastócitos e basófilos (Brossard & Giardini, 1979) em pele de camundongos infestados. O complexo antígeno-anticorpo promove a liberação de substâncias bioativas (Brossard & Fivaz, 1982).

A presença de anticorpos IgG contra antígenos provenientes da glândula salivar, induzidos pela alimentação do carrapato no hospedeiro, tem sido identificada em diferentes espécies (Wikel, 1996), promovendo proteção contra *B. microplus* quando transmitida passivamente em bovinos (Roberts & Kerr, 1976).

O contato entre o hospedeiro e o carrapato por vários dias possibilita o desenvolvimento da ação da resposta imune do hospedeiro contra o carrapato. Porém, as medidas adotadas pelo carrapato contra alvos da resposta imune controlam a expressão da imunidade adquirida do hospedeiro contra os carrapatos, permitindo o desenvolvimento dos mesmos (Wikel, 1996).

### **Sistema complemento**

O sistema complemento está envolvido no desenvolvimento da imunidade pelo hospedeiro contra o carrapato. As interferências neste sistema pelo carrapato oferecem duas vantagens ao parasito: evita a formação do edema e da quimiotaxia celular na direção do local de alimentação (Wikel et al., 1994). A ativação do sistema complemento no local da picada atrai os basófilos (Ward et al., 1975).

Em coelhos, o nível sérico do componente C3 aumenta rapidamente com a reinfestação de *I. ricinus* adulto, e o aumento na ingestão deste componente dificulta a digestão de hemoglobina pelo carrapato (Papatheodoros & Brossard, 1987). A resistência adquirida contra a larva do carrapato *Dermacentor andersoni* foi inibida pela diminuição do componente C3 usando fator de veneno de serpente (Wikel & Allen, 1977).

A saliva de *Ixodes dammini* contém um inibidor da ativação da via alternativa do complemento que inibe a deposição de C3b e a liberação da anafilatoxina C3a (Ribeiro, 1987).

### **Ação do parasito**

#### **Fixação e alimentação da larva do carrapato**

As larvas podem fixar-se sucessivamente em até cinco locais diferentes, permanecendo metade do seu tempo fixadas no hospedeiro durante as primeiras 24 horas da fase parasitária (Kemp et al., 1971). Larvas que não se alimentam e se situam próximo à pele do bovino morrem rapidamente por perderem, em média, 6 µg de peso vivo em 12 horas porque o ambiente próximo à pele do bovino induz a dessecação da larva. Além disso, ocorre estresse adicional nas larvas

pela necessidade de fixações curtas e freqüentes quando atacam animais resistentes (Kemp et al., 1976).

Após a penetração do aparelho bucal do carrapato na pele do hospedeiro, uma inflamação local se desenvolve com a participação dos neutrófilos do hospedeiro e o alimento é formado pela destruição dos tecidos e vasos sangüíneos em volta do aparelho bucal (Brossard & Fivaz, 1982).

No local da picada, o carrapato aplica o rostro contra a epiderme entrando em contato com a camada de Malpighi, injuriando-a mecanicamente até atingir a camada granulosa. Um exsudato se coagula, denominado de cimento, em volta das peças bucais do carrapato. Este coágulo acelular constitui o mecanismo fundamental de fixação do parasito à pele do hospedeiro. Um processo de desorganização da derme se inicia por meio de um edema, infiltração celular e difusão de um ponto de necrose (Pereira, 1982).

O sucesso no processo de alimentação pelos ixodídeos envolve uma série de eventos, sendo a susceptibilidade dos hospedeiros um fator importante. De modo geral, o tamanho do aparelho bucal e a solidificação do cimento garantem o processo de fixação. Alguns gêneros de ixodídeos possuem o aparelho bucal curto, penetrando somente na superfície da pele: *Boophilus*, *Rhipicephalus*, *Anocenter* e *Haemaphysalis*. Nestas espécies, a glândula salivar exerce função preponderante na fixação do hospedeiro (Moorhouse & Tatchell, 1966).

Estudos histoquímicos e histológicos têm demonstrado baixa influência de enzimas citolíticas presentes na saliva no processo de fixação (Binnington & Kemp, 1980; Bourdeau, 1982; Kaufman, 1989). Entretanto, algumas esterases e fosfatases têm sido identificadas (Balashov, 1972). A lesão tecidual causada por *B. microplus*, segundo Tatchell & Moorhouse (1970), é provocada, principalmente, pelo afluxo de células de defesa do hospedeiro. Os mesmos autores demonstraram que a lesão no local de fixação de *Rhipicephalus sanguineus* em cães foi provocada pela degranulação de leucócitos.

Os carrapatos ixodídeos permanecem fixados nos seus hospedeiros por um longo período, o que permite a ingestão de grande quantidade de sangue, expondo o carrapato ao sistema de defesa do hospedeiro, incluindo inflamação e resposta imune. A inflamação leva à remoção do carrapato pela irritação local (Koudstaal et al., 1978). Dor e irritação, que podem aumentar a atividade de

coçar por parte do hospedeiro, são suprimidas por uma dipeptidil-carboxipeptidase desativando a bradicinina (Ribeiro & Mather, 1998) e por uma proteína que se liga à histamina (Paesen et al., 1999).

### ***Imunossupressão***

Os carrapatos são capazes de modular os macrófagos do hospedeiro e a resposta de citocinas de células T, suprimir a proliferação de linfócitos T, diminuir a resposta de anticorpos e inibir as atividades dos componentes do sistema complemento. O bloqueio dessas atividades se dá diretamente sobre elementos da resposta imune envolvidos na aquisição e expressão da resistência adquirida pelo hospedeiro contra as infestações e, conseqüentemente, influencia também na transmissão de patógenos ao hospedeiro (Wikel & Bergman, 1997). A supressão da função das APCs e linfócitos T reduz a habilidade de gerar e expressar imunidade efetiva para qualquer tipo de imunógeno, incluindo aqueles associados aos patógenos transmitidos pelo carrapato (Wikel, 1996).

Infestações repetidas por ninfa de *I. ricinus* em camundongo BALB/c resultaram em supressão de ativador de linfócitos B, anticorpos totais e número de mastócitos no local da picada (Dusbábek et al., 1995).

Infestação de *D. andersoni* reduz a proliferação de linfócitos T in vitro, induzido por concanavalina A (Con A) (Wikel, 1982), e o desenvolvimento de uma resposta primária de anticorpo (Wikel, 1985). Uma proteína imunossupressora, Da-p36, massa molecular de 36 kDa, presente na saliva e glândula salivar de *D. andersoni*, com atividades de supressão na proliferação de linfócitos T e com propriedade de se ligar em imunoglobulina, foi encontrada em larvas logo após a sua fixação ao hospedeiro, aumentando sua quantidade de uma forma acentuada entre o 2º e o 4º dias de alimentação (Bergman et al., 2000).

A saliva de *I. dammini* apresenta prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) que possui a capacidade de reduzir a produção de células T de IL-2, por contato direto, inibindo produção de linfocinas por células Th1, não tendo efeito em células Th2 (Ribeiro et al., 1985).

### ***Glândula salivar do carrapato***

O carrapato é um ectoparasito que permanece um tempo longo associado ao hospedeiro durante a sua alimentação (Sauer et al., 2000).

A glândula salivar é vital para o sucesso biológico dos carrapatos ixodídeos e a principal rota de transmissão de patógenos. Suas principais funções incluem a absorção de vapor de água proveniente de ar insaturado por carrapatos em vida livre, excreção do excesso de fluido, concentrando o sangue ingerido, e a secreção de proteínas bioativas e componentes lipídicos durante a sua alimentação (Sauer et al., 2000).

Os ácinos da glândula salivar crescem marcadamente em tamanho (massa e conteúdo de proteína aumentam 25 vezes) durante a fixação e período de alimentação do carrapato no hospedeiro, sem alterar o número de células.

Ao se alimentar, o carrapato ativa genes (Oaks et al., 1991) e há evidências de que o crescimento e desenvolvimento das glândulas salivares podem ser controlados por fatores liberados na hemolinfa durante a alimentação do carrapato (Coons & Kaufman, 1988).

As glândulas salivares são controladas por nervos, o que se justifica pela habilidade da dopamina – um neurotransmissor, capaz de estimular secreções fluidas em glândulas salivares isoladas (Kaufman, 1989). Em *B. microplus* foi identificada a presença de catecolamina na glândula e nervos salivares (Binnington & Stone, 1977). Pelo menos dois sistemas sensoriais vêm ao encontro da ação da dopamina no nervo salivar tendo sinapses no singânglio. Um dos sistemas é colinérgico e tem ação semelhante à pilocarpina, um agente colinérgico que estimula a salivação in vivo, e o outro é uma resposta do aumento do volume da hemolinfa por receptores localizados ao longo da parede abdominal (Kaufman, 1989).

As glândulas salivares dos carrapatos ixodídeos contêm altos níveis de prostaglandinas (PG). A saliva de *A. americanum* contém altas concentrações de  $PGE_2$  e  $PGE_{2\alpha}$  (Bowman et al., 1997). As PGs são derivadas do ácido aracdônico (AA). O AA constitui 9% do total dos ácidos graxos e está aumentado em mais de 41 vezes durante o processo de alimentação do carrapato. Esse aumento supõe-se ser proveniente da dieta, tendo em vista que o carrapato não possui mecanismos para sintetizar AA (Bowman et al., 1995). Por outro lado, ele possui a capacidade de acumular  $^3H$ -AA nos fosfolípidos glandulares marcados, diferentemente dos observados para outros ácidos graxos (Bowman et al., 1997).

A dopamina deve estimular os canais de cálcio, aumentando a concentração de AA livres na glândula salivar, a partir dos fosfolípidos de membrana, precursores das PGs (Bowman et al., 1997).

O aumento da concentração do AA livre deve-se ao aumento da atividade da fosfolipase citosólica  $A_2$  (cPLA<sub>2</sub>). Tanto a dopamina quanto o cálcio ionóforo foram efetivos para estimular a atividade do cPLA<sub>2</sub> na glândula salivar. Por outro lado, seu efeito foi inibido pelo oleiloxietil fosforilcolina (OPC) (Bowman et al., 1995).

PGE<sub>2</sub> aumenta os níveis de cAMP de uma forma indireta (Qian et al., 1998), provavelmente por meio da mobilização de cálcio intracelular. Desta forma, a PGE<sub>2</sub> ativaria a fosfolipase C e aumentaria o cálcio citosólico por meio do receptor de PGE<sub>2</sub>. Este, por sua vez, estimula a liberação de proteínas anticoagulantes em baixas concentrações provenientes de ácinos de glândula salivar (Qian et al., 1998) e causa a liberação do cálcio intracelular, estimulando a excitação das proteínas da glândula salivar (Sauer et al., 2000).

