

Vacinas contra o carrapato-do-boi no Brasil

Rodrigo Casquero Cunha
Barbara Guimarães Csordas Cabral
Fábio Pereira Leivas Leite
Renato Andreotti

INTRODUÇÃO

Rhipicephalus (Boophilus) microplus é, para a bovinocultura brasileira, um dos ectoparasitos que causam maior impacto econômico, levando a grandes perdas. O rebanho bovino no Brasil é de 232,350 milhões de cabeças, sendo que o Centro-Oeste se destaca como a região com a maior produção. O Brasil detém a primeira colocação em tamanho de rebanhos totais no mundo. Porém, fica em segundo lugar se considerar, também, a contagem de búfalos no mundo, porque, nesse caso, a Índia detém ao todo 305,000 milhões de cabeças (Horn, 1983; USDA, 2018; IBGE, 2016).

Os rebanhos bovinos leiteiros no Brasil são, em sua maioria, estabelecidos com base em raças europeias (*Bos taurus*) ou mestiças. Já nos rebanhos de gado de corte há predominância de zebuínos (*Bos indicus*) e, apesar da menor presença de raças europeias, os rebanhos têm sofrido um aumento no uso destas nos cruzamentos industriais ao longo do tempo (Gomes, 1995).

Desta forma, considerando que a espécie *B. taurus* é mais suscetível à infestação pelo carrapato-do-boi, *R. (B.) microplus*, do que *B. indicus*, é clara a necessidade do estabelecimento de um método de controle sistemático desse ectoparasita e, para isso, é imprescindível a busca e proposição de novas ferramentas de controle. Neste capítulo, sempre que for utilizada a palavra “carrapato” estará se referindo a *R. (B.) microplus*, a não ser que seja indicada outra espécie.

O controle de *R. (B.) microplus*, principal espécie de carrapato que compromete a produtividade da pecuária bovina, ainda é um grande problema para o sistema produtivo de bovinos no Brasil. Tal constatação é evidente, principalmente, devido ao aumento da pressão para seleção levando à resistência de carrapatos a diferentes princípios químicos ativos, limitando o sucesso do seu principal método de controle.

O controle químico ainda é o mais amplamente utilizado no combate ao carrapato e a sua administração pode ser feita por diferentes formas, tais como: aspersão; banho de imersão; aplicação no dorso (*pour on*); e, injeção ou ingestão de bolus gástricos (Andreotti et al., 2002). Porém, para a maioria dos químicos, como, por exemplo, formamidina, piretroide e organofosforados, que são utilizados contra estes ectoparasitas, já foram registradas populações de carrapatos resistentes (Alves-Branco et al., 1992), chegando a um valor de resistência em 47% de todas as avaliações ao utilizar o teste de imersão de adultos (TIA) apresentando falha no controle químico, demonstrando uma eficácia menor do que 90% em vários lugares do país, independente da classe acaricida utilizada (Higa et al., 2016).

Nos últimos anos, a resistência dos carrapatos aos princípios ativos vem aumentando de forma mais intensa, comprometendo o uso de certas moléculas no manejo do controle do carrapato em diversas regiões produtoras (Catto et al., 2010; Gomes et al., 2011). A observação de que o número de carrapatos que se desenvolvem em raças zebuínas é menor do que em raças europeias sugeriu ser possível desenvolver raças bovinas resistentes. Esta resistência está associada ao sistema imunológico dos hospedeiros, já que, em uma primeira infestação, o número de carrapatos que completa o ciclo é semelhante em todas as raças (Hewetson, 1972; Mattioli et al., 1993; Ghosh et al., 1999).

Porém, em termos de características produtivas, a abordagem de controle para *R. (B.) microplus* utilizando a raça Nelore como higienizadora para o gado Brangus não contribuiu para uma infestação reduzida nestes animais, em que 11,3% de larvas em pastagens são necessárias para manter o nível de infestação no rebanho de animais da raça Brangus (Andreotti et al., 2018).

Dentro da perspectiva de encontrar novas estratégias para o controle do carrapato, vários grupos vêm se dedicando à avaliação de antígenos para produzir vacinas contra o carrapato-do-boi e, na Embrapa Gado de Corte têm sido produzidos e avaliados antígenos vacinais recombinantes presentes em um isolado regional de *R. (B.) microplus* (Cunha et al., 2012; Andreotti et al., 2012).

A demonstração de que drogas imunossupressoras eliminam esta resistência reafirmou a natureza imune desta resposta (Bergman et al., 2000). As vacinas surgem neste contexto como uma ferramenta alternativa e complementar para o controle do carrapato, podendo ser utilizadas de diversas formas: em associação com o controle químico, diminuindo assim o número de aplicações dos acaricidas, os custos gerais envolvidos, e os impactos sobre o ambiente e os alimentos produzidos. Em meio à grande procura por formas alternativas de controle do carrapato, o controle por meio de vacinas, com a indução da resposta imune contra os carrapatos em bovinos, tem mostrado resultados promissores (Andreotti et al., 2002).

As principais vantagens de uma vacina sobre os acaricidas são, principalmente, porque, não sendo agentes químicos, exigem menor custo, e porque o desenvolvimento de carrapatos resistentes à vacina é mais lento do que em relação aos produtos químicos (Willadsen, 1997).

CONTROLE POR MEIO DE VACINAS

Em meados de 1980, na Austrália, pesquisadores começaram a estudar a resposta imune dos bovinos contra os carrapatos *R. (B.) microplus*. Os primeiros estudos científicos a serem publicados, que citaram formulações vacinais contra este ectoparasito,

são datados de 1986 (Kemp, 1986; Agbede; Kemp, 1986; Johnston et al., 1986) e foram encorajados por pesquisa feita na década anterior.

Na década seguinte, foram testadas duas formulações vacinais: a primeira composta de antígenos derivados de intestinos e ovários; e, a segunda, composta de extrato de todos os órgãos internos – ambas de teleóginas semi-ingurgitadas de *Dermacentor andersoni*. Os pesquisadores relataram que a utilização de glândulas salivares como antígeno em bovinos não foi capaz de gerar imunidade ao carrapato, assim como antígenos derivados de fêmeas adultas não ingurgitadas foram ineficazes como imunógenos, sugerindo uma mudança nos padrões de expressão de antígenos em fêmeas alimentadas em relação às não alimentadas (Allen; Humphreys, 1979).

Bovinos da raça Hereford (*Bos taurus*), com 12 meses de idade, e vacinados com extratos de teleóginas de *R. (B.) microplus*, demonstraram um perfil diferente de resistência ao carrapato quando comparado àqueles que adquiriram resistência ao serem expostos a sucessivas infestações. Observou-se que, nesses últimos, os mecanismos da resistência atuavam na fase larval do carrapato, enquanto que, nos animais vacinados, eles atuavam na fase adulta, provocando lesões no intestino do parasito, com conseqüente extravasamento de hemácias para a linfa ou então a diluição das mesmas. Neste mesmo experimento, até 60% das teleóginas sofreram algum tipo de dano no intestino e, para que as lesões ocorressem, demonstrou-se que a presença das proteínas do sistema complemento era necessária, sugerindo que ocorreria a lise das células intestinais por este sistema (Kemp et al., 1986).

