



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
Doutorado em Saúde Pública



Filipe Dantas-Torres

***RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* E A
EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA NO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

RECIFE
2009

FILIFE DANTAS-TORRES

***RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* E A EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientador: Sinval Pinto Brandão-Filho

Recife

2009

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

- T693r Torres, Filipe Dantas.
Rhipicephalus sanguineus e a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no Estado de Pernambuco / Filipe Dantas Torres. — Recife: F. D. Torres, 2009.
95 f.: il., tabs.
- Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz.
Orientador: Sinval Pinto Brandão-Filho.
1. Leishmaniose visceral - epidemiologia. 2. Ixodidae. 3. Cães. I. Brandão-Filho, Sinval Pinto. II. Título.

CDU 616.993.161

FILIFE DANTAS-TORRES

***RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* E A EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Saúde Pública do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovada em: 18/03/2009

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Maria Aparecida da Glória Faustino
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Zulma Maria de Medeiros
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, CPqAM/FIOCRUZ

Dr. Fábio Lopes de Melo
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, CPqAM/FIOCRUZ

Dr. Sinval Pinto Brandão-Filho
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, CPqAM/FIOCRUZ

“Os grandes flagelos das parasitoses são a miséria, a ignorância, a fome e o descaso das autoridades.”

(Pedro Marcos Linardi, 2008, p. 17)

*Dedico esta obra à minha esposa, por todo
carinho e amor a mim dedicados.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus e à minha família, que constituem a essência da minha vida.

Ao Dr. Sinval P. Brandão-Filho e ao seu grupo de pesquisa, por mais esses dois anos de trocas de experiências.

A todos que contribuíram de alguma forma nessa longa jornada, em especial a Dra. Milena Paiva Cavalcanti, Luciana A. Figueredo, Maria E. F. de Brito, Bruna S. Lima, Dr. Fábio L. de Melo, Prof. Lêucio C. Alves, Profa. Maria Aparecida da Gloria Faustino, Prof. Valdir Q. Balbino, Prof. Marcelo B. Labruna, Thiago F. Martins, Prof. Matias P. J. Szabó, Prof. Nicolau M. da Serra-Freire, Dr. Paulo F. P. Pimenta, Prof. Domenico Otranto, Dr. Riccardo P. Lia, Andrey J. de Andrade, Luiza de Campos Reis, Eduardo M. R. Sanchez e Andrea N. M. Rangel da Silva.

A todos os amigos, alguns dos quais já citados acima, pelos momentos de lazer e descontração, especialmente ao grupo Arabiando (Rafael Marques, João Paulo Albertim, Rodrigo Samico, Tadeu Júnior e Ricardo Freitas), pois sem música e poesia tudo seria mais difícil. Sou fã de vocês!

Aos colegas e amigos do Departamento de Imunologia, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

A turma de Doutorado em Saúde Pública 2007–2011, do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro.

DANTAS-TORRES, Filipe. ***Rhipicephalus sanguineus* e a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no estado de Pernambuco**. 2008. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

RESUMO

No presente trabalho, objetivou-se estudar o papel do carrapato vermelho do cão (*Rhipicephalus sanguineus*) na epidemiologia da leishmaniose visceral canina no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Em março de 2007, coletaram-se carrapatos de um cão naturalmente infectado por *Leishmania (Leishmania) infantum* que residia no município de Vicência, onde a presença de *Lutzomyia longipalpis* ainda não foi demonstrada. Todos os carrapatos coletados (n=21) foram identificados como *Rh. sanguineus* e quando testados para presença de DNA de *L. (L.) infantum* por PCR, quatro foram positivos. Adicionalmente, 73 carrapatos coletados de 25 cães soropositivos residentes no município de Bezerros foram testados para presença de DNA de *L. (L.) infantum* por PCR em tempo real e nove (12,3%) foram positivos, com uma carga parasitária variando de 0,001 a 0,003. Em junho de 2008, realizou-se um estudo epidemiológico no município de São Vicente Férrer, onde a presença de *Lu. longipalpis* também é incerta. Dentre os 41 cães testados por uma reação de imunofluorescência indireta para presença de anticorpos anti-*Leishmania* spp., 12 (29,3%) foram positivos. Apenas dois cães foram positivos no exame parasitológico (um em esfregaço corado de medula óssea e outro de lesão cutânea). Similarmente, apenas dois cães foram positivos para presença de DNA de *L. (L.) infantum* (um na PCR em tempo real em amostra de sangue e outro na PCR convencional em medula óssea). A prevalência geral, considerando todos os métodos diagnósticos, foi de 34,1%. Não houve diferença significativa na soropositividade em relação à idade, sexo ou *status* clínico dos cães. Em relação à presença de ectoparasitos, 29 (70,7%) cães estavam infestados por artrópodes. Não houve diferença significativa na soropositividade em relação à presença (ou ausência) de piolhos ou pulgas. Porém, a maioria dos cães soropositivos não apresentava infestação por carrapatos (p -valor $\leq 0,05$). O presente não descarta a possível participação do *Rh. sanguineus* na epidemiologia da leishmaniose visceral em alguns municípios de Pernambuco, particularmente onde a presença de *Lu. longipalpis* ainda não foi comprovada. Contudo, novos estudos experimentais serão necessários para comprovar o papel desse carrapato como um vetor de *L. (L.) infantum* entre cães.

Descritores: Leishmaniose visceral - epidemiologia, Ixodidae, cães.

DANTAS-TORRES, Filipe. *Rhipicephalus sanguineus* and the epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the State of Pernambuco. 2008. Thesis (Doctorate of Public Health) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

ABSTRACT

The objective of the present work was to study the role of the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the State of Pernambuco, Northeast Brazil. On March 2007, ticks were collected from a dog naturally infected by *Leishmania (Leishmania) infantum* from Vicência, where the presence of *Lutzomyia longipalpis* has not been demonstrated yet. All ticks (n=21) were identified as *Rh. sanguineus* and when tested for the presence of *L. (L.) infantum* DNA by a conventional PCR, four were positive. Moreover, 73 ticks collected from 25 seropositive dogs living in the municipality of Bezerros were tested for the presence of *L. (L.) infantum* DNA by real time PCR and nine (12.3%) were positive, with a parasite load raging from 0.001 to 0.003. On June 2008, an epidemiological study was carried out in the municipality of São Vicente Férrer, where the presence of *Lu. longipalpis* is also uncertain. Among 41 dogs tested by an indirect immunofluorescence antibody reaction for the presence of anti-*Leishmania* antibodies, 12 (29.3%) were positive. Only two dogs were positive in the parasitological examination (one on bone marrow and other on skin lesion-stained smears). Similarly, only two dogs were positive for the presence of *L. (L.) infantum* DNA (one in real time PCR on blood and other in conventional PCR on bone marrow). The overall prevalence of infection, taking into account all diagnostic tests, was 34.1%. There was no significant difference in seropositivity in relation to age, sex and clinical status of the dogs. In relation to the presence of ectoparasites, 29 (70.7%) dogs were infested by arthropods. There was no significant difference between the seropositivity and the presence (or absence) of lice or fleas. On the other hand, the majority of the seropositive dogs were not infested by ticks (p-value ≤ 0.05). In conclusion, the present study does not refuse the hypothesis of the participation of *Rh. sanguineus* ticks in the epidemiology of visceral leishmaniosis in some municipalities of Pernambuco, particularly where *Lu. longipalpis* has not been found. However, further experimental studies are needed to prove the role of this tick as a vector of *L. (L.) infantum* among dogs.

Keywords: Visceral leishmaniasis – epidemiology, Ixodidae, dogs.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
1.1	Sistemática e identificação	11
1.2	Biologia e ecologia	13
1.3	Hospedeiros	15
1.4	Importância médica e veterinária	17
1.5	<i>Rh. sanguineus</i> e a transmissão de <i>L. (L.) infantum</i>	18
1.6	<i>Rh. sanguineus</i> e a leishmaniose canina em Pernambuco	21
2	JUSTIFICATIVA	24
3	HIPÓTESE	26
4	OBJETIVOS	28
4.1	Geral	29
4.2	Específicos	29
5	MATERIAL E MÉTODOS	30
5.1	Epidemiologia da leishmaniose canina em São Vicente Férrer	31
5.1.1	Área de estudo	31
5.1.2	Exame clínico e coleta de dados	32
5.1.3	Inquérito sorológico	33
5.1.4	Inquérito parasitológico e molecular	33
5.1.5	Coleta e identificação de ectoparasitos	35
5.1.6	Análise estatística	35
5.1.7	Aspectos éticos	36
5.2	Detecção de DNA de <i>L. (L.) infantum</i> em carrapatos	36
6	RESULTADOS	38
6.1	Epidemiologia da leishmaniose canina em São Vicente Férrer	39
6.2	Ectoparasitos associados a cães de São Vicente Férrer	41
6.3	Detecção de DNA de <i>L. (L.) infantum</i> em carrapatos	42
7	DISCUSSÃO	43
8	CONCLUSÕES	49
	REFERÊNCIAS	51
	APÊNDICE	72

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1906) (Acari: Ixodida), também conhecido como carrapato vermelho do cão ou carrapato do canil, é um ectoparasito amplamente difundido em todo o mundo, sendo a espécie de carrapato de maior distribuição mundial (DANTAS-TORRES, 2008c; WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000). Sua ampla distribuição geográfica tem sido facilitada pelo transporte do seu principal hospedeiro, o cão doméstico. Porém, embora esteja primariamente associado ao cão, esse carrapato pode ser encontrado sobre uma grande diversidade de animais silvestres e domésticos (SZABÓ *et al.*, 2008; WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000), incluindo o homem (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; LOULY *et al.*, 2006).

O carrapato vermelho do cão está entre os principais vetores de patógenos que acometem os cães (DANTAS-TORRES, 2008a, 2008c; WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000). Não obstante sua importância veterinária, esse carrapato tem sido implicado na transmissão de patógenos aos seres humanos (DANTAS-TORRES, 2007a; PAROLA *et al.*, 2008). O número de relatos de parasitismo humano pelo *R. sanguineus* tem crescido em anos recentes, inclusive no Brasil (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; LOULY *et al.*, 2006). Estudos sugerem que o aquecimento global poderia influenciar no comportamento desse carrapato, favorecendo a ocorrência de casos de parasitismo humano e, conseqüentemente, a transmissão de patógenos (PAROLA *et al.*, 2008).

1.1 Sistemática e identificação

Rhipicephalus sanguineus foi descrito em 1806 por Latreille, como *Ixodes sanguineus* e posteriormente transferido para o gênero *Rhipicephalus* (DANTAS-TORRES, 2008c). *Rhipicephalus sanguineus* pertence à subfamília Rhipicephalinae, dentro da família Ixodidae. A identificação do carrapato vermelho do cão (Figura 1) pode ser feita com base na combinação dos seguintes caracteres morfológicos: palpos curtos; base do capítulo hexagonal; olhos presentes; festões presentes;

corpo pequeno e alongado; escudo não-ornamentado; coxa I bifurcada; e placa espiracular em forma de vírgula, com o prolongamento dorsal com largura igual ou menos que à metade do festão adjacente (COOLEY, 1946; WALKER; KEIRANS; HORAK, 2000).

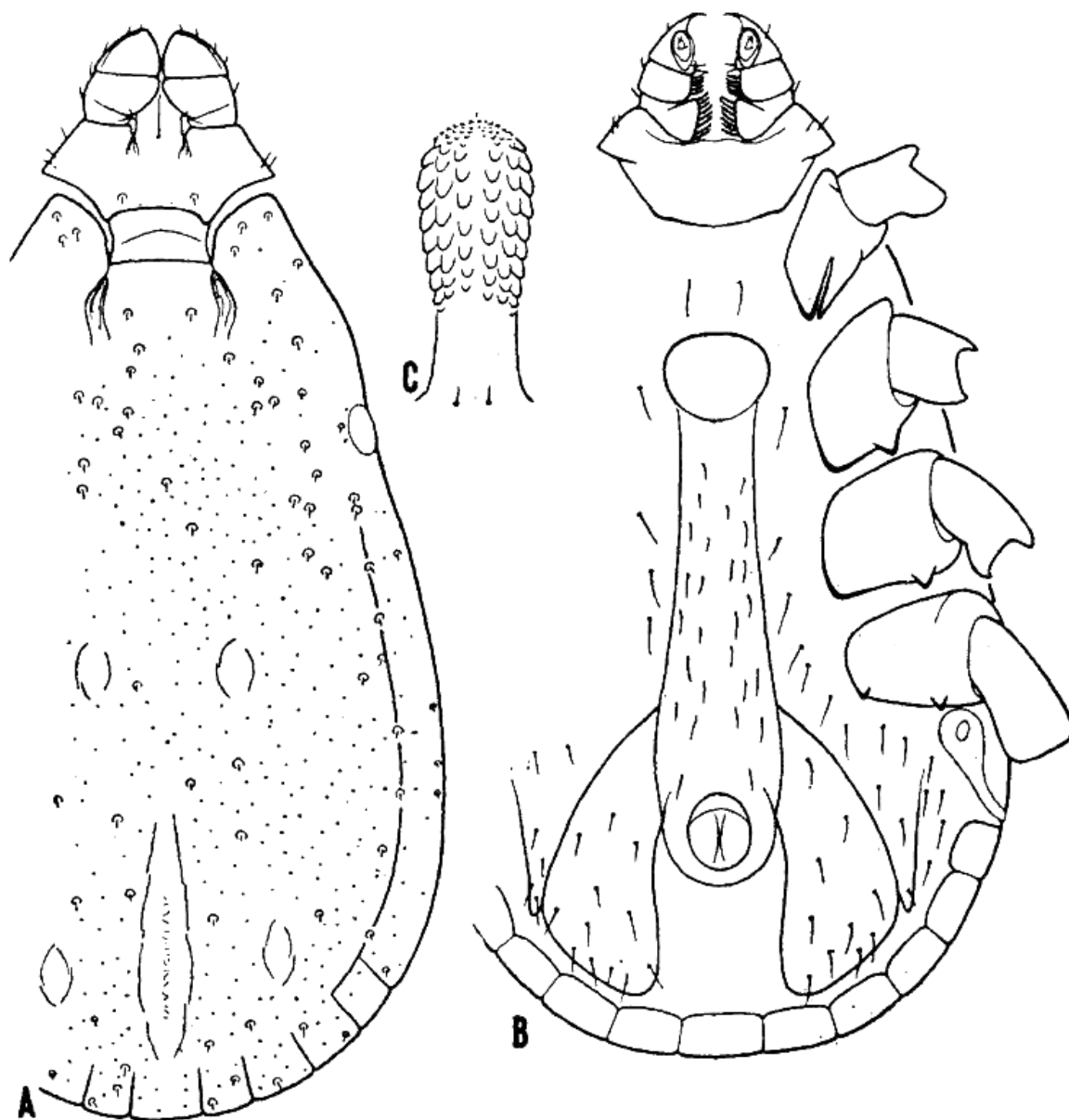


Figura 1. *Rhipicephalus sanguineus*, macho.

Fonte: Adaptado de Cooley (1946).

Nota: A. Vista dorsal, capítulo e escudo. B. Vista ventral, capítulo, coxas e placas. C. Hipostômio.

A taxonomia dos carrapatos identificados como *Rh. sanguineus* ao redor do mundo tem sido um assunto de debate. Diferentes abordagens (por exemplo, análise morfológica versus análise filogenética) classificam *Rh. sanguineus* como um

grupo de aproximadamente 10 espécies bastante próximas. Entretanto, o status biossistemático das espécies pertencentes ao grupo *Rh. sanguineus* é de difícil determinação, principalmente com base apenas na morfologia dos exemplares adultos (OLIVEIRA *et al.*, 2005). Até o momento, métodos fenotípicos não são suficientes para distinguir claramente todas as espécies pertencentes a esse grupo. Sabe-se que membros do grupo *Rh. sanguineus* podem apresentar maior ou menor susceptibilidade à infecção por certos patógenos (MATSUMOTO *et al.*, 2005). Logo, estudos sobre a sistemática do grupo *Rh. sanguineus* são de grande valia não só sobre o ponto de vista taxonômico, mas também de transmissão de patógenos.

1.2 Biologia e ecologia

Rhipicephalus sanguineus é um carrapato de três hospedeiros. Isso significa dizer que cada estágio ativo de desenvolvimento (larva, ninfa e adulto) se alimenta apenas uma vez e a muda (ou ecdise) ocorre no ambiente (DANTAS-TORRES, 2008c).

Fêmeas adultas se alimentam por cinco a 21 dias (KOSHY; RAJAVELU; LALITHA, 1983; PEGRAM *et al.*, 1987; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947; SRIVASTAVA; VARMA, 1964). Uma vez ingurgitadas, elas se desprendem do hospedeiro para realizar a digestão sanguínea, maturação e postura dos ovos. A postura é precedida por um período de pré-postura que varia de três a 14 dias (JITTAPALAPONG *et al.*, 2000; KOCH, 1982a; PEGRAM *et al.*, 1987; SWEATMAN, 1967). A duração média da postura é de 16 a 18 dias (KOCH, 1982a; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947). Fêmeas de *Rh. sanguineus* põem em média 4.000 ovos, mas podem pôr tanto quanto 7.273 ovos (KOCH, 1982a).

A temperatura ótima para postura de *Rh. sanguineus* se situa entre 20 e 30°C (SWEATMAN, 1967). Após a postura dos ovos, a fêmea sucumbe. Ovos são depositados em locais estratégicos, como frestas e buracos, normalmente acima do nível do solo. O período de incubação dos ovos varia entre seis e 23 dias (JITTAPALAPONG *et al.*, 2000; KOCH, 1982a; PEGRAM *et al.*, 1987; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947). Após incubação, pequenas larvas eclodem e, após o enrijecimento da cutícula, passam imediatamente a procurar um hospedeiro para

realização do repasto sanguíneo. Larvas recém-eclodidas são pequenas (comprimento, 0,54 mm; largura, 0,39 mm) e possuem apenas três pares de pernas.

Larvas se alimentam por três a 10 dias, antes de se desprenderem do hospedeiro e mudarem para ninfas (KOSHY; RAJAVELU; LALITHA, 1983; PEGRAM *et al.*, 1987; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947). O período de muda de larva para ninfa varia de cinco a 15 dias (PEGRAM *et al.*, 1987; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947). Diferentemente das larvas, as ninfas possuem quatro pares de pernas e se assemelham aos adultos exceto por serem menores (comprimento, de 1,14 a 1,3 mm; largura, de 0,57 a 0,66 mm) e sexualmente imaturas, isto é, não apresentam abertura genital. As ninfas se alimentam por três a 11 dias e então se desprendem do hospedeiro (KOSHY; RAJAVELU; LALITHA, 1983; PEGRAM *et al.*, 1987; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947). O período de muda de ninfa para adulto varia de nove a 47 dias (PEGRAM *et al.*, 1987; PETROVA-PIONTKOVSKAYA, 1947). Machos adultos são alongados (comprimento, 2,28–3,18 mm; largura 1,11–1,68 mm), marrom-avermelhados, com pequenas pontuações espalhadas ao longo escudo dorsal. Antes do ingurgitamento, fêmeas adultas se assemelham aos machos em tamanho (comprimento 2,4–2,7 mm; largura 1,44–1,68 mm), forma e cor. Após o repasto sanguíneo, as fêmeas podem aumentar para 11,5 mm por 7,5 mm e a porção mais larga do corpo se torna verde oliva (COOLEY, 1946; DANTAS-TORRES, 2008c). Em condições favoráveis de temperatura e umidade, o ciclo biológico do *Rh. sanguineus* se completa em aproximadamente 63–91 dias (BECHARA *et al.*, 1995; GODDARD, 1987; LOULY *et al.*, 2007).

É notória a capacidade de sobrevivência do *Rh. sanguineus*. Larvas de *Rh. sanguineus* não alimentadas podem sobreviver por até oito meses sem se alimentar, ao passo que ninfas e adultos podem sobreviver por seis e 19 meses, respectivamente (GODDARD, 1987). Sob condições de laboratório, os parâmetros biológicos (por exemplo, postura dos ovos e períodos de muda) do *Rh. sanguineus* variam de acordo com a temperatura, umidade relativa e tipo de hospedeiro (cão, hamster, coelho, etc.) (BELLATO; DAEMON, 1997). A sobrevivência máxima de ninfas ocorre sob 20°C e 85% de umidade relativa. Carrapatos adultos não alimentados são mais resistentes que ninfas não alimentadas a condições dissecantes, isto é, 35°C e 35% de umidade relativa (KOCH; TUCK, 1986). Foi recentemente demonstrado que *Rh. sanguineus* é menos dependente de ambientes

ricos em umidade (YODER *et al.*, 2006), o que facilita seu estabelecimento em regiões áridas.

Sob condições naturais, os períodos de ingurgitamento e muda podem variar entre populações e são diretamente influenciados por fatores como temperatura e disponibilidade de hospedeiro. Aparentemente existe uma forte relação entre a temperatura e o tamanho da população de *Rh. sanguineus* (MUMCUOGLU *et al.*, 1993). Um estudo recente demonstrou que a temperatura parece interferir na especificidade de hospedeiro do *Rh. sanguineus*, aumentando a probabilidade de esse carrapato se alimentar em seres humanos (PAROLA *et al.*, 2008). A duração do ciclo de vida do *Rh. sanguineus* pode variar de país para país e de região para região. Estudos de campo demonstram que o carrapato vermelho do cão pode completar duas (ou mais) gerações por ano (CRUZ-VAZQUEZ; GARCIA-VAZQUEZ, 1990; KOCH, 1982b; USPENSKY; IOFFE-USPENSKY, 2002). No Brasil, onde as condições ambientais são bastante favoráveis, *Rh. sanguineus* pode completar até quatro gerações por ano (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2006; LOULY *et al.*, 2007).

Ixodídeos, particularmente carrapatos de três hospedeiros, passam 94–97% de sua vida no ambiente (NEEDHAM; TEEL, 1991), onde estão sob a influência de muitos fatores, como a estrutura do habitat e clima (RANDOLPH, 2004). A maioria dos ixodídeos exibe um comportamento exofílico. Em contraste, *Rh. sanguineus* é normalmente endofílico, permanecendo a maior parte do tempo no ambiente intradomiciliar (DANTAS-TORRES, 2008c). Outra característica marcante desse carrapato é o seu forte geotropismo negativo. Em casas onde habitam cães infestados pelo *Rh. sanguineus*, é comum observar carrapatos caminhando sobre as paredes e móveis (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; DEMMA *et al.*, 2005; PAROLA *et al.*, 2008).

1.3 Hospedeiros

Cães são os hospedeiros primários do *Rh. sanguineus* (Figura 2) e a presença desses animais é provavelmente uma condição necessária para manutenção de largas populações desse carrapato. Entretanto, em certas áreas, *Rh.*

sanguineus parecem agir de modo menos seletivo; estágios imaturos podem ser encontrados em roedores e outros pequenos mamíferos, ao passo que adultos parasitam grandes animais, incluindo o homem (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; HARRISON; ENGBER; APPERSON, 1997). No Brasil, existem registros de infestação pelo *Rh. sanguineus* em cães, coelhos, gatos, roedores, aves, canídeos silvestres e humanos (ARAGÃO, 1936; DANTAS-TORRES *et al.*, 2004; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; DIOGO *et al.*, 2003; LOULY *et al.*, 2006; SZABÓ *et al.*, 2008; YOSHIZAWA *et al.*, 1996).



Figura 2. Fêmeas de *Rh. sanguineus* fixadas em cão naturalmente infestado.

Embora seja considerado um evento acidental, é crescente número de relatos de casos de infestação pelo carrapato *Rh. sanguineus* em seres humanos descritos na literatura (BURGDORFER; ADKINS; PRIESTER, 1975; CARPENTER; MCMEANS; MCHUGH, 1990; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; DEMMA *et al.*, 2005; ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; FELZ; DURDEN; OLIVER, 1996; GODDARD, 1989; GUGLIELMONE; MANGOLD; VINABAL, 1991; HARRISON; ENGBER; APPERSON 1997; LOULY *et al.*, 2006; MANFREDI *et al.*, 1990; PAROLA *et al.*, 2008; SCHENONE, 1996; VENZAL *et al.*, 2003). Isso parece

sugerir que esse tipo de associação carrapato-hospedeiro pode ser mais comum do que é atualmente reconhecido. Essa questão é bastante relevante quando se considera que *Rh. sanguineus* é vetor conhecido de inúmeros patógenos de importância médica e veterinária.