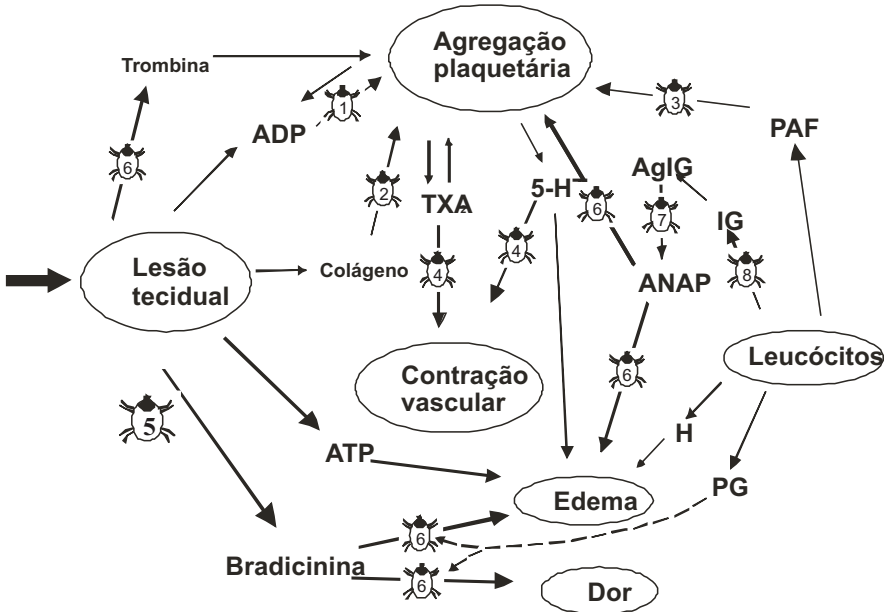
O fator mais importante na habilidade do carrapato em sobreviver a longos períodos sem se alimentar está relacionado com a sua habilidade de preservar o balanço hídrico por meio da sua capacidade de absorver água proveniente de ar insaturado (Sigal et al., 1999). Sugere-se que o carrapato, por meio do ácino tipo I da glândula salivar, secrete sal proveniente da hemolinfa concentrada na região oral até a re-hidratação e posterior re-ingestão (Needham & Teel, 1986).

### *Saliva do carrapato*

A saliva dos carrapatos ixodídeos possui atividade anticoagulante (Limo et al., 1991; Ribeiro et al., 1985), antiinflamatória, imunossupressora, antiagregação plaquetária, ativadora de células T, inibidora do sistema complemento (Ribeiro, 1989) e prostaglandinas (Qian et al., 1998). Ribeiro (1995) apresenta resumidamente as ações de moléculas presentes em carrapatos para interferir na homeostasia e inflamação do hospedeiro (Fig. 3).

Cerca de 0,4 mL de excesso de fluido é excretado de volta ao hospedeiro via glândula salivar (Sauer et al., 2000), concentrando o alimento ingerido. Kaufman & Phillips (1973) estimaram que, durante o ciclo alimentar do *D. andersoni*, 80% do alimento total foram excretados, ocorrendo via salivação em torno de 75% desses. Em *B. microplus* também foi demonstrada excreção de água via salivação (Tatchell, 1967).

Além do excesso de fluido, a saliva contém um amplo número de proteínas bioativas e moléculas lipídicas com diversas propriedades farmacológicas para opor-se aos mecanismos de defesa apresentados pelo hospedeiro em resposta à fixação do carrapato (Bowman et al., 1997). Proteínas que se ligam à histamina foram encontradas na saliva do carrapato *Rhipicephalus appendiculatus*, subvertendo o sistema de defesa do hospedeiro (Paesen et al., 1999).



**Fig. 3.** Diagrama simplificado da hemostasia e inflamação com base nos eventos importantes no local da picada do carrapato. À esquerda, estão mostrados os mediadores liberados a partir da lesão tecidual. Ao centro, o fenômeno causado por cada mediador. À direita, a contribuição dos leucócitos na hemostasia e na inflamação. ANAP, anafilatoxina; H, histamina; 5-HT, serotonina; IG, imunoglobulinas; AgIG, imunocomplexos; PAF, fator ativador de plaquetas; PG, prostaglandinas; TXA<sub>2</sub>, tromboxane A<sub>2</sub>. As setas pontilhadas, a partir das prostaglandinas, indicam o efeito de potenciação da bradicinina pelas prostaglandinas (principalmente E<sub>2</sub>). Os desenhos e números de carrapatos indicam atividade salivar inibitória em *Ixodes scapularis*: 1) apirase salivar destrói ADP e ATP liberados pelas células lesadas; 2) e 3) a saliva inibe colágeno e PAF, induzindo agregação plaquetária; a apirase pode contribuir para esse efeito, mas outros componentes semelhantes estão para ser descobertos; 4) prostaglandina E<sub>2</sub> abundante é um antagonista fisiológico dos vasoconstritores tais como TXA<sub>2</sub> e 5-HT; 5) anticoagulante parcialmente caracterizado que inibe a via intrínseca da coagulação; 6) carboxipeptidase B salivar que inativa a anafilatoxina e bradicinina; 7) atividade anti-C3 convertase inibe ativação de complemento; 8) peptídeos imunossupressores previnem ativação de macrófagos e linfócitos. Figura modificada de Ribeiro (1995).

### **Atividades protéicas na hemolinfa e no tubo digestivo do carrapato**

Hemolinfa de artrópodes contém proteínas com atividade inibitória sobre serinoproteases que participam na proteção que inibe enzimas de fungos ou bactérias, ou provavelmente regulam proteinases envolvidas na coagulação ou ativação de citocinas (Kanost, 1999).

Serinoproteases presentes na hemolinfa participam da cascata de profenoloxidase e estão relacionadas com a oxidação da tirosina em melanina, mecanismos de defesa nos insetos. O controle dessas reações é realizado por inibidores de proteases. Dois inibidores de serinoproteases foram isolados da hemolinfa da larva de sexto estágio do inseto *Mythimna unipuncta*, inibidores de tripsina e quimotripsina com 52k e 43 kDa, respectivamente (Cherqui et al., 2001).

De hemolinfa do carrapato *Ornithodoros moubata* foi isolada uma lectina, denominada de Dorin M, glicoproteína com massa molecular de 37 kDa. As lectinas nos invertebrados estão relacionadas com o reconhecimento de agentes externos pelo sistema imune e com a transmissão de patógenos em insetos hematófagos (Kovár et al., 2000).

Recentemente, foram descritos uma atividade antimicrobiana de um fragmento de hemoglobina bovina na hemolinfa e no conteúdo do tubo digestivo do carrapato *B. microplus* (Fogaça et al., 1999) e um peptídeo de ação antimicrobiana, com massa molecular de 4 kDa, de hemolinfa de *O. moubata*, com alta homologia à defensina de escorpião, mas expresso no tubo digestivo (Nakajima et al., 2001).

Os carrapatos possuem uma substância hemolítica no tubo digestivo que facilita a digestão sangüínea, confirmada pela presença de hemolisina (Ribeiro, 1988). O carrapato não possui a capacidade de sintetizar heme. Recentemente, foi mostrado que *B. microplus* capta o heme pela degradação da hemoglobina, proveniente de sangue ingerido, bem como, lipoproteínas da hemolinfa que se ligam e transportam o heme do tubo digestivo para os tecidos do carrapato (Maya-Monteiro et al., 2000). Também foram descritas outras proteínas envolvidas na embriogênese do vitelo, como aspartil proteinase ligado ao heme (Sorgine et al., 2000) e catepsina L proteinase (Renard et al., 2000).

### ***Anti-hemostáticos presentes em carrapatos***

O processo de coagulação sangüínea é constituído de duas vias, intrínseca e extrínseca, que convergem para uma via comum. As enzimas proteolíticas, fator Xa e trombina, encontram-se na via comum de coagulação, o que as torna alvos importantes dos hematófagos.

Em geral, as proteases geradas na coagulação sangüínea são serinoproteases relacionadas à tripsina pancreática, com exceção do fator XIII (fator estabilizante de fibrina) (Neurath, 1989).

No último passo de ativação, a protrombina é ativada em trombina, transformando o fibrinogênio solúvel em gel de fibrina. A origem da ativação pode se dar pelas duas vias intrínseca e extrínseca, onde o fator X é ativado em fator Xa, que, por sua vez, ativa a protrombina em trombina (Davie & Fugikawa, 1975).

A via extrínseca requer a participação de fatores tissulares (Neurath, 1989), sendo esta mais rápida que a via intrínseca, devido à ativação direta do fator X por meio da reação catalisada pelo fator VIIa/fator tissular, em contraste com várias etapas requeridas na via intrínseca, dependente apenas de proteínas e cofatores encontrados no plasma (Jackson & Nemerson, 1980).

Evidências sugerem que a via intrínseca tem um papel importante no crescimento e na manutenção do coágulo de fibrina, enquanto a via extrínseca tem um papel crítico no início da formação da fibrina (Davie et al., 1991).

Genericamente, um inibidor pode ser definido como um composto que diminui a velocidade de hidrólise de um determinado substrato (Salvesen & Nagase, 1989).

Uma das famílias de proteases melhor estudadas é a das serinoproteases e, conseqüentemente, os seus inibidores apresentam um grande número de membros descritos. Os inibidores de serinoproteases estão agrupados em, pelo menos, 10 famílias segundo a similaridade na estrutura primária, conteúdo de cisteína e mecanismo de ação (Laskowski & Kato, 1980).

Atividade anticoagulante sobre a via intrínseca e extrínseca da coagulação foi identificada na saliva de teleógina parcialmente ingurgitada de *A. americanum*. As atividades de fator Xa e trombina foram inibidas pela saliva deste carrapato

(Zhu et al., 1997). Extrato de glândulas salivares do carrapato *D. andersoni* inibe a via extrínseca e intrínseca da coagulação em sangue total de coelhos, afetando diretamente os fatores V e VII (Gordon & Allen, 1991).

Um inibidor de fator Xa, TAP (*tick anticoagulant peptide*) foi isolado do carrapato *O. moubata* (Waxman et al., 1990). A utilização rTAP (recombinante) demonstrou que a inibição da geração de trombina, mediada pela inibição do fator Xa no complexo protrombinase, é efetiva no controle da atividade de trombina sem elevar o tempo de sangramento (Schaffer et al., 1991). Recentemente, Savignin, um potente inibidor de trombina com massa molecular de 12 kDa, foi isolado de glândula salivar do carrapato *Ornithodoros savignyi* (Nienaber et al., 1999); da saliva de *B. microplus* também foram isolados inibidores de trombina (Horn et al., 2000).