Após a constatação de que a inoculação de extratos de fêmeas adultas (teleóginas) de *R. (B.) microplus* em bovinos produziu uma resposta imune mediada por anticorpos contra o tecido intestinal do carrapato (Agbede et al., 1986; Kemp et al., 1986), as investigações subsequentes identificaram uma glicoproteína presente no intestino dos carrapatos capaz de induzir imunoproteção (Willadsen et al., 1988; RAND et al., 1989). Diferentes protocolos foram utilizados para isolar e purificar este antígeno protetor.

Pesquisadores australianos isolaram uma glicoproteína de 89 kDa, denominada Bm86 (Willadsen et al., 1989), expressa em células do intestino de *R. (B.) microplus* (Gough; Kemp, 1993). Esta proteína foi clonada, e expressa em *Escherichia coli* e utilizada para vacinar bovinos resultando em 77% de proteção (Rand et al., 1989). Este imunógeno proporcionou proteção de 88% quando expresso em sistema eucarioto (sistema baculovírus) (RICHARDSON et al., 1993). Níveis distintos de eficácia foram obtidos quando expresso em levedura (Rodriguez et al., 1994; De La Fuente et al., 1995).

No Brasil, foi demonstrado que o uso da Bm86, em bovinos submetidos à infestação natural de *R. (B.) microplus*, reduziu entre 45% e 60% o índice de infestação dos bovinos vacinados (Andreotti, 2006). Porém, a eficácia das vacinas que já estiveram disponíveis comercialmente variou entre 51% a 91% dependendo da população de carrapatos e da condição nutricional dos bovinos utilizados nos testes (Parizi et al., 2009).

Foi sugerido que a variação na eficácia observada entre diferentes regiões do mundo era devida às variações nas sequências de aminoácidos das Bm86 entre as diferentes populações de carrapatos (Garcia-Garcia et al., 2000). De fato, análises de populações de carrapatos da Argentina mostraram polimorfismos no gene da Bm86 que resultam em uma proteína solúvel em vez da proteína ligada à membrana como aquelas detectadas em carrapatos da Austrália e de Cuba, o que explicaria porque os carrapatos argentinos são resistentes à vacinação com Bm86. Para superar esta resistência, uma nova vacina recombinante foi produzida a partir do gene da Bm95 (alelo do gene Bm86). Este novo

antígeno foi eficiente para proteger bovinos de infestações por carrapatos da Argentina e de Cuba (García-García et al., 2000).

Variações nas sequências de aminoácidos superiores a 2,8% seriam suficientes para diminuir a eficiência da vacinação quando antígenos recombinantes são utilizados (García-García et al., 1999). Cepas de várias regiões do Brasil, Argentina, Uruguai, Venezuela e Colômbia foram analisadas e ficou demonstrado que os genes das Bm86 e Bm95 apresentam variações que vão de 3,4% a 6,8% e de 1,14% a 4,56% nas sequências de aminoácidos, respectivamente (Sossai et al., 2005).

Em estudo de variabilidade da Bm86-CG, uma proteína homóloga a Bm86, isolada de uma cepa de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, mostrou variações de 3,5% e 3,7% na sequência de aminoácidos quando comparada às Bm86 e Bm95, respectivamente (Andreotti et al., 2008). Ao comparar populações de *R. (B.) microplus* na Tailândia, dois grupos maiores de cepas de carrapatos foram discerníveis com base em análise filogenética de Bm86, sendo um grupo tailandês e um grupo latino-americano. As sequências de aminoácidos tailandeses Bm86 foram mais divergentes das cepas de carrapatos da América Latina do que a cepa australiana (Kaewmongkol et al., 2015). Isso pode indicar que essa divergência é associada a uma diferença fisiológica entre espécies de carrapatos intimamente relacionadas (Figura 1) (Popara et al., 2013).

Além disso, os bovinos vacinados com Bm86 mostraram níveis variáveis de resistência contra espécies próximas filogeneticamente de *R. (B.) microplus* (Fragoso et al., 1998; De Vos et al., 2001; Odongo et al., 2007). Para entender melhor a diversidade molecular do gene Bm86 em carrapatos, uma porção do cDNA foi sequenciada a partir de um isolado indiano de *R. (B.) microplus*. A comparação da sequência de nucleotídeos revelou 97% de

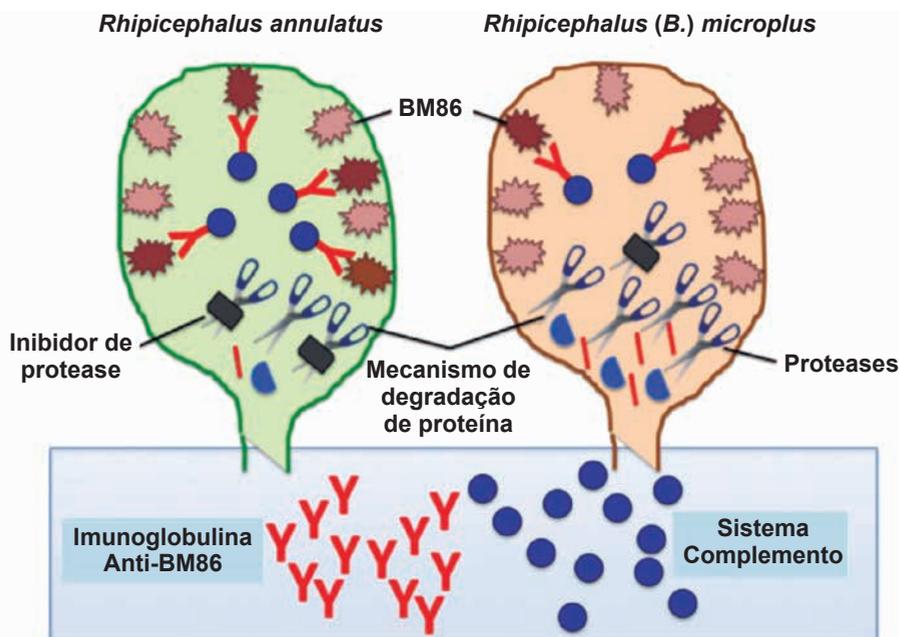


Figura 1. Representação esquemática da relação entre a maquinaria de degradação de proteínas e a eficácia da vacina em bovinos vacinados com Bm86 para proteger contra infestações por carrapatos de bovinos. Fonte: Popara et al. (2013) (Adaptado).

homologia com o isolado australiano e 96% de homologia com a da cepa vacinal cubana. Contudo, os estudos de previsão de proteína não mostraram qualquer diferença nos epítopos antigênicos putativos da proteína expressa (Anbarasi et al., 2014). Estes níveis de proteção refletem não só a variação entre isolados de *R. (B.) microplus*, mas também as relações filogenéticas entre diferentes espécies de carrapatos, indicando que os epítopos imunologicamente importantes são, pelo menos, parcialmente conservados (Sossai et al., 2005; Odongo et al., 2007; Andreotti et al., 2008).