1.4 Importância médica e veterinária

O papel do *Rh. sanguineus* na transmissão de patógenos aos cães e humanos tem sido objeto de revisões recentes (DANTAS-TORRES, 2008a, 2008c; OTRANTO; DANTAS-TORRES; BREITSCHWERDT, 2009a, 2009b). Esse carrapato é um vetor conhecido de vários patógenos aos cães, tais como *Babesia vogeli* Reichenow, 1937, *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard, 1935) e *Hepatozoon canis* (JAMES, 1905) (BANETH *et al.*, 2007; GROVES *et al.*, 1975; REGENDANZ; MUNIZ, 1936). Suspeita-se que *Rh. sanguineus* esteja envolvido na transmissão de outros patógenos importantes como *Anaplasma platys* (French & Harvey, 1983) e *Leishmania (Leishmania) infantum* Nicolle, 1908 (COUTINHO *et al.*, 2005; SIMPSON *et al.*, 1991).

O papel do *Rh. sanguineus* na transmissão de patógenos aos seres humanos também está bem documentado, apesar da sua aparentemente baixa atração por esses hospedeiros (PALMAS *et al.*, 2001). Esse carrapato é vetor de *Rickettsia rickettsii* (WOLBACH, 1919), bactéria causadora da febre maculosa, no México (BUSTAMANTE; VARELA, 1947; MARIOTTE; BUSTAMANTE; VARELA, 1944), Estados Unidos (DEMMA *et al.*, 2005; WIKSWO *et al.*, 2007) e, possivelmente, no Brasil (MORAES-FILHO *et al.*, 2009). Na região Mediterrânea, *Rh. sanguineus* é vetor de *Rickettsia conorii* Brumpt, 1932, bactéria causadora da febre maculosa do Mediterrâneo (MATSUMOTO *et al.*, 2005).

O carrapato vermelho do cão pode também atuar como reservatório de certos patógenos (por exemplo, *R. conorii* e *E. canis*). Isso significa que o carrapato tem a habilidade de manter o patógeno na natureza, ao longo de várias gerações, por passagem transovariana (da fêmea para a sua progênie) e transestadial (de um estágio para outro) (BREMER *et al.*, 2005; DANTAS-TORRES, 2007a). É importante notar que carrapatos podem ser encontrados naturalmente infectados por micro-

organismos de patogenicidade desconhecida (DANTAS-TORRES, 2007a; MCGHEE; COSGROVE, 1980; WALLACE, 1966). Por exemplo, *Rh. sanguineus* foi encontrado infectado por tripanossomatídeos no Iraque (MACHATTIE; CHADWICK, 1930) e no Brasil (SHERLOCK, 1964), os quais não puderam ser diferenciados morfológicamente entre *Leishmania* e tripanossomatídeos monogenéticos (por exemplo, *Leptomonas* e *Blastocrithidia*). Logo, o uso de técnicas contemporâneas de diagnóstico é importante para garantir uma identificação precisa do organismo envolvido (DANTAS-TORRES, 2006d).

1.5 *Rhipicephalus sanguineus* e a transmissão de *L. (L.) infantum*

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por protozoários do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae), os quais são amplamente distribuídos no mundo e infectam uma grande variedade de animais domésticos e silvestres e, eventualmente, o homem (ASHFORD, 1996). As formas clínicas das leishmanioses podem variar de uma lesão cutânea localizada, autolimitante, até formas mais graves, sistêmicas, como a leishmaniose visceral que pode ser fatal se não tratada adequadamente (CHAPPUIS *et al.*, 2007; DESJEUX, 2004). A leishmaniose visceral causada pela espécie *L. (L.) infantum*, atualmente considerada como sinônimo de *Leishmania (Leishmania) chagasi* Cunha & Chagas, 1937 (BANETH *et al.*, 2008; DANTAS-TORRES, 2008a; LUKES *et al.*, 2007; SCHÖNIAN *et al.*, 2008), é uma zoonose prevalente em muitos países na América, Europa, Ásia e África. Aproximadamente 90% dos casos humanos de leishmaniose visceral registrados estão concentrados em áreas rurais e suburbanas de seis países: Bangladesh, Brasil, Etiópia, Índia, Nepal e Sudão (CHAPPUIS *et al.*, 2007; DESJEUX, 2004). A leishmaniose visceral é uma doença de difícil controle que se encontra em franca expansão geográfica, afetando principalmente crianças e indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) (ALVAR; YACTAYO; BERN, 2006; CHAPPUIS *et al.*, 2007; DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006b; DESJEUX, 2004).

A transmissão de *L. (L.) infantum* se dá primariamente por meio da picada de fêmeas de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) dos gêneros *Lutzomyia*, no

Novo Mundo (Américas), e *Phlebotomus*, no Velho Mundo (Europa, Ásia e África) (KILLICK-KENDRICK, 1990). No Brasil, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) é a principal espécie de flebotomíneo envolvida no ciclo de transmissão, porém, outras espécies têm sido apontadas como possíveis vetores (CARVALHO *et al.*, 2008; PITA-PEREIRA *et al.*, 2008; YOUNG; DUNCAN, 1994). Além da picada de flebotomíneos, outras formas de transmissão de *L. (L.) infantum* entre humanos têm sido aventadas, incluindo congênita, por transfusão sangüínea, transplante de órgãos e compartilhamento de seringas contaminadas entre usuários de drogas (BASSET *et al.*, 2005; BOEHME *et al.*, 2006; ELTOUM *et al.*, 1992; HERWALDT, 2001; MATHUR; SAMANTARAY, 2004; MEINECKE *et al.*, 1999; MOLINA; GRADONI; ALVAR, 2003; PAGLIANO *et al.*, 2005; SYMMERS, 1960). De fato, o ciclo de transmissão de *L. (L.) infantum* é bastante complexo e envolve um conjunto de interações entre o protozoário e seus hospedeiros reservatórios e vetores, que podem variar de região para região (ASHFORD, 1996; DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006b; KILLICK-KENDRICK, 1990).

O cão doméstico tem sido apontado como o principal hospedeiro reservatório de *L. (L.) infantum*, particularmente no ambiente doméstico e peridoméstico (DANTAS-TORRES, 2007b), embora outros hospedeiros possam estar envolvidos (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006b), incluindo o homem (COSTA *et al.*, 2002; FAKHAR *et al.*, 2008). Em alguns focos da doença, existe uma forte relação entre a presença de casos de leishmaniose visceral em cães e humanos (AGUILAR *et al.*, 1998; CUNHA *et al.*, 1995). Essa relação é de certa forma esperada, uma vez que tanto os cães quanto os humanos são susceptíveis à infecção por *L. (L.) infantum* e, em áreas endêmicas, estão sob constante exposição aos vetores.

Existem algumas áreas, entretanto, onde a leishmaniose visceral canina é endêmica ou tem sido esporadicamente relatada, porém poucos casos humanos são notificados e/ou a presença do vetor primário não tem sido confirmada (CARVALHO *et al.*, 2007; DANTAS-TORRES *et al.*, 2005). Isso tem sugerido a participação de outras espécies de flebotomíneos ou até mesmo a existência de formas secundárias de transmissão. Dentre essas formas, estariam incluídas a transmissão por meio de transfusão sanguínea (FREITAS *et al.*, 2006; OWENS *et al.*, 2001), transmissão transplacentária (ROSYPAL *et al.*, 2005), transmissão venérea (SILVA *et al.*, 2009),

pela mordedura, ingestão de vísceras contaminadas (SHERLOCK, 1964) e por pulgas e carrapatos (COUTINHO *et al.*, 2005; COUTINHO; LINARDI, 2007).

A hipótese sobre a participação do carrapato *Rh. sanguineus* na transmissão de *L. (L.) infantum* entre cães não é recente (BLANC; CAMINOPETROS, 1930; GIRAUD; RANQUE; CABASSU, 1954; MACHATTIE; CHADWICK, 1930; MCKENZIE, 1984; SHERLOCK, 1964). No início da década de 1930, na França, demonstrou-se a susceptibilidade do *Rh. sanguineus* à infecção por *L. (L.) infantum* e a capacidade desse carrapato transmitir mecanicamente o protozoário para roedores (BLANC; CAMINOPETROS, 1930). No Brasil, Sherlock (1964) relatou o encontro de formas morfológicamente semelhantes a “leptomonas” de *Leishmania* em carrapatos coletados de cães com leishmaniose, levando-o a especular sobre a participação de carrapatos no ciclo zoonótico da leishmaniose visceral (Figura 3).

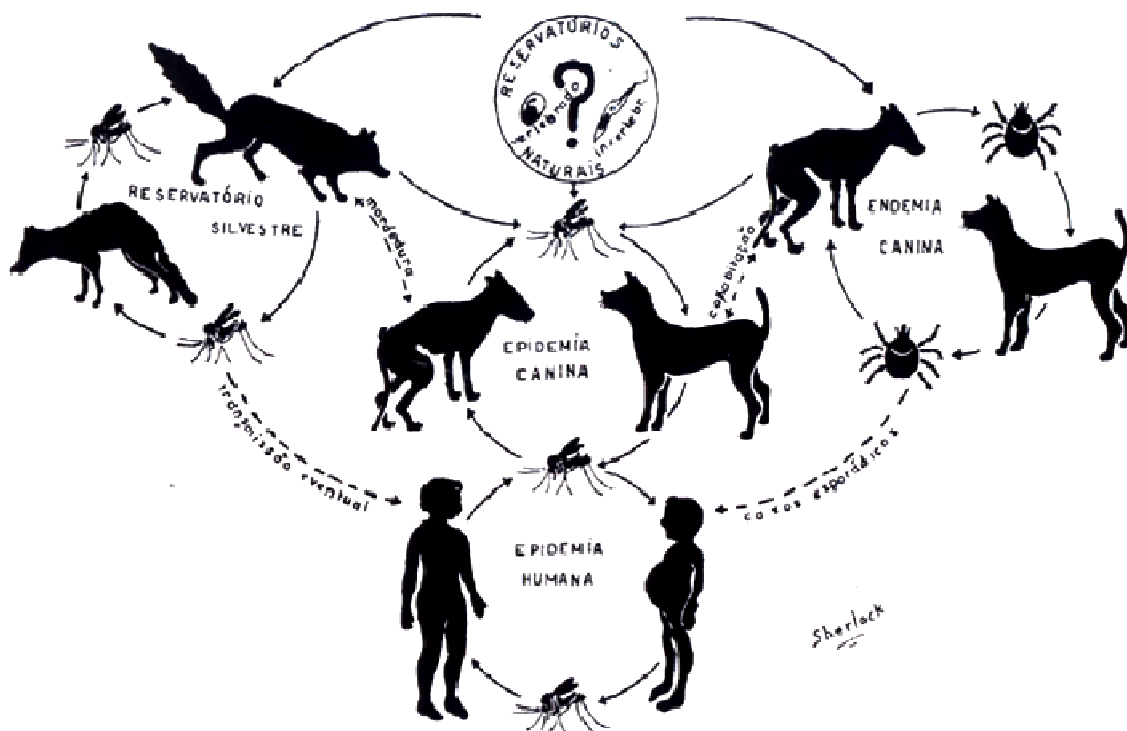


Figura 3. Ciclo da leishmaniose visceral, segundo Sherlock (1964). Os carrapatos estariam envolvidos na transmissão entre cães e esporadicamente para o homem.

Em meados dos anos 1980, nos Estados Unidos, surgiram novas evidências sobre a possibilidade da transmissão de *L. (L.) infantum* entre cães pelo *Rh. sanguineus* (MCKENZIE, 1984). Na ocasião, comprovou-se a transmissão

transestadial (de larva para ninfa e de ninfa para adulto) de *L. (L.) infantum* em *Rh. sanguineus* e que o protozoário era capaz de sobreviver no carrapato por um período superior a 100 dias (MCKENZIE, 1984). Além disso, análise ultraestrutural de *L. (L.) infantum* em *Rh. sanguineus* revelou formas promastigotas semelhantes àquelas encontradas nos flebotomíneos vetores (MCKENZIE, 1984).

No Brasil, há relatos do encontro de exemplares de *Rh. sanguineus* infectados por formas semelhantes a promastigotas de *L. (L.) infantum* (SHERLOCK, 1964; SILVA *et al.*, 2007). Contudo, é importante salientar que alguns tripanossomatídeos monogenéticos que podem ser encontrados em *Rh. sanguineus* (MACHATTIE; CHADWICK, 1930) podem ser facilmente confundidos com formas promastigotas de *Leishmania*.

Em estudo recente realizado no Brasil, pesquisadores coletaram 39 carrapatos de cães soropositivos, apresentando sinais clínicos sugestivos de leishmaniose visceral, e verificaram a presença de DNA de *Leishmania* em seis desses carrapatos (COUTINHO *et al.*, 2005). No mesmo estudo, carrapatos foram macerados e inoculados em hamsters por via oral e intraperitoneal. Seis meses após a inoculação, 14 animais apresentaram sinais de infecção, sendo que 12 haviam sido inoculados por via intraperitoneal e dois por via oral (COUTINHO *et al.*, 2005). Assim, esse estudo levantou a possibilidade da transmissão oral de *L. (L.) infantum* por meio da ingestão de carrapatos infectados, tal qual como acontece na transmissão de *H. canis* (BANETH *et al.*, 2007).

Rhipicephalus sanguineus se encontra quase que invariavelmente presente nas áreas onde a leishmaniose visceral canina é endêmica (DANTAS-TORRES, 2006b, 2006d). De fato, as evidências disponíveis sugerem que *Rh. sanguineus* pode estar envolvido na epidemiologia da leishmaniose visceral canina. A real importância dessa possível forma secundária de transmissão é desconhecida. Mais que isso, não se sabe se *Rh. sanguineus* é capaz de transmitir *L. (L.) infantum* durante o repasto sanguíneo. Considerando que formas semelhantes promastigotas de *L. (L.) infantum* têm sido encontradas nesse carrapato, a possibilidade de transmissão biológica não pode ser totalmente descartada.

1.6 *Rh. sanguineus* e a leishmaniose visceral canina em Pernambuco

A leishmaniose visceral é uma zoonose de grande importância em muitos países do mundo, inclusive no Brasil (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006b). Em Pernambuco, a leishmaniose apresenta um perfil epidemiológico bastante semelhante àquele observado em outras áreas endêmicas no nordeste do Brasil. A doença acomete principalmente crianças e apresenta uma taxa de letalidade de aproximadamente 10% (DANTAS-TORRES, 2006a, 2008b). Os casos ocorrem predominantemente em áreas rurais, mas a doença encontra-se amplamente difundida em todo território pernambucano, inclusive em áreas urbanas (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006a). Em áreas endêmicas, seja no campo ou na cidade, existe uma alta prevalência de infecção por *Leishmania* spp. entre cães. Essa prevalência, usualmente estimada por testes sorológicos, pode variar bastante de região para região e de acordo com a técnica sorológica empregada (ALEXANDRINO, 2001; BRANDÃO-FILHO *et al.*, 1994; DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006; FRANÇA *et al.*, 2003; LIMA-JÚNIOR *et al.*, 2000). Em alguns focos altamente endêmicos, a soroprevalência pode alcançar níveis superiores a 50% (DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006). Como observado em outros estados brasileiros (RONDON *et al.*, 2008), assim como em muitos outros países da América do Sul (DANTAS-TORRES, 2009) e da região Mediterrânea (BANETH *et al.*, 2008), a maioria dos cães soropositivos em Pernambuco não apresenta sinais clínicos sugestivos de leishmaniose visceral (DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006) o que representa um desafio extra para o programa de controle da leishmaniose visceral nesse estado.

Pouco se sabe sobre os fatores de risco associados à infecção por *Leishmania* spp. em cães em Pernambuco. No município de Paulista, por exemplo, a soropositividade é maior entre os cães machos e menores de um ano (DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006). A presença de *Lu. longipalpis* é comumente observada em áreas onde a leishmaniose visceral canina é endêmica (DANTAS-TORRES; ALMEIDA; BRANDÃO-FILHO, 2006). Porém, em alguns municípios onde casos de leishmaniose visceral canina têm sido diagnosticados (por exemplo, Recife), a presença de *Lu. longipalpis* ainda não foi comprovada (DANTAS-TORRES, 2006c; DANTAS-TORRES *et al.*, 2005). Em São Vicente Férrer, casos de leishmaniose visceral em cães e humanos têm sido registrados, mas a presença do vetor primário ainda não foi comprovada (CARVALHO *et al.*,

2007). Isso sugere que outras espécies de *Lutzomyia*, como *Lutzomyia migonei* (França, 1920), podem estar envolvidas na transmissão de *L. (L.) infantum* nesse município. Contudo, estruturas semelhantes a formas promastigotas de *Leishmania* spp. foram encontradas recentemente em carrapatos identificados como *Rh. sanguineus* coletados de cães soropositivos no município de São Vicente Férrer (SILVA *et al.*, 2007). Esse achado sugere a necessidade de novas investigações sobre o papel do *Rh. sanguineus* na epidemiologia da leishmaniose visceral canina nesse município.

2 JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

Diante das evidências epidemiológicas (GIRAUD; RANQUE; CABASSU, 1954; SHERLOCK, 1964; SILVA *et al.*, 2007) e experimentais (BLANC; CAMINOPETROS, 1930; COUTINHO *et al.*, 2005; MCKENZIE, 1984), previamente discutidas, novos estudos são necessários para investigar o papel do *Rh. sanguineus* na transmissão de *L. (L.) infantum* entre cães, uma vez que essa possibilidade apresenta implicações diretas para o programa de controle da leishmaniose visceral no Brasil.

3 HIPÓTESE

3 HIPÓTESE

O carrapato *Rh. sanguineus* desempenha um possível papel como vetor secundário na epidemiologia da leishmaniose visceral canina em Pernambuco, principalmente em áreas onde a presença do vetor primário ainda não foi comprovada.

4 OBJETIVOS

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Estudar o papel do carrapato *Rh. sanguineus* na epidemiologia da leishmaniose visceral canina em alguns municípios de Pernambuco.

4.2 Específicos

- a) Estudar a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no município de São Vicente Férrer, onde a presença de *Lu. longipalpis* ainda não foi comprovada;
- b) Identificar os ectoparasitos (carrapatos, piolhos e pulgas) que infestam cães em São Vicente Férrer;
- c) Verificar se existe uma associação entre a infestação por carrapatos e a presença de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em cães em São Vicente Férrer;
- d) Detectar a presença de DNA de *L. (L.) infantum* em carrapatos coletados de cães de uma área endêmica em Pernambuco.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Epidemiologia da leishmaniose visceral canina em São Vicente Férrer

5.1.1 Área de estudo

O município de São Vicente Férrer (07°35'28" S, 35°29'29" W) (Figura 4) está localizado na mesorregião Agreste do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Esse município possui uma população de pouco mais de 25.000 habitantes e um território de aproximadamente 120 km².

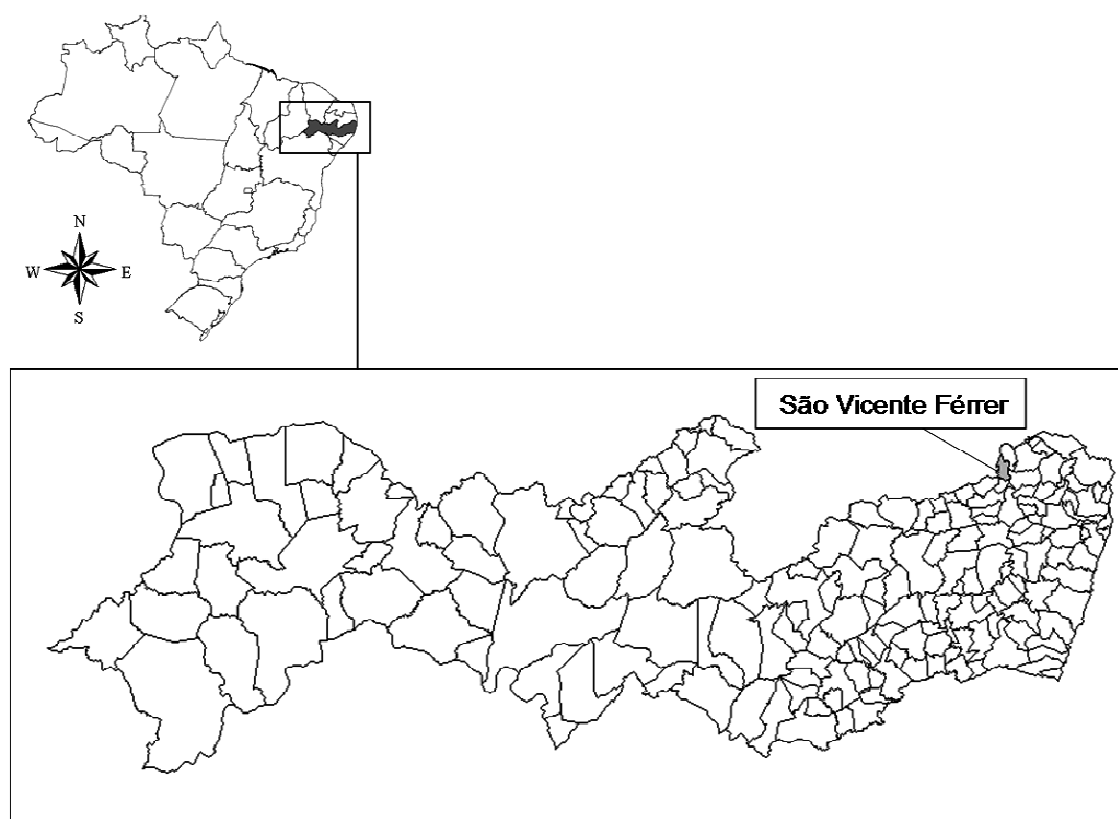


Figura 4. Localização do município de São Vicente Férrer.

Apesar de estar geopoliticamente situado na região Agreste, o município de São Vicente Férrer possui características climáticas e de vegetação típicas da Zona da Mata Atlântica. O clima é tropical úmido, com a estação seca de setembro a

fevereiro e a estação chuvosa de março a agosto. Embora a maior parte da vegetação primária tenha sido substituída por plantações de banana (principal atividade agrícola de São Vicente Férrer), ainda existem alguns remanescentes de mata atlântica (Figura 5).

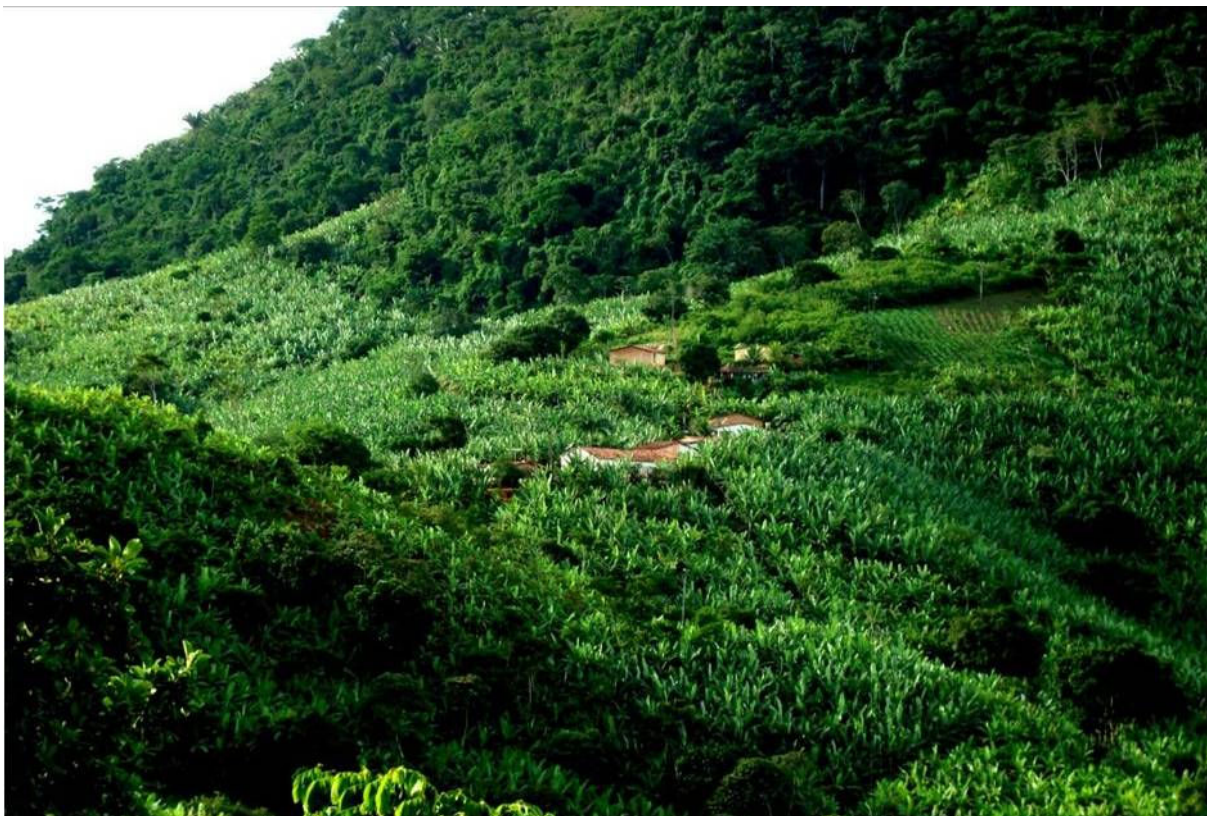


Figura 5. Remanescente de mata atlântica (alto), em meio a um proeminente bananal, em São Vicente Férrer.