Paralelamente à coagulação, os carrapatos também produzem substâncias que afetam outros processos como a calreticulina que não mostrou evidência funcional para estoque de cálcio, sugerindo alguma função na alimentação do sangue por meio de imunossupressão ou anti-hemostasia (Jaworski et al., 1995). Também foram caracterizadas as apirases de saliva de algumas espécies de carrapato, que inibem agregação plaquetária (Ribeiro et al., 1985); “disagregin”, proveniente do *O. moubata*, que inibe agregação plaquetária estimulado por ADP por meio da ligação em receptor de fibrinogênio plaquetário (Karczewski et al., 1994), e “moubatin”, com massa molecular de 16 kDa isolado de *O. moubata*, que inibe agregação plaquetária estimulada por colágeno (Waxman & Connolly, 1993).

### ***Inibidores de serinoproteases presentes em carrapatos***

Em carrapatos, os inibidores influenciam na coagulação sangüínea alterando o tempo de protrombina e o tempo de tromboplastina parcialmente ativado em bovinos. A concentração desses inibidores diminui rapidamente no início da fase de vida parasitária, sugerindo que o inibidor seria secretado no interior do hospedeiro no momento após a fixação da larva (Willadsen & Riding, 1980). Esses inibidores interferem no processo de defesa do hospedeiro contra o carrapato, facilitando a alimentação dos mesmos no período inicial da fase de vida parasitária (Willadsen & McKenna, 1983).

Inibidores de tripsina de *B. microplus* estão presentes na fase de vida livre e o isolamento de diferentes formas de inibidores sugere que existem formas que são

estágio-específicas (Andreotti et al., 2001).

Inibidores presentes em ovos de diversas espécies de carrapato, incluindo o *B. microplus*, foram considerados como toxinas de ovos e possuem relações imunológicas (Vermeulen et al., 1988).

Nas fases de ovos e larvas do carrapato *B. microplus*, estão presentes, pelo menos, dois inibidores de proteases que inibem tripsina e quimotripsina (Willadsen & Riding, 1980; Vermeulen et al., 1988). Alguns resultados sugerem a presença de inibidores *double-headed*, com capacidade de inibir duas moléculas de enzima ao mesmo tempo, por exemplo, tripsina e quimotripsina (Willadsen & Riding, 1979).

Recentemente, foi descrito um desses inibidores, denominado BmTI-A, classificado como membro da família tipo Kunitz (Tanaka et al., 1999), com similaridade para a “ornithodorin”, um inibidor de trombina (Van de Locht et al., 1996), e com inibidor de fator Xa, TAP (*tick anticoagulant peptide*) (Waxman et al., 1990).

### *Inibidores de tripsina de Boophilus microplus (BmTIs)*

Os ovos e as larvas de *B. microplus* são fontes de inibidores de tripsina e realizam uma mobilidade e especificidade ao longo da fase de vida livre, sugerindo uma preparação para a fase de vida parasitária (Andreotti et al., 2001).

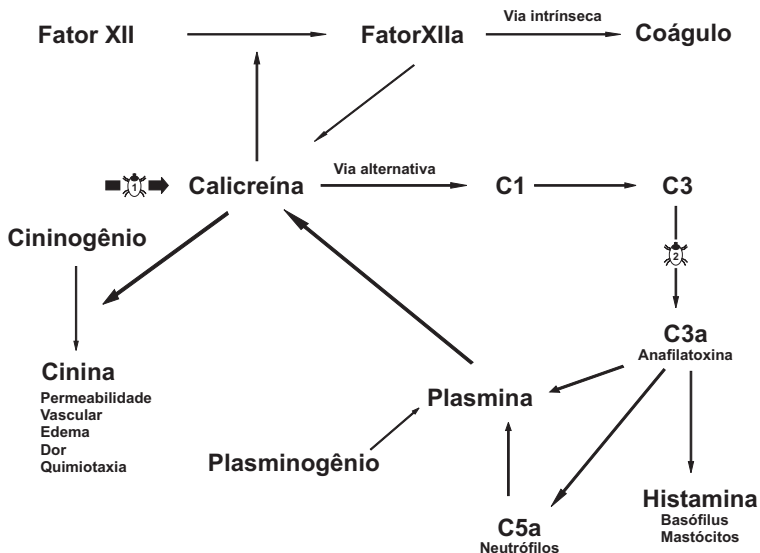
Larvas que não se alimentam e se situam próximo à pele do bovino morrem rapidamente, e perdem, em média, 6 µg de peso vivo em 12 horas porque o ambiente próximo à pele do bovino desseca a larva. As primeiras 24 horas da fase parasitária são as mais críticas para a sobrevivência larval (Kemp et al., 1971). Além disso, ocorre estresse adicional nas larvas pela necessidade de fixações curtas e freqüentes quando atacam animais resistentes (Kemp et al., 1976).

Essas evidências têm sugerido que os inibidores de proteases tipo tripsina devem ser importantes no processo de fixação do carrapato no hospedeiro interferindo no processo de defesa do hospedeiro e facilitando a alimentação do carrapato no estágio inicial da sua vida parasitária (Willadsen & McKenna, 1983).

A larva necessita de um sistema para atenuar os efeitos da coagulação e inflamação do hospedeiro. Um inibidor de dupla ação em coagulação e inflamação pode ser uma solução econômica no processo de alimentação (Tanaka et al., 1999).

A capacidade do BmTI de atuar sobre HuPK, aliada ao fato de não inibir trombina, fator Xa e plasmina, pode estar relacionada com a inibição da coagulação via calicreína plasmática. O tempo de protrombina parcialmente ativado (TTPA) prolongado na presença do BmTI-A, quando comparado com o plasma normal, reforça o efeito do inibidor na via intrínseca da coagulação (Tanaka et al., 1999).

A calicreína plasmática é uma protease que participa da via intrínseca, fase de contato da coagulação sangüínea, principalmente pela ativação do fator XII. Ela é importante na geração dos fatores de coagulação para a manutenção do coágulo de fibrina, enquanto a via extrínseca tem um papel crítico no início da formação da fibrina (Davie et al., 1991). A calicreína também age no cininogênio liberando a cinina que provoca hipotensão, contração da musculatura lisa, dor e aumento da permeabilidade vascular (Jackson & Nemerson, 1980). Desta forma, a ação do BmTI-A da larva do carrapato, durante o processo de picada, pode estar inibindo a calicreína e, em consequência, evitando formação de edema, pela inibição local de liberação de bradicinina, e reduzindo a capacidade do hospedeiro de se coçar, fator importante na retirada do carrapato da pele do hospedeiro, pela inibição da formação de bradicinina, o mediador da dor (Ribeiro, 1989). Modelo apresentado na Fig. 4.



**Fig. 4.** Diagrama representativo das ações da caliceína no sistema de coagulação e processo inflamatório: 1) inibição da caliceína pelo BmTI-A e seus possíveis efeitos; 2) atividade anti C3 convertase da saliva de carrapatos inibindo ativação do complemento.

O BmTI-A pode ter um papel importante no bloqueio da coagulação por meio da inibição da caliceína e na inibição da resposta imune imediata por inibição da elastase de neutrófilos, considerando um modelo onde os BmTIs estejam participando de um bloqueio durante o processo de fixação das larvas do *B. microplus* nos bovinos. Este bloqueio é vantajoso para o carrapato no processo de fixação no hospedeiro e na alimentação no início da sua fase parasitária (Andreotti et al., 2002).

A presença de BmTIs na larva infectante, no período final da fase de vida livre do carrapato, em que a larva necessita de um sistema eficiente para se prevenir da resposta imune do hospedeiro para a fixação e alimentação, evidenciada pelo aumento da atividade inibitória para caliceína plasmática e elastase de neutrófilo, indicou a necessidade de obter mais informações sobre o comportamento dos BmTIs durante essa fase de vida (Andreotti et al., 2001).

## Transmissão de patógenos pelo carrapato

A habilidade dos carrapatos em transmitir patógenos pode ser devida a moléculas não específicas com atividade farmacológica e imunomoduladora como a PGE<sub>2</sub>, e também ao tipo de resposta imune do ectoparasito (Th1 ou Th2). Parece que componentes imunogênicos da glândula salivar do carrapato disparam as células Th2 (IL-4, IL-10), criando um ótimo ambiente para o desenvolvimento de patógenos e inibindo o estímulo das células Th1 (IFN- $\gamma$ ). Além disso, IL-10 como outros componentes glicosilados da saliva do carrapato, pode diminuir a atividade de macrófagos, prevenindo a destruição de agentes infecciosos (Ganapamo et al., 1997).

O sistema complemento, a produção de anticorpos e o perfil de citocinas de macrófagos e linfócitos T são todos alvejados pela saliva do carrapato (Wikel, 1996). Imunomoduladores presentes em carrapatos são importantes na transmissão de patógenos.

Os patógenos que estão presentes na saliva do carrapato são mais infectantes do que na sua ausência, reforçando o conceito de que a transmissão ativada pela saliva, como uma ação paralela do carrapato, aumenta a transmissão de patógenos para o hospedeiro (Jones et al., 1989; Wikel, 1996).

*Ixodes holocyclus* causa paralisia em animais domésticos que também pode ser fatal ao homem (Stone et al., 1989).

No Brasil, *B. microplus* é vetor principalmente de dois parasitos, a rickettsia *Anaplasma* e o protozoário *Babesia*, responsáveis pelo complexo conhecido como “tristeza parasitária bovina”, causador de importantes prejuízos ao sistema de produção. A ocorrência da tristeza parasitária está ligada a uma relação entre o inóculo recebido e o nível de anticorpos dos bovinos. A carência nutricional e o estresse influenciam na resistência dos bovinos, favorecendo o aparecimento da doença (Farias, 1995).

## Controle do carrapato

### Controle alternativo

O controle alternativo do carrapato vem sendo estimulado apesar de sua resposta ainda pouco expressiva. Os métodos são os mais variados: seleção de bovinos resistentes aos carrapatos; cultivo de pastagens que dificultam a sobrevivência das larvas (Sutherst et al., 1982); rotação de pastagens (Elder et al., 1980); manejo de predadores naturais, como a *Egretta ibis*, garça-vaqueira (Alves-Branco et al., 1983) e formigas (Gonzales, 1995); uso de patógenos como o fungo *Beauveria bassiana* (Cordovés, 1997); bactérias como a *Cedecea lapagei* (Brum, 1988) e fitoterápicos.

### Controle químico

O uso de acaricidas é a principal forma de controle dos carrapatos em rebanho bovino, principalmente por meio de aspersão ou banho de solução aquosa. Os sistemas dorsal, injetável e por bolos gástricos têm sido incrementados nos últimos anos, facilitando o manejo. Novas formas de administração dos produtos vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de facilitar o manejo e aumentar a eficiência dos produtos químicos no controle do carrapato.