A proteína Bm91 também foi testada como antígeno vacinal, porém em associação com a Bm86 (Willadsen et al., 1996), e foi caracterizada como tendo atividades carboxipeptidase (JARMEY et al., 1995).

Na Austrália, a vacina baseada na proteína Bm86 foi comercializada com o nome de TickGARD® e, em Cuba, com o nome de GAVAC®. As vacinas desenvolvidas a partir da Bm86 conferem proteção parcial aos bovinos contra futuras infestações por *R. (B.) microplus* por diminuir o número de carrapatos, a produção de ovos e a fertilidade. Esses resultados, no entanto, não asseguram a proteção desejada na produção bovina, sugerindo a necessidade de mais de um antígeno protetor.

Além do antígeno Bm86, que compõe as vacinas já existentes, outras proteínas também conferem algum grau de imunoproteção ou induzem a produção de anticorpos que interferem no sucesso reprodutivo do carrapato, como por exemplo: um precursor de protease aspártica acumulado no ovo (BYC- BoophilusYolk pro-Cathepsin) (Logullo et al., 1998) e inibidores de tripsina provenientes de larvas de carrapato, BmTIs (Andreotti et al., 2002).

Já foi demonstrado que anticorpos funcionais podem ser encontrados na hemolinfa de carrapatos quando os carrapatos se alimentam em um bovino imunizado (Vaz Júnior et al., 1996). Esta observação permitiu a produção de antígenos de outros órgãos do carrapato e não somente do intestino e da saliva. A vacinação de bovinos com a BYC nativa e recombinante foi capaz de estimular uma resposta humoral dos bovinos (Vaz Júnior et al., 1998). A capacidade da BYC de induzir uma resposta imunitária protetora contra *R. (B.) microplus* em bovinos foi testada por ensaios de vacinação e por inoculação de anticorpo monoclonal (MAb) anti-BYC em teleóginas totalmente ingurgitadas. Nas experiências de imunização, as medições de vários parâmetros biológicos demonstraram uma proteção parcial contra *R. (B.) microplus*, variando de 14% a 36%. A inoculação do MAb produziu uma diminuição dose dependente na oviposição e sobrevivência do ectoparasita (Vaz Júnior et al., 1998).

A imunização de bovinos com uma associação de BmTIs nativas apresentou 72,8% de eficiência na proteção contra o carrapato-do-boi (Andreotti et al., 2002). Um peptídeo sintético foi desenhado com base em uma sequência conservada de aminoácidos dessas BmTIs, porém, quando testado em *stall test*, apresentou 18,4% de proteção contra o carrapato (Andreotti et al., 2007).

Foi demonstrado que um peptídeo quimérico recombinante, desenhado a partir das sequências de proteínas BmTI e carrapatin, que são inibidores de serino protease tipo Kunitz de *R. (B.) microplus*, induziu resposta imune em camundongos Balb/C, mas, quando utilizado em bovinos com adjuvante completo de Freund, não induziu resposta protetora (SASAKI et al., 2006).

Um desses inibidores foi descrito pela Embrapa Gado de Corte em associação com a Escola Paulista de Medicina, denominado BmTI-A (Tanaka et al., 1999). Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte (Andreotti et al., 2012) criaram uma sequência de DNA sintética

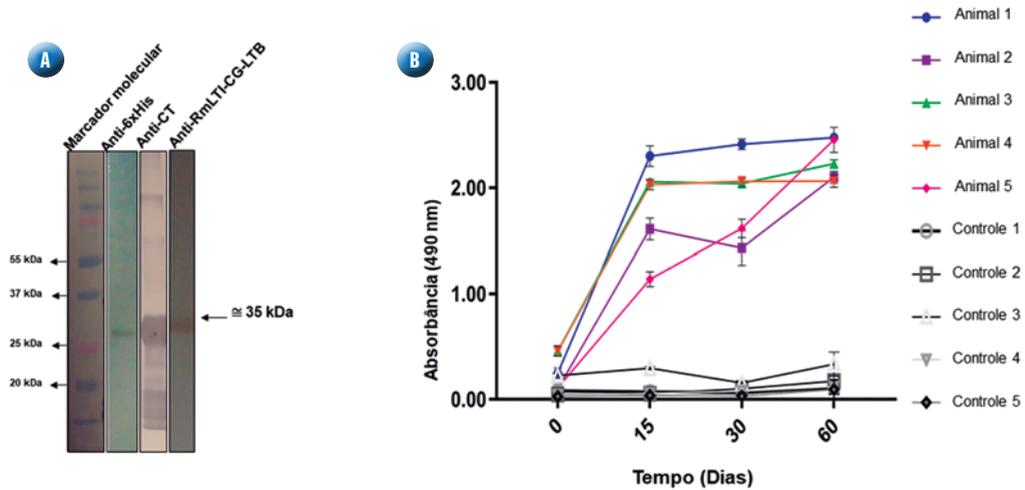


Figura 2. Análise antigênica da proteína quimérica. **A.** Caracterização por Western blot. A - proteína quimérica foi especificamente reconhecida pelo anticorpo monoclonal anti-6xHis, anticorpo monoclonal LTB (anti-CT), e os soros anti-bovinos RmLTI-BmCG-LTB. **B.** Caracterização por ELISA. A proteína quimérica foi testada contra o soro anti-bovino RmLTI-BmCG-LTB. Fonte: Csordas et al. (2018) (Adaptado).

deste gene e a clonaram em um plasmídeo de expressão em *Pichia pastoris* para a expressão do gene sintético. A proteína expressa por este sistema foi denominada RmLTI e, após ser utilizada para a vacinação, conferiu proteção de 32% em bovinos infestados com *R. (B.) microplus*.

Durante as últimas décadas, vários antígenos foram descritos mostrando-se promissores para inclusão em uma vacina contra carrapatos. Recentemente, foi realizado um estudo que consistia de uma construção de uma quimera multi-antigênica composta de dois antígenos de *R. (B.) microplus* (RmLTI e BmCG) e um antígeno de *Escherichia coli* (subunidade B, LTB), e que proporcionou 55,6% de eficácia contra a infestação por *R. (B.) microplus* (Figura 2) (Csordas et al., 2018).

Glutationa-S-transferases (GSTs) é uma família de enzimas envolvidas na desintoxicação metabólica de xenobióticos e compostos endógenos (Agianian et al., 2003). A imunização de bovinos com essa enzima recombinante de *Haemaphysalis longicornis* (rGCT-HL) induziu uma resposta imunitária parcial em bovinos, indicada pela diminuição do número de teleóginas que sobreviveram nos animais vacinados, chegando a 57% de eficácia média (PARIZI et al., 2011).