5.1.2 Exame clínico e coleta de dados

Em junho 2008, examinaram-se 41 cães (ambos os sexos, sem raça definida, com idade variada). Essa amostragem incluiu todos os cães de uma localidade de São Vicente Férrer, chamada Mundo Novo, exceto dois animais que não foram contidos adequadamente pelos proprietários para realização da coleta. A escolha de Mundo Novo baseou-se no fato de essa ser uma localidade onde existem casos de leishmaniose canina, mas a presença de *Lu. longipalpis* ainda não foi comprovada (CARVALHO *et al.*, 2007). Avaliou-se o *status* clínico de cada um dos

cães, considerando sintomáticos aqueles que apresentavam um ou mais sinais clínicos sugestivos de leishmaniose visceral, tais como lesões cutâneas, aumento de linfonodos, onicogribose (crescimento anormal das unhas), lesões oculares e perda de peso. Utilizou-se uma ficha individual para coleta de informações clínico-epidemiológicas dos animais.

5.1.3 Inquérito sorológico

Alíquotas de aproximadamente 3 ml de sangue total foram coletadas de cada um dos 41 cães, por punção venosa da veia cefálica, femural ou jugular. As alíquotas foram transferidas para tubos com anticoagulante (VACUETTE® EDTA K3, Greiner Bio-One, Kremsmuenster, Austria) e mantidas sob refrigeração. As amostras foram centrifugadas a 1.500 x g, durante cinco minutos, e os plasmas obtidos foram congelados a -20°C até serem testados para presença de anticorpos (IgG) contra *Leishmania* spp. Para esse fim, utilizou-se uma reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (IFI-Leishmaniose-Visceral-Canina, Bio-Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) e um teste rápido de imunocromatografia (Kalazar Detect, InBios International, Seattle, USA), seguindo as instruções dos fabricantes.

5.1.4 Inquérito molecular e parasitológico

Alíquotas de 3 ml de sangue total foram coletadas de cada um dos cães (como descrito no item 5.1.3), as quais foram usadas para extração de DNA utilizando um kit comercial (Illustra blood genomicPrep Mini Spin Kit, GE Healthcare, New York, USA), seguindo as instruções do fabricante. As amostras de DNA de sangue total foram testadas para presença de DNA de *L. (L.) infantum*, por meio de uma reação em cadeia da polimerase convencional (PCR convencional) (DANTAS-TORRES, 2006) e outra em tempo real (PCR em tempo real) (PAIVA CAVALCANTI *et al.*, 2008). Na PCR convencional, utilizou-se um par de oligonucleotídeos iniciadores (senso, 5'-CTTTTCTGGTCCCGCGGGTAGG-3'; antissenso, 5'-

CCACCTGGCCTATTTTACACCA-3') que amplificam uma sequência alvo de 145 pares de bases do DNA do cinetoplasto (kDNA) de *L. (L.) infantum* (LE FICHOUX *et al.*, 1999; RAVEL *et al.*, 1995). A reação foi realizada em um volume final de 25 µl contendo 14 µl de água livre de DNA, 2,5 µl de 10x PCR buffer (Invitrogen, California, USA), 1,5 µl de 25 mM MgCl₂ (Invitrogen, California, USA), 2,5 µl de 2 mM dNTP mix (Invitrogen, California, USA), 0,5 µl de cada oligonucleotídeo iniciador (25 pmol/µl), 0,5 µl de Platinum Taq DNA polymerase (5 U/µl) (Invitrogen, California, USA) e 2 µl da amostra de DNA. As condições de amplificação incluíram um período inicial de desnaturação (94°C/5 min.), seguido por 35 ciclos de desnaturação (94°C/30 s), anelamento (67°C/1 min.) e extensão (72°C/30 s), e uma síntese terminal (72°C/5 min.). Controles negativo (água livre de DNA) e positivo (5 ng/µl de DNA genômico de *Leishmania*, cepa MHOM/BR/74/PP75) foram incluído em cada reação. As reações foram realizadas no termociclador Mastercycler PCR (Eppendorf, Hamburg, Germany). Os produtos da PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, utilizando-se fragmentos λ DNA/*Hind* III (Invitrogen, California, USA) como padrão de peso molecular. Após a eletroforese em gel de agarose, as bandas resultantes foram observadas sob luz ultravioleta após coloração com brometo de etídio (10 mg/ml).

Na PCR em tempo real, utilizou-se um par de oligonucleotídeos iniciadores (senso, 5'-TCCCAAACCTTTTCTGGTCCT-3'; antissenso, 5'-TTACACCAACCCCCAGTTTC-3') que amplificam uma sequência alvo de 132 pares de bases do kDNA de *L. (L.) infantum* (PAIVA CAVALCANTI *et al.*, 2008). A reação foi realizada em um volume final de 50 µl contendo 21 µl de água livre de DNA, 25 µl de SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, California, USA), 1 µl (3 pmol/µl) de cada oligonucleotídeo iniciador e 2 µl da amostra de DNA. As condições de amplificação incluíram um período inicial de 95°C por 10 minutos, seguido por 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto. As amostras foram testadas em duplicata. Controles negativo (água livre de DNA) e positivos (DNA genômico de *Leishmania*, cepa MHOM/BR/1974/PP75, nas concentrações de 1 fg/µl, 10 fg/µl, 100 fg/µl, 1 pg/µl, 10 pg/µl, 100 pg/µl, 1 ng/µl e 10 ng/µl) foram incluídos em cada reação. As reações foram realizadas num aparelho ABI Prism 7500 (Applied Biosystems, California, USA)

Coletaram-se ainda amostras de medula óssea (de 26 cães) e de lesão cutânea (de seis cães), por punção do manúbrio do osso esterno e raspado da

borda das lesões, respectivamente. Elaboraram-se esfregaços em lâminas de vidro para microscopia, os quais foram corados com o kit Panótico rápido (Laborclin, Paraná, Brasil), seguindo as instruções do fabricante. Os esfregaços foram examinados para presença de formas amastigotas de *Leishmania* spp., em microscópio óptico sob objetiva de imersão. Realizou-se a extração de DNA de 12 amostras de medula óssea utilizando o mesmo kit comercial usado para extração de DNA de amostras de sangue total. Após a extração, as amostras de DNA purificado de medula óssea foram testadas pelos mesmos protocolos de PCR convencional e em tempo real, descritos anteriormente.

5.1.5 Coleta e identificação de ectoparasitos

Durante o exame clínico, ectoparasitos foram coletados e acondicionados em frascos contendo etanol 70%, individualizados por animal. A identificação dos ectoparasitos foi realizada sob microscópio estereoscópico de acordo com as chaves taxonômicas tradicionais (ARAGÃO; FONSECA, 1961; LINARDI; GUIMARÃES, 2000; WERNECK, 1936). Gêneros de carrapatos são abreviados conforme sugerido por Dantas-Torres (2008d). Para fins de registro, alguns espécimes de carrapatos foram depositados na Coleção Nacional de Carrapatos (números de acesso, 1317 e 1318) da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo e na Coleção de Acari (números de acesso, 9980 e 9981) do Instituto Butantan.

5.1.6 Análise estatística

Utilizou-se o teste qui-quadrado (χ^2) com correção de Yates para comparar as taxas de soroprevalência em relação ao sexo, idade, *status* clínico e presença de ectoparasitos. Consideraram-se as diferenças como significativas quando $p \leq 0,05$. Calcularam-se os intervalos de confiança de 95% (IC 95%) para cada uma das taxas de soroprevalência. Realizou-se a análise estatística com

auxílio do programa Epi Info, versão 6.04d (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA).

5.1.7 Aspectos éticos

Esse estudo faz parte de um projeto (P.0174-03), previamente licenciado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

5.2 Detecção de DNA de *L. (L.) infantum* em carrapatos

Em março de 2007, o Serviço de Referência em Leishmaniose foi acionado pela Secretaria de Saúde do município de Vicência (07°39'25" S, 35°19'36" W), após a solicitação de um proprietário de um cão que apresentava sinais clínicos sugestivos de leishmaniose visceral. No dia 4 de abril de 2007, foi realizada uma visita à residência onde habitava o referido cão e na ocasião coletaram-se amostras de sangue e medula óssea para realização do diagnóstico sorológico, parasitológico e molecular, conforme metodologia descrita nos itens 5.1.3 e 5.1.4. Adicionalmente, inoculou-se parte do aspirado de medula óssea em meio de cultura (Difco B45 blood-agar culture medium, Difco Laboratories, Detroit, USA) para isolamento, seguindo metodologia descrita na literatura (WALTON; SHAW; LAINSON, 1977). A caracterização da cepa foi realizada no Instituto Evandro Chagas (Belém, Pará) e no Instituto Oswaldo Cruz (Rio de Janeiro, RJ), utilizando anticorpos monoclonais e a técnica de eletroforese de isoenzimas (CUPOLILLO; GRIMALDI; MOMEN, 1994; SHAW; ISHIKAWA; LAINSON, 1989). Durante o exame clínico do animal observou-se a presença de carrapatos, sendo esses coletados manualmente e acondicionados em frascos contendo etanol 70%. Após a identificação, conforme descrito no item 5.1.5, os carrapatos foram processados individualmente para extração de DNA utilizando um kit comercial (Illustra tissue & cells genomicPrep Mini Spin Kit, GE Healthcare, New York, USA), seguindo as

instruções do fabricante. Após a extração, as amostras de DNA dos carrapatos foram testadas pela PCR convencional descrita no item 5.1.4.

Adicionalmente, carrapatos coletados de 25 cães soropositivos residentes no município de Bezerros (08°14'00" S, 35°47'49" W) foram gentilmente cedidos pelo Professor Leucio C. Alves (Universidade Federal Rural de Pernambuco) para serem testados quanto à presença de DNA de *L. (L.) infantum*. Os carrapatos foram coletados manualmente e acondicionados em frascos contendo etanol 70%, individualizados por animal. Após a identificação da espécie, conforme descrito no item 5.1.5, os carrapatos foram processados individualmente para extração de DNA e posteriormente testados pela PCR em tempo real descrita no item 5.1.4.

6 RESULTADOS

6 RESULTADOS

6.1 Epidemiologia da leishmaniose visceral canina em São Vicente Férrer

Dentre os 41 cães incluídos no presente estudo, 29 (70,7%) eram machos e 12 (29,3%) fêmeas, com idade variando de um mês a 10 anos (média = 29,2 meses; desvio padrão = 31,5 meses). Nenhum dos cães possuía raça definida e todos eram semidomiciliados.

Doze cães foram positivos na RIFI, com titulações variando de 1:40 a 1:640. Isso corresponde a uma soroprevalência geral de 29,3% (IC 95%, 16,1–45,5). Nenhum dos cães foi positivo no teste rápido de imunocromatografia. Não houve diferença significativa na soropositividade em relação à idade, sexo, *status* clínico dos cães, ou presença de pulgas (Tabela 1). Porém, a maioria dos cães soropositivos não estava infestada por carrapatos.

Tabela 1 – Prevalência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em cães de São Vicente Férrer, Pernambuco, em relação aos dados epidemiológicos.

Variável	Total	Soropositivos ^a	Soroprevalência ^b	χ^2	P-valor ^c
Sexo					
Macho	29	6	20,7 (8,0–39,7)		
Fêmea	12	6	50,0 (21,1–78,9)	2,25 ^d	0,133
Idade					
≤ 1 ano	17	4	23,5 (6,8–49,9)		
> 1 ano	24	8	33,3 (15,6–55,3)	0,11 ^d	0,740
Status clínico					
Sintomático	25	9	36,0 (18,0–57,5)		
Assintomático	16	3	18,7 (4,0–45,6)	0,69 ^d	0,405
Carrapato					
Presente	24	3	12,5 (2,7–32,4)		
Ausente	17	9	52,9 (27,8–77,0)	6,03 ^d	0,014
Pulga					
Presente	18	3	16,7 (3,6–41,4)		
Ausente	23	9	39,1 (19,7–61,5)	2,46 ^d	0,116

Nota: ^a Número de cães soropositivos na RIFI (ponto de corte 1:40). ^b Intervalo de confiança de 95% entre parênteses. ^c Nível de significância: $p \leq 0,05$. ^d χ^2 corrigido por Yates.

Nove (75%) dos 12 cães soropositivos apresentavam pelo menos um sinal clínico sugestivo de leishmaniose, incluindo úlcera cutânea, emagrecimento e onicogribose (Figura 6).



Figura 6. Cão soropositivo residente em São Vicente Férrer, exibindo caquexia (A) e onicogribose (B).

Apenas um cão foi positivo para presença de formas amastigotas (Figura 7) de *Leishmania* sp. em esfregaços de medula óssea e outro em raspado de lesão cutânea.

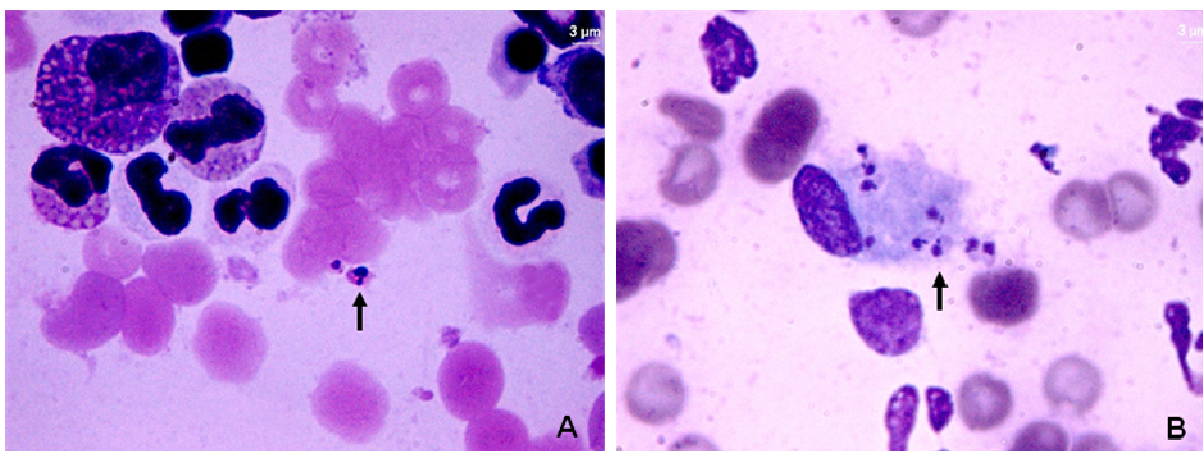


Figura 7. Formas amastigotas de *Leishmania* spp. em esfregaço de medula óssea (A) e raspado de lesão cutânea (B). Aumento de 1000x.

Apenas um cão foi positivo na PCR convencional em amostra de medula óssea e um cão (o mesmo cão que foi positivo na citologia de medula óssea) na PCR em tempo real, com uma carga parasitária estimada de 20 parasitos/ml. Nenhum cão foi positivo na PCR convencional em amostras de sangue total ou na PCR em tempo real em amostras de medula óssea.

6.2 Ectoparasitos associados a cães de São Vicente Férrer

Vinte e nove dos 41 cães examinados estavam infestados por ectoparasitos, correspondendo a uma prevalência 70,7% (IC 95%: 54,5–83,9). A prevalência de infestação foi maior entre cães machos ($\chi^2 = 15,52$, $p = 0,000$). Entretanto, não houve diferença significativa quando o percentual de machos no grupo de cães infestado foi comparado com o grupo não-infestado (χ^2 corrigido por Yates = 0,56, $p = 0,456$) ou com todos os cães incluídos no estudo (Tabela 2). Da mesma forma, não houve diferença significativa em relação à idade no grupo de cães infestados ($\chi^2 = 0,07$, $p = 0,792$) e quando esse foi comparado ao grupo de cães não infestados (χ^2 corrigido por Yates = 1,06, $p = 0,303$) ou com todos os cães incluídos no estudo (Tabela 2).

Tabela 2 – Infestação por ectoparasitos em relação ao sexo e grupo etário dos cães.

Variável	<i>n</i>	Cães infestados	Prevalência (IC 95%)	χ^2	p^a
Sexo					
Macho	29	22	75,9 (56,5–89,7)		
Fêmea	12	7	58,3 (27,7–84,8)	0,56 ^b	0,456
Idade					
≤ 1 ano	17	14	82,4 (56,6–96,2)		
> 1 ano	24	15	62,5 (40,6–81,2)	1,06 ^b	0,303
Total	41	29	70,7 (54,5–83,9)		

Nota: ^a Nível de significância: $p < 0,05$. ^b χ^2 corrigido por Yates.

A prevalência de infestação por carrapatos foi 58,5% (IC 95%: 42,1–73,7). Dos 24 cães parasitados por carrapatos, 62,5% (IC 95%: 40,6–81,2) estavam

infestados exclusivamente por *Rh. sanguineus*, 16,7% (IC 95%: 4,7–37,4) por *Amblyomma ovale* Koch, 1844 e 20,8% (IC 95%: 7,1–42,1) estavam co-infestados por ambas as espécies. *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) e *Heterodoxus spiniger* (Enderlein, 1909) foram as únicas espécies de pulga e piolho, respectivamente, identificadas. Dos 29 cães infestados, 20 (68,9%; IC 95%: 49,2–84,7) estavam infestados por mais de uma espécie de ectoparasito, o que corresponde a uma prevalência de co-infestação de 48,8% (IC 95%: 32,9–64,9). As seguintes associações de ectoparasitos foram encontradas (número de observações entre parênteses): *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* (n=7); *Rh. sanguineus* + *Am. ovale* (n=3); *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* + *H. spiniger* (n=3); *C. felis felis* + *H. spiniger* (n=2); *C. felis felis* + *Am. ovale* (n=1); *Rh. sanguineus* + *H. spiniger* (n=1); *C. felis felis* + *H. spiniger* + *Am. ovale* (n=1); *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* + *Am. ovale* (n=1); *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* + *H. spiniger* + *Am. ovale* (n=1).

6.3 Detecção de DNA de *L. (L.) infantum* em carrapatos

O cão residente em Vicência apresentava apatia, perda de peso, lesões cutâneas e aumento de linfonodos. Esse cão foi positivo na RIFI e no teste rápido de imunocromatografia, na PCR convencional e no exame parasitológico de esfregaço de medula óssea. Uma cepa isolada a partir de amostra de medula óssea desse cão apresentou, quando analisada por eletroforese de isoenzimas, um perfil idêntico ao da cepa de referência classificada como *L. (L.) chagasi* zimodema 1 (IOC/Z1). Todos os 21 carrapatos desse cão foram identificados como *Rh. sanguineus*. Quando testadas pela PCR convencional, quatro fêmeas ingurgitadas foram positivas.

Dos 73 carrapatos (18 fêmeas, 34 machos, 20 ninfas e uma larva, sendo todos *Rh. sanguineus*) coletados dos 25 cães soropositivos residentes em Bezerros, nove (12,3%) (três fêmeas, cinco machos e uma ninfa) foram positivos na PCR em tempo real, com uma carga parasitária variando de 1 a 3 parasitos/ml.

7 DISCUSSÃO

7 DISCUSSÃO

No presente estudo, observou-se uma alta prevalência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. entre cães de São Vicente Férrer, corroborando os resultados de estudos previamente conduzidos nesse município (CARVALHO, 2005; SILVA *et al.*, 2007). Em Pernambuco, a soroprevalência pode variar bastante (ALEXANDRINO, 2001; DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006; FRANÇA *et al.*, 2003; LIMA-JÚNIOR *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2007). A taxa de soroprevalência média no estado é de aproximadamente 2,5% (ALEXANDRINO, 2001), mas pode ser tão alta quanto 51,2% em focos hiperendêmicos (DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006). Essa situação é semelhante àquela observada no Brasil como um todo (COUTINHO *et al.*, 1985; PARANHOS-SILVA *et al.*, 1996; FRANÇA-SILVA *et al.*, 2003; IVERSON *et al.*, 1983; RONDON *et al.*, 2008), onde soroprevalência pode ser tão alta quanto 75% em áreas altamente endêmicas (CORTADA *et al.*, 2004).

Nesse estudo, não houve diferença significativa na soroprevalência em relação ao sexo ou idade dos cães. De fato, o sexo não parece ser um fator importante (ABRANCHES *et al.*, 1991; ALENCAR; CUNHA, 1963; AMELA *et al.*, 1995; AMUSATEGUI *et al.*, 2003; FISA *et al.*, 1999; FRANÇA-SILVA *et al.*, 2003; POZIO *et al.*, 1981; RONDON *et al.*, 2008; SIDERIS *et al.*, 1996). Contudo, em alguns focos de leishmaniose visceral canina no Brasil (DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006), na França (LANOTTE *et al.*, 1975) e na Espanha (MIRANDA *et al.*, 2005), os machos parecem estar mais expostos ao risco de infecção. Em relação à idade, a leishmaniose visceral canina apresenta uma distribuição bi-modal, com um pico no número de casos em cães com menos de três anos de idade e outro entre as idades de oito e 10 anos (ACEDO-SANCHEZ *et al.*, 1996; AMELA *et al.*, 1995; MIRANDA *et al.*, 2005). Estudos no Brasil têm mostrado resultados diversos em relação à soroprevalência versus grupo etário (DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-FILHO, 2006; RONDON *et al.*, 2008). Isso provavelmente se deve a diferenças nos hábitos das populações de cães de diferentes áreas endêmicas, que podem interferir no risco de exposição aos vetores.

Em áreas endêmicas, seja no Brasil ou na Europa, uma alta proporção de cães soropositivos não apresenta sinais clínicos de leishmaniose (ABRANCHES *et al.*, 1991; BRANDONISIO *et al.*, 1992; DANTAS-TORRES; BRITO; BRANDÃO-

FILHO, 2006; MANCIANTI; PEDONESE; POLI, 1996; PORTÚS *et al.*, 1987; RONDON *et al.*, 2008). Em contraste, no presente estudo a maioria (75%) dos cães soropositivos apresentava um ou mais sinais clínicos de leishmaniose. Alguns cães apresentavam sinais clínicos comumente observados na leishmaniose visceral canina (DANTAS-TORRES, 2006f). Contudo, a maioria dos cães apresentava apenas úlceras localizadas (Figura 8) ou lesões ulcerocrostosas na pina auricular.



Figura 8. Cães (A, B e C) de São Vicente Férrer apresentando úlceras cutâneas na região auricular.

Essas lesões podem ter sido causadas por moscas-dos-estábulo *Stomoxys calcitrans* (Linnaeus, 1758), as quais eram comumente observadas sobre as lesões auriculares dos cães (Figura 9) durante o estudo (dados não mostrados).

