

## **Avaliação *in vitro* do efeito acaricida do extrato etanólico das folhas de *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae) sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)**

**Daiane de Sousa Estrela<sup>1</sup>, Raylson Pereira de Oliveira<sup>2</sup>, Jeane Gomes de Matos<sup>1</sup>, Dulcilany Pereira Cardoso<sup>3</sup>, Paulo Franklin Pereira de Sousa<sup>4</sup>, João Sammy Nery de Souza<sup>5</sup>, Pollyana Oliveira da Silva<sup>6</sup>, Janylla Mirck Guerra de Oliveira<sup>7</sup>, Márcia Paula Oliveira Farias<sup>7\*</sup>**

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária pela Universidade Federal do Piauí, Campus professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus, Piauí, Brasil. E-mail: [dayane-sousa-estrela@hotmail.com](mailto:dayane-sousa-estrela@hotmail.com) [jeanegomesdematos@gmail.com](mailto:jeanegomesdematos@gmail.com)

<sup>2</sup>Residente em Medicina Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, Campus Recife, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, Pernambuco, Brasil. E-mail: [raylson.oliveira@hotmail.com.br](mailto:raylson.oliveira@hotmail.com.br)

<sup>3</sup>Médica Veterinária autônoma, Bom Jesus, Piauí, Brasil. E-mail: [dulcy\\_pc@hotmail.com](mailto:dulcy_pc@hotmail.com)

<sup>4</sup>Graduando em Engenharia Florestal pela Universidade Federal do Piauí, Campus professora Cinobelina Elvas, Bom Jesus, Piauí, Brasil. E-mail: [pauloflankin@gmail.com](mailto:pauloflankin@gmail.com)

<sup>5</sup>Docente da Universidade Federal do Piauí, Campus professora Cinobelina Elvas, Curso de Ciências Biológicas, Bom Jesus, Piauí, Brasil. [sammyneri@ufpi.edu.br](mailto:sammyneri@ufpi.edu.br)

<sup>6</sup>Docente da Universidade Federal do Piauí, Campus professora Cinobelina Elvas, Curso de Zootecnia, Bom Jesus, Piauí, Brasil. E-mail: [pollyanaodasilva@hotmail.com](mailto:pollyanaodasilva@hotmail.com)

<sup>7</sup>Docente da Universidade Federal do Piauí, Campus professora Cinobelina Elvas, Curso de Medicina Veterinária, Bom Jesus, Piauí, Brasil. E-mail: [myllamirck@hotmail.com](mailto:myllamirck@hotmail.com)

\*autor para correspondência [marciapbo@gmail.com](mailto:marciapbo@gmail.com)

**RESUMO.** O objetivo deste estudo foi avaliar “*in vitro*” o efeito acaricida do extrato etanólico das folhas de *Hyptis suaveolens* sobre fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. Foram coletadas manualmente, 150 fêmeas ingurgitadas de carrapatos, de cães naturalmente infestados, da microrregião de Bom Jesus-PI, Brasil. Para realização do teste de imersão sobre fêmeas ingurgitadas, foram testadas 3 diluições do extrato etanólico nas concentrações de 0.1, 1.0 e 10.0%, obtidas a partir do teste de toxicidade frente a *Artemia salina*. Foram utilizadas 10 fêmeas ingurgitadas para cada tratamento. Os testes foram realizados em triplicata. Para o controle negativo, foi utilizado água destilada e, para o controle positivo, Cypermetrina. Foi observado, nas concentrações testadas, eficácia de 29,93%, 32,71%, e 30,63% respectivamente. Os dados obtidos nesse estudo revelaram que o extrato etanólico das folhas de *H. suaveolens*, nas concentrações testadas, não apresenta atividade acaricida para fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus*, segundo padrões do Ministério da Agricultura.