O extensivo uso de acaricidas leva a um número elevado de problemas: custo do manejo, custo da dose e período de proteção. Além disso, o uso de acaricidas promove a seleção de linhagens de carrapatos resistentes, diminuindo o período de proteção dos produtos e aumentando o custo de tratamento.

O controle químico utilizando acaricidas começou no século XX com os compostos arsenicais e, desde a década de 30, registram-se casos de resistência a este princípio ativo. A primeira constatação de resistência do *B. microplus* aos produtos cloro-arsenicais, até então de uso corrente, deve-se aos pesquisadores do Instituto de Pesquisas Veterinárias “Desidério Finamor”, do Estado do Rio Grande do Sul. Os organoclorados e organofosforados começaram a ser usados no início da década de 50. Vinte anos mais tarde, iniciou-se o uso das formamidinas e, logo após, o uso dos piretróides sintéticos, devido à existência de populações de carrapatos resistentes aos princípios ativos (Pereira, 1982).

Atualmente, as drogas mais utilizadas são as derivadas de piretróides, ivermectinas e benzoil fenil uréia (Vaz Júnior, 1997). Os piretróides causam resistência desde 1989 (Alves-Branco et al., 1992). A resistência dos carrapa-

tos aos princípios ativos vem acontecendo de uma forma mais intensa nos últimos anos, comprometendo o uso de certas moléculas no manejo do controle do carrapato em determinadas regiões.

## Controle por meio de imunização

Uma alternativa que vem sendo pensada e desenvolvida é o controle do carrapato por meio de vacina, baseado na observação de ocorrência de resistência natural do bovino adquirida após repetidas infestações com o ectoparasita (Roberts, 1968; Wagland, 1975; Willadsen et al., 1989; Barriga et al., 1993).

Uma das primeiras observações da resistência adquirida foi realizada, em 1939, por Trager, que verificou a aquisição de resistência em cobaias e coelhos infestados com carrapato *Dermacentor variabilis* a futuras infestações, com redução significativa no número e no peso dos carrapatos ingurgitados. Essa proteção também foi desenvolvida pela inoculação de extratos de larvas e pode ser transferida a outro animal pela doação de soro sensibilizado (Vaz Júnior, 1997).

Vacinas são potencialmente importantes no controle de agentes causadores de doenças, principalmente por não serem agentes químicos, por terem um menor custo e porque o desenvolvimento de resistência é mais lento do que para os produtos químicos (Willadsen, 1997).

O uso de extrato de glândula salivar de *D. andersoni*, associado a adjuvante de Freund incompleto, resultou em proteção de cobaias desafiadas com larvas de carrapato (Wikel, 1981). Resultados semelhantes foram relatados quando foi utilizada glândula salivar de *A. americanum* (Brown et al., 1984). A utilização de células de cultura primária de embrião de *A. americanum* para imunização em cobaias acarretou uma redução do peso das fêmeas ingurgitadas, da postura e aumento da mortalidade dos carrapatos, quando desafiadas com *A. americanum* e *D. andersoni*, mostrando a presença de antígenos comuns entre as espécies (Wikel, 1985).

Ao infestar coelhos com *R. appendiculatus* e *R. evertsi evertsi*, Njau & Nyindo (1987) observaram queda no número de carrapatos após sucessivas infestações e aumento de anticorpos contra glândula salivar a partir da primeira infestação.

Em coelhos infestados com *R. appendiculatus*, Shapiro et al. (1987) verificaram uma redução em 80% no peso dos carrapatos alimentados, associada à identificação de anticorpos contra antígenos de glândula salivar e intestino.

Brown (1988), por meio de *western blotting*, verificou a produção de anticorpos contra antígenos de intestino de cobaias e coelhos infestados com *A. americanum*, sugerindo regurgitamento durante o processo de alimentação, podendo estar relacionado com mecanismos de transmissão de patógenos como *A. marginale*.

Comparando a resposta imunológica com a infestação natural e a desenvolvida por vacinação com extrato de *B. microplus*, concluiu-se que, na primeira, a resposta é efetuada principalmente por hipersensibilidade imediata, causando rejeição das larvas; na segunda, a resposta é efetuada principalmente por anticorpos contra a fase adulta que causam lesões no sistema digestivo, além da queda de peso de ingurgitamento e viabilidade dos ovos (Willadsen, 1987).

Extratos de membranas de intestino de *B. microplus*, extraídos com diferentes forças iônicas e detergentes, quando utilizados em vacinação de bovinos associados ao adjuvante saponina, protegeram entre 65% e 78%, exceto o extraído com alta força iônica (Wong & Opdebeeck, 1989). Quando esses antígenos foram obtidos por ultra-sonicação e centrifugação diferencial induziram uma proteção de mais de 90% contra infestações com larvas (Jackson & Opdebeeck, 1989).

Bovinos infestados com *B. microplus*, quando comparados com bovinos vacinados com extratos de membrana de intestino de *B. microplus* com adjuvante Quil A (saponina), produziram resposta celular e humoral, sendo que o nível de anticorpos foi maior nos animais vacinados (Opdebeeck & Daly, 1990).

Anticorpos monoclonais contra antígenos presentes no intestino de carrapatos adultos foram produzidos por Lee & Opdebeeck (1991). Utilizando imunoprecipitados por um dos monoclonais (QU13) para imunização de bovinos, obtiveram uma redução de 62% na postura dos carrapatos. Toro-Ortiz et al. (1997), usando anticorpos monoclonais, produzidos contra embrião e intestino de *B. microplus*, em fêmeas ingurgitadas do carrapato, obtiveram uma redução na ovoposição de 50% e 70%, respectivamente.

Uma glicoproteína de 89 kDa (Bm86), ligada à membrana intestinal, purificada, utilizando uma coluna de Sephadex-Concanavalina A, induziu a produção de anticorpos que inibiram a endocitose das células intestinais, sem causar lise celular (Willadsen et al., 1989). O gene da Bm86 foi clonado e a sua proteína recombinante expressa em *Escherichia coli*. A Bm86 foi utilizada em experimentos de vacinação promovendo uma proteção menor que a proteína nativa, sugerindo ausência de glicosilação em proteínas sintetizadas por *E. coli* (Rand et al., 1989).

A proteína Bm86 também foi clonada e expressa em *Pichia pastoris*, apresentando resultados em teste com bovinos de redução de 50,5% em peso, 31% no número e 70% na habilidade reprodutiva dos carrapatos que se desenvolveram no hospedeiro (Rodriguez et al., 1994).

O antígeno Bm86 é uma proteína imunogênica do tubo digestivo do carrapato que não entra em contato com o sistema imunológico do hospedeiro. Portanto, foi denominada de antígeno oculto (Willadsen & Kemp, 1988). Utilizando anticorpo marcado com ouro coloidal foi evidenciado que a Bm86 se localiza na superfície apical de células do intestino do carrapato, com maior concentração nas microvilosidades das células digestivas (Gough & Kemp, 1993).

Uma glicoproteína de 63 kDa, denominada BMA7, foi isolada de teleóquina de *B. microplus* e induziu uma imunidade parcial. Entretanto, co-vacinando com a Bm86, foi observado um aumento do efeito (McKenna et al., 1998).

No Brasil, foi demonstrado que o uso da Bm86, em bovinos submetidos à infestação natural de *B. microplus*, reduziu entre 45% e 60% o índice de infestação dos bovinos vacinados (Rodriguez et al., 1995a).

Atualmente, as vacinas são desenvolvidas a partir da Bm86, conferindo proteção parcial aos bovinos contra futuras infestações por *B. microplus*, diminuindo o número de carrapatos, produção de ovos e fertilidade (Rodriguez et al., 1995b). Esses resultados não asseguram a proteção desejada na produção bovina, sugerindo a necessidade de mais de um antígeno protetor (Willadsen et al., 1996). Na Austrália, a vacina baseada na proteína Bm86 é comercializada com o nome de TickGARD (Willadsen et al., 1995) e, em Cuba, no México e no Brasil, com o nome de GAVAC (Fuente et al., 1998).

O uso da Bm86, apesar de parcial e necessitar de várias doses para um período de proteção curto, é uma alternativa de controle, principalmente quando associada ao controle químico, permitindo o espaçamento das dosificações e sinalizando a real possibilidade do controle por meio de imunoproteção contra *B. microplus*, bem como contra *B. annulatus* que coexiste com o *B. microplus* em outros países, como o México (Fragoso et al., 1998).

A partir de fêmeas adultas semi-ingurgitadas de *B. microplus*, foi purificada uma proteína com massa molecular de 86 kDa, denominada Bm91. Com base na seqüência de aminoácidos, esta proteína apresentou similaridade com enzima conversora de angiotensina e foi localizada em células de intestino e glândulas salivares. Testes de proteção com a proteína nativa mostraram redução de 14% a 52% na oviposição dos carrapatos provenientes de bovinos vacinados (Riding et al., 1994).

A partir de ovos de *B. microplus*, foi purificada uma glicoproteína de massa molecular de 50 kDa, denominada BYC – *Boophilus* *Yolk* *pro-Cathepsin* (Logullo et al., 1998). O anticorpo policlonal desenvolvido contra N-acetilhexosaminidase, isolada de extrato de larva de *B. microplus*, reagiu com diferentes antígenos na hemolinfa e reduziu a oviposição em 26%, quando inoculado em teleóginas (Pino et al., 1998).

Estudos com a sensibilização de ovinos, usando plasmídeo codificado com o gene da proteína Bm86, mostraram resultados semelhantes à vacinação com a proteína recombinante (Rose et al., 1999).

O peptídeo sintético (SBm7462), desenhado e clonado a partir da Bm86, mostrou resultado positivo em teste preliminar de imunoproteção de bovinos e posterior desafio com larvas, alcançando 81,05% de eficiência (Patarroyo et al., 2002).

Experimentos com imunização de bovinos, na Embrapa Gado de Corte, com os inibidores BmTIs, mostraram significativa redução do número de teleóginas (67,9%), com redução no seu peso (14,5%) e na produção de ovos (10,3%). Estes dados sugerem que a imunização com BmTIs pode interferir no início do desenvolvimento larval nos bovinos imunizados, aumentando a proteção contra hematofagia e fatores relacionados: perda de peso, imunossupressão, lesões na pele, infecções secundárias e transmissão de patógenos (Andreotti et al., 2002).

A imunização de bovinos com BmTIs revelou 72,8% de eficiência na proteção contra o carrapato. Esses dados são comparáveis a outras avaliações de imunógenos (Rodriguez et al., 1994; Willadsen & Kemp, 1988).