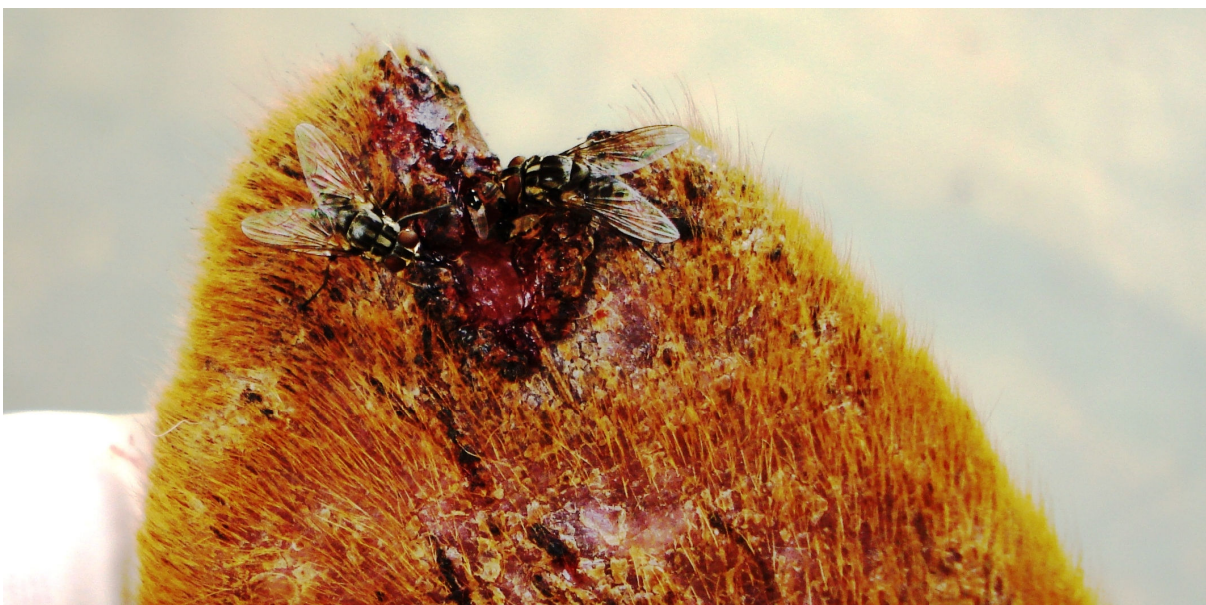


Figura 9. Moscas se alimentando em lesão no ouvido de um dos cães desse estudo.

Além disso, é importante destacar que a leishmaniose tegumentar causada por *Leishmania (Viannia) braziliensis* (Vianna, 1911) é endêmica em São Vicente Férrer (CARVALHO, 2005; CARVALHO *et al.*, 2007). Considerando que a RIFI utilizada no presente estudo apresenta uma baixa especificidade (LIRA *et al.*, 2006), a possibilidade de que alguns dos cães que apresentavam apenas lesões cutâneas estivessem infectados por *L. (V.) braziliensis* não pode ser descartada. Essa hipótese é reforçada pela baixa positividade observada nos exames parasitológico e molecular. Por outro lado, recentes estudos longitudinais revelaram que cães infectados por *L. (L.) infantum* podem se apresentar temporariamente negativos, devido a uma diminuição da carga parasitária a níveis indetectáveis, até mesmo por técnicas altamente sensíveis como a PCR (OLIVA *et al.*, 2006).

Quando analisada por eletroforese de isoenzimas, a cepa isolada do cão residente no município de Vicência apresentou um perfil idêntico ao da cepa de referência do Instituto Oswaldo Cruz classificada como *L. (L.) chagasi* IOC/Z1, que por sua vez apresenta um perfil idêntico a *L. (L.) infantum* MON-1 (CUPOLILLO, 2005). Esse zimodema é o mais amplamente difundido na Europa (LUKEŠ *et al.*, 2007) e parece ser o mais comum no Brasil (CUPOLILLO, 2005) e em outros países da América do Sul (ZERPA *et al.*, 2001).

No presente estudo, observou-se uma alta prevalência de infestação por ectoparasitos, embora não tenha sido observada uma diferença significativa em relação à positividade para anticorpos anti-*Leishmania* spp. e a infestação por ectoparasitos. Na realidade, a maioria dos cães soropositivos não estava infestada por carrapatos. Uma vez que os carrapatos passam maior parte do tempo fora do hospedeiro (DANTAS-TORRES, 2008c), novos estudos sobre a sazonalidade da infestação por carrapatos em cães de São Vicente Férrer seriam necessários para compreender melhor essa questão.

A prevalência de infestação por ectoparasitos pode variar bastante de região para região e também de acordo com as características da população canina (CASTRO; RAFAEL, 2006; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; FAUSTINO, 2004; LINARD; NAGEM, 1973; RODRIGUES *et al.*, 2001; SOARES *et al.*, 2006). O número de machos infestados foi maior que o de fêmeas, porém, isso pode ser atribuído às características da população de estudo que era predominantemente composta por machos. Embora não tenha sido encontrada diferença significativa em relação à

idade, apenas três dos 13 cães jovens incluídos no presente estudo estavam livres de ectoparasitos. Isso sugere que cães jovens que vivem em São Vicente Férrer são mais susceptíveis e/ou expostos à infestação por ectoparasitos.

Como observado em um estudo conduzindo na Região Metropolitana de Recife (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, FAUSTINO, 2004), *Rh. sanguineus* foi o ectoparasito mais comumente associado a cães em São Vicente Férrer. Porém, em contraste com o que foi encontrado na área urbana, os cães da área rural também estavam infestados por *Am. ovale*. Mais que isso, esse estudo revelou que *Am. ovale* é um ectoparasito comum em São Vicente Férrer. Esse carrapato é comum em canídeos silvestres e cães de área rural (LABRUNA *et al.*, 2000) e tem sido implicado na transmissão de *H. canis* no Brasil (FORLANO *et al.*, 2005). Não menos importante, *Am. ovale* pode parasitar seres humanos (LABRUNA *et al.*, 2005), embora o seu papel na transmissão de patógenos ao homem não esteja estabelecido.

A prevalência da infestação pelo piolho *H. spiniger* observada no presente estudo foi mais alta que aquela encontrada em cães de área urbana de Pernambuco (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2007; DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, FAUSTINO, 2004). Interessantemente, *Trichodectes canis* (Degeer, 1778), um piolho comum de cães, não foi identificado nesse estudo. A razão para ausência de *T. canis* na população estudada é desconhecida, principalmente porque esse piolho ocorre no município de Vicência, vizinho a São Vicente Férrer (DANTAS-TORRES, dados não publicados). Esse estudo também revelou uma alta prevalência de infestação por *C. felis felis* em cães de São Vicente Férrer o que difere bastante da realidade encontrada na Região Metropolitana de Recife (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, FAUSTINO, 2004). Essa pulga tem sido aventada como um possível vetor mecânico de *L. (L.) infantum* (COUTINHO; LINARDI, 2007). Em parte, a alta prevalência de infestação por ectoparasitos em São Vicente Férrer é esperada, pois a maioria dos proprietários de cães que vivem nesse município não pode arcar com os custos de um controle sistemático de ectoparasitos.

Nesse estudo, observou-se a presença de DNA de *L. (L.) infantum* em nove (12,3%) carrapatos *Rh. sanguineus* coletados de cães soropositivos residentes em Bezerros e em quatro fêmeas ingurgitadas coletadas de um cão residente em Vicência, onde a presença de *Lu. longipalpis* ainda não foi confirmada. Em Minas Gerais, Coutinho *et al.* (2005) encontraram DNA de *Leishmania* spp. em seis

(15,4%) carrapatos coletados de cães soropositivos. Esses resultados sugerem que carrapatos que se alimentam de cães infectados podem se infectar por *L. (L.) infantum*, como esperado, devido ao hábito alimentar hematófago desses artrópodes. A possibilidade da transmissão de *L. (L.) infantum* por meio da ingestão de carrapatos (ou pulgas) infectados tem sido aventada (COUTINHO *et al.*, 2005; COUTINHO; LINARDI, 2007). Contudo, novos estudos são necessários para verificar se *Rh. sanguineus* é capaz de transmitir *L. (L.) infantum* durante o repasto sanguíneo.

A leishmaniose visceral é uma doença negligenciada de difícil controle (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006b; DANTAS-TORRES; MARCONDES, 2008). No Brasil, país responsável pela maioria dos casos registrados na América Latina, a leishmaniose visceral apresenta um perfil de doença emergente com crescente taxa de letalidade (DANTAS-TORRES, 2005; DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006b). O recente registro de duas vacinas contra a leishmaniose visceral canina abriu novas perspectivas para o controle da doença no Brasil (DANTAS-TORRES, 2006e, 2009). Contudo, a possibilidade da transmissão de *L. (L.) infantum* pelo *Rh. sanguineus* impõe um novo desafio para o controle dessa doença, haja vista que esse carrapato é um ectoparasito de difícil controle e que se encontra amplamente difundido no Brasil (ARAGÃO, 1936).

Novos estudos experimentais serão necessários para comprovar definitivamente o papel do carrapato *Rh. sanguineus* na transmissão de *L. (L.) infantum* entre cães. Em parte, a comprovação dessa possibilidade explicará porque em algumas áreas (como, por exemplo, São Vicente Férrer e Vicência) existe uma considerável proporção de cães soropositivos, apesar da ausência de *Lu. longipalpis*.

8 CONCLUSÃO

8 CONCLUSÃO

A presença de DNA de *L. infantum* em carrapatos coletados de cães de áreas onde a leishmaniose visceral canina é endêmica sugere a possível participação desses artrópodes no ciclo enzoótico de transmissão, particularmente onde a presença de *Lu. longipalpis* ainda não foi comprovada. Contudo, novos estudos são necessários para comprovar definitivamente tal hipótese.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, P. *et al.* Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 77, n. 4, p. 557-561, Aug. 1991.
- ACEDO-SANCHEZ, C. *et al.* Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada Province, southern Spain). **International Journal for Parasitology**, New York, v. 26, n. 3, p. 303-310, Mar. 1996.
- AGUILAR, C. M. *et al.* Urban visceral leishmaniasis in Venezuela. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 1, p. 15-16, Jan./Feb. 1998.
- ALENCAR, J. E.; CUNHA, R. V. Inquéritos sobre calazar canino no Ceará - novos resultados. **Revista Brasileira de Malariologia de Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 391-403, jul./set. 1963.
- ALEXANDRINO, A. C. **Diagnóstico e controle da leishmaniose visceral: considerações sobre Pernambuco**. 2001. 191 f. Tese (Doutorado)– Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.
- ALVAR, J.; YACTAYO, S.; BERN, C. Leishmaniasis and poverty. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 22, n. 12, p. 552-557, Dec. 2006.
- AMELA, C. *et al.* Epidemiology of canine leishmaniasis in the Madrid region, Spain. **European Journal of Epidemiology**, Rome, v. 11, n. 2, p. 157-161, Apr. 1995.
- AMUSATEGUI, I. *et al.* Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. **European Journal of Epidemiology**, Rome, v. 18, n. 2, p. 147-156, Feb. 2003.
- ARAGÃO, H. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 759-843, out. 1936.

ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia.VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p.115-129, jul. 1961.

ASHFORD, R. W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics in Dermatology**, Philadelphia, v. 14, n. 5, p. 523-532, Sept./Oct. 1996.

BANETH, G. *et al.* Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends Parasitology**, Oxford, v. 24, n. 7, p. 324-330, Jul. 2008.

BANETH, G.; SAMISH, M.; SHKAP, V. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 93, n. 2, p. 283-299, April 2007.

BASSET, D. *et al.* Visceral leishmaniasis in organ transplant recipients: 11 new cases and a review of the literature. **Microbes and Infection**, Paris, v. 7, n. 13, p. 1370-1375, Oct. 2005.

BECHARA, G. H. *et al.* *Rhipicephalus sanguineus* in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 4, n. 2, p. 61-66, Aug. 1995.

BELLATO, V.; DAEMON, E. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 6, n. 1, p. 21-27, fev. 1997.

BLANC, G.; CAMINOPETROS, J. La transmission du kala-azar mediterraneen pae une tique: *Rhipicephalus sanguineus*. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences**, Paris, v.191, p.1162-1164, 1930.

BOEHME, C. C.; HAIN, U.; NOVOSEL, A.; EICHENLAUB, S.; FLEISCHMANN, E.; LÖSCHER, T. Congenital visceral leishmaniasis. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 12, n. 2, p. 359-360, Feb. 2006.

BRANDÃO-FILHO, S. P. *et al.* American cutaneous leishmaniasis in Pernambuco, Brazil: eco-epidemiological aspects in 'Zona da Mata' region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 3, p. 445-449, jul./set. 1994.

BRANDONISIO, O. *et al.* Canine leishmaniasis in the Gargano Promontory (Apulia, South Italy). **European Journal of Epidemiology**, Roma, v. 8, n. 2, p. 273-276, Mar. 1992.

BREMER, W. G. *et al.* Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 131, n. 1/2, p. 95-105, Jul. 2005.

BURGDORFER, W.; ADKINS JR., T. R.; PRIESTER, L. E. Rocky Mountain spotted fever (tick-borne typhus) in South Carolina: an educational program and tick/rickettsial survey in 1973 and 1974. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Cleveland, v. 24, n. 5, p. 866-872, Sept. 1975.

BUSTAMANTE, M. E.; VARELA, G. Papel del *Rhipicephalus sanguineus* en la transmisión de la fiebre manchada en la República Mexicana. **Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales**, México, v. 8, n. 2, p. 139-141, Jun. 1947.

CARPENTER, T. L.; MCMEANS, M. C.; MCHUGH, C. P. Additional instances of human parasitism by the brown dog tick (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 27, n. 6, p. 1065-1066, Nov. 1990.

CARVALHO, M. R. **Eco-epidemiologia da leishmaniose visceral americana na zona da mata do norte de Pernambuco**. 2005. 120 f. Dissertação (Mestrado)—Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife, 2005.

CARVALHO, M. R. *et al.* Phlebotomine sandfly species from an American visceral leishmaniasis area in the Northern Rainforest region of Pernambuco State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 5, p. 1227-1232, maio 2007.

CARVALHO, G. M.; ANDRADE-FILHO, J. D.; FALCÃO, A. L.; ROCHA LIMA, A. C.; GONTIJO, C. M. Naturally infected *Lutzomyia* sand flies in a *Leishmania*-endemic area of Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, New York, v. 8, n. 3, p. 407-414, June 2008.

CASTRO, M. C. M.; RAFAEL, J. A. Ectoparasitos de cães e gatos da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 36, n. 4, p. 535-538, out./dez. 2006.

CHAPPUIS, F. *et al.* Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nature Reviews Microbiology**, London, v. 5, n. 11, p. 873-882, Nov. 2007.

COOLEY, R. A. The genera *Boophilus*, *Rhipicephalus*, and *Haemaphysalis* (Ixodoidea) of the New World. **National Institute of Health Bulletin**, Washington DC, v. 187, p. 1-54, 1946.

CORTADA, V. M. *et al.* Canine visceral leishmaniosis in Anastácio, Mato Grosso do Sul state, Brazil. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 28, n. 5, p. 365-374, July 2004.

COSTA, C. H. *et al.* Asymptomatic human carriers of *Leishmania chagasi*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Cleveland, v. 66, n. 4, p. 334-347, Apr. 2002.

COUTINHO, S. G. *et al.* A survey for American cutaneous and visceral leishmaniasis among 1,342 dogs from areas in Rio de Janeiro (Brazil) where the human diseases occur. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 1, p. 17-22, jan./mar. 1985.

COUTINHO, M. T. *et al.* Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 128, n. 1/2, p.149-155, Mar. 2005.

COUTINHO, M. T.; LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 147, n. 3/4, p. 320-325, Jul. 2007.

CRUZ-VAZQUEZ, C.; GARCIA-VAZQUEZ, Z. Seasonal distribution of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae) on dogs in an urban area of Morelos, Mexico. **Experimental and Applied Acarology**, Netherlands, v. 23, n. 3, p. 277-280, Mar. 1990.

CUNHA, S. *et al.* Visceral leishmaniasis in a new ecological niche near a major metropolitan area of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 89, n. 2, p. 155-158, Mar./Apr. 1995.

CUPOLILLO, E.; GRIMALDI, G.; MOMEN, H. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Cleveland, v. 50, n. 3, p. 296-311, Mar. 1994.

CUPOLILLO, E. Avanços dos estudos moleculares de *Leishmania (Leishmania) chagasi* aplicados ao diagnóstico de LV no Brasil. In: CONSULTA DE EXPERTOS OPS/OMS SOBRE LEISHMANIASIS VISCERAL EN LAS AMÉRICAS, 1., 2005, Brasília. **Informe final de la reunión de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral em las Américas**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de Salud, 2005. p. 57-62.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniasis in South America. **Parasites and Vectors**, London, v. 2, suppl. 1, p. S1, Mar. 2009.

DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites and Vectors**, London, v. 1, n. 1, p. 25, Aug. 2008a.

DANTAS-TORRES, F. Current epidemiological status of visceral leishmaniasis in Northeastern Brazil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 537-541, jun. 2006a.

DANTAS-TORRES, F. Do any insects other than phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) transmit *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) from dog to dog? **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 136, n. 3/4, p. 379-380, Mar. 2006b.

DANTAS-TORRES, F. **Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Paulista, Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil**. 2006b. 94 f. Dissertação (Mestrado)– Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2006c.

DANTAS-TORRES, F. Epidemiologia e controle da leishmaniose visceral no estado de Pernambuco, Brasil: Situação atual e perspectivas. **Salud(i)Ciencia**, Buenos Aires, v. 16, n. 2, p. 156-159, Abr. 2008b.

DANTAS-TORRES, F. Increasing case-fatality rate of visceral leishmaniasis in Brazil. **Revista Brasileira de Vigilância Sanitária**, São Paulo, v. 1, n. 4, p. 260-263, out./dez.. 2005.

DANTAS-TORRES, F. *Leishmania chagasi*: participação do *Rhipicephalus sanguineus* na transmissão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSSES, 2., 2006, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006d. p. 116-117.

DANTAS-TORRES, F. Leishmune vaccine: the newest tool for prevention and control of canine visceral leishmaniosis and its potential as a transmission-blocking vaccine. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 141, n. 1/2, p. 1-8, Oct. 2006e.

DANTAS-TORRES, F. Presence of *Leishmania* amastigotes in peritoneal fluid of a dog with leishmaniasis from Alagoas, Northeast Brazil. **Revista do Instituto de**

Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 48, n. 4, p. 219-221, Jul./Aug. 2006f.

DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **Lancet Infectious Diseases**, London, v. 7, n. 11, p. 724-732, Nov. 2007a.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 152, n. 3/4, p. 173-185, Apr. 2008c.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 149, n. 3/4, p. 139-146, Nov. 2007b.

DANTAS-TORRES, F. Towards the standardization of the abbreviations of genus names of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 154, n. 1/2, p. 94-97, June 2008d.

DANTAS-TORRES, F.; ALMEIDA, F. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Phlebotomine sand flies of an urban focus of visceral leishmaniasis, Pernambuco State. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v. 35, n. 2, p. 157-160, May/Aug. 2006.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 39, n. 4, p. 352-356, jul./ago. 2006a.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting the paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 151-156, May/June 2006b.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, n. 1/2, p. 54-60, Aug. 2006.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Epidemiologic surveillance of canine visceral leishmaniasis in the municipality of Recife, Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 38, n. 5, p. 444-445, Set./Oct. 2005.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. Canine babesiosis: a Brazilian perspective. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 141, n. 3/4, p. 197-203, Nov. 2006.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. *Heterodoxus spiniger* (Enderlein, 1909) on domestic dogs (*Canis familiaris*, L. 1758) from the city of Recife, Pernambuco state, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 44, n. 2, p. 77-80, Mar./Apr. 2007.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 39, n. 1, p. 64-67, Jan./Feb. 2006.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L.A.; FAUSTINO, M.A.G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 4, p. 151-154, out./dez. 2004.

DANTAS-TORRES, F.; MARCONDES, C. B. Fighting neglected tropical diseases in the postgenomic era. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 24, n. 4, p. 156-157, Apr. 2008.

DEMMA, L. J. *et al.* Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 353, n. 6, p. 587-594, Aug. 2005.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Oxford, v. 27, n. 5, p. 305-318, Sept. 2004.

DIOGO, A. A. R. *et al.* Parasitismo por *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 em *Columbia livia* Linnaeus na Cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Entomologia y Vectores**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 2, p. 277-280, abr./jun. 2003.

ELTOUM, I. A. *et al.* Congenital kala-azar and leishmaniasis in the placenta. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Cleveland, v. 46, n. 1, p. 57-62, Jan. 1992.

ESTRADA-PEÑA, A.; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. **Experimental and Applied Acarology**, Netherlands, v. 23, n. 9, p. 685-715, Sept. 1999.

FAKHAR, M. *et al.* Asymptomatic human carriers of *Leishmania infantum*: possible reservoirs for Mediterranean visceral leishmaniasis in southern Iran. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 102, n. 7, p. 577-583, Oct. 2008.

FELZ, M. W.; DURDEN, L. A.; OLIVER JR., J. H. Ticks parasitizing humans in Georgia and South Carolina. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 82, n. 3, p. 505-508, June 1996.

FISA, R. *et al.* Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain): the example of the Priorat focus. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 83, n. 2, p. 87-97, June 1999.

FORLANO, M. *et al.* Diagnosis of *Hepatozoon* spp. in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam v. 134, n. 1/2, p. 1-7, Nov. 2005.

FRANÇA, L. J. O. *et al.* Frequência da leishmaniose visceral canina no município de Bezerros, Estado de Pernambuco, Brasil. In: CONGRESSO PERNAMBUCANO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 5., 2003, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 2003. p. 363-364.

FRANÇA-SILVA, J. C. *et al.* Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 111, n. 2/3, p. 161-173, Feb. 2003.

FREITAS, E.; MELO, M. N.; COSTA-VAL, A. P.; MICHALICK, M. S. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 159-167, Apr. 2006.

GIRAUD, P.; RANQUE, J.; CABASSU, H. Epidemiologie de la leishmaniose viscerale humaine Méditerranéenne, en particulier dans ses rapports avec la leishmaniose canine. **Archives Françaises de Pédiatrie**, Paris, v. 11, n. 4, p. 337-353, 1954.

GODDARD, J. **Ticks of medical importance occurring in the western hemisphere.** Texas: USAF School of Aerospace Medicine, 1987. 69p.

GODDARD, J. Focus of human parasitism by the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 26, n. 2, p. 628-629, Nov. 1989.

GROVES, M. G.; DENNIS, G. L.; AMYX, H. L.; HUXSOLL, D. L. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). **American Journal Veterinary Research**, Chicago, v. 36, n. 7, p. 937-940, Jul. 1975.

GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J.; VINABAL, A. E. Ticks (Ixodidae) parasitizing humans in four provinces of north-western Argentina. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 85, n. 5, p. 539-542, Oct. 1991.

HARRISON, B. A.; ENGBER, B. R.; APPERSON, C. S. Ticks (Acari: Ixodida) uncommonly found biting humans in North Carolina. **Journal of Vector Ecology**, Idaho, v. 22, n. 1, p. 6-12, June 1997.

HERWALDT, B. L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington DC, v. 14, n. 4, p. 659-688, Oct. 2001.

IVERSSON, L. B. *et al.* Inquérito sorológico para pesquisa de leishmaniose visceral em população canina urbana no município de São Paulo, Brasil (1979–1982). **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 25, n. 6, p. 310-317, Nov./Dec. 1983.

JITTAPALAPONG, S. *et al.* Performance of female *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) fed on dogs exposed to multiple infestations or immunization with tick salivary gland or midgut tissues. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 37, n. 4, p. 601-611, Jul. 2000.

KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 4, n. 1, p. 1-24, Jan. 1990.

KOCH, H. G. Oviposition of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) in the laboratory. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 75, n. 5, p. 583-586, Sept. 1982a.

KOCH, H. G. Seasonal incidence and attachment sites of ticks (Acari: Ixodidae) on domestic dogs in southeastern Oklahoma and northwestern Arkansas, USA. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 19, n. 3, p. 293-298, May 1982b.

KOCH, H. G.; TUCK, M. D. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. **Annals of the Entomological Society of America**, Lanham, v. 79, n. 1, p. 11-14, Jan. 1986.

KOSHY, T. J.; RAJAVELU, G.; LALITHA, C. M. On the life cycle of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Cheiron**, v. 12, n. 6, p. 337-338, 1983.

LABRUNA, M. B. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Uruará, eastern Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 37, n. 5, p. 774-776, Sept. 2000.

LABRUNA, M. B. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) from the State of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, London, v. 10, n. 1, p. 17-32, 2005.