A enzima VTDC (Vitellin Degrading Cysteine Endopeptidase) é um tipo de Catepsina L encontrado em ovos de *R. (B.) microplus* (Seixas et al., 2003) caracterizado como a proteína mais ativa na hidrólise da vitelina. Utilizada em ensaios de vacinação, animais que receberam quatro doses de 100 µg de VTDC produziram anticorpos específicos contra VTDC gerando uma resposta imune com proteção parcial ao desafio com larvas de *R. (B.) microplus*. Os pesos de ovos férteis de teleóginas de animais vacinados diminuíram aproximadamente 17,6% e a eficácia média de controle observada foi de 21% (Seixas et al., 2008).

Outras proteínas também têm sido isoladas e expressas de forma recombinante, porém, ainda não foram testadas em desafios com *R. (B.) microplus*. A enzima THAP (Tick

Heme-binding Aspartic Proteinase), segundo o grupo que a isolou, considerando-se que está envolvida na hidrólise da vitelina, pode ser outro alvo promissor em busca de controle imunológico do carrapato (Seixas et al., 2012).

O gene de uma proteína *calreticulin* de *R. (B.) microplus* (BmCRT) foi amplificado e expresso em *E. coli*. A BmCRT é inoculada pelo carrapato em seu hospedeiro junto com a saliva. Conhecida como sendo ligante de cálcio, e, por estar presente na saliva do carrapato, provavelmente auxilia na alimentação do mesmo, atuando como agente imunossupressor e anticoagulante. Ensaios de inoculação mostraram que a BmCRT é imunogênica, porém, nenhum teste de proteção foi realizado (Parizi et al., 2009).

No Brasil, o uso do peptídeo sintético (SBm7462), desenhado a partir da Bm86, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa, mostrou resultados positivos em testes preliminares de imunoproteção de bovinos e em posterior desafio com larvas alcançou 81,05% de eficiência (Patarroyo et al., 2002). Além disso, quando o peptídeo SBm7462 foi utilizado para comparar a saponina e microesferas de PGLA 50:50 como adjuvantes, o imunógeno encapsulado, embora viável após encapsulação, induziu níveis de anticorpos significativamente mais baixos do que os detectados com o peptídeo emulsionado em saponina (Sales-Junior et al., 2005).

Na tentativa de prolongar o título de anticorpos contra a Bm86 ou, até mesmo, eliminar a necessidade de reforço vacinal periódico, outra estratégia utilizada foi o desenvolvimento de vacinas de DNA. Ovinos, murinos e bovinos foram vacinados com plasmídeo codificando para o gene da Bm86 e se obteve uma resposta imune humoral, com produção de imunoglobulinas, especialmente do tipo IgG, contra o antígeno Bm86 (De Rose et al., 1999). Após a vacinação, os ovinos mostraram uma proteção parcial contra uma subsequente infestação de carrapatos, com diminuição do peso de teleóginas recuperadas – média de 232 g no grupo controle contra 201 g no vacinado; e do peso de ovos por teleóquina – média de 1,07 g no grupo vacinado contra 0,5 g no grupo controle (De Rose et al., 1999).

Outra ferramenta tem sido utilizada para detecção de novos antígenos vacinais e com testes promissores como utilização de sialotranscriptomas. Em um estudo, utilizando sialoproteínas que medeiam funções de parasitismo de carrapatos em novilhas, estes animais foram inoculados com proteínas recombinantes, tendo sido analisado o desempenho parasitário (peso e o número de fêmeas que terminam o ciclo parasitário). Esse estudo obteve eficácia de 73,2% e dois dos antígenos testados foram potenciais de alta imunogenicidade, ricos em epítomos de linfócitos T, além de produzir estímulos provocados pelas infestações que reforçaram as respostas de anticorpos (Figura 3) (Maruyamma et al., 2017).

Isolamentos de anticorpos foram também utilizados na tentativa de se identificar potenciais antígenos vacinais. MAb's contra membranas intestinais de carrapatos foram utilizados para precipitarem, a partir de extratos de carrapatos, antígenos solúveis a serem usados como antígenos vacinais. A vacinação de bovinos com antígenos, obtidos com esta técnica, isolados a partir do MAb QU13 provocou 99% de redução na oviposição, comparado ao grupo vacinado (Lee; Opdebeeck, 1991). Resultados similares também foram obtidos pela inoculação de MAb produzido contra extratos não purificados de intestino e embrião em teleóginas totalmente ingurgitadas de *R. (B.) microplus* (Toro-Ortiz et al., 1997). Um anticorpo policlonal purificado anti-*N-acetilhexosaminidase* (anti-HEX), produzido a partir da proteína nativa purificada de extrato de larvas de *R. (B.) microplus* em camundongos, foi inoculado em teleóginas totalmente ingurgitadas e, como resultado, observou-se 26% de diminuição da oviposição (Del Pino et al., 1998).

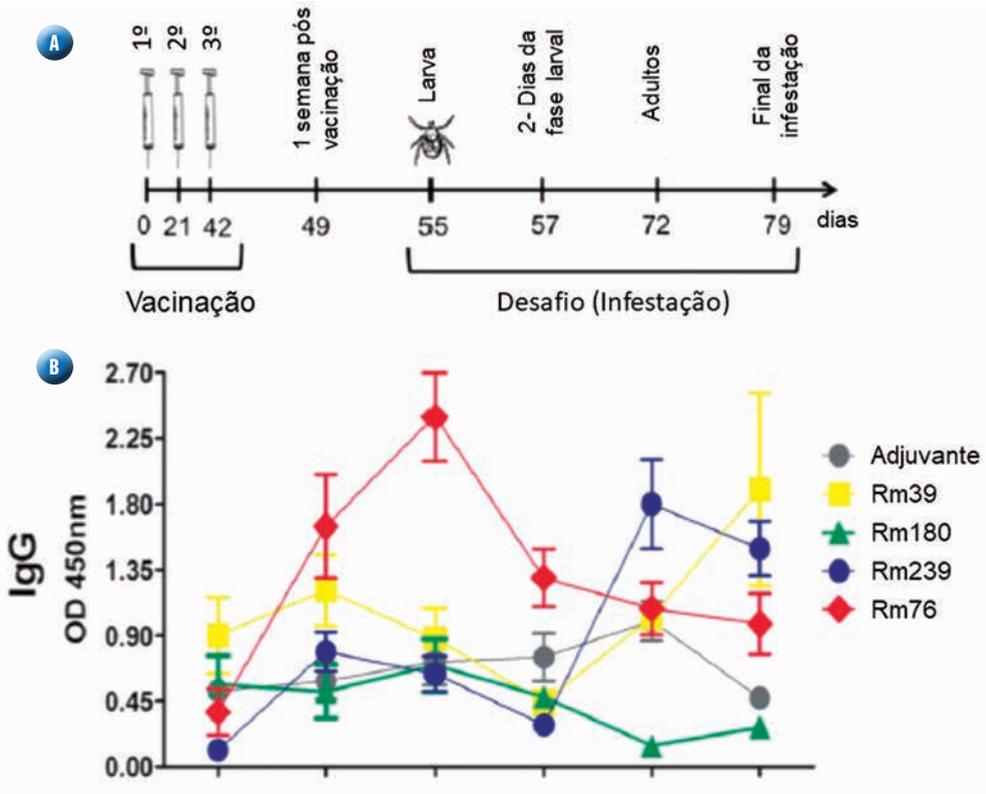


Figura 3. Respostas de anticorpos IgG (total) após a vacinação e desafio com *R. (B.) microplus*. **A.** Representação esquemática do ensaio de vacinação, indicando os períodos de medição das respostas de anticorpos específicos do antígeno. **B.** ELISA indireto foi usado para avaliar IgG total. Fonte: Maruyamma et al. (2017) (Adaptado).