### **Adjuvantes**

O uso de adjuvantes deve ser considerado na avaliação da capacidade de elevar a resposta imune e produção de anticorpos. Após 1996, a vacina TickGARD recebeu nova formulação de adjuvante, sendo chamada de TickGARD Plus, com uma potência duas a três vezes maior na capacidade de estimular a produção de anticorpos, sustentando por mais tempo e com efeito maior nos carrapatos (Willadsen, 1997).

Extrato da glândula salivar de *Ornithodoros erraticus* e *O. moubata*, quando inoculado com adjuvante de Freund, induz uma resposta imune protetora. Este permite o reconhecimento dos antígenos que, em condições naturais, não são imunogênicos (Astigarraga et al., 1997). A comparação de adjuvantes usando extrato de tubo digestivo como antígeno mostrou que o adjuvante Quil A foi mais eficiente do que adjuvante incompleto de Freund e ao  $Al(OH)_3$  para esses antígenos (Jacson & Opdebeeck, 1995).

A adição de extrato de *Ascaris* como imunomodulador de IgE, associado ao adjuvante de Freund, aumenta a resposta imune contra carrapatos a antígenos provenientes de extrato de glândula salivar de *Hyalomma anatolicum anatolicum* (Sran et al., 1996).

A proteína Bm86 foi capaz de atuar como adjuvante nas vacinas contra a rinotraquíte bovina (em bovinos) e a hepatite B (em camundongos) (García-García et al., 1998).

## **Perspectivas da imunoproteção**

A avaliação sorológica dos animais imunizados com diferentes antígenos mostrou que o seu título tende a decrescer com meia vida de três meses, sugerindo a necessidade de um reforço de vacinação com os diferentes antígenos.

Bovinos vacinados com extratos de membrana de intestino de *B. microplus*, com adjuvante Quil A (saponina), produziram resposta celular e humoral, sendo que o nível de anticorpos foi maior nos animais vacinados do que nos infestados

(Opdebeeck & Daly, 1990), reforçando a necessidade de incorporar adjuvantes adequados para melhorar a qualidade da resposta imune do hospedeiro, como ocorreu com a vacina TickGARD, cuja potência foi aumentada de duas a três vezes com a nova formulação de adjuvante adotada em 1996 (Willadsen, 1997).

Os níveis de anticorpos estão diretamente relacionados com o efeito de proteção contra o carrapato (Opdebeeck & Daly, 1990). É importante lembrar que as características da proteína alvo, usada como imunógeno, é que vão determinar o efeito deletério no carrapato. Os níveis de anticorpos, na verdade, ampliam a ação de inativação da proteína alvo.

Outras proteínas do carrapato *B. microplus* vêm sendo estudadas com o objetivo de se conhecer melhor a fisiologia deste carrapato, o papel dessas proteínas na relação parasito-hospedeiro e a possibilidade do seu uso no controle do carrapato: Bm91, proteína de 86 kDa (Riding et al., 1994), e BYC – *Boophilus Yolk pro-Cathepsin* (Logullo et al., 1998), entre outras.

A eficiência da vacinação é maior quando em uso estratégico e/ou associado ao controle químico, significando que a resposta vacinal é melhor quando o número de larvas infestando os bovinos é baixo, ou seja, o grau de contaminação das pastagens influencia na resposta vacinal. Este fato levaria a crer que as larvas de carrapatos, de alguma forma, potencializam o efeito imunossupressivo, provavelmente dificultando a apresentação dos antígenos durante o processo de fixação.

O antígeno Bm86, usado no controle do carrapato no Brasil, mostrou uma eficiência de 51% (Rodriguez et al., 1995b), confirmando que as cepas de carrapatos são afetadas em diferentes graus de proteção e mostrando que os estudos das populações regionais de carrapatos são importantes para a verificação da eficiência dos antígenos em questão e o seu uso no controle do carrapato por meio de vacina.

O uso de uma vacina polivalente com vários antígenos, com efeito em diferentes fases de vida e impedindo o funcionamento de pontos importantes na vida do carrapato, vai permitir aumentar a eficiência no controle e dificultar a pressão de seleção nas populações de carrapato. Com a velocidade da descoberta de novos genes, acredita-se que em breve estará disponível um maior número de antígenos com efeito imunoprotetor.

## Referências Bibliográficas

- ALVES-BRANCO, F. P. J.; ECHEVARRIA, F. A. M.; SIQUEIRA, A. S. **Garça vaqueira (*Egretta ibis*) e o controle biológico do carrapato (*Boophilus microplus*).** Bagé: EMBRAPA-UEPAE Bagé, 1983. 4 p. (EMBRAPA-UEPAE Bagé. Comunicação Técnico, 1).
- ALVES-BRANCO, F. P. J.; SAPPER, M. F. M.; ARTILES, J. M. J. Diagnóstico de resistência de *Boophilus microplus* a piretróides. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 11., 1992, Gramado. **Anais...** Gramado: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1992. 242 p.
- ANDREOTTI, R.; GOMES, A.; MALAVAZI-PIZA, K. C.; SASAKI, S. D.; SAMPAIO, C. A. M.; TANAKA, A. S. BmTI antigens induce a bovine protective immune response against *Boophilus microplus* tick. **Internacional Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 2, p. 557-563, 2002.
- ANDREOTTI, R.; MALAVAZI-PIZA, K. C.; SASAKI, S. D.; TORQUATO, R. J. S.; GOMES, A.; TANAKA, A. S. Serine proteinase inhibitors from eggs and larvae of tick *Boophilus microplus*: purification and biochemical characterization. **Journal of Protein Chemistry**, New York, v. 20, p. 337-343, 2001.
- AROCHA-PIÑANGO, C. L.; MARCHI, R.; CARVAJAL, Z.; GUERRERO, B. Invertebrate compounds acting on the hemostatic mechanism. **Blood Coagulation and Fibrinolysis**, London, v. 10, p. 43-68, 1999.
- ARTHUR, D. R. Feeding in ectoparasitic acari with special reference to tick. **Advances in Parasitology**, London, v. 3, p. 249-298, 1965.
- ARTHUR, D. R. **Ticks. A monograph of the Ixodoidea. On the genera *Dermacentor*, *Anocentor*, *Cosmiomma*, *Boophilus* and *Margaropus*.** London: Cambridge University Press, 1960. 374 p.
- ASTIGARRAGA, A.; OLEAGA-PÉREZ, A.; PÉREZ-SANCHEZ, R.; BARANDA, J. A.; ENCINAS-GRANDES, A. Host immune response evasion strategies in *Ornithodoros erraticus* and *O. moubata* and their relationship to the development of an antiargasid vaccine. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 1, p. 401-410, 1997.

BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - vectors of diseases of man and animals (Translation from Russian). **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, College Park, v. 8, p.161-165, 1972.

BARRIGA, O. O.; SILVA, S. S.; AZEVEDO, J. S. C. Inhibition and recovery of tick functions in cattle repeatedly infested with *Boophilus microplus*. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 79, p. 710-715, 1993.

BENNET, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). II. Influences of temperature, humidity and light. **Acarologia**, Paris, v. 16, p. 250-257, 1974.

BERGMAN, K. D.; PALMER, M. J.; CAIMANO, M. J.; RADOLF, J. D.; WIKE, S. K. Isolation and molecular cloning of a secreted immunosuppressant protein from *Dermacentor andersoni* salivary gland. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 1, p. 516-525, 2000.

BINNINGTON, K. C.; KEMP, D. H. Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. **Advances in Parasitology**, London, v. 18, p. 315-339, 1980.

BINNINGTON, K. C.; STONE, B. F. Distribution of catecholamines in the cattle tick *Boophilus microplus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, v. 58, p. 21-28, 1977.

*BOOPHILUS MICROPLUS*. São Paulo: Universidade de São Paulo. Disponível em <<http://icb.usp.br/~marcelocp/boophilus.htm>>. Acesso em: 19 set. 2001.

BOURDEAU, P. La lesion de fixation des tiques ixodoidea. Ses modalités et ses consequences. **Recueil de Medecine Veterinaire**, Paris, v. 158, p. 382-395, 1982.

BOWMAN, A. S.; COONS, L. B.; NEEDHAM, G. R.; SAUER, J. R. Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 11, p. 227-285, 1997.

BOWMAN, A. S.; DILLWITH, J. W.; MADDEN, R. D.; SAUER, J. R. Regulation of free arachidonic acid levels in isolated salivary glands from the lone star tick: a role for dopamine. **Archives of Insect Biochemistry Physiology**, New York, v. 29, p. 309-327, 1995.

BROSSARD, M.; FIVAZ, V. *Ixodes ricinus* L.: mast cells, basophils and eosinophils in the sequence of cellular events in the skin of infested ou reinfested rabbits. **Parasitology**, London, v. 85, p. 583-592, 1982.

BROSSARD, M.; GIARDINI, P. Passive transfer of resistance in rabbits infested with adult *Ixodes ricinus* L.: humoral factors influence feeding and egg laying. **Experientia**, Basel, v. 35, p. 1395-1396, 1979.

BROSSARD, M.; WIKEL, S. K. Immunology of interactions between ticks and hosts. **Medical Veterinary Entomology**, Oxford, v. 11, p. 270-276, 1997.

BROWN, S. J. Evidence for regurgitation by *Amblyomma americanum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 28, p. 335-342, 1988.

BROWN, S. J.; SHAPIRO, S. Z.; ASKENASE, P. W. Characterization of tick antigens inducing host immune resistance: I. Immunization of guinea pig with *Amblyomma americanum* - derived salivary gland extracts and identification of an important salivary gland protein antigen with guinea pig anti-tick antibodies. **Journal of Immunology**, Amsterdam, v. 133, p. 3319-3325, 1984.

BRUM, J. G. W. **Infecção em teleóginas de *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) por *Cedecea lapagei* (Grimont et al., 1981): etiopatogenia e sazonalidade**. 1988. 95 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

BULLMAN, G. M.; MUÑOS CABENAS, M. E.; AMBRÚSTOLO, R. R. El impacto ecológico de las lactonas macrocíclicas (endectocidas): una actualización comprensiva y comparativa. **Veterinaria Argentina**, Buenos Aires, v. 8, p. 3-15, 1996.

CASTRO, J. J. Sustainable tick and tickborne disease control in livestock improvement in developing countries. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 71, p. 77-97, 1997.

CHERQUI, A.; CRUZ, N.; SIMÕES, N. Purification and characterization of two serine protease inhibitors from the hemolymph of *Mythimna unipuncta*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 31, p. 761-769, 2001.

COONS, L. B.; KAUFMAN, W. R. Evidence that developmental changes in type III acini in the tick *Amblyomma hebraeum* (Acari:Ixodidae) are initiated by hemolymph-borne factor. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 4, p. 117-139, 1988.

CORDOVÉS, C. O. **Carrapato: controle ou erradicação**. 2. ed. Guaíba: Agropecuária, 1997. 177 p.