LANOTTE, G. *et al.* Écologie des leishmanioses dans le Sud de la France. VIII Complément à l'application épidémiologique de la technique d'immunofluorescence: les titres géométriques et arithmétiques moyens dans la leishmaniose canine. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparée**, Paris, v. 50, p. 1-5, 1975.

LE FICHOUX, Y. *et al.* Occurrence of *Leishmania infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 37, n. 6, p. 1953-1957, Jun. 1999.

LIMA-JÚNIOR, A. D. *et al.* A survey of canine visceral leishmaniasis in the city of Recife, Northeastern Brazil. In: AMERICAN ASSOCIATION OF VETERINARY PARASITOLOGISTS ANNUAL MEETING, 45., 2000, Salt Lake City. **Proceedings...** Salt Lake City: American Association of Veterinary Parasitologists, 2000. p. 32.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Sifonápteros do Brasil**. São Paulo: Ed. Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, 2000. 291p.

LINARDI, P. M.; NAGEM, R. L. Pulicídeos e outros ectoparasitos de cães de Belo Horizonte e municípios vizinhos. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 33, n. 4, p. 529-538, nov. 1973.

LIRA, R. A. *et al.* Canine visceral leishmaniosis: A comparative analysis of the EIE-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos and the IFI-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos kits. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 11-16, Jan. 2006.

LOULY, C. C. B. *et al.* Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 103-106, jan./mar. 2006.

LOULY, C. C. B. *et al.* Seasonal dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiânia, Goiás, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 2, p. 464-469, Mar./Apr. 2007.

LUKEŠ, J. *et al.* Evolutionary and geographical history of the *Leishmania donovani* complex with a revision of current taxonomy. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington DC, v. 104, n. 22, p. 9375-9380, May 2007.

MACHATTIE, C.; CHADWICK, C. R. Notes on a trypanosome infection of the dog tick *Rhipicephalus sanguineus* in Iraq. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 23, n. 4, p. 417-420, Jan. 1930.

MANCIANTI, F.; PEDONESE, F.; POLI, A. Evaluation of dot enzyme-linked immunosorbent assay (dot-ELISA) for the serodiagnosis of canine leishmaniosis as compared with indirect immunofluorescence assay. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 65, n. 1/2, p. 1-9, Oct. 1996.

MANFREDI, M. T. *et al.* Tick species parasitizing people in an area endemic for tick-borne diseases in north-western Italy. **Parassitologia**, Roma, v. 41, n. 4, p. 555-560, Dec. 1990.

MARIOTTE, C. O.; BUSTAMANTE, M. E.; VARELA, G. Hallazgo del *Rhipicephalus sanguineus* Latreille infectado naturalmente com fiebre manchada de las Montañas Rocosas, en Sonora (Mexico) 1944. **Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales**, México, v. 5, p. 297-300, 1944.

MATHUR, P.; SAMANTARAY, J. C. The first probable case of platelet transfusion-transmitted visceral leishmaniasis. **Transfusion Medicine**, Oxford, v. 14, n. 4, p. 319-321, Aug. 2004.

MATSUMOTO, K. *et al.* Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conorii*. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 5, n. 4, p. 363-372, Winter 2005.

MCGHEE, R. B.; COSGROVE, W. B. Biology and physiology of the lower Trypanosomatidae. **Microbiological Reviews**, Washington, DC, v. 44, n. 1, p. 140-173, Mar. 1980.

MCKENZIE, K. K. **A study of the transmission of canine leishmaniasis by the tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille), and an ultrastructural comparison of the promastigotes. 1984. 165 p. Tese (Doutorado) - Oklahoma State University, Oklahoma, 1984.**

MEINECKE, C. K.; SCHOTTELIUS, J.; OSKAM, L.; FLEISCHER, B. Congenital transmission of visceral leishmaniasis (Kala Azar) from an asymptomatic mother to her child. **Pediatrics**, Elk Grove Village, v. 104, n. 5, p. e65, Nov. 1999.

MIRANDA, S. *et al.* Clinically patent canine leishmaniasis shows age, breed and sex predilection. In: WORLD CONGRESS ON LEISHMANIASIS, 3., 2005, Palermo. **Anais...** Palermo: Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Istituto Superiore Di Sanita and Turkish Society for Parasitology, 2005. p. 171.

MOLINA, R.; GRADONI, L.; ALVAR, J. HIV and the transmission of *Leishmania*. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 97, suppl. 1, p. 29-45, Oct. 2003.

MORAES-FILHO, J. *et al.* New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 9, n. 1, p. 73-78, Feb. 2009.

MUMCUOGLU, K. Y. *et al.* Ecological studies on the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in southern Israel and its relationship to spotted fever group rickettsiae. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 30, n. 1, p. 114-121, Jan. 1993.

NEEDHAM, G. R.; TEEL, P. D. Off-host physiological ecology of ixodid ticks. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 36, p. 659-681, Jan. 1991.

OLIVA, G. *et al.* Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 44, n. 4, p. 1318-1322, Apr. 2006.

OLIVEIRA, P. R. *et al.* Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil and Argentina. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 129, n. 1/2, p. 139-147, Apr. 2005.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; BREITSCHWERDT, E. B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 25, n. 4, p. 157-163, April 2009a.

OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F.; BREITSCHWERDT, E. B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part two. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 25, n. 5, p. 228-235, May 2009b.

OWENS, S. D. *et al.* Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 219, n. 8, p. 1076-1083, Oct. 2001.

PAGLIANO, P. *et al.* Visceral leishmaniasis in pregnancy: a case series and a systematic review of the literature. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Oxford, v. 55, n. 2, p. 229-233, Feb. 2005.

PAIVA CAVALCANTI, M. P.; BRITO, M.E.F.; SOUZA, W. V.; GOMES, Y. M.; ABATH, F. G. C. The development of a real-time PCR assay for the quantification of *Leishmania infantum* DNA in canine blood. **The Veterinary Journal**, London, 2008. No prelo.

PALMAS, C. *et al.* Study on immunobiology in ectoparasites of public health interest: *Rhipicephalus sanguineus*. **Parassitologia**, Roma, v. 43, suppl. 1, p. 29-35, Dec. 2001.

PARANHOS-SILVA, M. *et al.* A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Cleveland, v. 55, n. 1, p. 39-44, July 1996.

PAROLA, P. *et al.* Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 2, n. 11, e338, Nov. 2008.

PEGRAM, R. G. *et al.* Clarification of the *Rhipicephalus sanguineus* group (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). II. *R. sanguineus* (Latreille, 1806) and related species. **Systematic Parasitology**, Netherlands, v. 10, n. 1, p. 27-44, Aug. 1987.

PETROVA-PIONTKOVSKAYA, S. P. Comparative data on the biology of *Rhipicephalus sanguineus* Latr. and *Rhipicephalus turanicus* Pom. under laboratory conditions. **Zoologicheskii Zhurnal**, Moscow, v. 25, n. 2, p. 173-176, 1947.

PITA-PEREIRA, D. *et al.* Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. **Acta Tropica**, Basel, v. 107, n. 1, p. 66-69, Jul. 2008.

PORTÚS, M. *et al.* Estudios seroepidemiológicos sobre la leishmaniosis canina en Cataluña. **Medicina Veterinaria**, Barcelona, v. 4, p. 44-48, 1987.

POZIO, E. *et al.* Leishmaniasis in Tuscany (Italy). VI. Canine leishmaniasis in the focus of Monte Argentario (Grosseto). **Acta Tropica**, Basel, v. 38, n. 4, p. 383-393, Dec. 1981.

RANDOLPH, S. E. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. **Parasitology**, Cambridge, v. 129, n. 7, p. S37-S65, Oct. 2004.

RAVEL, S. *et al.* A highly sensitive and rapid procedure for direct PCR detection of *Leishmania infantum* within human peripheral blood mononuclear cells. **Acta Tropica**, Basel, v. 59, n. 3, p. 187-196, June 1995.

REGENDANZ, P.; MUNIZ, J. O *Rhipicephalus sanguineus* como transmissor da piroplasmose canina no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 1, p. 81-84, Fev. 1936.

RODRIGUES, A. F. S. F., DAEMON, E.; D'AGOSTO, M. Investigação sobre alguns ectoparasitos em cães de rua no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 1, p. 13-19, fev. 2001.

RONDON, F. C. M. *et al.* Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 155, n. 1/2, p. 24-31, Aug. 2008.

ROSYPAL, A. C. *et al.* Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 91, n. 4, p. 970-972, Aug. 2005.

SCHENONE, H. Diagnósticos hechos a 1.384 pacientes que consultaron por probable mordedura de arañas o picaduras de insectos. **Boletín Chileno de Parasitología**, Santiago, v. 51, n. 1, p. 20-27, Ene. 1996.

SCHÖNIAN, G. *et al.* Leishmaniasis in the Mediterranean in the era of molecular epidemiology. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 24, n. 3, p. 135-142, Mar. 2008.

SHAW, J. J.; ISHIKAWA, E. A.; LAINSON, R. A rapid and sensitive method for the identification of *Leishmania* with monoclonal antibodies using fluorescein-labelled avidin. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 83, n. 6, p. 783-784, Nov./Dec. 1989.

SHERLOCK, I. Notas sobre a transmissão da leishmaniose visceral no Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 19-26, 1964.

SIDERIS, V. L. *et al.* Canine visceral leishmaniasis in the great Athens area, Greece. **Parasite**, Issy-les-Moulineaux, v. 3, n. 2, p. 125-130, June 1996.

SILVA, O. A. *et al.* La leishmaniose viscérale canine dans le Nord-Est du Brésil: aspects épidémiologiques. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, Paris, v. 100, n. 1, p. 49-50, Feb. 2007.

SILVA, F. L. *et al.* Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 160, n. 1/2, p. 55-59, Mar. 2009.

SIMPSON, R. M. *et al.* Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 52, n. 9, p. 1537-1541, Sept. 1991.

SOARES, A. O. *et al.* Avaliação ectoparasitológica e hemoparasitológica em cães criados em apartamentos e casas com quintal na cidade de Juiz de Fora, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 13-16, fev. 2006.

SRIVASTAVA, S. C.; VARMA, M. G. R. The culture of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Ixodidae) in the laboratory. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 1, n. 2, p. 154-157, Jul. 1964.

SWEATMAN, G. K. Physical and biological factors affecting the longevity and oviposition of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 53, n. 2, p. 432-445, Apr. 1967.

SYMMERS, W. S. Leishmaniasis acquired by contagion: a case of marital infection in Britain. **Lancet**, London, v. 1, p. 127-132, Jan. 1960.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 543-545, Mar./Apr. 2008.

USPENSKY, I.; IOFFE-USPENSKY, I. The dog factor in brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) infestations in and near human dwellings. **International Journal of Medical Microbiology**, Jena, v. 291, suppl. 33, p. 156-163, June 2002.

VENZAL, J. M. *et al.* Ticks (Ixodida: Ixodidae) parasitising humans in Uruguay. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v. 97, n. 7, p. 769-772, Oct. 2003.

WALKER, J. B.; KEIRANS, J. E.; HORAK, I. G. **The genus *Rhipicephalus* (Acari, Ixodidae)**: A guide to the brown ticks of the world. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. 655p.

WALLACE, F. G. The trypanosomatid parasites of insects and arachnids. **Experimental Parasitology**, New York, v. 18, n. 1, p. 124-193, Feb. 1966.

WALTON, B. C.; SHAW, J. J.; LAINSON, R. Observations on the *in vitro* cultivation of *Leishmania braziliensis*. **The Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 63, n. 6, p. 1118-1119, Dec. 1977.

WERNECK, F. L. Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mamíferos sulamericanos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 3, p. 391-589, ago. 1936.

WIKSWO, M. E.; HU, R.; METZGER, M. E.; EREMEEVA, M. E. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 44, n. 1, p. 158-162, Jan. 2007.

YODER, J. A. *et al.* Developmental profiles in tick water balance with a focus on the new Rocky Mountain spotted fever vector, *Rhipicephalus sanguineus*. **Medical and Veterinary Entomology**, London, v. 20, n. 4, p. 365-372, Dec. 2006.

YOSHIZAWA, M. A. C. *et al.* Ectoparasitos de *Rattus norvegicus* no Distrito Federal, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 5, n. 1, p. 39-42, fev. 1996.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in Mexico, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, Gainesville, n. 54, p. 1-881, 1994.

ZERPA, O. *et al.* Isolation of *Leishmania infantum*, zymodeme MON-1 from canine and human visceral leishmaniasis on Margarita Island, Venezuela. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 7, p. 901-902, Oct. 2001.

APÊNDICE

APÊNDICE 1

Artigo publicado em *Veterinary Parasitology* (ISSN 0304-4017)Available online at www.sciencedirect.com*Veterinary Parasitology* 152 (2008) 173–185

**veterinary
parasitology**

www.elsevier.com/locate/vetpar

Review

The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)
(Acari: Ixodidae): From taxonomy to control

Filipe Dantas-Torres*

Departamento de Imunologia, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Caixa Postal 7472,
Avenida Professor Moraes Rego s/n, Campus UFPE, Recife, CEP 50670-420, Pernambuco, Brazil

Received 13 June 2007; accepted 19 December 2007

Abstract

Rhipicephalus sanguineus, commonly known as the brown dog tick, is a three-host tick that feeds primarily on dogs and occasionally on other hosts, including humans. *R. sanguineus* ticks are widely distributed around the world and they are known vectors of pathogens, such as *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, and *Rickettsia conorii*. The increasing number of cases of human parasitism by *R. sanguineus* ticks reported in the literature indicates that the interaction between humans and *R. sanguineus* ticks may be more common than it is actually recognized. The indiscriminate use of acaricides is an emerging problem worldwide and has led to the selection of acaricide resistant tick strains. In this article, the medical and veterinary importance, taxonomy, biology, and ecology of *R. sanguineus* ticks around the world are reviewed. It also discusses the current strategies for the control of *R. sanguineus*, highlighting the potential risks associated to the improper use of acaricides, such as environmental pollution and toxicity to humans and other non-target organisms (e.g., tick predators).

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: *Rhipicephalus sanguineus*; Taxonomy; Biology; Ecology; Control; Tick-borne diseases

Contents

1. Introduction	174
2. Veterinary and medical significance	174
3. Taxonomy and identification	175
4. Biology and ecology	176
4.1. Developmental stages	176
4.2. Life cycle	176
4.3. Primary and secondary hosts	177
4.4. Off-host ecology	177
5. Blood-feeding	178
5.1. Host-seeking behavior	178
5.2. Attachment and blood-feeding	178
6. Tick saliva and the susceptibility of dogs to <i>R. sanguineus</i> infestations	178

* Tel.: +55 81 21012640; fax: +55 81 34532449.

E-mail address: fdt@cpqam.fiocruz.br.

7.	Control	179
7.1.	Chemical control	179
7.2.	Non-chemical control	180
7.3.	Acaricide resistance	180
8.	Future directions	181
	Acknowledgement	181
	References	182

1. Introduction

Ticks are arthropods (phylum Arthropoda) of great medical and veterinary significance. As blood-feeding parasites, they can cause direct damage due to their feeding behavior and also act as vectors of disease agents. In fact, ticks are among the most important vectors of pathogens affecting livestock, companion animals, and humans (Oliver, 1989; Raoult and Roux, 1997; Azad and Beard, 1998; Parola and Raoult, 2001; Jongejan and Uilenberg, 2004; Labuda and Nuttall, 2004; Parola et al., 2005; Dantas-Torres, 2007).

Of an estimated 899 tick species (Barker and Murrell, 2004), only ~10% are implicated in the transmission of different types of pathogens, such as viruses, bacteria, protozoa, and filarial nematodes (Oliver, 1989; Jongejan and Uilenberg, 2004). The family Ixodidae (ixodid ticks or hard ticks) include a number species of interest, most of which belonging to the genera *Amblyomma* (e.g., *A. cajennense*), *Dermacentor* (e.g., *D. andersoni*), *Ixodes* (e.g., *I. ricinus*), *Haemaphysalis* (e.g., *H. leporispalustris*), and *Rhipicephalus* (e.g., *Rhipicephalus sanguineus*). Hard ticks are so called because of their sclerotized dorsal plate and have some attributes that enhance their capability of transmitting pathogens. They feed for extended periods of time, on a variety of vertebrate hosts, and certain species present high affinity for humans. Also, their bite may be initially painless and go unnoticed for hours or even days (Parola and Raoult, 2001).

The genus *Rhipicephalus* comprises ~79 species, including the five species that were in the genus *Boophilus* (Barker and Murrell, 2004). *Rhipicephalus* ticks are usually small, inornate, with slight sexual dimorphism. *R. sanguineus*, known as the brown dog tick (for other common names, see Table 1), is a usual ectoparasite of domestic dogs that can be found almost worldwide, mainly within latitudes 35°S and 50°N. Although this tick feeds primarily on dogs, it can be found on a diverse range of wild and domestic animals, including humans (Estrada-Peña and Jongejan, 1999; Dantas-Torres et al., 2006).

2. Veterinary and medical significance

R. sanguineus ticks are known vectors of pathogens like *Babesia canis* and *Ehrlichia canis*, the etiological agents of canine babesiosis and canine monocytic ehrlichiosis, respectively. It is also suspected that the brow dog tick is involved in the transmission of other major pathogens such as *Leishmania (Leishmania) infantum* [syn. *Leishmania (Leishmania) chagasi*], the etiological agent of visceral leishmaniasis (Blanc and Caminopetros, 1930; Coutinho et al., 2005).

The role of *R. sanguineus* ticks in the transmission of pathogens to humans is well documented, in spite of its relatively low anthropophily (Palmas et al., 2001). *R. sanguineus* ticks are vectors of *Rickettsia rickettsii*, the etiological agent of Rocky Mountain spotted fever, in Mexico (Mariotte et al., 1944; Bustamente and Varela, 1947), in rural eastern Arizona (Demma et al., 2005), and probably elsewhere (Wikswow et al., 2007). In the Mediterranean region, *R. sanguineus* ticks are vectors and reservoirs of *Rickettsia conorii*, the etiological agent of Mediterranean spotted fever (Matsumoto et al., 2005).

An updated list of pathogens that are or may be transmitted by *R. sanguineus* ticks is given in Table 2. The incrimination of these ticks as vectors of a given pathogen is based on laboratory experiments, ecological evidence, or both.

R. sanguineus ticks can act as vectors and reservoirs of certain pathogens (e.g., *R. conorii* and *E. canis*); that is, the tick has the ability of maintaining the pathogen in nature, through several generations, by transovarial (from the female to her progeny) and transstadial (through successive life stages) passages (Bremer et al., 2005; Dantas-Torres, 2007). It is worthy of note that ticks can be found naturally infected by microorganisms (e.g., bacteria and trypanosomatids) of unknown pathogenicity (Wallace, 1966; McGhee and Cosgrove, 1980; Dantas-Torres, 2007). For instance, *R. sanguineus* ticks have been found naturally infected by flagellate trypanosomatids in Iraq (Machattie, 1930) and Brazil (Sherlock, 1964), which were morphologically indis-

Table 1
Common names of the *R. sanguineus*^a

Common name	Language	Country
Tropical dog tick	English	South Africa
Tique sanguine	French	Canada
La garrapata del perro	Spanish	Panama
Kennel tick	English	United Kingdom
Hondeteek or hondenteek	Dutch	Netherlands
Hondehokbosluis or hok-bosluis	Afrikaans	South Africa
Garrapata parda del perro	Spanish	Argentina
Garrapata marrón del perro	Spanish	Argentina
Garrapata café del perro	Spanish	Chile
Carrapato vermelho do cão	Portuguese	Brazil
Brown dog tick	English	United States and South Africa
Braune Hundszecke or Braune Hundezecke	German	Germany

^a Adapted from Ticksbase (<http://www.icctd.nl>).

tinguishable between *Leishmania* and other monogenetic kinetoplastid protozoan (e.g., *Leptomonas* and *Blastocrithidia*). Thus, when accessing the role of *R. sanguineus* ticks as vectors of a pathogen in a given area, it is important to emphasize the use of contemporary techniques for a conclusive identification of the microorganism involved, avoiding confusion or misleading interpretation.

The prevalence of infection of *R. sanguineus* ticks by the pathogens they carry (e.g., *E. canis*) may vary greatly from region to region (Aguiar et al., 2007). Similarly, different techniques (e.g., hemolymph test versus polymerase chain reaction) can reveal different natural infection rates. Molecular biology-based techniques, which have become more widely available in

recent years, have improved the sensitivity, specificity, and speed of detection of disease agents in ticks.

3. Taxonomy and identification

R. sanguineus was first described in 1806 by Latreille, as *Ixodes sanguineus*. Although the type-specimen of *R. sanguineus* has been lost, it remains the type species of the genus (Pegram et al., 1987a). Little is known of the origin of *R. sanguineus*. Some authors believe that it is a typical African species (Hoogstraal, 1956), but others think it is a Mediterranean species (Morel and Vassiliades, 1963). The genus *Rhipicephalus* is a typical African one. For this reason, the hypothesis that *R. sanguineus* is an African species that has been spread

Table 2
Alphabetical list of pathogens that are or may be transmitted by *R. sanguineus* ticks

Pathogen	Associated disease	Reference
<i>Anaplasma marginale</i> ^b	Bovine anaplasmosis	Parker and Wilson (1979)
<i>Anaplasma platys</i> ^a (formerly <i>Ehrlichia platys</i>)	Canine cyclic thrombocytopenia	Simpson et al. (1991)
<i>Babesia caballi</i> ^b	Equine babesiosis	Enigk (1943)
<i>Babesia canis</i>	Canine babesiosis	Regendanz and Muniz (1936)
<i>Babesia gibsoni</i>	Canine babesiosis	Sen (1933)
<i>Cercophitofilaria grassi</i> (formerly <i>Dipetalonema grassi</i>)	Canine filariosis	Bain et al. (1982)
<i>Coxiella burnetii</i>	Q fever	Mantovani and Benazzi (1953)
<i>Dipetalonema dracunculoides</i>	Canine filariosis	Bain (1972); Olmeda-García et al. (1993)
<i>Ehrlichia canis</i>	Canine monocytic ehrlichiosis	Groves et al. (1975)
<i>Hepatozoon canis</i>	Canine hepatoozoonosis	Nordgren and Craig (1984)
<i>Leishmania infantum</i> ^a (syn. <i>Leishmania chagasi</i>)	Canine visceral leishmaniasis	Blanc and Caminopetros (1930)
<i>Mycoplasma haemocanis</i> (formerly <i>Haemobartonella canis</i>)	Canine haemobartonellosis	Seneviratna et al. (1973)
<i>Rangelia vitalli</i> ^a	Nambiuvu or peste de sangue	Loretti and Barros (2005)
<i>Rickettsia conorii</i>	Mediterranean spotted fever	Brumpt (1932)
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Rocky Mountain spotted fever	Parker et al. (1933)
<i>Theileria equi</i> ^b (formerly <i>Babesia equi</i>)	Theileriosis	Enigk (1943)

^a Despite the evidence indicating that *R. sanguineus* can be a vector of these pathogens, further research is needed to prove it.

^b *R. sanguineus* ticks seldom bite hosts other than dogs and thus its role in the transmission of these pathogens in nature is probably minor.

176

F. Dantas-Torres/Veterinary Parasitology 152 (2008) 173–185

Table 3
Taxonomic position of *R. sanguineus*

Phylum	Arthropoda
Subphylum	Chelicerata
Class	Arachnida
Subclass	Acari
Order	Parasitiformes
Suborder	Ixodida
Superfamily	Ixodoidea
Family	Ixodidae
Subfamily	Rhipicephalinae
Genus	<i>Rhipicephalus</i>
Species	<i>R. sanguineus</i>

throughout the world by dogs is the most widely accepted.

R. sanguineus belongs to the subfamily Rhipicephalinae in the Metastrata (one of the two lineages of hard ticks), within the family Ixodidae (Table 3). The specific taxonomic classification of *R. sanguineus* ticks around the world is an ongoing debate (Feldman-Muhsam, 1952, 1968; Pegram et al., 1987a, 1987b; Pegram et al., 1989; Farid, 1996; Zahler et al., 1997; Barker, 1998; Matsumoto et al., 2005; Oliveira et al., 2005; Szabó et al., 2005). Different approaches (e.g., traditional morphology versus molecular biology) classify *R. sanguineus* ticks as a species group; that is, a complex of some 10 closely related species. However, the biosystematic status of species belonging to the *R. sanguineus* group is difficult to determine, particularly by morphological analysis (Oliveira et al., 2005). So far, phenotypic methods are not sufficient to distinguish all the members belonging to this group. Further studies will be required to clarify the status of certain members of this group. Members of the *R. sanguineus* group may present different degrees of susceptibility to infection by certain pathogens, such as *R. conorii* (Matsumoto et al., 2005).