**Palavras chave:** Carrapatos, controle, medicina veterinária preventiva

## ***In vitro* evaluation of the acaricidal effect of ethanolic extract of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae) leaves on engorged females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)**

**ABSTRACT.** The objective of this study was to evaluate the acaricidal effect *in vitro* of the ethanolic extract of *Hyptis suaveolens* leaves on engorged females of *Rhipicephalus sanguineus*. A total of 150 engorged females ticks were collected manually from dogs naturally infested in Bom Jesus-PI, Brazil. To perform the immersion test on engorged females, 3

dilutions of the ethanolic extract were tested at concentrations of 0.1, 1.0 and 10.0%, obtained from the toxicity test against *Artemia salina*. Ten engorged females were used for each treatment. The tests were performed in triplicate. For the negative control, distilled water was used and, for the positive control, was used Cypermethrin. Efficacy of 29.93%, 32.71%, and 30.63%, respectively, were observed at the tested concentrations. The data obtained in this study revealed that the ethanolic extract of the leaves of *H. suaveolens* in the tested concentrations does not presents acaricidal activity for females of *Rhipicephalus sanguineus*, according to standards of the Ministry of Agriculture.

**Keywords:** Ticks, control, preventive veterinary medicine

## ***Evaluación in vitro del efecto acaricida del extracto de hojas de Hyptis suaveolens (L.) Poit (Lamiaceae) sobre las hembras ingurgitadas de Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)***

**RESUMEN.** El objetivo de este estudio fue evaluar "in vitro" el efecto acaricida del extracto de las hojas de *Hyptis suaveolens* sobre *Rhipicephalus sanguineus*. Fueron colectadas manualmente, 150 garrapatas (hembras ingurgitadas), de perros naturalmente infestados, procedentes de la microrregión de Bom Jesus estado de Piauí, Brasil. Para la realizar la prueba de inmersión sobre las hembras ingurgitadas, fueron testadas tres diluciones etanólicas en concentraciones de 0.1, 1.0 y 10.0%, obtenidas a partir del test de toxicidad frente a *Artemia salina*. Se utilizaron 10 hembras ingurgitadas para cada tratamiento. Los test se realizaron en triplicado. Para el control negativo, se utilizó agua destilada y para el control positivo, Cypermetrina. Fue observado, en las concentraciones testadas, eficacia de 29,93%, 32,71%, y 30,63% respectivamente. Los datos obtenidos en este estudio revelan que el extracto de las hojas *H. suaveolens*, en las concentraciones testadas, no presenta actividad acaricida para las hembras *Rhipicephalus sanguineus*, teniendo en cuenta patrones del Ministerio de Agricultura.

**Palabras clave:** garrapatas, control, medicina veterinaria preventiva

### **Introdução**

*Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) é um carrapato da família Ixodidae, tem origem africana, sendo um dos principais ectoparasitos de cães. Apresenta ampla distribuição nos ambientes urbanos e rurais e é classificado como um dos principais vetores de patógenos para cães domésticos (Labruna, 2004).

Nas últimas décadas, tanto a prevalência quanto a intensidade de infestações por carrapatos em cães vêm aumentando em todo território brasileiro (Labruna, 2004). Muito embora haja vários relatos de parasitismo por *R. sanguineus* em várias espécies animal em diferentes regiões geográficas, o cão doméstico, sem dúvida, é o principal hospedeiro para todos os estágios parasitários desse carrapato (Walker et al., 2005).

Eventualmente esse parasita pode ser visto parasitando o homem devido à sua estreita ligação

com o cão. Contudo, esse carrapato tornou-se de grande importância para a saúde pública, pois embora seja um parasitismo incomum, tem a capacidade de transmitir uma série de agentes patogênicos para o homem (Dantas-Torres et al., 2006).

Atualmente, a resistência parasitária pelo uso indiscriminado de substâncias carrapaticidas vem gerando graves prejuízos a criadores de cães e até mesmo médicos veterinários pelo uso incorreto desses carrapaticidas, além de contaminações ambientais e de risco à saúde animal e humana. Esses prejuízos se estendem ao tratamento e controle de enfermidades que tem o *R. sanguineus* como vetor de hemoparasitas como a *Ehrlichia canis*, *Babesia canis*, *Haemobartonella canis*, *Hepatozoon canis* e *Anaplasma platys* (Paz et al., 2008, Farias et al., 2009). No Brasil, não há relatos de resistência a grupos farmacológicos por *R. sanguineus*, mas com o uso indiscriminado desses,

possivelmente a resistência pode já estar instalada, ou futuramente, fazendo necessário testes com novas drogas, com finalidade de identificar grupos farmacológicos aos quais os carrapatos sejam sensíveis, e seguindo esse contexto vem sendo realizado testes com princípios ativos de plantas, para o controle desse ectoparasita ([Chagas, 2004](#)).