CUMBERBATCH, M.; KIMBER, I. Tumour necrosis factor- $\alpha$  is required for accumulation of dendritic cells in draining lymph nodes for optimal contact sensitization. **Immunology**, Oxford, v. 84, p. 31-35, 1995.

DAVIE, E. W.; FUJIKAWA, K. Basic mechanisms in blood coagulation. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 44, p. 799-829, 1975.

DAVIE, E. W.; FUJIKAWA, K.; KIESEL, W. The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation. **Biochemistry**, Washington, v. 30, p. 10363-10370, 1991.

DOUBLE, B. M.; KEMP, D. H. The influence of temperature, relative humidity and host factors on the attachment and survival of *Boophilus microplus* (Canestrini) larvae to skin slices. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 9, p. 449-454, 1979.

DUSBÁBEK, F.; BORSKÝ, I.; JELÍNEK, F.; UHLÍR, J. Immunossuppression and feeding success of *Ixodes ricinus* nymphs on BALB/c mice. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 9, p. 133-140, 1995.

ELDER, J. K.; KEARNAN, J. F.; WATERS, K. S.; DUNWELL, G. H.; EMMERSON, F. R.; KNOTT, S. G.; MORRIS, R. S. A survey concerning cattle tick control in Queensland. 4. Use of resistance cattle and pasture spelling. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 56, p. 219-231, 1980.

ERVIN, R. T.; EPPLIN, F. M.; BYFORD, R. L.; HAIR, J. A. Estimation and economic implication of lone star tick (Acari, Ixodidae) infestation on weight-gain of cattle, *Bos taurus* and *Bos indicus* x *Bos taurus*. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v. 80, p. 443-445, 1987.

EUCLIDES FILHO, K.; NOBRE, P. R. C.; ROSA, A. do N. Idade da vaca e sua relação com o sexo, fazenda e reprodutor In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 25., 1988, Viçosa. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1988. p. 243.

FARIAS, N. A. da R. **Diagnóstico e controle da tristeza parasitária bovina**. Guaíba: Agropecuária, 1995. 80 p.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de importância médico veterinária**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1990. 197 p.

FOGAÇA, A. C.; SILVA JÚNIOR, P. I.; MIRANDA, M. T.; BIANCHI, A. G.; MIRANDA, A.; RIBOLLA, P. E.; DAFFRE, S. Antimicrobial activity of a bovine hemoglobin fragment in the tick *Boophilus microplus*. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 274, p. 25330-2534, 1999.

FRAGOSO, H.; RAD, P. H.; ORTIZ, M.; RODRIGUEZ, M.; REDONDO, M.; HERRERA, L.; FUENTE, J. de la. Protection against *Boophilus annulatus* infestations in cattle vaccinated with the *B. microplus* Bm86-containing vaccina Gavac. **Vaccine**, Surrey, v. 16, p. 1990-1992, 1998.

FRANCIS, J.; LITTLE, D. A. Resistance of droughtmaster cattle to tick infestation and babesiosis. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 40, p. 247-253, 1964.

FUENTE, J.; RODRIGUEZ, M.; MONTEIRO, C.; REDONDO, M.; GARCIA-GARCIA, J. C.; MENDEZ, L.; SERRANO, E.; VALDES, M.; ENRIQUEZ, A.; CANALES, M.; RAMOS, E.; BOUE, O.; MACHADO, H.; LLEONART, R.; ARMAS, C. A.; REY, S.; RODRIGUES, J. L.; ARTILES, M.; GARCIA, L. Field studies and cost-effectiveness of vaccination with GAVAC TM, against the cattle tick *Boophilus microplus*. **Vaccine**, Surrey, v. 16, p. 366-373, 1998.

GANAPAMO, F.; RUTTI, B.; BROSSARD, M. Identification of an *Ixodes ricinus* salivary gland fraction through its ability to simulate CD4 cells present in BALB/c mice lymph nodes draining the the tick fixation site. **Parasitology**, London, v. 115, p. 91-96, 1997.

GÁRCIA-GÁRCIA, J. C.; SOTO, A.; NIGRO, F.; MAZZA, M.; JOGLAR, M.; HECHEVARRIA, M.; LAMBERTI, J.; FUENTE, J. Adjuvant and immunostimulating properties of the recombinant Bm86 protein expressed in *Pichia pastoris*. **Vaccine**, Surrey, v. 16, p. 1053-1055, 1998.

GOMES, A. **Dinâmica populacional de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1987) (Acari: ixodidae) em bovinos nelore (*Bos indicus*) e cruzamentos em infestações experimentais**. 1995. 120 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GOMES, A.; HONER, M. R.; SCHENK, M. A.; CURVO, J. B. E. Populations of the cattle tick (*Boophilus microplus*) on purebred Nellore, Ibaí and Nellore x European crossbreds in the Brazilian Savanna. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburg, v. 21, p. 20-24, 1989.

GONZALES, J. C. **O controle do carrapato do boi**. 2. ed. Porto Alegre: Edição do Autor, 1995. 235 p.

GONZALES, J. C.; SERRA-FREIRE, N. M. O couro dos bovinos no Rio Grande do Sul: riqueza há muito maltratada. **A Hora Veterinária**, Porto Alegre, v. 12, p. 14-16, 1992.

GORDON, R. J.; ALLEN, J. R. Factors V e VII anticoagulant activities in the salivary glands of feeding *Dermacentor andersoni* ticks. **Journal Parasitology**, Lawrence, v. 77, p. 167-170, 1991.

GOTHE, R.; KUNZE, K.; HOOGSTRAAL, H. The mechanisms of pathogenicity in the tick paralysis. **Journal of Medical Entomology**, Lanhan, v. 16, p. 357-369, 1979.

GOUGH, J. M.; KEMP, D. H. Localization of a low abundance membrane protein (Bm86) on the gut cells of the cattle tick *Boophilus microplus* by immunogold labeling. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 79, p. 900-907, 1993.

GRAHAM, O. H.; HOURRIGAN, J. L. Eradication programs for the arthropod parasite of livestock. **Journal of Medical Entomology**, Lanhan, v. 13, p. 629-659, 1977.

GREEN, D. R.; FLOOD, P. M.; GERSHON, R. K. Immunoregulatory T-cell pathways. **Annual Review of Immunology**, Palo Alto, v. 1, p. 439-463, 1983.

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

HEUFLER, C.; KOCH, F.; SCULER, G. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and interleukin 1 mediate the maturation of murine epidermal Langerhans cells into potent immunostimulatory dendritic cells. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 167, p. 700-705, 1988.

HEWETSON, R. W. Resistance by cattle to cattle tick, *Boophilus microplus*. III. The development of resistance to experimental infestation by purebred Sahiwal and Australian Illawarra Shorthorn cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 22, p. 331-342, 1971.

HEWETSON, R. W. The inheritance of resistance by cattle to cattle tick. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 48, p. 299-303, 1972.

HITCHCOCK, L. F. Studies on the parasitic stages of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). **Australian Journal of Zoology**, Victoria, v. 3, p. 145-155, 1955.

HONER, M. R.; GOMES, A. **O manejo integrado de mosca-dos-chifres, berne e carrapato em gado de corte**. Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1990. 60 p. (EMBRAPA-CNPGC. Circular Técnica, 22).

HORN, F.; SANTOS, P. C.; TERMIGNONI, C. *Boophilus microplus* anticoagulant protein: an antithrombin inhibitor isolated from the cattle tick saliva. **Archives of Biochemistry Biophysics**, San Diego, v. 1, p. 68-73, 2000.

HORN, S. C. Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos. **Boletim de Defesa Sanitária Animal**, Brasília, 1983. 29 p. número especial.

JACKSON, C. M.; NEMERSON, Y. Blood coagulation. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 49, p. 765-811, 1980.

JACKSON, L. A.; OPDEBEECK, J. P. The effect of antigen concentration and vaccine regimen on the immunity induced by membrane antigens from the midgut of *Boophilus microplus*. **Immunology**, Oxford, v. 68, p. 272-276, 1989.

JACKSON, L. A.; OPDEBEECK, J. P. The effect of various adjuvants on the humoral immune response of sheep and cattle to soluble and membrane antigens of *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 58, p. 129-141, 1995.

JAWORSKI, D. C.; SIMMEN, F.A.; LAMOREAUX, W.; COONS, L. B.; MULLER, M. T.; NEEDHAM, G. R. A secreted calreticulin protein in Ixodid tick (*Amblyomma americanum*) saliva. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 41, p. 369-375, 1995.

JONES, L. D.; HODGSON, E.; NUTTALL, P. A. Enhancement of virus transmission by tick salivary glands. **Journal of General Virology**, Reading, v. 70, p. 1895-1898, 1989.

KANOST, M. R. Serine proteinase inhibitors in arthropod immunity. **Developmental and Comparative Immunology**, Oxford, v. 23, p. 291-301, 1999.

KARCZEWSKI, J.; ENDRIS, R.; CONNOLLY, T. M. Disagregin is a fibrinogen receptor antagonist lacking the Arg-Gly-Asp sequence from the tick, *Ornithodoros moubata*. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 269, p. 6702-6708, 1994.

KAUFMAN, W. R. Tick-host interaction: a synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, Oxford, v. 5, p. 47-56, 1989.

KAUFMAN, W. R.; PHILLIPS, J. E. Ion and water balance in the ixodid tick *Dermacentor andersoni*. I. Routes of ion and water excretion. **Journal of Experimental Biology**, London, v. 58, p. 523-536, 1973.

KEMP, D. H.; KOUDESTAAL, D.; KERR, J. D. Labelling larvae of the cattle-tick *Boophilus microplus*, with 32p to follow their movements on the host.

**Parasitology**, London, v. 63, p. 323-330, 1971.

KEMP, D. H.; KOUDESTAAL, D.; ROBERTS, J. A.; KERR, J. D. *Boophilus microplus*: the effect of host resistance on larval attachments and growth.

**Parasitology**, London, v. 73, p. 123-136, 1976.

KEMP, D. H.; STONE, B. F.; BINNINGTON, K. C. Tick attachment and feeding: Role of the mouthparts, feeding apparatus, salivary gland secretions, and the host response. In: OBENCHAIN, F. D.; GALUN, R. L. **Physiology of ticks**. Oxford: Pergamon, 1982. p. 119-167.

KOUDESTAAL, D.; KEMP, D. H.; KERR, J. D. *Boophilus microplus*: rejection of larvae from British breed cattle. **Parasitology**, London, v. 76, p. 379-386, 1978.

KOVÁR, V.; KOPÁČEK, P.; GRUBHOFFER, L. Isolation and characterization of Dorin M, a lectin from plasma of the soft tick *Ornithodoros moubata*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 30, p. 195-205, 2000.