R. sanguineus ticks are small and have elongated body shape. They are usually inornate and have short palps. Eyes and festoons are present. Coxa I is deeply cleft and spiracular plates are comma-shaped in males. An identifying character for the brown dog tick is the hexagonal basis capituli.

4. Biology and ecology

4.1. Developmental stages

As other ixodid ticks, *R. sanguineus* undergo four developmental stages: egg, larva, nymph, and adult. The following measurements are provided according to Cooley (1946); obviously, the size of *R. sanguineus*

ticks may vary widely from population to population (Oliveira et al., 2005).

Eggs are very small, spherical, and dark brown. Newly hatched larvae or “seed ticks” are small (length, 0.54 mm; width, 0.39 mm) and have only three legs. Nymphs have four pairs of legs and resemble adults except they are smaller (length, from 1.14 to 1.3 mm; width, from 0.57 to 0.66 mm) and sexually immature, i.e., they have no genital aperture.

As nymphs, adults have four pairs of legs, but they are larger and sexually mature. Adult males are flat (2.28–3.18 mm long by 1.11–1.68 mm wide), reddish-brown with tiny pits scattered over the back. Before engorgement, adult females resemble the males in size (2.4–2.7 mm long by 1.44–1.68 mm wide), shape, and color. After take its blood meal, the female can swell to 11.5 mm long by 7.5 mm wide and the enlarged portion of the body becomes gray–blue to olive.

4.2. Life cycle

R. sanguineus is a three-host tick; that is, each active developmental stage (larva, nymph, and adult) feeds only once and the ecdysis occurs in the environment. Adult female *R. sanguineus* ticks feed on the host for five to 21 days (Nuttall, 1915; Petrova-Piontkovskaya, 1947; Srivastava and Varma, 1964; Koshy et al., 1983; Pegram et al., 1987b). Once engorgement is complete, she detaches and then drops off the host to digest her blood meal and lay her eggs in a sheltered place. Oviposition is preceded by a pre-oviposition period that ranges from three to 14 days (Nuttall, 1915; Petrova-Piontkovskaya, 1947; Koch, 1982a; Sweatman, 1967; Pegram et al., 1987b; Jittapalapong et al., 2000). The mean duration of the oviposition period is 16–18 days (Petrova-Piontkovskaya, 1947; Koch, 1982a). Engorged females of *R. sanguineus* usually lay about 4,000 eggs, but they can lay as many 7,273 eggs (Koch, 1982a). The optimum temperature for *R. sanguineus* oviposition is between 20 and 30 °C (Sweatman, 1967). After she finishes laying her eggs, she dies. Eggs are deposited in places such as cracks and crevices, often high above floor level. It is interesting to note that the female usually lays her eggs near the host’s resting or sleeping place; this is probably a strategic behaviour, as it makes easy for larvae to find the host, immediately after hatching.

The egg incubation period ranges from 6 to 23 days (Petrova-Piontkovskaya, 1947; Koch, 1982a; Pegram et al., 1987b; Jittapalapong et al., 2000). After incubation, small larvae hatch from the eggs and immediately begin to look for a host. Larvae feed for three to 10 days, before drop off the host to molt into

nymphs (Nuttall, 1915; Petrova-Piontkovskaya, 1947; Koshy et al., 1983; Pegram et al., 1987b). The larva molting period ranges from five to 15 days (Nuttall, 1915; Petrova-Piontkovskaya, 1947; Pegram et al., 1987b). Nymphs resemble adults in form and feed for three to 11 days before drop off the host to develop into adults (Nuttall, 1915; Petrova-Piontkovskaya, 1947; Koshy et al., 1983; Pegram et al., 1987b). The nymph molting period ranges from nine to 47 days (Nuttall, 1915; Petrova-Piontkovskaya, 1947; Pegram et al., 1987b). Unfed *R. sanguineus* larvae can survive for approximately eight months, whereas unfed nymphs and adults can survive for six and 19 months, respectively (Goddard, 1987). In favorable conditions, the life cycle can be completed in 63–91 days (Goddard, 1987; Bechara et al., 1995; Louly et al., 2007).

Under laboratory conditions, the biological parameters (e.g., oviposition and molting periods) of *R. sanguineus* ticks vary greatly with temperature, relative humidity and host type (Bellato and Daemon, 1997). *R. sanguineus* ticks develop well at different temperatures and humidities. The maximal survival of nymphs occurs at 20 °C and 85% relative humidity; the minimal temperature threshold for molting is between 10 and 15 °C. Unfed adult ticks are more resistant than unfed nymphs to desiccating conditions, i.e., 35 °C and 35% relative humidity (Koch and Tuck, 1986). It has recently been demonstrated that *R. sanguineus* ticks are less dependent upon a moisture-rich habitat for survival, which facilitates their establishment within regions that are unfavorable for maintaining water balance (Yoder et al., 2006).

Under field conditions, molting and engorgement periods may vary widely among populations and they are directly influenced by factors such as temperature and host availability. There appears to be a strong association between ambient temperature and tick population size (Mumcuoglu et al., 1993). The duration of the life cycle of *R. sanguineus* may vary from country to country and from region to region. Field studies indicate that *R. sanguineus* ticks can complete two or so generations per year (Koch, 1982b; Cruz-Vazquez and Garcia-Vazquez, 1999; Uspensky and Ioffe-Uspensky, 2002). In Brazil, where the environmental conditions are quite favorable, *R. sanguineus* ticks are able to complete up to four generations per year (Dantas-Torres and Figueredo, 2006; Louly et al., 2007).

4.3. Primary and secondary hosts

Dogs are the primary hosts of *R. sanguineus* ticks and their presence is possibly a necessary condition for

the maintenance of large tick populations. However, in certain areas, *R. sanguineus* ticks exhibit an opportunistic host selection. Immature stages can be found on rodents and other small mammals. Adults usually parasitize larger animals, including humans (Harrison et al., 1997; Estrada-Peña and Jongejan, 1999). In Brazil, there are records of infestations by *R. sanguineus* in dogs, rabbits, cats, rodents, pigeons, wild canids, and humans (Aragão, 1911, 1936; Yoshizawa et al., 1996; Diogo et al., 2003; Dantas-Torres et al., 2004; Dantas-Torres et al., 2006; Louly et al., 2006). In spite of this, the parasitism by *R. sanguineus* ticks on hosts other than dogs appears to be rare in certain areas where they occur; it is likely to be a consequence of factors such as an explosive growth of tick populations that would lead to high levels of environmental infestation and then increasing risk of tick exposure. A worldwide list of hosts recorded for *R. sanguineus* can be found in the Ticksbase (<http://www.icttd.nl>).

Although the brown dog tick seldom bites humans, the increasing number of cases of human parasitism by *R. sanguineus* ticks reported in the literature suggests that it may be more common than it is actually recognized (Burgdorfer et al., 1975; Goddard, 1989; Carpenter et al., 1990; Manfredi et al., 1990; Guglielmone et al., 1991; Felz et al., 1996; Schenone, 1996; Harrison et al., 1997; Estrada-Peña and Jongejan, 1999; Venzal et al., 2003; Demma et al., 2005; Dantas-Torres et al., 2006; Louly et al., 2006).

4.4. Off-host ecology

Ixodid ticks, particularly three-host ticks, spend 94–97% of their life off-host (Needham and Teel, 1991), within their habitat where they are at influence of many factors, such as habitat structure and climate (Randolph, 2004). Most ticks have a relatively well-defined rhythm of detachment from the host. *R. sanguineus* larvae exhibit a diurnal drop-off periodicity, but nymphs and adults have a nocturnal drop-off rhythm (Hadani and Rechav, 1969).

Most ixodid ticks exhibit exophilic behavior; that is, they tend to rest outdoors. Conversely, *R. sanguineus* ticks are often endophilic, i.e., they are often found indoors. They have a strong tendency to crawl upward and they can be seen climbing the walls of infested houses (Goddard, 1987). In highly infested domiciles, *R. sanguineus* ticks can be found crawling on carpets, on walls, and on furniture (Demma et al., 2005; Dantas-Torres et al., 2006). The off-host tick stages may hide in any kind of cracks, usually close to the host sleeping or resting place.

In temperate zones, they are primarily active from late spring to early fall. In southeastern Oklahoma and northwestern Arkansas, there appears to be two larval and nymphal peaks (July and September) and three adult peaks (April, July, and September) (Koch, 1982b). In France, higher numbers of adults were observed during the summer and higher numbers of immature stages during the spring (Gilot, 1984). In Greece, adults *Rhipicephalus* ticks were most active during the spring and summer (Papadopoulos et al., 1996). In warmer zones, they may be active year around (Goddard, 1987; Jacobs et al., 2001; Louly et al., 2007). The endophily of *R. sanguineus* ticks may be less pronounced in tropical areas, where they can be frequently found resting outdoors.

Data about the off-host ecology of ixodid ticks is fundamental to better understanding their natural history. Moreover, a better understanding of the tick ecology can provide useful insights into the dynamic of certain tick-borne diseases (Parola et al., 2005; Dantas-Torres, 2007).

5. Blood-feeding

To complete their life cycle, ticks need to feed on blood. The blood-feeding process, and the events that precede it, involves a fascinating network of interactions of ticks with their hosts, and their shared environment. As blood-feeding parasites, ticks must seek a suitable host, attach to its body, and pierce its skin with their mouthparts to gain access to the blood vessels, and get the protein-rich blood they need.

5.1. Host-seeking behavior

Ixodid ticks seek a host when the environmental conditions are suitable and there are several kinds of stimuli that indicate the presence of hosts. Ticks are, for instance, highly sensitive to chemical stimuli (e.g., CO₂ and ammonia), airborne vibrations, and host body temperature (Haggart and Davis, 1980; Balashov, 1999; Parola and Raoult, 2001).

Ixodid ticks can adopt different strategies to seek their hosts and these strategies may vary widely from species to species and from region to region. Certain tick species climb out vegetation and wait for a host to pass, with their front legs outstretched. Then, when a host brushes against the vegetation, the tick grabs on. Other ticks emerge from their habitat and run toward their hosts, whereas some endophilic ticks remain hidden in hosts' nests and burrows awaiting their arrival. Certain tick species display a well-defined host-

seeking behavior, whereas others (e.g., *R. sanguineus*) can adopt different strategies (Parola and Raoult, 2001). *R. sanguineus* is considered to be a hunter tick, but its behavior may vary widely. The same population can display different host-seeking behaviors (Dantas-Torres, unpublished observations).

5.2. Attachment and blood-feeding

To blood feed, the tick inserts its hypostome into the host's skin to reach the blood vessels. Soon afterwards, the tick secretes an attachment cement to more firmly anchor its mouthparts to the host's skin. The cement, which is produced in the type II and III alveoli of the salivary glands (Jaworski et al., 1992), is largely proteinaceous but it also contains lipid and glycoproteins. Primitive ticks (e.g., *Amblyomma*) attach deeply; more evolved ticks (e.g., *Rhipicephalus* and *Dermacentor*) attach superficially and their mouthparts do not penetrate the dermis (Arthur, 1973; Bowman et al., 1997). Approximately 24 h after tick attachment, there is a dermal infiltration predominantly of neutrophils (Theis and Budwiser, 1974). The histopathology at the *R. sanguineus* feeding site reveals a cone of cement around the tick's mouthparts, epidermal hyperplasia, edema, and inflammatory cell infiltration in the dermis (Szabó and Bechara, 1999).

During blood-feeding, there is an early period of slow feeding (with continuous digestion of the blood meal in the midgut) and a posterior period of rapid engorgement (with reduced digestion). Alternating periods of sucking blood and salivation, with regurgitation occurring frequently, are observed during the feeding process (Parola and Raoult, 2001). This process of intense salivation and regurgitation is of great importance for the transmission of pathogens during blood-feeding.

When completely engorged, the tick detaches its mouthparts and drops off the host to complete digestion in a seclude place. As discussed (see Section 4.2), the duration of blood-feeding process varies according to factors such as tick developmental stage, host species, and environmental conditions.

6. Tick saliva and the susceptibility of dogs to *R. sanguineus* infestations

In ticks, the salivary glands and not the Malpighian tubules constitute the main organs responsible for osmoregulation. When feeding, the tick excretes about 70% of their imbibed water and ions. Moreover, saliva components possess powerful immunomodulatory

properties that permit the ticks to remain blood-feeding during long periods of time (Ribeiro, 1995; Bowman et al., 1997; Valenzuela, 2004).

Along their evolutionary history, ticks have evolved mechanisms to impair the host immune response and successfully take their blood meal. Upon attachment, the tick injects its saliva, which contains an incredible repertoire of substances that facilitate its attachment and the blood-feeding process. Saliva components suppress the host immune and inflammatory response allowing the ticks to remain attached to the host for an extended period of time. These include vasodilators, and anesthetic, anti-inflammatory, antihemostatic, and immunosuppressive molecules (Ribeiro, 1995; Bowman et al., 1997; Valenzuela, 2004). For instance, the salivary glands of *R. sanguineus* are reported to possess an antagonist of histamine (Chinery and Ayitey-Smith, 1977).

The immunomodulatory effects of the tick saliva also enhance the risk of tick-borne pathogen transmission and establishment (Bowman et al., 1997). It has been shown that the saliva of *R. sanguineus* ticks impairs T cell proliferation and the microbicidal activity of macrophages. The tick saliva induces a Th2-type cytokine profile (i.e., augmented IL-4 and IL-10 and TGF-beta) and reduces IL-12 secretion by cells from C3H/HeJ mice (Ferreira and Silva, 1999). Once inoculated in the host's skin, the pathogen will find an impaired local immune response that certainly will facilitate its survival in this initial phase of infection.

Dogs exposed to successive infestations by *R. sanguineus* ticks fail to develop a delayed-type hypersensitivity (DTH) response, which also indicates a deficient cell-mediated immune response (Ferreira et al., 2003). Recently, Cavassani et al. (2005) postulated that the tick saliva inhibits the differentiation and maturation of dendritic cells into functional antigen-presenting cells. A similar, non-effective response is observed in mice exposed to successive infestations by *R. sanguineus* ticks. By contrast, guinea pigs display a strong cell-mediated immune response against successive infestations by *R. sanguineus* ticks and they have been used as models resistant hosts (Bechara et al., 1994; Ferreira et al., 1996, 2003; Szabó and Bechara, 1997; Ferreira and Silva, 1998; Szabó et al., 2003). Sequential histopathology at the *R. sanguineus* tick feeding site reveals that dogs react mainly with neutrophils (mast cells and mononuclear leukocytes are also present), whereas guinea pigs react with mononuclear cells, eosinophils, and basophils (Szabó and Bechara, 1999).

Dogs appear to develop no resistance to *R. sanguineus* reinfestations by ticks, as resistant hosts like guinea pigs do (Theis and Budwiser, 1974; Bechara et al., 1994; Szabó and Bechara, 1999). This suggests that *R. sanguineus* ticks have evolved salivary immunomodulatory factors to modulate the dog immune response in their benefit. Similarly, dogs appear to develop no resistance against *Amblyomma cajennense* nymphs (Mukai et al., 2002).

It is interesting to note that some dog breeds appear to be more susceptible to *R. sanguineus* infestations than others. Louly et al. (2007) have recently found that the number of adult ticks feeding on English Cocker Spaniel dogs was significantly higher than that feeding on mongrel dogs. Similarly, we have also observed English Cocker Spaniel dogs highly parasitized by *R. sanguineus* ticks (Dantas-Torres and Figueredo, 2006). It has been demonstrated that number of engorged females recovered from experimentally infested beagles at the second infestation is significantly less than at the first infestation (Inokuma et al., 1997). Further research is required to assess whether certain dog breeds are more susceptible to *R. sanguineus* infestation than others or not.

7. Control

When thinking about tick control, something should be kept in mind: only ~5% of the ticks are on the dog; the remnant (~95%) is in the environment. Therefore, the effective elimination of tick populations will require an integrated control strategy, targeting the canine population as well as the environment. An integrated control strategy means that all appropriate technological and management techniques are utilized, proportioning an effective decline of target populations in a cost-effective fashion. This approach includes both the use of chemical and non-chemical strategies (e.g., environmental management).

7.1. Chemical control

Dogs can be treated with a diverse range of veterinary preparations, such as spot-on formulations, impregnated collars, shampoos, sprays, dips, and powders (Garris, 1991). Fipronil, amitraz, carbaryl, and pyrethroids (deltamethrin, permethrin, and cypermethrin), are among the most frequently used acaricides for controlling *R. sanguineus* ticks (Alcaño et al., 1995; Franc and Cadiergues, 1999; Jernigan et al., 2000; Otranto et al., 2005; World Health Organization, 2006). Recent advances in ectoparasiticides (insecticides and

acaricides) for veterinary use have been reviewed elsewhere (Taylor, 2001).

The use of acaricides on dogs is usually effective to eliminate their tick infestations and to prevent reinfestations during a certain period of time. The frequency of treatment depends on the degree of infestation and the duration of the residual effect of the acaricide. In any case, the manufacturer's guidelines should always be followed. Whenever necessary, the veterinarian can adopt alternative schemes, although care must be taken to avoid inadequate use of certain active compounds. The exact time needed for the acaricide treatment to eliminate heavy tick infestations is uncertain. Regular physical examination of treated dogs may serve as an indicator of the progress (i.e., success or failure) of the tick control program.

As ~95% of the ticks are outside the host, the use of acaricides in the environment in which the dog lives is often required. The environmental treatment can be effective only when restricted areas are treated. The effectiveness of this strategy will depend on a number of factors, such as: level of environmental infestation, presence of infestations in areas next to the treated one, residual effect of the acaricide, and environmental conditions. There are many concerns about the use of the acaricides in the environment. The improper use of acaricides can cause environmental pollution and toxicity to humans and other non-target organisms (e.g., predators and parasites of ticks). Guidelines for safe use of pesticides and an updated list of suitable acaricides for indoor residual application can be found elsewhere (World Health Organization, 2006).

The control of *R. sanguineus* ticks in certain areas has been solely based on the use of acaricides on dogs and sometimes in the environment (Dantas-Torres and Figueredo, 2006). The long-term use and misuse of acaricides is a serious problem that may result in environmental pollution and acaricide resistance in the ticks (Labarthe, 1994).

7.2. Non-chemical control

Non-chemical procedures for tick control should be implemented along with chemical control methods. Habitat change is very important in the control *R. sanguineus* ticks. Cracks and crevices should be sealed and grass and weeds should be kept cut short. It is important to note that *R. sanguineus* ticks present a marked endophilic behavior in most regions where they occur. In highly infested houses, ticks are commonly seen crawling up walls, curtains, window and door casings, and under the furniture. In this kind of

situation, indoor residual application of acaricides may be necessary.

Dog owners should be instructed to examine, locate, and remove ticks from their dogs periodically (Dantas-Torres and Figueredo, 2006). Particular care must be taken during tick removal, mainly in areas where Rocky Mountain spotted fever is endemic. The contact with tick fluids during tick removal may result in *Rickettsia rickettsii* infection and then must be avoided (Dantas-Torres, 2007). When handling dogs to remove their ticks, it is important to use gloves, which is a simple, effective way to prevent the risk of infection. A number of tick removal devices are marketed and can also be used.

As ticks have many natural enemies (e.g., bacteria, fungi, and nematodes), their biological control appears to be feasible (Samish et al., 2004). It has been shown that the use of entomopathogenic fungi, such as *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, may have the potential for controlling populations of certain tick species, including *R. sanguineus* (Kirkland et al., 2004; Samish et al., 2004). A recent study demonstrated that formulations of *B. bassiana* and *M. anisopliae* were harmful to fed nymphs and to unfed adults of *R. sanguineus* (Reis et al., 2005). After the selection of an appropriate entomopathogenic strains, the biggest challenge is to devise production strategies to bring them to practical use (Samish et al., 2004).

Currently, there is no anti-tick vaccine available for use in dogs and there is no good evidence that it is feasible. As previously discussed, dogs appear to develop no immunity against ticks and this is an important limiting factor for the development of a vaccine against *R. sanguineus* ticks. Moreover, the cost-benefit relationship of the vaccination of dogs against ticks has not been fully evaluated.

The progress towards the production of effective anti-tick vaccines has been low (Nuttall et al., 2006). On the other hand, recent advances in molecular biology, protein chemistry and computational biology have accelerated the isolation, sequencing and analysis of transcripts and proteins from the saliva of ticks. The identification of the biological activities of proteins codified by newly isolated genes from tick saliva is likely to help the discovery of potential targets for vaccines against ticks and the disease they transmit (Valenzuela, 2004).

7.3. Acaricide resistance

The indiscriminate use of acaricides over the years has led to the selection of resistant ticks. The

development of acaricide resistance is a serious problem worldwide and is well documented in other tick species, such as *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (syn. *Boophilus microplus*) (Davey et al., 2006).

In a study carried out in Panama, *R. sanguineus* ticks were highly resistant to permethrin, DDT, and coumaphos; moderately resistant to amitraz and not resistant to fipronil (Miller et al., 2001). In Spain, using 15 different *R. sanguineus* populations, low to moderate resistance against propoxur, very high resistance against deltamethrin, and no resistance against amitraz was found (Estrada-Peña, 2005). The results of studies carried out in Brazil did not indicate the deltamethrin as a method of choice for the control of *R. sanguineus* ticks (Fernandes, 2000; Fernandes et al., 2001). These studies suggest that the resistance against a given acaricide may vary among different tick populations and that certain *R. sanguineus* populations appear to be highly resistant to pyrethroid acaricides.

The main factor influencing the development of resistance in ixodid ticks is probably the long-term use and misuse of acaricides. Several mechanisms (e.g., target site mutations) have been proposed to explain the development of acaricide resistance in ticks (He et al., 2002; Foil et al., 2004). The mechanisms involved in the development of resistance in *R. sanguineus* ticks are poor understood and demand further research.

8. Future directions

For quite some time, *R. sanguineus* has traveled around the world with the dog, its primary vertebrate host. This tick is a good example of vector of multiple pathogens affecting companion animals, livestock, and humans. The control of *R. sanguineus* ticks in certain areas has been solely based on an indiscriminate use of chemical methods, which has led to the selection of acaricide resistant tick strains. Veterinarians play a key role and they should educate dog owners about the problems associated to an inadequate use acaricides. An integrated strategy for the control of *R. sanguineus* ticks is essential and should include chemical and non-chemical methods. Any control strategy should be based on the knowledge of the local tick ecology, which would improve the efficiency of the control program, reduce the risk of acaricide resistance and environmental pollution, and cut costs considerably. Development of acaricide resistance in this tick is a serious problem for the control of several tick-borne diseases, although the real extent of the problem is unknown. The mechanisms involved in the development of acaricide

resistance in *R. sanguineus* ticks should be investigated more fully.

Little is known of the relationship between *R. sanguineus* ticks and certain pathogens they transmit. The complete life cycle of *Hepatozoon canis* in the tick (*R. sanguineus*) has recently been elegantly described in a very interesting study carried out by Baneth et al. (2007). Studies of this nature should be encouraged. For instance, the mechanisms involved in the interaction between *R. sanguineus* and *Leishmania (Leishmania) infantum* are largely unknown. The role of the brown dog tick in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis is an issue of great importance, as dogs are considered to be the main domestic reservoirs of *L. (Leishmania) infantum* for human infection (Dantas-Torres and Brandão-Filho, 2006). This issue demands further research.

The taxonomic dilemma involving the biosystematic status of the members of the *R. sanguineus* group has also been observed in other taxa. The contemporary methods (e.g., electron microscopy) have detected differences, usually minor, that are not easily detected with traditional phenotypic methods. Future studies with all representatives of the *R. sanguineus* group would be welcome to determine the status of the members of this group. These studies should be based on both contemporary and traditional methods. A concise criterion for classifying the members of the *R. sanguineus* group should include data from their biology and ecology. A better understanding of these aspects would also be useful for the improvement of the control strategies against *R. sanguineus* ticks and the pathogens they transmit.