A fitoterapia, que é um ramo da farmacologia que tem como base estudos de princípios ativos de plantas, vem sendo uma alternativa de baixo custo para o controle desses parasitos, tendo em vista a grande biodiversidade brasileira ([Rezende and Cocco, 2002](#)).

Diante do exposto, esse trabalho foi desenvolvido com objetivo de avaliar “*in vitro*” a atividade acaricida do extrato etanólico das folhas de *Hyptis suaveolens* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*.

## Material e Métodos

### *Coleta de material e preparo do extrato*

As folhas de *H. suaveolens* foram coletadas nas margens da rodovia que liga o município de Bom Jesus Piauí ao *Campus* Professora Cinobelina Elvas (CPCE), e levadas posteriormente ao laboratório de química orgânica. A exsicata da planta foi identificada e armazenada no “Herbário Graziela Barroso” – TEPB/UFPI, com registro de nº 28.826. No laboratório, as folhas foram secas por 8 dias em estufa com temperatura de 37°, e circulação de ar. Em seguida foram trituradas em moinho de facas tipo Willye, modelo SL-032, e submetidas à extração a frio com etanol absoluto 99,5% por 72 h. A solução foi agitada diariamente durante o período de extração. O extrato foi filtrado em papel de filtro e destilado à temperatura de 60°C, sob pressão reduzida de 500 a 750 mmHg, em evaporador rotativo, modelo 802. O material concentrado foi liofilizado para o uso.

### *Bioensaio de toxicidade frente à Artemia salina*

Para a obtenção e escolha das concentrações a serem utilizadas no teste de eficiência acaricida foi realizado um bioensaio preliminar de toxicidade frente à *A. salina* como descrito por [Meyer et al. \(1982\)](#) com algumas adaptações. Com o auxílio de uma pipeta de *Pasteur* foram transferidos 10 náuplios do microcrustáceo para cada tubo de ensaio e o volume foi então completado para 9,0 ml da

solução salina previamente preparada (água do mar artificial). Foi adicionado, em seguida, 1,0 ml do extrato etanólico das folhas de *H. suaveolens* em diferentes concentrações (0,1; 1,0; 10,0; 100,0 e 1000,0 µg/ml). O teste foi realizado em triplicata para cada concentração do extrato etanólico de *Hyptis suaveolens*. Para o controle negativo foi adicionado apenas 10 náuplios em 10,0 ml de água marinha artificial, também em triplicata, totalizando 18 tubos no teste. Após 24 horas da realização do teste, foi realizada a observação com o auxílio de uma lupa, sendo considerados náuplios mortos todos que não apresentavam qualquer movimento ativo em cerca de vinte segundos de observação.

### *Teste de eficácia acaricida “in vitro”*

Para avaliação “*in vitro*” da atividade acaricida do extrato etanólico das folhas de *H. suaveolens*, foram coletadas manualmente 150 fêmeas ingurgitadas do carrapato da espécie *R. sanguineus*, provenientes de cães naturalmente infestados, os quais, a mais de 90 dias, não passavam por tratamento acaricida, sendo esses cães pertencentes à microrregião da cidade de Bom Jesus, Piauí. Após coleta, os carrapatos foram levados ao Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Professora Cinobelina Elvas, em recipientes plásticos sob aeração com o auxílio de aerador para aquários. As fêmeas foram limpas com papel absorvente, pesadas e colocadas em placas de *Petri*, divididas em grupos de 10. Os testes foram realizados em triplicata, totalizando 30 fêmeas por grupo. Foram preparadas três diluições do extrato etanólico das folhas de *H. suaveolens*, utilizando concentrações obtidas após teste de toxicidade frente à *A. salina*. As concentrações do extrato utilizadas foram: 0,1% (grupo 1), 1,0% (grupo 2) e 10% (grupo 3) devido a toxicidade encontrada no teste com *A. salina* ser bem semelhante entre essas concentrações, além do controle positivo (CP) em que foi utilizado um medicamento de uso veterinário, a Cypermetrina, e controle negativo (CN), utilizando água destilada. Em seguida as fêmeas foram submetidas ao teste de imersão de acordo com a metodologia proposta por [Drummond et al. \(1973\)](#).

Utilizou-se no momento do teste, copos plásticos descartáveis de 50 ml contendo 10 ml de cada concentração do extrato, bem como dos controles utilizados, mantendo-se o líquido em constante

agitação durante 5 minutos. Após o banho de imersão, o excesso das soluções foi retirado usando-se papel absorvente, e as fêmeas de cada grupo testado foram colocadas em placas de Petri em temperatura ambiente para postura.