A avaliação sorológica de animais imunizados com diferentes antígenos para o controle do carrapato mostrou que os níveis de anticorpos tendem a decrescer em alguns meses, reduzindo a proteção. Isto indica a necessidade de um reforço de vacinação com os diferentes antígenos disponíveis. Assim, o uso de adjuvantes adequados é um ponto importante no processo do desenvolvimento da vacina contra o carrapato do bovino.

Em uma vacina, a especificidade da resposta imune é dada pelo antígeno, entretanto os adjuvantes são as substâncias que ampliam e modulam a imunogenicidade do antígeno vacinal. Ao produzir uma vacina, um aspecto que influencia grandemente o seu desenvolvimento é a interação que ocorre entre o patógeno e o hospedeiro. Esta interação determina o tipo de resposta imune que a vacina necessita induzir para proteger o bovino de forma eficiente em um desafio. Entretanto, vacinas contra carrapato apresentam um desafio extra se comparadas a outros patógenos, pois estes apresentam fase distinta no hospedeiro e fora deste. Além disso, a resposta imune a estes parasitos é muito complexa e a interação imunológica entre hospedeiro-parasito não está totalmente esclarecida.

Na montagem da resposta imune há uma ligação entre a resposta inata e a adaptativa e, baseado neste conceito, um adjuvante pode amplificar a resposta adaptativa da vacina modulando sinais envolvidos no processo de sinalização da resposta inata. Como

as vacinas modernas contra o carrapato bovino são baseadas em antígenos sintéticos purificados os quais, em geral, não estimulam uma resposta inata, se faz necessária a utilização de adjuvantes que ativem estas vacinas em conjunto com a resposta adquirida. Entretanto, não há um adjuvante universal que cubra as necessidades vacinais, pois este deve atender certos critérios como: induzir uma resposta rápida; modular respostas humoral e celular; estimular uma resposta protetora elevada duradoura e efetiva em populações mais susceptíveis.

Desta forma, o estudo da interação parasito-hospedeiro (bovino-carrapato) se faz cada vez mais necessário para que com este conhecimento possamos escolher melhores antígenos e obter melhor entendimento de que tipo de resposta imune precisa ser induzida via vacina para proteção de forma eficaz do rebanho bovino sensível ao carrapato (De La Fuente et al., 2017).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eficiência da vacinação no controle do carrapato é maior quando for seguida uma programação estratégica e/ou ela estiver associada ao controle químico, significando que a resposta vacinal tende a ser melhor à medida que a infestação por larvas nos bovinos seja menor, ou seja, o grau de contaminação das pastagens pelas larvas influencia na resposta vacinal.

Há vários relatos de diferentes graus de proteção em relação às linhagens de carrapatos em estudos com o antígeno Bm86 em diversas regiões do mundo. 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.

Uma maneira de aumentar a eficiência do controle e dificultar a pressão de seleção nas populações de carrapatos seria o uso de vacina multi-antigênica, com antígenos atuando em diferentes fases do ciclo biológico e em situações fisiológicas importantes na vida do parasita (Blecha et al., 2018). Acredita-se que a vacina, mesmo com um efeito parcial, seja uma alternativa valiosa para o controle do carrapato. No entanto, esta deverá ser usada de forma estratégica como qualquer alternativa de controle. É muito importante, porém, que as vacinas sejam reforçadas a cada seis meses, já que o título de anticorpos costuma declinar aproximadamente três meses após. Além disso, é preciso estar ciente que a proteção contra futuras infestações por *R. (B.) microplus* é parcial.

Uma vacina contendo dois antígenos contra o carrapato bovino mostra vantagem na imunização do rebanho, visto que a resposta imunológica a um antígeno seria compensada pelo outro, ou seja, animais que não apresentassem resposta imunológica/protetiva adequada/satisfatória a um antígeno responderiam bem ao outro. Dessa forma, a vacina com dois ou mais antígenos seria economicamente mais viável para os produtores de bovinos e produziria um maior impacto na redução de microrganismos patogênicos transmitidos pelo carrapato (Guerrero et al., 2012).

Comparadas aos agentes químicos, as vacinas são atóxicas, não poluentes, menos onerosas em relação à produção e, também, reduzem a quantidade de acaricida anualmente aplicada. No entanto, tendem a ser espécie-específicas, o que as torna comercialmente indicadas para situações problema onde está sendo envolvida apenas uma espécie de carrapato (Cunha et al., 2012; Andreotti et al., 2012).

Atualmente, ainda se supõe que uma vacina com 100% de eficácia pode trazer um possível problema de instabilidade enzoótica para a tristeza parasitária bovina, substituindo

um problema pelo outro, inclusive atingir total eficácia é uma situação hipotética, pois nenhuma vacina alcança 100% de proteção.

Com base nisso, poderia se justificar que o ideal seria obter uma vacina com uma eficiência em torno de 70%, a qual poderia contribuir para o controle estratégico do carrapato sem, contudo, interferir na epidemiologia da tristeza parasitária bovina (Maruyama et al., 2017).

Torna-se, pois, importante e urgentíssimo que seja criado um programa de governo para orientar políticas de controle do carrapato visando aperfeiçoar a produção e a qualidade na cadeia da carne bovina do país. Isso se justifica em função da importância social e econômica que o carrapato representa para a produção e, também, quanto à necessidade de se pensar no seu controle com base no manejo da sua população. Só assim avançaríamos no caminho com vistas a tornar a pecuária do Brasil mundialmente mais e mais competitiva.