LASKOWSKI JUNIOR, M.; KATO, I. Protein inhibitors of proteinases. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 49, p. 593-626, 1980.

LEE, R. P.; OPDEBEECK, J. P. Isolation of protective antigens from the gut of *Boophilus microplus* using monoclonal antibodies. **Immunology**, Oxford, v. 72, p. 121-126, 1991.

LIMO, M. K.; VOIGT, W. P.; TUMBO-OERI, A. G.; NJOGU, R. M.; OLE-MOIYOI, O. K. Purification and characterization of an anticoagulant from the salivary glands of the ixodid tick *Rhipicephalus appendiculatus*. **Experimental Parasitology**, New York, v. 72, p. 418-429, 1991.

LOGULLO, C.; VAZ JÚNIOR, I. da S.; SORGINE, M. H. F.; PAIVA SILVA, G. O.; FARIA, F. S.; ZINGALI, R. B.; LIMA, M. F.; ABREU, L.; OLIVEIRA, E. F.; ALVES, E. W.; MASUDA, H.; GONZALEZ, J. C.; MASUDA, A.; OLIVEIRA, P. L. Isolation of aspartic proteinase precursor from the egg of a hard tick, *Boophilus microplus*. **Parasitology**, London, v. 116, p. 525-532, 1998.

LONDT, J. G. H.; ARTHUR, D. R. The structure and parasitic life cycle of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) in South Africa (Acarina: Ixodidae). **Journal of the Entomological Society of South Africa**, Pretoria, v. 38, p. 321-340, 1975.

MAYA-MONTEIRO, C. M.; DAFFRE, S.; LOGULLO, C.; LARA, F. A.; ALVES, E. W.; CAPURRO, M. L.; ZINGALI, R.; ALMEIDA, I. C.; OLIVEIRA, P. L. HeLp, a heme lipoprotein from the hemolymph of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 275, p. 36584-36589, 2000.

MBOW, M. L.; RUTTI, B.; BROSSARD, M. Infiltration of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T cells, and expression of ICAM-1, Ia antigens, IL-1-alpha, and TNF-alfa in the skin lesion of BALB/c mice undergoing repeated infestations with nymphal *Ixodes ricinus* L. ticks. **Immunology**, Oxford, v. 82, p. 596-602, 1994a.

MBOW, M. L.; RUTTI, B.; BROSSARD, M. IFN-gama, IL-2 and IL-4 mRNA expression in the skin and draining lymph nodes of BALB/c mice repeatedly infested with nymphal *Ixodes ricinus* ticks. **Cell Immunology**, Amsterdam, v. 156, p. 254-261, 1994b.

McKENNA, R. V.; RIDING, G. A.; JARMEY, J. A.; PEARSON, R. D.; WILLADSEN, P. Vaccination of cattle against *Boophilus microplus* using a mucin-like membrane glycoprotein. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 20, p. 325-336, 1998.

MOORHOUSE, D. E.; TATCHELL, R. J. The feeding process of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini): a study in host-parasite relations. Part I. Attachment to the host. **Parasitology**, London, v. 56, p. 623-632, 1966.

NAKAJIMA, Y.; NATERS-YASUI, A. G.; TAYLOR, D.; YAMAKAWA, M. Two isoforms of a member of the arthropod defensin family from the soft tick, *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae). **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 31, p. 747-751, 2001.

NEEDHAM, G. R.; TEEL, P. D. Water balance by ticks between bloodmeals. In: SAUER, J. R.; HAIR, J. A. (Ed.). **Morfology, fisiology and behavioral biology of ticks**. Chichester: Ellis Horwood, 1986. 351 p.

NEURATH, H. The diversity of proteolytic enzymes. In: BEYNON, R. J.; BOND, J. S. (Ed.). **Proteolytic enzymes a practical approach**. Oxford: IRL, 1989. 403 p.

NIENABER, J.; GASPAS, A. R. M.; NEITZ, A. W. H. Savignin, a potent thrombin inhibitor isolated from the salivary glands of the tick *Ornithodoros savignyi* (Acari: Argasidae). **Experimental Parasitology**, New York, v. 93, p. 82-91, 1999.

NJAU, B. C.; NYINDO, M. Detection of immune response in rabbits infested with *Rhipicephalus appendiculatus* and *Rhipicephalus evertsi evertsi*. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 43, p. 217-221, 1987.

NOLAN, J.; WILSON, J. T.; GREEN, P. E.; BIRD, P. E. Synthetic pyrethroid resistance in field samples in the cattle tick (*Boophilus microplus*). **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 66, p. 179-182, 1989.

NUÑES, J. L.; MUÑOZ COBENAS, M. E.; MOLTEDO, H. L. **Boophilus microplus, la garrapata comun del ganado vacuno**. Buenos Aires: Hemisfério Sur, 1982. 19 p.

NUÑES, J. L.; PUGLIESE, M. E.; HAYES, R. P. *Boophilus microplus*: estudio sobre los estadios parasitarios del ciclo biológico. **Revue de Medicine Veterinaire**, Toulouse, v. 53, p. 19-34, 1972.

OAKS, J. F.; MCSWAIN, J. L.; BANTLE, J. A.; ESSENBERG, R. C.; SAUER, J. R. Putative new expression of genes in ixodid tick salivary gland development during feeding. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 77, p. 378-383, 1991.

OLIVEIRA, G. P.; ALENCAR, M. M. Resistência de bovinos ao carrapato *Boophilus microplus*. I. Infestação artificial. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 433-438, 1987.

OPDEBEECK, J. P.; DALY, K. E. Immune responses of infested and vaccinated Hereford cattle to antigens of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 25, p. 99-108, 1990.

PAESEN, G. C.; ADAMS, P.L.; HARLOS, K.; NUTTALL, P. A.; STUART, D. I. Tick histamine-binding proteins: isolation, cloning and three-dimensional structure. **Molecular Cell**, Amsterdam, v. 3, p. 661-671, 1999.

PAPATHEODOROS, V.; BROSSARD, M. C3 levels in the sera of rabbits infested and reinfested with *Ixodides ricinus* L., and in midguts of fed ticks. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 3, p. 53-59, 1987.

PATARROYO, J. H.; PORTELA, R. W.; CASTRO, R. O.; PIMENTEL, J. C.; GUZMAN, F.; PATARROYO, M. E.; VARGAS, M. I.; PRATES, A. A.; MENDES, M. A. Immunization of cattle with synthetic peptides derived from the *Boophilus microplus* gut protein (Bm86). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 25, p. 163-167, 2002.

PEREIRA, M. C. **Boophilus microplus: revisão taxonômica e morfológica**. Rio de Janeiro: Químio Divisão Veterinária, 1982. 167 p.

PINO, F. A. B.; BRANDELLI, A.; GONZALES, J. C.; HENRIQUES, J. A. P.; DEWES, H. Effect of antibodies against b-Nacetylhexosaminidase on reproductive efficiency of the bovine tick *Boophilus microplus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 2, p. 274-255, 1998.

QIAN, Y.; YUAN, J.; ESSENBERG, R. C.; BOWMAN, A. S.; SHOOK, A. L.; DILLWITH, J. W.; SAUER, J. R. Prostaglandin E2 in the salivary glands of the female tick, *Amblyomma americanum* (L.): calcium mobilization and exocytosis. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 28, p. 221-228, 1998.

RAND, K. N.; MOORE, T.; SRISKANTHA, A.; SPRING, K.; TELLAM, R.; WILLADSEN, P.; COBON, G. S. Cloning and expression of a protective antigen from the cattle tick *Boophilus microplus*. **Proceeding of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 86, p. 9657-9661, 1989.

RENARD, G.; GARCIA, J. F.; CARDOSO, F. C.; RICHTER, M. F.; SAKANARI, J. A.; OZAKI, L. S.; TEMIGNONI, C.; MASUDA, A. Cloning and functional expression of a *Boophilus microplus* cathepsin L-like enzyme. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, Oxford, v. 30, p. 1017-1026, 2000.

RIBEIRO, J. M. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? **Infectious Agents and Disease**, Washington, v. 4, p. 143-152, 1995.

RIBEIRO, J. M. *Ixodes dammini*: salivary anti-complement activity. **Experimental Parasitology**, New York, v. 64, p. 347-353, 1987.

RIBEIRO, J. M. Role of saliva in tick/host interactions. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 7, p. 15-20, 1989.

RIBEIRO, J. M. The midgut hemolysin of *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 74, p. 532-537, 1988.

RIBEIRO, J. M.; MAKOUL, G. T.; LEVINE, D. R.; ROBINSON, D. R.; SPIELMAN, A. Antihemostatic, antiinflammatory, and immunosuppressive properties of the saliva of a tick. *Ixodes dammini*. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 161, p. 332-334, 1985.

RIBEIRO, J. M.; MATHER, T. N. *Ixodides scapularis*: salivary kininase activity is a metallo-dipeptidyl carboxipeptidase. **Experimental Parasitology**, New York, v. 89, p. 213-221, 1998.

RIBEIRO, J. M.; WALKER, F. A. High affinity histamine-binding and antihistaminic activity of the salivary nitric oxide-carrying heme protein (nitrophorin) of *Rhodinus prolixus*. **Journal of Experimental Medicine**, New York, v. 180, p. 2251-2257, 1994.

RIDING, G. A.; JARMEY, J.; McKENNA, R. V.; PEARSON, R.; COBON, G. S.; WILLADSEN, P. A protective "concealed" antigen from *Boophilus microplus*: purification, localization and possible function. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 153, p. 5158-5166, 1994.

RIEK, R. F. The cattle tick and fever. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v. 41, p. 211-215, 1965.

ROBERTS, J. A. Acquisition by the host of resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 54, p. 657-662, 1968.

ROBERTS, J. A.; KERR, J. D. *Boophilus microplus*: passive transfer of resistance in cattle. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 62, p. 485-488, 1976.

ROCHA, U. F. **Biologia e controle biológico do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini)**. Jaboticabal: UNESP, 1984. 35 p. (Boletim Técnico UNESP, 3).

ROCHA, U. F. **Panorama da parasitologia na África e na Austrália**. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da USP, 1976. 35 p.

RODRIGUEZ, M.; MASSARD, C.; FONSECA, A. H. da; FONSECA, R. N.; MACHADO, H.; LABARTA, V.; FUENTE, J. Effect of vaccination with recombinant Bm86 antigen preparation on natural infestations of *Boophilus microplus* in grazing dairy and beef pure and cross-bred cattle in Brazil. **Vaccine**, Surrey, v. 13, p. 1804-1808, 1995a.