Note added in proof

After this manuscript was written, Little et al. (2007) published an interestingly study on the movement of *R. sanguineus* ticks between co-housed dogs. This study suggests that male ticks are more likely to move from dogs or the environment to people, which raises several questions on the role of male ticks in the transmission of tickborne pathogens.

Little, S.E., Hostetler, J., Kocan, K.M., 2007. Movement of *Rhipicephalus sanguineus* adults between co-housed dogs during active feeding. *Vet. Parasitol.* 150, 139–145.

Acknowledgments

Thanks to the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), for a PhD scholarship and to Sidney Pratt, for English revision.

References

- Aguiar, D.M., Cavalcante, G.T., Pinter, A., Gennari, S.M., Camargo, L.M., Labruna, M.B., 2007. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. *J. Med. Entomol.* 44, 126–132.
- Alcaíno, H., Gorman, T., Acosta, P., Fredes, F., 1995. Evaluación de cinco esquemas de control con cipermetrina del *Rhipicephalus sanguineus* en la Región Metropolitana de Chile. *Arch. Med. Vet.* 27, 45–51.
- Aragão, H., 1911. Notas sobre ixodídeos brasileiros. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 3, 145–195.
- Aragão, H., 1936. Ixodídeos brasileiros e de alguns países limitrofes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 31, 759–843.
- Arthur, D.R., 1973. Host and tick relationships: a review. *J. Wildl. Dis.* 9, 74–84.
- Azad, A.F., Beard, C.B., 1998. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerg. Infect. Dis.* 4, 179–186.
- Bain, O., 1972. Recherches sur la morphogénèse des filaires chez l'hôte intermédiaire. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 47, 252–303.
- Bain, O., Aeschlimann, A., Chatelanat, P., 1982. Presence, chez des tiques de la région de Genève, de larves infestantes qui pourraient se rapporter à la filaire de chien *Dipetalonema grassii*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 57, 643–646.
- Balashov, Y.S., 1999. Evolution of haematophagy in insects and ticks. *Entomol. Rev.* 79, 943–954.
- Baneth, G., Samish, M., Shkap, V., 2007. Life cycle of *Hepatozoon canis* (Apicomplexa: Adeleorina: Hepatozoidae) in the tick *Rhipicephalus sanguineus* and domestic dog (*Canis familiaris*). *J. Parasitol.* 93, 283–299.
- Barker, S.C., 1998. Distinguishing species and populations of rhipicephaline ticks with its 2 ribosomal RNA. *J. Parasitol.* 84, 887–892.
- Barker, S.C., Murrell, A., 2004. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 129, S15–S36.
- Bechara, G.H., Szabó, M.P., Mukai, L.S., Rosa, P.C., 1994. Immunisation of dogs, hamsters and guinea pigs against *Rhipicephalus sanguineus* using crude unfed adult tick extracts. *Vet. Parasitol.* 52, 79–90.
- Bechara, G.H., Szabó, M.P.J., Ferreira, B.R., Garcia, M.V., 1995. *Rhipicephalus sanguineus* in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 4, 61–66.
- Bellato, V., Daemon, E., 1997. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 6, 21–27.
- Blanc, G., Caminopetros, J., 1930. La transmission du Kala—Azar méditerranéen par une tique: *Rhipicephalus sanguineus*. *C. R. Acad. Sci.* 191, 1162–1164.
- Bowman, A.S., Coons, L.B., Needham, G.R., Sauer, J.R., 1997. Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. *Med. Vet. Entomol.* 11, 277–285.
- Bremer, W.G., Schaefer, J.J., Wagner, E.R., Ewing, S.A., Rikihisa, Y., Needham, G.R., Jittapalpong, S., Moore, D.L., Stich, R.W., 2005. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet. Parasitol.* 131, 95–105.
- Brumpt, E., 1932. Longevité du virus de la fièvre boutonneuse (*Rickettsia conorii*, n. sp.) chez la tique *Rhipicephalus sanguineus*. *C. R. Soc. Biol.* 110, 1197–1199.
- Burgdorfer, W., Adkins Jr., T.R., Priester, L.E., 1975. Rocky Mountain spotted fever (tick-borne typhus) in South Carolina: an educational program and tick/rickettsial survey in 1973 and 1974. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 24, 866–872.
- Bustamente, M.E., Varela, G., 1947. Distribucion de las rickettsiasis en Mexico. *Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop.* 8, 3–14.
- Carpenter, T.L., McMeans, M.C., McHugh, C.P., 1990. Additional instances of human parasitism by the brown dog tick (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 27, 1065–1066.
- Cavassani, K.A., Aliberti, J.C., Dias, A.R., Silva, J.S., Ferreira, B.R., 2005. Tick saliva inhibits differentiation, maturation and function of murine bone-marrow-derived dendritic cells. *Immunology* 114, 235–245.
- Chinery, W.A., Ayitey-Smith, E., 1977. Histamine blocking agent in the salivary gland homogenate of the tick *Rhipicephalus sanguineus*. *Nature* 265, 366–367.
- Cooley, R.A., 1946. The genera *Boophilus*, *Rhipicephalus*, and *Hae-maphysalis* (Ixodoidea) of the New World. *Natl. Inst. Health Bull.* 187, 1–54.
- Coutinho, M.T., Bueno, L.L., Sterzik, A., Fujiwara, R.T., Botelho, J.R., De Maria, M., Genaro, O., Linardi, P.M., 2005. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet. Parasitol.* 128, 149–155.
- Cruz-Vazquez, C., Garcia-Vazquez, Z., 1999. Seasonal distribution of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae) on dogs in an urban area of Morelos, Mexico. *Exp. Appl. Acarol.* 23, 277–280.
- Dantas-Torres, F., 2007. Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infect. Dis.* 7, 724–732.
- Dantas-Torres, F., Brandão-Filho, S.P., 2006. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 48, 151–156.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L.A., 2006. Canine babesiosis: a Brazilian perspective. *Vet. Parasitol.* 141, 197–203.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L.A., Brandão-Filho, S.P., 2006. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 39, 64–67.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L.A., Faustino, M.A.G., 2004. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 13, 151–154.
- Davey, R.B., George, J.E., Miller, R.J., 2006. Comparison of the reproductive biology between acaricide-resistant and acaricide-susceptible *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae). *Vet. Parasitol.* 139, 211–220.
- Demma, L.J., Traeger, M.S., Nicholson, W.L., Paddock, C.D., Blau, D.M., Eremeeva, M.E., Dasch, G.A., Levin, M.L., Singleton Jr., J., Zaki, S.R., Cheek, J.E., Swerdlow, D.L., McQuiston, J.H., 2005. Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. *N. Engl. J. Med.* 353, 587–594.
- Diogo, A.A.R., Guerim, L., Pires, J.R., Couto, A.L.G., Serra-Freire, N.M., 2003. Parasitismo por *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 em Columbia livia Linnaeus na Cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Entomol. Vect.* 10, 277–280.
- Enigk, K., 1943. Die überträger der Pferdepiroplasmose, ihre Verbreitung und Biologie. *Arch. Wiss. Prakt. Tierheilk.* 78, 209–240.
- Estrada-Peña, A., 2005. Etude de la résistance de la tique brune du chien, *Rhipicephalus sanguineus* aux acaricides. *Rev. Med. Vet.* 156, 67–69.
- Estrada-Peña, A., Jongejan, F., 1999. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Exp. Appl. Acarol.* 23, 685–715.

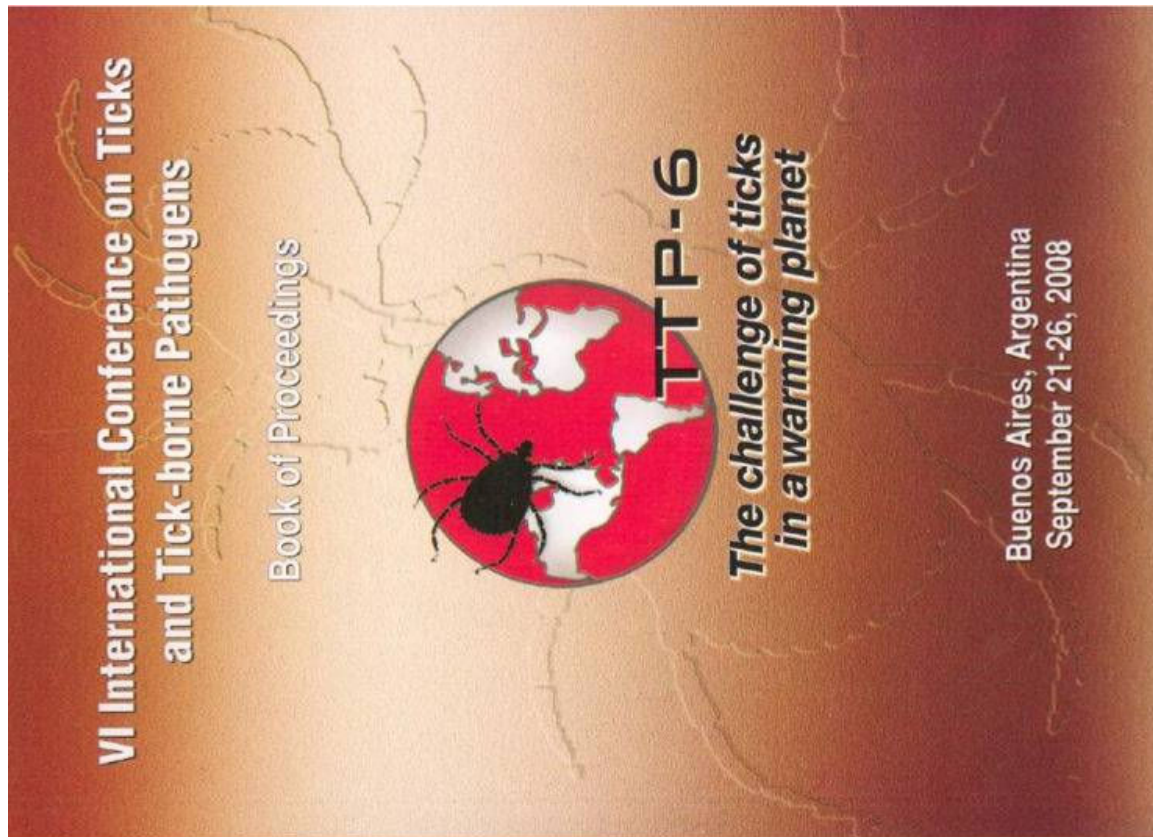
- Farid, H.A., 1996. Morphological keys for the separation of the *Rhipicephalus sanguineus* group of ticks (Acarina: Ixodidae) in Egypt. *J. Egypt Soc. Parasitol.* 26, 453–460.
- Feldman-Muhsam, B., 1952. On the identity of *Rhipicephalus sanguineus* Lat. Bull. Res. Council Israel 2, 187–194.
- Feldman-Muhsam, B., 1968. The *Rhipicephalus sanguineus* complex. WHO/VBC/68.57 113–120.
- Felz, M.W., Durden, L.A., Oliver Jr., J.H., 1996. Ticks parasitizing humans in Georgia and South Carolina. *J. Parasitol.* 82, 505–508.
- Fernandes, F.F., 2000. Atividade in vitro de permetrina, cipermetrina e deltametrina sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari, Ixodidae). *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 52, 621–626.
- Fernandes, F.F., Freitas, E.P., Silva, J.R., Silva, O.R., Silva, I.G., 2001. Efeitos toxicológicos e ineficiência in vitro de deltametrina sobre larvas de *Rhipicephalus sanguineus*, de Goiânia, Goiás, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 34, 159–165.
- Ferreira, B.R., Silva, J.S., 1998. Saliva of *Rhipicephalus sanguineus* tick impairs T cell proliferation and IFN-gamma-induced macrophage microbicidal activity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 64, 279–293.
- Ferreira, B.R., Silva, J.S., 1999. Successive tick infestations selectively promote a T-helper 2 cytokine profile in mice. *Immunology* 96, 434–439.
- Ferreira, B.R., Machado, R.Z., Bechara, G.H., 1996. Western blot analysis of tick antigens from a *Rhipicephalus sanguineus* unfed larval extract and identification of antigenic sites in tick sections using immunohistochemistry. A comparative study between resistant and susceptible host species. *Vet. Parasitol.* 62, 161–174.
- Ferreira, B.R., Szabó, M.J., Cavassani, K.A., Bechara, G.H., Silva, J.S., 2003. Antigens from *Rhipicephalus sanguineus* ticks elicit potent cell-mediated immune responses in resistant but not in susceptible animals. *Vet. Parasitol.* 115, 35–48.
- Foil, L.D., Coleman, P., Eisler, M., Frago-Sanchez, H., Garcia-Vazquez, Z., Guerrero, F.D., Jonsson, N.N., Langstaff, I.G., Li, A.Y., Machila, N., Miller, R.J., Morton, J., Pruett, J.H., Torr, S., 2004. Factors that influence the prevalence of acaricide resistance and tick-borne diseases. *Vet. Parasitol.* 125, 163–181.
- Franc, M., Cadiergues, M.C., 1999. Activity of a deltamethrin shampoo against *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus* in dogs. *Vet. Parasitol.* 81, 341–346.
- Garris, G.I., 1991. Control of ticks. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 21, 173–183.
- Gilot, B., 1984. Biologie et ecologie de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acariens, Ixodoidea) dans le Sud-Est de la France. *Bull. Soc. Sci. Vet. Med. Comp.* 86, 25–33.
- Goddard, J., 1987. Ticks of Medical Importance Occurring in the Western Hemisphere. USAF School of Aerospace Medicine, Texas.
- Goddard, J., 1989. Focus of human parasitism by the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 26, 628–629.
- Groves, M.G., Dennis, G.L., Amyx, H.L., Huxsoll, D.L., 1975. Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks (*Rhipicephalus sanguineus*). *Am. J. Vet. Res.* 36, 937–940.
- Guglielmo, A.A., Mangold, A.J., Vinabal, A.E., 1991. Ticks (Ixodidae) parasitizing humans in four provinces of north-western Argentina. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 85, 539–542.
- Hadani, A., Rechav, Y., 1969. Tick–host relationship. I. The existence of a circadian rhythm of “drop-off” of engorged ticks from their hosts. *Acta Trop.* 26, 173–179.
- Haggart, D.A., Davis, E.E., 1980. Ammonia-sensitive neurones of the first tarsi of the tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *J. Insect. Physiol.* 26, 517–523.
- Harrison, B.A., Engber, B.R., Apperson, C.S., 1997. Ticks (Acari: Ixodida) uncommonly found biting humans in North Carolina. *J. Vect. Ecol.* 22, 6–12.
- He, H., Chen, A.C., Davey, R.B., Ivie, G.W., 2002. Molecular cloning and nucleotide sequence of a new P450 gene, CYP319A1, from the cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 32, 303–309.
- Hoogstraal, H., 1956. African Ixodoidea. I. Ticks of the Sudan (with Special Reference to Equatoria Province and with Preliminary Reviews of the Genera *Boophilus*, *Margaropus*, and *Hyalomma*. Dept. of the Navy, Bureau of Medicine and Surgery, Washington, DC.
- Inokuma, H., Tamura, K., Onishi, T., 1997. Dogs develop resistance to *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet. Parasitol.* 69, 295–297.
- Jaworski, D.C., Rosell, R., Coons, L.B., Needham, G.R., 1992. Tick (Acari: Ixodidae) attachment cement and salivary gland cells contain similar immunoreactive polypeptides. *J. Med. Entomol.* 29, 305–309.
- Jittapalpong, S., Stich, R.W., Gordon, J.C., Wittum, T.E., Barriga, O.O., 2000. Performance of female *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) fed on dogs exposed to multiple infestations or immunization with tick salivary gland or midgut tissues. *J. Med. Entomol.* 37, 601–611.
- Jacobs, P.A.H., Fourie, L.J., Kok, D.J., Horak, I.G., 2001. Diversity, seasonality and sites of attachment of adult ixodid ticks on dogs in the central region of the Free State Province, South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 68, 281–290.
- Jernigan, A.D., McTier, T.L., Chieffo, C., Thomas, C.A., Krautmann, M.J., Hair, J.A., Young, D.R., Wang, C., Rowan, T.G., 2000. Efficacy of selamectin against experimentally induced tick (*Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor variabilis*) infestations on dogs. *Vet. Parasitol.* 91, 359–375.
- Jongejan, F., Uilenberg, G., 2004. The global importance of ticks. *Parasitology* 129 (Suppl.), S3–S14.
- Kirkland, B.H., Westwood, G.S., Keyhani, N.O., 2004. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to Ixodidae tick species *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus*, and *Ixodes scapularis*. *J. Med. Entomol.* 41, 705–711.
- Koch, H.G., 1982a. Oviposition of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 75, 583–586.
- Koch, H.G., 1982b. Seasonal incidence and attachment sites of ticks (Acari: Ixodidae) on domestic dogs in southeastern Oklahoma and northwestern Arkansas, USA. *J. Med. Entomol.* 19, 293–298.
- Koch, H.G., Tuck, M.D., 1986. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79, 11–14.
- Koshy, T.J., Rajavelu, G., Lalitha, C.M., 1983. On the life cycle of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). *Cheiron* 12, 337–338.
- Labarthe, L., 1994. Biological control of tick populations: review and reflections. *Cad. Saude Publ.* 10, 47–52.
- Labuda, M., Nuttall, P.A., 2004. Tick-borne viruses. *Parasitology* 129 (Suppl.), S221–S245.
- Loretti, A.P., Barros, S.S., 2005. Hemorrhagic disease in dogs infected with an unclassified intraendothelial piroplasm in southern Brazil. *Vet. Parasitol.* 134, 193–213.
- Louly, C.C.B., Fonseca, I.N., Oliveira, V.F., Linhares, G.F.C., Menezes, L.B., Borges, L.M.F., 2007. Seasonal dynamics of

- 184 *F. Dantas-Torres / Veterinary Parasitology 152 (2008) 173–185*
- Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiânia, Goiás, Brazil. *Cienc. Rural* 37, 464–469.
- Louly, C.C.B., Fonseca, I.N., Oliveira, V.F., Borges, L.M.F., 2006. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. *Cienc. Anim. Bras.* 7, 103–106.
- Machattie, C., 1930. Notes on a trypanosome infection of the dog tick *Rhipicephalus sanguineus* in Iraq. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 23, 417.
- Manfredi, M.T., Dini, V., Piacenza, S., Genchi, C., 1990. Tick species parasitizing people in an area endemic for tick-borne diseases in north-western Italy. *Parassitologia* 41, 555–560.
- Mantovani, A., Benazzi, P., 1953. The isolation of *Coxiella burnetii* from *Rhipicephalus sanguineus* on naturally infected dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 122, 117–118.
- Mariotte, C.O., Bustamante, M.E., Varela, G., 1944. Hallazgo del *Rhipicephalus sanguineus* Latreille infectado naturalmente con fiebre manchada de las Montañas Rocosas, en Sonora (Mexico) 1944. *Rev. Inst. Salub. Enferm. Trop.* 5, 297–300.
- Matsumoto, K., Brouqui, P., Raoult, D., Parola, P., 2005. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conorii*. *Vect. Borne Zoonotic Dis.* 5, 363–372.
- McGhee, R.B., Cosgrove, W.B., 1980. Biology and physiology of the lower *Trypanosomatidae*. *Microbiol. Rev.* 44, 140–173.
- Miller, R.J., George, J.E., Guerrero, F., Carpenter, L., Welch, J.B., 2001. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal Army Veterinary Quarantine Center, Panama. *J. Med. Entomol.* 38, 298–302.
- Morel, P.C., Vassiliades, G., 1963. Les *Rhipicephalus* du groupe sanguineus: especes africaines (Acariens: Ixodoidea). *Rev. Elev.* 15, 343–386.
- Mukai, L.S., Netto, A.C., Szabó, M.P., Bechara, G.H., 2002. Development of resistance to nymphs of *Amblyomma cajennense* ticks (Acari: Ixodidae) in dogs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 969, 180–183.
- Mumcuoglu, K.Y., Frish, K., Sarov, B., Manor, E., Gross, E., Gat, Z., Galun, R., 1993. Ecological studies on the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in southern Israel and its relationship to spotted fever group rickettsiae. *J. Med. Entomol.* 30, 114–121.
- Needham, G.R., Teel, P.D., 1991. Off-host physiological ecology of ixodid ticks. *Annu. Rev. Entomol.* 36, 659–681.
- Nordgren, R.M., Craig, T.M., 1984. Experimental transmission of the texas strain of *Hepatozoon canis*. *Vet. Parasitol.* 16, 207–214.
- Nuttall, G.H.F., 1915. Observations on the biology of Ixodidae. *Parasitology* 7, 408–456.
- Nuttall, P.A., Trimmell, A.R., Kazimirova, M., Labuda, M., 2006. Exposed and concealed antigens as vaccine targets for controlling ticks and tick-borne diseases. *Parasite Immunol.* 28, 155–163.
- Oliveira, P.R., Bechara, G.H., Denardi, S.E., Saito, K.C., Nunes, E.T., Szabó, M.P., Mathias, M.I., 2005. Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil and Argentina. *Vet. Parasitol.* 129, 139–147.
- Oliver Jr., J.H., 1989. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 20, 397–430.
- Olmeda-García, A.S., Rodríguez-Rodríguez, J.A., Rojo-Vázquez, F.A., 1993. Experimental transmission of *Dipetalonema dracunculoides* (Cobbold 1870) by *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806). *Vet. Parasitol.* 47, 339–342.
- Otranto, D., Lia, R.P., Cantacessi, C., Galli, G., Paradies, P., Mallia, E., Capelli, G., 2005. Efficacy of a combination of imidacloprid 10%/permethrin 50% versus fipronil 10%/(S)-methoprene 12%, against ticks in naturally infected dogs. *Vet. Parasitol.* 130, 293–304.
- Palmas, C., Bortoletti, G., Conchedda, M., Contini, C., Gabriele, F., Ecça, A.R., 2001. Study on immunobiology in ectoparasites of public health interest: *Rhipicephalus sanguineus*. *Parassitologia* 43, 29–35.
- Papadopoulos, B., Morel, P.C., Aeschlimann, A., 1996. Ticks of domestic animals in the Macedonia region of Greece. *Vet. Parasitol.* 63, 25–40.
- Parker, R.R., Philip, C.B., Jellison, W.L., 1933. Rocky Mountain spotted fever: potentialities of tick transmission in relation to geographical occurrence in the United States. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13, 341–379.
- Parker, R.J., Wilson, A.J., 1979. The experimental transmission of *Anaplasma marginale* by the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* in Australia. *Aust. Vet. J.* 55, 606.
- Parola, P., Raoult, D., 2001. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin. Infect. Dis.* 32, 897–928.
- Parola, P., Paddock, C.D., Raoult, D., 2005. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin. Microbiol. Rev.* 18, 719–756.
- Pegram, R.G., Clifford, C.M., Walker, J.B., Keirans, J.E., 1987a. Clarification of the *Rhipicephalus sanguineus* group (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). I. *R. sulcatus* Neumann, 1908 and *R. turanicus* Pomerantsev, 1936. *Syst. Parasitol.* 10, 3–26.
- Pegram, R.G., Keirans, J.E., Clifford, C.M., Walker, J.B., 1987b. Clarification of the *Rhipicephalus sanguineus* group (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). II. *R. sanguineus* (Latreille, 1806) and related species. *Syst. Parasitol.* 10, 27–44.
- Pegram, R.G., Zivkovic, D., Jongejan, J., 1989. Ticks (Acari ixodoidea) of the Yemen Arab Republic II. The *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) group. *Bull. Entomol. Res.* 79, 259–263.
- Petrova-Piontkovskaya, S.P., 1947. Comparative data on the biology of *Rhipicephalus sanguineus* Latr. and *Rhipicephalus turanicus* Pom. under laboratory conditions. *Zool. Zh.* 25, 173–176.
- Randolph, S.E., 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology* 129 (Suppl.), S37–S65.
- Raoult, D., Roux, V., 1997. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clin. Microbiol. Rev.* 10, 694–719.
- Regendanz, P., Muniz, J., 1936. O *Rhipicephalus sanguineus* como transmissor da piroplasmose canina no Brasil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 31, 81–84.
- Reis, R.C., Melo, D.R., Perinotto, W.M., Bittencourt, V.R., 2005. Patogenicidade in vitro de formulações fúngicas sobre ninfas e adultos de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol.* 14, 101–105.
- Ribeiro, J.M.C., 1995. Blood-feeding arthropods: live syringes or invertebrate pharmacologists? *Infect. Agents Dis.* 4, 143–152.
- Samish, M., Ginsberg, H., Glazer, I., 2004. Biological control of ticks. *Parasitology* 129 (Suppl.), S389–S403.
- Schenone, H., 1996. Diagnósticos hechos a 1.384 pacientes que consultaron por probable mordedura de arañas o picaduras de insectos. *Bol. Chil. Parasitol.* 51, 20–27.
- Sherlock, I.A., 1964. Nota sobre a transmissão da leishmaniose visceral no Brasil. *Rev. Bras. Malar. D. Trop.* 16, 19–26.
- Sen, S.K., 1933. The vector of canine piroplasmosis due to *Piroplasma gibsoni*. *Ind. J. Vet. Sci. Anim. Husband.* 3, 356–363.
- Seneviratna, P., Weerasinghe, N., Ariyadasa, S., 1973. Transmission of *Haemobartonella canis* by the dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Res. Vet. Sci.* 14, 112–114.