Referências

- AGBEDE, R. I.; KEMP, D. H. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: histopathology of ticks feeding on vaccinated cattle. **International journal for parasitology**, v. 16, n. 1, fev. 1986. 35-41 p.
- AGIANIAN, B.; TUCKER, P. A.; SCHOUTEN, A.; LEONARD, K.; BULLARD, B.; GROS, P. Structure of a *Drosophila sigma* class Glutathione S-transferase reveals a novel active site topography suited for lipid peroxidation products. **Journal of Molecular Biology**, v. 326, n. 1, fev. 2003. 151-165 p.
- ALLEN, J.; HUMPHREYS, S. Immunisation of guinea pigs and cattle against ticks. **Nature**, v. 280, 1979. 491-493 p.
- ALVES-BRANCO, F. P. J.; SAPPER, M. F. M.; ARTILES, J. M. Diagnóstico de resistência de *Boophilus microplus* a piretroides. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 11, 1992, Gramado. **Anais...** Gramado: SOVERGS, 1992. 44 p.
- ANBARASI P.; LATHA, B. R.; DHINAKAR RAJ, G.; SREEKUMAR, C.; SENTHURAN, S. Partial sequencing of Bm86 gene for studying the phylogeny of an Indian isolate of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* tick. **Journal of Parasitic Disease**, v. 38, n. 3, 2014. 260-264 p.
- ANDREOTTI, R.; GOMES, A.; MALAVAZI-PIZA, K. C.; SASAKI, S. D.; SAMPAIO, C. A.; TANAKA, S. BmTI antigens induce a bovine protective immune response against *Boophilus microplus* tick. **International immunopharmacology**, v. 2, n. 4, p. 557-63, mar. 2002. ANDREOTTI, R. Performance of two Bm86 antigen vaccine formulation against tick using crossbreed bovines in stall test. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 15, n. 3, 2006. 97-100 p.
- ANDREOTTI, R. A synthetic bmti n-terminal fragment as antigen in bovine immunoprotection against the tick *Boophilus microplus* in a pen trial. **Experimental parasitology**, v. 116, n. 1, maio. 2007. 66-70 p.
- ANDREOTTI, R.; PEDROSO, M. S.; CAETANO, A. R.; MARTINS, N. F. Comparison of predicted binders in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* intestine protein variants Bm86 Campo Grande strain, Bm86 and Bm95. **Brazilian journal of veterinary parasitology**, v. 17, n. 2, 2008. 93-98 p.
- ANDREOTTI, R.; CUNHA, R. C.; SOARES, M. A.; GUERRERO, F. D.; LEITE, F. P.; DE LEÓN, A. A. Protective immunity against tick infestation in cattle vaccinated with recombinant trypsin inhibitor of *Rhipicephalus microplus*. **Vaccine**, v. 30, n. 47, 19 out. 2012. 6678-6685 p.
- ANDREOTTI, R.; BARROS, J. C.; GARCIA, M. V.; RODRIGUES, V. S.; HIGA, L. O. S.; DUARTE, P. O.; BLECHA, I. M. Z.; BONATTE-JUNIOR, P. Cattle tick infestation in Brangus cattle raised with Nellore in central Brazil. **Semina Ciências Agrárias** (Online), v. 39, 2018. 1099-1114 p.
- BERGMAN, D. K.; PALMER, M. J.; CAIMANO, M. J.; RADOLF, J. D.; WIKEL, S. K. Isolation and molecular cloning of a secreted immunosuppressant protein from *Dermacentor andersoni* salivary gland. **The Journal of parasitology**, v. 86, n. 3, 1 jun. 2000. 516-525 p.
- BLECHA, I. M. Z.; CSORDAS, G. B.; AGUIRRE, A. A. R.; CUNHA, R. C.; GARCIA, M. V.; ANDREOTTI, R. Analysis of Bm86 conserved epitopes: is a global vaccine against Cattle Tick *Rhipicephalus microplus* possible? **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 3, Sept. 2018. 267-279 p.

- CANALES, M.; ENRÍQUEZ, A.; RAMOS, E.; CABRERA, D.; DANDIE, H.; SOTO, A.; FALCÓN, V.; RODRÍGUEZ, M.; DE LA FUENTE, J. Large-scale production in *Pichia pastoris* of the recombinant vaccine Gavac against cattle tick. **Vaccine**, v. 15, n. 4, mar. 1997. 414-422 p.
- CATTO, J. B.; ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W. **Atualização sobre o controle estratégico do carrapato-do-boi**. -- Dados eletrônicos -- Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS: 2010. 6 p.
- CSORDAS, B. G.; CUNHA, R. C.; GARCIA, M. V.; DA SILVA, S. S.; LEITE, F. L.; ANDREOTTI, R. Molecular characterization of the recombinant protein RmLTI-BmCG-LTB: Protective immunity against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **PLoS One**, v.13, n. 2, 2018. 1-14 p.
- CUNHA, R.; PÉREZ DE LEÓN, A. A.; LEITE, F. P.; PINTO, L. D. A. S.; DOS SANTOS, JÚNIOR A. G.; ANDREOTTI, R. Bovine immunoprotection against *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* with recombinant Bm86-Campo Grande antigen. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 3, 2012. 254-262 p.
- DE LA FUENTE, J.; RODRÍGUEZ, M.; FRAGOSO, H.; ORTIZ, M.; LUIZ MASSARD, C.; GARCÍA, O.; LLEONART, R. In: *Recombinant Vaccines for the Control of Cattle Tick*. Ed. De La Fuente. **Journal Elfos Scientiae**, La Habana, Cuba, 1995, 177-185 p.
- DE LA FUENTE, J.; RODRÍGUEZ, M.; MONTERO, C.; REDONDO, M.; GARCÍA-GARCÍA, J. C.; MÉNDEZ, L.; SERRANO, E.; VALDÉS, M.; ENRÍQUEZ, A.; CANALES, M.; RAMOS, E.; BOUÉ, O.; MACHADO, H.; LLEONART, R. Vaccination against ticks (*Boophilus* spp.): the experience with the Bm86-based vaccine Gavac. **Genetic analysis: biomolecular engineering**, v. 15, n. 3-5, nov. 1999. 143-148 p.
- DE LA FUENTE, J.; ANTUNES, S.; BONNET, S.; CABEZAS-CRUZ, A.; DOMINGOS, A. G.; ESTRADA-PEÑA, A.; JOHNSON, N.; KOCAN, K.M.; MANSFIELD, K. L.; NIJHOF, A. M.; PAPA, A.; RUDENKO, N.; VILLAR, M.; ALBERDI, P.; TORINA, A.; AYLLÓN, N.; VANCOVA, M.; GOLOVCHENKO, M.; GRUBHOFFER, L.; CARACAPPA, S.; FOOKS, A. R.; GORTAZAR, C.; REGO, R. O. M. Tick-Pathogen Interactions and Vector Competence: Identification of Molecular Drivers for Tick-Borne Diseases. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, 2017. 114 p.
- DE ROSE, R. MCKENNA, R. V.; COBON, G.; TENNETT, J.; ZAKRZEWSKI, 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 and immunopathology**, v. 71, n. 3-4, 30 nov. 1999. 151-160 p.
- DE VOS, S.; ZEINSTRAL, L.; TAOUFIK, O.; WILLADSEN, P.; JONGEJAN, F. Evidence for the Utility of the Bm86 Antigen from *Boophilus microplus* in Vaccination Against Other Tick Species. **Experimental & Applied Acarology**, v. 25, n. 3, 1 mar. 2001. 245-261 p.
- DEL PINO, F. A.; BRANDELLI, A.; GONZALES, J. C.; HENRIQUES, J. A.; DEWES, H. Effect of antibodies against beta-N-acetylhexosaminidase on reproductive efficiency of the bovine tick *Boophilus microplus*. **Veterinary parasitology**, v. 79, n. 3, 16 nov. 1998. 247-55 p.
- FRAGOSO, H.; RAD, P. H.; ORTIZ, M.; RODRÍGUEZ, M.; REDONDO, M.; HERRERA, L.; DE LA FUENTE, J. Infestations in cattle vaccinated with the *Boophilus microplus* BmS6-containing vaccine Gavac. **Vaccine**, v. 16, n. 20, 1998. 1990-1992 p.
- GARCÍA-GARCÍA, J. C.; GONZALEZ, I. L.; GONZÁLEZ, D. M.; VALDÉS, M.; MÉNDEZ, L.; LAMBERTI, J.; D'AGOSTINO, B.; CITRONI, D.; FRAGOSO, H.; ORTIZ, M.; RODRÍGUEZ, M.; DE LA FUENTE, J. Sequence variations in the *Boophilus microplus* Bm86 locus and implications for immunoprotection in cattle vaccinated with this antigen. **Experimental & applied acarology**, v. 23, n. 11, p. 883-95, nov. 1999.
- GARCÍA-GARCÍA, J. C.; MONTERO, C.; REDONDO, M.; VARGAS, M.; CANALES, M.; BOUÉ, O.; RODRÍGUEZ, M.; JOGLAR, M.; MACHADO, H.; GONZÁLEZ, I. L.; VALDÉS, M.; MÉNDEZ, L.; DE LA FUENTE, J. Control of ticks resistant to immunization with Bm86 in cattle vaccinated with the recombinant antigen Bm95 isolated from the cattle tick, *Boophilus microplus*. **Vaccine**, v. 18, n. 21, 28 abr. 2000. 2275-2287 p.
- GHOSH, S.; KHAN, M. H.; AHMED, N. Cross-bred Cattle Protected against *Hyalomma anatolicum anatolicum* by Larval Antigens Purified by Immunoaffinity Chromatography. **Tropical Animal Health and Production**, v. 31, n. 5, 1 out. 1999. 263-273 p.
- 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, 1995.
- GOMES, A.; KOLLER, W. W.; BARROS, A. T. M. Suscetibilidade de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a carrapaticidas em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 8, ago. 2011. 1447-1452 p.