RODRIGUEZ, M.; PENICHET, M. L.; MOURIS, A. E.; LABARTA, V.; LORENZO LUACES, L.; RUBIERA, R.; CORDOVES, C.; SANCHEZ, P. A.; RAMOS, E.; SOTO, A. Control of *Boophilus microplus* populations in grazing cattle vaccinated with a recombinant Bm86 antigen preparation. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 57, p. 339-349, 1995b.

RODRIGUEZ, M.; RUBIERA, R.; PENICHET, M.; MONTESINOS, R.; CREMATA, J.; FALCON, V.; SANCHEZ, G.; BRINGAS, R.; CORDOVES, C.; VALDES, M. High level expression of the *B. microplus* Bm86 antigen in the yeast *Pichia pastoris* forming highly immunogenic particles for cattle. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 33, p. 135-146, 1994.

ROSE, R.; McKENNA, R. V.; COBON, G.; TENNENT, J.; ZAKREWSKI, H.; GALE, K.; WOOD, P. R.; SCHEERLINCK, J. P.; WILLADSEN, P. Bm86 antigen induces a protective immune response against *Boophilus microplus* following DNA and protein vaccination in sheep. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 71, p. 151-160, 1999.

SALVESEN, G.; NAGASE, H. Inhibition of proteolytic enzymes. In: BEYNON, R. J.; BOND, J. S. (Ed.). **Proteolytic enzymes a practical approach**. Oxford: IRL, 1989. 255 p.

SAUER, J. R.; ESSENBERG, R. C.; BOWMAN, A. S. Salivary glands in ixodide ticks: control and mechanism of secretion. **Journal of Insect Physiology**, Oxford, v. 46, p. 1069-1078, 2000.

SCHAFFER, L. W.; DAVIDSON, J. T.; VLASUK, G. P.; SIEGL, P. K. S. Antithrombotic efficacy of recombinant tick anticoagulant peptide. A potent inhibitor of coagulation factor Xa in a primate model of arterial thrombosis. **Circulation**, Dallas, v. 84, p. 1741-1748, 1991.

SHAPIRO, S. Z.; BUSCHER, G.; DOBBELAERE, D. A. E. Acquired resistance to *Rhipicephalus appendiculatus* (Acarina: Ixodidae): identification of an antigen eliciting resistance in rabbits. **Journal of Medical Entomology**, Lanhan, v. 24, p. 147-154, 1987.

SIGAL, M. D.; YODER, J. A.; NEEDAM, G. R. Palp-splaying behavior and a specific mouthpart site associated with active water vapor uptake in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanhan, v. 36, p. 365-369, 1999.

SONENSHIME, D. E. **Biologia of ticks**. New York: Oxford University Press, 1993. 316 p.

SORGINE, M. H.; LOGULLO, C.; ZINGALI, R. B.; PAIVA-SILVA, G. O.; JULIANO, L.; OLIVEIRA, P. L. A heme-binding aspartic proteinase from the eggs of the hard tick *Boophilus microplus*. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 275, p. 28659-28665, 2000.

SRAN, H. S.; GREWAL, A. S.; KONDAL, J. K. Enhanced immunity to *Hyalomma anatolicum anatolicum* ticks in cross-bred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) calves using ascaris extract immunomodulator with the tick salivary gland extract antigens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 51, p. 333-343, 1996.

STONE, B. F.; BINNINGTON, K. C.; GAUCI, M.; AYLWARD, J. H. Tick/host interactions for *Ixodides holocyclus*: role, effects, biosynthesis and nature of its toxic and allergenic oral secretions. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 7, p. 59-69, 1989.

SUTHERST, R. W.; JONES, R. J.; SCHNITZERLING, H. J. Tropical legumes of the genus *Stylosanthes* immobilize and kill cattle ticks. **Nature**, London, v. 295, p. 320-321, 1982.

SUTHERST, R. W.; KERR, J. D.; MAYWALD, G. F.; STEGEMAN, D. A. The effect of season and nutrition on the resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 34, p. 329-339, 1983.

TANAKA, A. S.; ANDREOTTI, R.; GOMES, A.; TORQUATO, R. J.; SAMPAIO, M. U.; SAMPAIO, C. A. A Double headed serine proteinase inhibitor - Human plasma kallikrein and elastase inhibitor - from *Boophilus microplus* larvae. **Immunopharmacology**, Amsterdam, v. 45, p. 171-177, 1999.

TATCHELL, R. J. A modified method for obtaining tick oral secretion. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 53, p. 1106-1107, 1967.

TATCHELL, R. J.; BENNETT, G. F. *Boophilus microplus*: antihistaminic and tranquillizing drugs and cattle resistance. **Experimental Parasitology**, New York, v. 26, p. 369-377, 1969.

TATCHELL, R. J.; CARNELL, R.; KEMP, D. H. Electrical studies on the feeding of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Zeitschrift fuer Parasitenkunde**, Jena, v. 38, p. 32-44, 1972.

TATCHELL, R. J.; MOORHOUSE, D. E. Neutrophils: Their role in the formation of a tick feeding lesion. **Science**, Washington, v. 169, p. 1002-1003, 1970.

TORO-ORTIZ, R. D.; VAZ JUNIOR, I. da S.; GONZALES, J. C.; MASUDA, A. Monoclonal antibodies against *Boophilus microplus* and their effects on tick reproductive efficiency. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 69, p. 297-306, 1997.

UTECH, K. W. B.; WHARTON, R. H.; KERR, J. D. Resistance to *Boophilus microplus* (Canestrini) in different breeds of cattle. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 29, p. 885-895, 1978.

- VAN DE LOCHT, A.; STUBBS, M.; BODE, W.; FRIEDRICH, T.; BOL-ILSCHWEILER, C.; HÖFFKEN, W.; HUBER, R. The ornithodorin-thrombin crystal structure, a key to the TAP enigma? **Embo Journal**, Oxford, v. 15, p. 6011-6017, 1996.
- VAZ JÚNIOR, I. da S. **Caracterização de proteínas de *Boophilus microplus* como imunógeno em vacina contra o carrapato**. 1997. 95 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- VERMEULEN, M. N. J.; VILJOEN, G. J.; BEZUIDENHOUT, J. D.; VISSER, L.; NEITZ, A. W. H. Kinetic properties of toxic protease inhibitors isolated from ticks eggs. **International Journal of Biochemistry**, New York, v. 20, p. 621-631, 1988.
- WAGLAND, B. M. Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. I. Responses of previously unexposed cattle to four infestations with 20.000 larvae. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 26, p. 1073-1080, 1975.
- WAGLAND, B. M. Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. III. Growth on previously unexposed animal. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, v. 29, p. 401-409, 1978.
- WARD, P. A.; DVORAK, H. F.; COHEN, S.; YOSHIDA, T.; DATA, R.; SELVAGGIO, S. S. Chemotaxis of basophils by lymphocyte dependent and lymphocyte independent mechanisms. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 114, p. 1523-1527, 1975.
- WAXMAN, L.; CONNOLLY, T. M. Isolation of an inhibitor selective for collagen-stimulated platelet aggregation from the soft tick *Ornithodoros moubata*. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 268, p. 5445-5449, 1993.
- WAXMAN, L.; SMITH, D. E.; ARCURI, K. E.; VLASUK, G. P. Tick anticoagulant peptide (TAP) is a novel inhibitor of blood coagulation factor Xa. **Science**, Washington, v. 248, p. 593-596, 1990.

WIKEL, S. K. Host immunity to ticks. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 41, p. 1-22, 1996.

WIKEL, S. K. Immune responses to arthropods and their products. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 27, p. 21-48, 1982.

WIKEL, S. K. Resistance to ixodid tick infestation induced by administration of tick-tissue culture cells. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 79, p. 513-518, 1985.

WIKEL, S. K. The induction of host resistance to tick infestation with a salivary gland antigen. **American Journal for Tropical Medicine and Hygiene**, Atlanta, v. 30, p. 284-288, 1981.

WIKEL, S. K.; ALLEN, J. R. Acquired resistance to ticks: III. Cobra venom factor and the resistance response. **Immunology**, Oxford, v. 32, p. 457-465, 1977.

WIKEL, S. K.; BERGMAN, D. Tick-host immunology: significant advances and challenging opportunities. **Parasitology Today**, Oxford, v. 13, p. 383-389, 1997.

WIKEL, S. K.; RAMACHANDRA, R. N.; BERGMAN, K. D. Tick-induced modulation of the host immune response. **International Journal Parasitology**, Oxford, v.24, p. 59-66, 1994.

WILLADSEN, P. Immunity to ticks. **Advances in Parasitology**, London, v. 18, p. 293-313, 1980.

WILLADSEN, P. Immunological approaches to the control of ticks. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 17, p. 671-677, 1987.

WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 71, p. 209-222, 1997.

WILLADSEN, P.; BIRD, P. E.; COBON, G. S.; HUNGERFORD, J. Commercialization of a recombinant vaccine against *Boophilus microplus*. **Parasitology**, London, v. 110, p. S43-S50, 1995.

WILLADSEN, P.; COBON, G.; McKENNA, R. V. Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant antigen Bm86 or in combination with recombinant Bm91. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 18, p. 241-246, 1996.

WILLADSEN, P.; JONGEJAN, F. Immunology of the tick-host Interaction and the control of ticks and tick-borne diseases. **Parasitology Today**, Oxford, v. 15, p. 258-562, 1999.

WILLADSEN, P.; KEMP, D. H. Vaccination with “concealed” antigen for tick control. **Parasitology Today**, Oxford, v. 4, p. 196-198, 1988.

WILLADSEN, P.; McKENNA, R. V. Binding of antigens to tissues: the example of *Boophilus microplus* and bovine skin. **International Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 13, p. 593-598, 1983.

WILLADSEN, P.; RIDING, G. A. Characterization of a proteolytic-enzyme inhibitor with allergenic activity. **Biochemical Journal**, London, v. 177, p. 41-47, 1979.

WILLADSEN, P.; RIDING, G. A. On the biological role of a proteolytic-enzyme inhibitor from the ectoparasitic tick *Boophilus microplus*. **Biochemical Journal**, London, v. 189, p. 295-303, 1980.

WILLADSEN, P.; RIDING, G. A.; McKENNA, R. V.; KEMP, D. H.; TELLAM, R. L.; NIELSEN, J. N.; LAHNSTEIN, J.; COBON, G. S.; GOUGH, J. M. Immunologic control of a parasitic arthropod. Identification of a protective antigen from *Boophilus microplus*. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 143, p. 1346-1351, 1989.

WONG, J. Y. M.; OPDEBEECK, J. P. Protective efficacy of antigens solubilized from gut membranes of the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Immunology**, Oxford, v. 66, p. 149-155, 1989.

ZHU, K.; SAUER, J. R.; BOWMAN, A. S.; DILLWITH, J. W. Identification and characterization of anticoagulant activities in the saliva of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (L.). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 83, p. 38-43, 1997.