- Simpson, R.M., Gaunt, S.D., Hair, J.A., Kocan, K.M., Henk, W.G., Casey, H.W., 1991. Evaluation of *Rhipicephalus sanguineus* as a potential biologic vector of *Ehrlichia platys*. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1537–1541.
- Srivastava, S.C., Varma, M.G.R., 1964. The culture of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Ixodidae) in the laboratory. *J. Med. Entomol.* 1, 154–157.
- Szabó, M.P., Bechara, G.H., 1997. Immunisation of dogs and guinea pigs against *Rhipicephalus sanguineus* ticks using gut extract. *Vet. Parasitol.* 68, 283–294.
- Szabó, M.P., Bechara, G.H., 1999. Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pigs. *Exp. Appl. Acarol.* 23, 915–928.
- Szabó, M.P., Aoki, V.L., Sanches, F.P., Aquino, L.P., Garcia, M.V., Machado, R.Z., Bechara, G.H., 2003. Antibody and blood leukocyte response in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) tick-infested dogs and guinea pigs. *Vet. Parasitol.* 115, 49–59.
- Szabó, M.P., Mangold, A.J., Joao, C.F., Bechara, G.H., Guglielmone, A.A., 2005. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. *Vet. Parasitol.* 130, 131–140.
- Sweatman, G.K., 1967. Physical and biological factors affecting the longevity and oviposition of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks. *J. Parasitol.* 53, 432–445.
- Taylor, M.A., 2001. Recent developments in ectoparasitocides. *Vet. J.* 161, 253–268.
- Theis, J.H., Budwiser, P.D., 1974. *Rhipicephalus sanguineus*: sequential histopathology at the host–arthropod interface. *Exp. Parasitol.* 36, 77–105.
- Uspensky, I., Ioffe-Uspensky, I., 2002. The dog factor in brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) infestations in and near human dwellings. *Int. J. Med. Microbiol.* 291 (Suppl.), 156–163.
- Valenzuela, J.G., 2004. Exploring tick saliva: from biochemistry to ‘sialomes’ and functional genomics. *Parasitology* 129 (Suppl.), S83–S94.
- Venzal, J.M., Guglielmone, A.A., Estrada-Peña, A., Cabrera, P.A., Castro, O., 2003. Ticks (Ixodida: Ixodidae) parasitising humans in Uruguay. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 97, 769–772.
- Yoder, J.A., Benoit, J.B., Rellinger, E.J., Tank, J.L., 2006. Developmental profiles in tick water balance with a focus on the new Rocky Mountain spotted fever vector, *Rhipicephalus sanguineus*. *Med. Vet. Entomol.* 20, 365–372.
- Yoshizawa, M.A.C., Souza, J.L., Bredt, A., Baggio, D., 1996. Ectoparasitos de *Rattus norvegicus* no Distrito Federal, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 5, 39–42.
- Zahler, M., Filippova, N.A., Morel, P.C., Gothe, R., Rinder, H., 1997. Relationships between species of the *Rhipicephalus sanguineus* group: a molecular approach. *J. Parasitol.* 83, 302–306.
- Wallace, F.G., 1966. The trypanosomatid parasites of insects and arachnids. *Exp. Parasitol.* 18, 124–193.
- Wikswa, M.E., Hu, R., Metzger, M.E., Eremeeva, M.E., 2007. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from California. *J. Med. Entomol.* 44, 158–162.
- World Health Organization, 2006. Pesticides and their Application for the Control of Vectors and Pests of Public Health Importance, sixth edition. World Health Organization, Geneva, 114 pp.

APÊNDICE 2

Trabalho apresentado no VI International Conference on Ticks and Tick-borne Pathogens (Buenos Aires, 21-26 de setembro de 2008)



P 76

TI - INFECTION OF RHIPICEPHALUS SANGUINEUS BY LEISHMANIA INFANTUM SENSU LATO IN A BRAZILIAN AREA WHERE THE PRIMARY VECTOR LUTZOMYIA LONGIPALPIS IS ABSENT.

DANTAS-TORRES F, MELO FL, BRANDÃO-FILHO SF.

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães Fundação Oswaldo Cruz, Av Moraes Rego s/n, 50670420 Recife, PE, Brasil, e-mail: fdt@cpqam.fiocruz.br

The objective of this study is to report the natural infection of *Rhipicephalus sanguineus* (Parasitiformes, Ixodidae) ticks by *Leishmania infantum sensu lato* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in Brazil, in an area where the primary vector *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae) is absent. Four engorged adult female ticks were collected from a dog with naturally acquired visceral leishmaniasis, whose *Leishmania* infection was confirmed by isolation and characterization by multilocus enzyme electrophoresis and monoclonal antibodies. The ticks were taxonomically identified and then stored at -20°C, until DNA extraction. Total DNA was purified from each tick individually using either phenol-chloroform extraction (two ticks) or a commercial kit that involves use of spin-column technology (two ticks). The purified DNA from each tick was then tested by a PCR that targets a 145 base pairs DNA fragment of *Leishmania infantum* s.l. kinetoplast minicircles. All ticks tested were positive. Although cases of infection of *Rhipicephalus sanguineus* ticks by *Leishmania*-like parasites have been reported in the literature, this is the first molecular detection of natural infection of *Rhipicephalus sanguineus* ticks by *Leishmania infantum* s.l. in an area where the primary vector *Lutzomyia longipalpis* is absent, which reinforces the hypothesis that these ticks play a role in the transmission *Leishmania* parasites between dogs. Further studies are needed to access the role of *Rhipicephalus sanguineus* ticks in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis in Brazil.

(Acknowledgments: The first author is supported by a PhD scholarship from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior and this study was partially supported by the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco)

APÊNDICE 3

**Artigo aceito para publicação na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária
(ISSN-0103-846X)**

**ECTOPARASITE INFESTATION ON RURAL DOGS IN THE MUNICIPALITY OF
SÃO VICENTE FÉRRER, PERNAMBUCO, NORTHEASTERN BRAZIL**

**INFESTAÇÃO POR ECTOPARASITOS EM CÃES RURAIS NO MUNICÍPIO DE
SÃO VICENTE FÉRRER, PERNAMBUCO, NORDESTE DO BRASIL**

FILIPPE DANTAS-TORRES¹; MARCELA F. MELO², LUCIANA A. FIGUEREDO¹;
SINVAL P. BRANDÃO-FILHO³

¹Università degli Studi di Bari, Strada Provinciale per Casamassima km 3, 70010
Valenzano, Bari, Italia. E-mail: filipe.vet@globo.com

²Faculdade Mauricio de Nassau, Recife, PE, Brasil

³Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães-Fiocruz, Recife, PE, Brasil.

ABSTRACT

This article presents the results of a study on the ectoparasites infesting rural dogs in Pernambuco, northeastern Brazil. Fourth-one dogs from a rural community of Pernambuco were examined and 70.7% were infested by ectoparasites. The prevalence rates of infestation by ticks, fleas, and lice were 58.5, 43.9, and 22%, respectively. Of the 24 dogs parasitized by ticks, 15 were exclusively infested by *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (32 females, 66 males, 9 nymphs; prevalence, 48.8%; mean intensity, 5.4), four by *Amblyomma ovale* Koch (33 females, 19 males; prevalence, 22%; mean intensity, 5.8), and five were co-infested by both species. *Ctenocephalides felis felis* Bouché (25 females, 8 males; prevalence, 43.9%; mean intensity, 1.9) and *Heterodoxus spiniger* (Enderlein) (16 females, 11 males, 10 nymphs; prevalence, 22%; mean intensity, 4.1) were the only species of flea and louse identified. Tick infestation was more frequent than infestations by fleas or lice ($p < 0.05$). No statistical difference was found in relation to sex and age group of the

dogs and the prevalence of infestation. Overall, 48.8% (20/41) of the dogs were infested by more than one ectoparasite species.

KEY WORDS: Ixodida, Siphonaptera, Phthiraptera, dog, Brazil.

RESUMO

O presente artigo apresenta os resultados de um estudo sobre os ectoparasitos que infestam cães rurais em Pernambuco, Nordeste do Brasil. Quarenta e um cães de uma comunidade rural de Pernambuco foram examinados e 70,7% estavam infestados por ectoparasitos. As taxas de prevalência de infestação por carrapatos, pulgas e piolhos foram 58,5, 43,9 e 22%, respectivamente. Dos 24 cães parasitados por carrapatos, 15 estavam exclusivamente infestados por *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (32 fêmeas, 66 machos, 9 ninfas; prevalência, 48,8%; intensidade média, 5,4), quatro por *Amblyomma ovale* Koch (33 fêmeas, 19 machos; prevalência, 22%; intensidade média, 5,8), e cinco estavam co-infestados por ambas as espécies. *Ctenocephalides felis felis* Bouché (25 fêmeas, 8 machos; prevalência, 43,9%; intensidade média, 1,9) e *Heterodoxus spiniger* (Enderlein) (16 fêmeas, 11 machos, 10 ninfas; prevalência, 22%; intensidade média, 4,1) foram as únicas espécies de pulga e piolho identificadas. A infestação por carrapatos foi mais freqüente que as infestações por pulgas ou piolhos ($p < 0.05$). Não houve diferença estatística em relação ao sexo e grupo etário dos cães e a prevalência de infestação. No geral, 48,8% (20/41) dos cães estavam infestados por mais de uma espécie de ectoparasito.

PALAVRAS-CHAVE: Ixodida, Siphonaptera, Phthiraptera, cão, Brasil.

Ectoparasites are known to infest dogs, wherever they are in the world. Among the ectoparasites infesting dogs (e.g., ticks, fleas, and lice), ticks are the most important in terms of disease transmission. Ticks are also notable, because of their adaptability to live in a great variety of environmental conditions, being also capable of surviving for long periods of time without feeding (DANTAS-TORRES, 2008a). For example, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) is a known vector of several pathogens, including *Babesia vogeli* Reichenow, *Ehrlichia canis* (Donatien & Lestoquard), and *Rickettsia rickettsii* (Wolbach) (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO 2006; DANTAS-TORRES, 2007, 2008a). Moreover, cases of human parasitism by

Rh. sanguineus have been reported in Brazil (DANTAS-TORRES et al., 2006). Due to their significance, ectoparasites infesting dogs have been subject of a number of studies in Brazil (RODRIGUES et al., 2001; BELLATO et al., 2003; DANTAS-TORRES et al., 2004). Despite of this, the knowledge about the ectoparasites infesting dogs from rural areas in some regions is limited. The present article describes the results of a community-based study on the ectoparasites infesting rural dogs in Pernambuco, northeastern Brazil.

This study was carried out in a rural community ('Mundo Novo') located in the municipality of São Vicente Férrer (07°35'28" S, 35°29'29" W). This municipality belongs to the Agreste region of Pernambuco, but its environmental features are similar to that found in the Atlantic rain forest region (CARVALHO et al., 2007). From 2 to 6 June 2008, all but two dogs living in the aforementioned rural community were physically examined for the presence of ectoparasites. The two dogs that were not involved in this study ran away before immobilization and examination. No control measures against canine ectoparasites were being used in the community around the time of the survey. After manual collection, the ectoparasites were maintained in vials (individualized per animal) containing 70% ethanol. The identification of ectoparasites was carried out under stereomicroscope, using proper taxonomic keys (WERNECK, 1936; ARAGÃO; FONSECA, 1961a; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Whenever needed, fleas and lice were cleared in 10% potassium hydroxide, dehydrated in a series of ethanol washes, and then slide-mounted in Canada balsam. Abbreviations of tick genera are according to Dantas-Torres (2008b). Voucher specimens have been deposited in the National Tick Collection, University of São Paulo (accession numbers 1317, 1318) and the Instituto Butantan (accession numbers 9980, 9981). Statistical analysis was done using Epi Info software, version 6.04d (Center for Disease Control, Atlanta, USA, 2001). Chi-squared (χ^2) was used to compare the prevalence of infestation in relation to sex and age of the dogs. Differences were considered significant if P -value ≤ 0.05 . Sex ratio, prevalence, mean intensity, and mean abundance were calculated as described elsewhere (BUSH et al., 1997).

A total of 41 dogs (29 males and 12 females) were examined during the present study. These dogs had no defined breed and were semi-domiciled. The mean age of the dogs was 29.2 months (standard deviation [SD], 31.5; range 1–120). Out of the 41 dogs examined, 29 were infested by ectoparasites, corresponding to an overall

infestation prevalence rate of 70.7% (95% CI: 54.5–83.9). Within the group of infested dogs, the percentage of males was significantly higher than that of females ($\chi^2 = 15.52$, P -value = 0.000). Comparing the whole study population, the prevalence of infestation by ectoparasites was also higher among males (75.9%; 95% IC: 56.6–89.7) than females (58.3%; 95% IC: 27.7–84.7), but this difference was not statistically significant (Yates' corrected $\chi^2 = 0.56$, P -value = 0.456). The mean age of the infested dogs (mean age, 28.2 months; SD, 32.6) was lower than the non-infested dogs (mean age, 31.7, SD 29.8). The prevalence of ectoparasite infestation was higher among dogs ≤ 1 year (82.4%; 95% IC: 56.6–96.2) when compared to dogs >1 year (62.5%; 95% IC: 40.6–81.2). However, there was no significant difference in relation to age in the group of infested dogs ($\chi^2 = 0.07$, P -value = 0.792) or when it was compared with non-infested dogs (Yates' corrected $\chi^2 = 1.06$, P -value = 0.303).

The prevalence of tick infestation was 58.5% (95% CI: 42.1–73.7). Of the 24 dogs parasitized by ticks, 62.5% (95% CI: 40.6–81.2) were infested by *Rh. sanguineus*, 16.7% (95% CI: 4.7–37.4) by *Amblyomma ovale* Koch, and 20.8% (95% CI: 7.1–42.1) were co-infested by both species. *Ctenocephalides felis felis* (Bouché) and *Heterodoxus spiniger* (Enderlein) were the only species of flea and louse identified. Number of examined specimens, sex ratio, prevalence, mean intensity, and mean abundance for each ectoparasite species is shown in Table 1. Out of the 29 infested dogs, 20 (68.9%; 95% CI: 49.2–84.7) were infested by more than one ectoparasite species, which corresponds to a co-infestation prevalence rate of 48.8% (95% CI: 32.9–64.9). Nine dogs were co-infested by fleas + ticks, five by fleas + lice + ticks, three by two species of ticks, two by fleas + lice, and one by lice + ticks. The following ectoparasite associations (number of observations within brackets) were found: *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* (7); *Rh. sanguineus* + *Am. ovale* (3); *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* + *H. spiniger* (3); *C. felis felis* + *H. spiniger* (2); *C. felis felis* + *Am. ovale* (1); *Rh. sanguineus* + *H. spiniger* (1); *C. felis felis* + *H. spiniger* + *Am. ovale* (1); *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* + *Am. ovale* (1); *Rh. sanguineus* + *C. felis felis* + *H. spiniger* + *Am. ovale* (1).

The present study provides new data about the ectoparasites infesting rural dogs in northeastern Brazil. The percentage of males was much higher than that of females in the group of infested dogs, but this difference was not significant and can be attributed to characteristics of the studied population, which was predominately

composed by males. Similarly, most of the young dogs living in the studied rural community were infested by ectoparasites, suggesting that they are more susceptible to and/or more exposed to ectoparasites, but no significant difference was found in relation to age.

The prevalence rate, sex ratio, mean intensity, and mean abundance for each ectoparasite species identified during the present study may vary widely from region to region and according to the characteristics of the study population (e.g., rural versus urban dogs) (RODRIGUES et al., 2001; SOARES et al., 2006). For instance, in a study conducted in rural farms in northern Brazil, *Rh. sanguineus* was not found and the mean intensity of infestation by *Am. ovale* was about 1.3 (eight ticks on six dogs) (LABRUNA et al., 2000). In the present study, *Rh. sanguineus* was the most common ectoparasite on rural dogs and the mean intensity of infestation by *Am. ovale* was 5.8 (52 ticks on nine dogs). These studies are difficult to compare because they differ in some aspects (e.g., sample size). In spite of this, it would be expected that *Am. ovale* would be more common in eastern Brazilian Amazon rather than in the Agreste of Pernambuco. New studies on the seasonality of *Am. ovale* would be helpful to clarify this question and also to better understand why no larvae of *Rh. sanguineus* and *Am. ovale* and no nymphs of the later species were found during the present study.

Similar to what was found in a previous study conducted in an urban area in Pernambuco (DANTAS-TORRES et al., 2004), *Rh. sanguineus* was the most common ectoparasite associated with rural dogs. But in contrast to what was found in the urban area, rural dogs were also infested by *Am. ovale* which was found to be a common ectoparasite in the studied area. This tick is a common parasite of wild carnivores and rural dogs (ARAGÃO; FONSECA 1961b; LABRUNA et al., 2000) and has been implicated in the transmission of *Hepatozoon canis* (James) in Brazil (FORLANO et al., 2005). Furthermore, *Am. ovale* is known to infest humans (LABRUNA et al., 2005).

The present study showed that the prevalence of *H. spiniger* infestation appears to be much higher on rural dogs when compared to urban ones (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO, 2007). Worthy of note, *Trichodectes canis* (Degeer), a common dog louse, was not identified in this study. One of us (F.D-T) has found *T. canis* on a dog from a neighboring rural community in the municipality of Vicência. Further collections are needed to confirm whether *T. canis* is present in São Vicente Férrer.

This study also revealed a high prevalence of *C. felis felis* infestation on rural dogs from Pernambuco. In a previous study carried out in the metropolitan region of Recife, the prevalence of *C. felis felis* infestation was around 5% (DANTAS-TORRES et al., 2004). In part, the high prevalence of ectoparasite infestation on rural dogs is expected, because most people living in rural areas cannot afford the costs of ectoparasite control. Other factors might contribute for this high prevalence, including dogs' lifestyle (e.g., rural dogs are often semi-domiciled and have free access to forested areas, being thus more exposed to ectoparasites). The present results indicate that dogs from São Vicente Férrer are potentially exposed to vector-borne pathogens. Interestingly, canine visceral leishmaniasis is endemic in São Vicente Férrer, but the presence of *Lutzomyia longipalpis* has not been confirmed (CARVALHO et al., 2007). Moreover, *Leishmania*-like forms have been noticed in *Rh. sanguineus* ticks collected from dogs living in this municipality (SILVA et al., 2007). Further studies to assess the prevalence and diversity of vector-borne pathogens infecting dogs from São Vicente Férrer are advocated.

Acknowledgments:- The authors thank Fernando J. da Silva and Amilton Lopes for their help during tick collection.

REFERENCES

- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia VIII. Lista e chave para representantes da fauna Ixodológica Brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 2, p. 115-129, 1961a.
- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. IX. O complexo *ovale* do gênero *Amblyomma*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 2, p. 131-148, 1961b.
- BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; SOUZA, A. P.; RAMOS, B. C. Ectoparasitos em caninos do município de Lages, Santa Catarina, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 3, p. 95-98, 2003.
- BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.
- CARVALHO, M. R.; LIMA, B. S.; MARINHO-JÚNIOR, J. F.; SILVA, F. J.; VALENÇA, H. F.; ALMEIDA, F. A.; SILVA, A. L.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Phlebotomine

- sandfly species from an American visceral leishmaniasis area in the Northern Rainforest region of Pernambuco State, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 23, n. 5, p. 1227-1232, 2007.
- DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. *Lancet Infectious Diseases*, v. 7, n. 11, p. 724-732, 2007.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, v. 152, n. 3-4, p. 173-185, 2008a.
- DANTAS-TORRES, F. Towards the standardization of the abbreviations of genus names of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). *Veterinary Parasitology*, v. 154, n. 1-2, p. 94-97, 2008b.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. Canine babesiosis: A Brazilian perspective. *Veterinary Parasitology*, v. 141, n. 3-4, p. 197-203, 2006.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A. *Heterodoxus spiniger* (Enderlein, 1909) on domestic dogs (*Canis familiaris*, L. 1758) from the city of Recife, Pernambuco State, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 44, n. 2, p. 77-80, 2007.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 39, n. 1, p. 64-67, 2006.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; FAUSTINO, M. A. G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 4, p. 151-154, 2004.
- FORLANO, M.; SCOFIELD, A.; ELISEI, C.; FERNANDES, K. R.; EWING, S. A.; MASSARD, C. L. Diagnosis of *Hepatozoon* spp. in *Amblyomma ovale* and its experimental transmission in domestic dogs in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 134, n. 1-2, p. 1-7, 2005.
- LABRUNA, M. B.; HOMEM, V. S.; HEINEMANN, M. B.; FERREIRA NETO, J. S. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Uruará, eastern Amazon, Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 37, n. 5, p. 774-776, 2000.
- LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; TERRASSINI, F. A.; FERREIRA, F.; SCHUMAKER, T. T. S.; CAMARGO, E. P. Ticks (Acari: Ixodidae) from the State

- of Rondônia, western Amazon, Brazil. *Systematic and Applied Acarology*, v. 10, n. 1, p. 17-32, 2005.
- LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. *Sifonápteros do Brasil*. São Paulo: Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, 2000. 291 p.
- RODRIGUES, A. F. S. F.; DAEMON, E.; D'AGOSTO, M. Investigação sobre alguns ectoparasitos em cães de rua no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 1, p. 13-19, 2001.
- SILVA, O. A.; SILVA, P. B.; SILVA, O. V.; BRAGA, G. M.; ALBUQUERQUE JÚNIOR, A.; QUEIROS NETO, V.; ROCHA, M. E.; SILVA, E. F. La leishmaniose viscérale canine dans le Nord-Est du Brésil: aspects épidémiologiques. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, v. 100, n. 1, p. 49-50, 2007.
- SOARES, A. O.; SOUZA, A. D.; FELICIANO, E. A.; RODRIGUES, A. F. S. F.; D'AGOSTO, M.; DAEMON, E. Avaliação ectoparasitológica e hemoparasitológica em cães criados em apartamentos e casas com quintal na cidade de Juiz de Fora, MG. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 1, p. 13-16, 2006.
- WERNECK, F. L. Contribuição ao conhecimento dos Mallophagos encontrados nos mamíferos sulamericanos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 31, n. 3, p. 391-589, 1936.

Table 1. Ectoparasites (n=229) found on dogs (n=29) from a rural community located in Pernambuco, northeastern Brazil, on 2–6 June 2008.

Ectoparasite species	♀	♂	Nymphs	Sex ratio (♀:♂)	Infested dogs	Prevalence (95% CI)	Mean	
							intensity ^a ± SD	abundance ^b ± SD
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	32	66	9	1:2.1	20	48.8 (32.9–64.9)	5.4 ± 4.5	2.6 ± 4.1
<i>Heterodoxus spiniger</i>	16	11	10	1.5:1	9	22.0 (10.6–37.6)	4.1 ± 3.4	0.9 ± 2.3
<i>Amblyomma ovale</i>	33	19	0	1.7:1	9	22.0 (10.6–37.6)	5.8 ± 5.7	1.3 ± 3.5
<i>Ctenocephalides felis felis</i>	25	8	0	3.1:1	18	43.9 (28.5–60.3)	1.9 ± 1.3	0.8 ± 1.3

^a Number of ectoparasites per number of infested dogs.

^b Number of ectoparasites per number of examined dogs.