- 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. **The Journal of parasitology**, v. 79, n. 6, dez. 1993. 900-907 p.
- GUERRERO, F. D.; MILLER, R. J.; PÉREZ DE LEÓN, A. A. Cattle tick vaccines: many candidate antigens, but will a commercially viable product emerge? **Australian Society for Parasitology Inc.**, v. 42, 2012. 421-427 p.
- HEWETSON, R. W. THE INHERITANCE OF RESISTANCE BY CATTLE TO CATTLE TICK. **Australian Veterinary Journal**, v. 48, n. 5, maio. 1972. 299-303 p.
- HIGA, L. O. S.; GARCIA, M. V.; BARROS, J. C.; KOLLER, W. W.; ANDREOTTI, R. Evaluation of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) resistance to different acaricide formulations using samples from Brazilian properties. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** (Online), 2016. 163-171 p.
- HORN, S. C. **Prováveis Prejuízos Causados pelos Carrapatos**. Boletim de Defesa Sanitária Animal, Ministério da Agricultura, Brasília, 2 ed., 1983. 79 p.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Municipal Livestock Production – 2016** [online]. 2016 [cited 2018 Jun 06]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2016_v44_br.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2018.
- JARMEY, J. M.; RIDING, G. A.; PEARSON, R. D.; MCKENNA, R. V.; WILLADSEN, P. Carboxy dipeptidase from *Boophilus microplus*: A "concealed" antigen with similarity to angiotensin-converting enzyme. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 25, n. 9, out. 1995. 969-974 p.
- JOHNSTON, L. A.; KEMP, D. H.; PEARSON, R. D. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: effects of induced immunity on tick populations. **International journal for parasitology**, v. 16, n. 1, fev. 1986. 27-34 p.
- KAEWMONGKOL, S.; KAEWMONGKOL, G.; INTHONG, N.; LAKKITJAROEN, N.; SIRINARUMITR, T.; BERRY, C. M.; JONSSON, N. N.; STICH, R. W.; JITTAPALAPONG, S. Variation among Bm86 sequences in *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks collected from cattle across Thailand. **Experimental and Applied Acarology**, n. 66, v. 2, 2015. 247-256 p.
- KEMP, D. H.; AGBEDE, R. I.; JOHNSTON, L. A.; GOUGH, J. M. Immunization of cattle against *Boophilus microplus* using extracts derived from adult female ticks: Feeding and survival of the parasite on vaccinated cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 16, n. 2, abr. 1986. 115-120 p.
- LEE, R. P.; OPDEBEECK, J. P. Isolation of protective antigens from the gut of *Boophilus microplus* using monoclonal antibodies. **Immunology**, v. 72, n. 1, jan. 1991. 121-126 p.
- LOGULLO, C.; BRANDELLI, A.; GONZALES, J. C.; HENRIQUES, J. A.; DEWES, H. Isolation of an aspartic proteinase precursor from the egg of a hard tick, *Boophilus microplus*. **Parasitology**, v. 116, jun. 1998. 525-532 p.
- MARUYAMA S. R.; GARCIA, G. R.; TEIXEIRA, F. R.; BRANDÃO, L. G.; ANDERSON, J. M.; RIBEIRO, J. M. C.; VALENZUELA, J. G.; HORACKOVA, J.; VERÍSSIMO, C. J.; KATIKI, L. M.; BANIN, T. M.; ZANGIROLAMO, A. F.; GARDINASSI, L. G.; FERREIRA, B. R.; DE MIRANDA-SANTOS, I. K. F. Mining a differential sialotranscriptome of *Rhipicephalus microplus* guides antigen discovery to formulate a vaccine that reduces tick infestations. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, 2017. 206 p.
- MATTIOLI, R. C.; BAH, M.; FAYE, J.; KORA, S.; CASSAMA, M. A comparison of field tick infestation on N'Dama, Zebu and N'Dama Zebu crossbred cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 47, n. 1-2, mar. 1993. 139-148 p.
- ODONGO, D.; KAMAU, L.; SKILTON, R.; MWAURA, S.; NITSCH, C.; MUSOKE, A.; TARACHA, E.; DAUBENBERGER, C.; BISHOP, R. Vaccination of cattle with TickGARD induces cross-reactive antibodies binding to conserved linear peptides of Bm86 homologues in *Boophilus decoloratus*. **Vaccine**, v. 25, n. 7, 26 jan. 2007. 1287-1296 p.
- PARIZI, L. F.; RECH, H.; FERREIRA, C. A.; IMAMURA, S.; OHASHI, K.; ONUMA, M.; MASUDA, A.; VAZ IDA, S. Jr. Comparative immunogenicity of *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* calreticulins. **Veterinary parasitology**, v. 164, n. 2-4, 14 out. 2009. 282-290 p.
- PARIZI, L. F.; UTIUMI, K. U.; IMAMURA, S.; ONUMA, M.; OHASHI, K.; MASUDA, A.; VAZ JÚNIOR, I. S. Cross immunity with *Haemaphysalis longicornis* glutathione S-transferase reduces an experimental *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* infestation. **Experimental parasitology**, v. 127, n. 1, jan. 2011. 113-118 p.

- PATARROYO, J. H.; PORTELA, R. W.; DE 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**, v. 88, n. 3-4, 25 set. 2002. 163-172 p.
- POPARA, M.; VILLAR, M.; MATEOS-HERNÁNDEZ, L.; DE MERA, I. G.; MARINA, A.; DEL VALLE, M.; ALMAZÁN, C.; DOMINGOS, A.; DE LA FUENTE, J. Lesser protein degradation machinery correlates with higher BM86 tick vaccine efficacy in *Rhipicephalus annulatus* when compared to *Rhipicephalus microplus*. **Vaccine**, v.31, 2013. 4728-4735 p.
- 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*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 86, n. 24, dez. 1989. 9657-9661 p.
- RICHARDSON, M. A.; SMITH, D. R.; KEMP, D. H.; TELLAM, R. L. Native and baculovirus-expressed forms of the immuno-protective protein BM86 from *Boophilus microplus* are anchored to the cell membrane by a glycosyl-phosphatidyl inositol linkage. **Insect molecular biology**, v. 1, n. 3, jan. 1993. 139-147 p.
- RODRÍGUEZ, M.; RUBIERA, R.; PENICHER, M.; MONTESINOS, R.; CREMATA, J.; FALCÓN, V.; SÁNCHEZ, G.; BRINGAS, R.; CORDOVÉS, C.; VALDÉS, M.; LLEONART, R.; HERRERA, L.; DE LA FUENTE, J. High level expression of the *B. microplus* Bm86 antigen in the yeast *Pichia pastoris* forming highly immunogenic particles for cattle. **Journal of Biotechnology**, v. 33, n. 2, mar. 1994. 135-146 p.
- RUIZ, L. M.; ORDUZ, S.; LÓPEZ, E. D.; GUZMÁN, F.; PATARROYO, M. E.; ARMENGOL, G. Immune response in mice and cattle after immunization with a *Boophilus microplus* DNA vaccine containing bm86 gene. **Veterinary parasitology**, v. 144, n. 1-2, 15 mar. 2007. 138-145 p.
- SALES-JUNIOR, P. A.; GUZMAN, F.; VARGAS, M. I.; SOSSAI, S.; PATARROYO, V. A. M.; GONZÁLEZ, C. Z.; PATARROYO, J. H. Use of biodegradable PLGA microspheres as a slow release delivery system for the *Boophilus microplus* synthetic vaccine SBm7462. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 107, n. 3-4, 15 set. 2005. 281-290 p.
- SASAKI, S. D.; COTRIN, S. S.; CARMONA, A. K.; TANAKA, A. S. An unexpected inhibitory activity of Kunitz-type serine proteinase inhibitor derived from *Boophilus microplus* trypsin inhibitor on cathepsin L. **Biochemical and biophysical research communications**, v. 341, n. 1, 3 mar. 2006. 266-272 p.
- SEIXAS, A.; DOS SANTOS, P. C.; VELLOSO, F. F.; VAZ JÚNIOR, I. S.; MASUDA, A.; HORN, F.; TERMIGNONI, C. A *Boophilus microplus* vitellin-degrading cysteine endopeptidase. **Parasitology**, v. 126, n. 2, fev. 2003. 155-163 p.
- SEIXAS, A.; LEAL, A. T.; NASCIMENTO-SILVA, M. C.; MASUDA, A.; TERMIGNONI, C.; VAZ JÚNIOR, I. S. Vaccine potential of a tick vitellin-degrading enzyme (VTDCE). **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 124, n. 3-4, 15 ago. 2008. 332-340 p.
- SEIXAS, A.; OLIVEIRA, P.; TERMIGNONI, C.; LOGULLO, C.; MASUDA, A.; VAZ JÚNIOR, I. S. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* embryo proteins as target for tick vaccine. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 148, n. 1-2, 15 jul. 2012. 149-156 p.
- SOSSAI, S.; PECONICK, A. P.; SALES-JUNIOR, P. A.; MARCELINO, F. C.; VARGAS, M. I.; NEVES, E. S.; PATARROYO, J. H. Polymorphism of the bm86 gene in South American strains of the cattle tick *Boophilus microplus*. **Experimental & applied acarology**, v. 37, n. 3-4, jan. 2005. 199-214 p.
- 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**, v. 45, n. 1-3, dez. 1999. 171-177 p.
- TORO-ORTIZ, R. D.; VAZ JUNIOR, I. S.; GONZALES, J. C.; MASUDA, A. Monoclonal antibodies against *Boophilus microplus* and their effects on tick reproductive efficiency. **Veterinary parasitology**, v. 69, n. 3-4, maio. 1997. 297-306 p.
- USDA - United States Department of Agriculture: **Foreign Agricultural Service - 2018** [online]. 2018 [cited 2018 Jun 06]. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/statsByCommodity>>. Acesso em: 23 ago. 2018.
- VAZ JÚNIOR, I. S.; MARTINEZ, R. H. M.; OLIVEIRA, A.; HECK, A.; LOGULLO, C.; GONZALES, J.C.; DEWES, H.; MASUDA, A. Functional bovine immunoglobulins in *Boophilus microplus* hemolymph. **Veterinary Parasitology**, v. 62, n. 1-2, mar. 1996. 155-160 p.

VAZ JÚNIOR, I. S.; LOGULLO, C.; SORGINE, M.; VELLOSO, F. F.; ROSA DE LIMA, M. F.; GONZALES, J. C.; MASUDA, H.; OLIVEIRA, P. L.; MASUDA, A. Immunization of bovines with an aspartic proteinase precursor isolated from *Boophilus microplus* eggs. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 66, n. 3-4, 11 dez. 1998. 331-341 p.

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, Md. : 1950), v. 143, n. 4, 15 ago. 1989. 1346-1351 p.

WILLADSEN, P.; SMITH, D.; COBON, G.; MCKENNA, R. V. Comparative vaccination of cattle against *Boophilus microplus* with recombinant antigen Bm86 alone or in combination with recombinant Bm91. **Parasite immunology**, v. 18, n. 5, maio 1996. 241-246 p.

WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. **Veterinary parasitology**, v. 71, n. 2-3, 31 jul. 1997. 209-222 p.

WILLADSEN, P.; MCKENNA, R. V.; RIDING, G. A. Isolation from the cattle tick, *Boophilus microplus*, of antigenic material capable of eliciting a protective immunological response in the bovine host. **International journal for parasitology**, v. 18, n. 2, mar. 1988. 183-189 p.