Dez dias após o início de postura das fêmeas, procedeu-se a pesagem de massa de ovos em balança analítica, e transferência desses ovos para seringas plásticas de 20 ml, todas identificadas e vedadas com algodão hidrofóbico para eclosão das larvas. Após 20 dias, foi realizada a contagem descritiva para avaliação da quantidade de eclosão, onde foi estimado objetivamente, adotando-se a verificação visual com intervalos de 10% como parâmetro.

O cálculo da eficácia do produto foi realizado usando-se as fórmulas matemáticas abaixo descritas (Drummond et al., 1973).

RE = Reprodução estimada

$$RE = \frac{\text{Peso dos ovos} \times \% \text{ de eclosão} \times 20.000^*}{\text{Peso das fêmeas}}$$

EP = Eficácia do produto

\*Constante que indica o número de ovos presentes em 1g de postura

$$EP = \frac{RE(\text{controle}) - RE(\text{tratado})}{RE(\text{controle})} \times 100$$

Os dados obtidos foram interpretados de acordo com a legislação pertinente à comercialização de carrapaticidas no Brasil e os resultados foram interpretados considerando-se como eficácia acaricida o valor mínimo de 95%.

#### Análise estatística

Os dados foram tabulados e a quantidade de náuplios mortos de acordo com as concentrações do extrato etanólico de *H. suaveolens* (L) Poit (Lamiaceae) foi determinada estatisticamente por meio de análise de variância (ANOVA) pelo programa estatístico Statistical Analysis System (SAS), versão 9.1 (SAS, 2004), a comparação entre as médias foi realizada pelo teste Tukey considerando como significativo quando  $p \leq 0,05$ .

#### Resultados e Discussão

O extrato etanólico das folhas de *Hyptis suaveolens* apresentou toxicidade frente à *Artemia salina* em todas as concentrações testadas, sendo

identificada uma alta toxicidade para as concentrações 100 e 1000 ( $\mu\text{g/ml}$ ), nas porcentagens de 93,5 e 100% respectivamente. Em relação às concentrações 0,1; 1,0 e 10,0 também não houve uma alta variação entre as médias de náuplios mortos, observando as porcentagens das médias da concentração 0,1 ( $\mu\text{g/ml}$ ), apresentou toxicidade de 50,2%, a concentração 1,0 ( $\mu\text{g/ml}$ ), 52,25% e a concentração de 10,0 ( $\mu\text{g/ml}$ ), foi equivalente a 58,50% (Tabela 1).

**Tabela 1.** Mortalidade média de náuplios de *Artemia salina* de acordo com as concentrações do extrato etanólico das folhas de *Hyptis suaveolens*

Concentração do extrato etanólico de <i>H. suaveolens</i> , $\mu\text{g/ml}$	Média de náuplios mortos, %	Desvio Padrão
0 (controle)	23.10 <sup>c</sup>	± 6,92
0,1	50.27 <sup>b</sup>	± 10,20
1,0	52.36 <sup>b</sup>	± 4,64
10,0	58.50 <sup>b</sup>	± 8,60
100,0	93.47 <sup>a</sup>	± 6,27
1000,0	100.00 <sup>a</sup>	0

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si (ANOVA *One-Way*, seguida pelo Teste de Tukey ao nível considerado como significativo quando  $p \leq 0,05$ ).

Observou-se que o extrato etanólico das folhas e *H. suaveolens* não apresentou atividade acaricida frente às fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Eficácia acaricida do extrato etanólico das folhas e *Hyptis suaveolens* frente às fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)

Concentração	Número de teleóginas	Eclosão das larvas, %	RIE	EP, %
CN	30	100%	144,16	-
CP	30	98,33	46,3	67,88
0,1%	30	100	100	29,93
1,0%	30	96,6	97	32,71
10,0%	30	96,6	100	30,63

CN – Água destilada (controle negativo); CP – Controle positivo; RIE – índice de eficiência reprodutiva; EP – eficácia do produto.

As fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* submetidas ao banho de imersão na concentração 0,1% do extrato apresentaram o maior índice de eficiência reprodutiva e uma alta porcentagem de eclosão das larvas chegando a 100%, sendo observado uma menor eficácia do produto nessa concentração. Quando comparado a estudos como

de [Fernandes et al. \(2010\)](#), em que os mesmos utilizaram óleo essencial do NIM (*Azadirachta indica*) sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*, na menor concentração do seu estudo (2%) a eficiência do produto foi menor em relação a concentração de 0,1% do extrato etanólico de *H. suaveolens*, sendo esse um bom indicativo para futuros testes com o óleo essencial da mesma.

A concentração 1,0% apresentou a maior eficácia acaricida em relação às outras concentrações, chegando a 32,7%, sendo superior a concentração de 10%, pois o que diferiu no teste de eficiência acaricida foram só as concentrações testadas, o mesmo pode ser observado no estudo de [Andrade et al. \(2013\)](#), em relação aos extrato obtido de Capim Santo nas concentrações de 2,5%, 5,0% e 10%, que apresentaram eficácia de 90,0%, 43,5%, e 72,1%, respectivamente, em que a menor concentração (2,5%) no referido estudo apresentou maior efeito acaricida sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*. Foi possível observar no presente estudo que o controle positivo (Cypemetrina) obteve uma baixa eficácia do produto chegando a 67,9%, já apresentando uma resistência do *R. sanguineus* ao uso do medicamento. A organização mundial para alimentos e agricultura, preconiza como 80% de eficácia um excelente resultado.

As plantas da família Lamiaceae são de grande importância econômica graças ao seu alto teor de óleos essenciais aromáticos, sendo que *H. suaveolens*, pertencente a essa família, apresenta em sua composição química, compostos com atividade biológica já comprovada ([Falcão and Menezes, 2003](#)).

[Moreira et al. \(2010\)](#) relatam o uso do óleo extraídos das folhas de *H. suaveolens*, que revelou uma forte atividade antifúngica, inibindo o crescimento de alguns *Aspergillus*, o que demonstrar que este tem um potencial terapêutico.

O fato do extrato etanólico das folhas de *H. suaveolens* apresentar baixa eficácia carrapaticida e alta atividade fungicida pode ser explicada devido à o mecanismo de ação de algumas substâncias presente no extrato, onde essas substâncias só seriam ativadas com a ingestão da mesma pelos carrapatos o que tornaria a metodologia inadequada para a avaliação da atividade acaricida frente às fêmeas ingurgitadas ([Castro et al., 2011](#)).

## Conclusão

O extrato etanólico das folhas de *H. suaveolens* sobre fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* não apresentou atividade acaricida satisfatória nas concentrações testadas, um posterior estudo pode ser realizado usando concentrações superiores em relação ao presente estudo. Tendo este estudo relevância na pesquisa de fitoterápicos com ação frente ao *R. sanguineus*, já que existe poucos relatos na literatura sobre o uso de fitoterápicos no controle do mesmo.

## Referências Bibliográficas

- Andrade, A. W. F., Soares, G. W. N., Bezerra, T. I. C., Souza, M. G., Silva, F. M. F. M., Almeida, J. R. G. S. & Horta, M. C. 2013. Avaliação da eficácia de extratos vegetais no controle do *Rhipicephalus sanguineus* provenientes do município de Juazeiro, Bahia. *Evolvere Scientia*, 2, 1-8.
- Castro, K. N. C., Vasconcelos, L., Costa, J. V., Santos, R. C., Andrade, I. M. & Ribeiro, V. Q. 2011. Extratos vegetais no controle in vitro do carrapato dos bovinos. *Embrapa Meio-Norte- Artigo em anais de congresso (ALICE)*. Cadernos de Agroecologia, Cruz Alta, Rio Grande do Sul.
- Chagas, A. C. S. 2004. Controle de parasitas utilizando extratos vegetais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 13, 156-160.
- Dantas-Torres, F., Figueredo, L. A. & Brandão-Filho, S. P. 2006. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39, 64-67.
- Drummond, R. O., Ernst, S. E., Trevino, J. L., Gladney, W. J. & Graham, O. H. 1973. *Boophilus annulatus* and *B. microplus*: Laboratory Tests of Insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 66, 130-133.
- Falcão, D. Q. & Menezes, F. S. 2003. Revisão etnofarmacológica, farmacológica e química do gênero Hyptis. *Revista Brasileira de Farmácia*, 84, 69-74.
- Farias, M. P. O., Arruda, A. C., Faustino, M. A. G., Teixeira, W. C., Sousa, D. P., Wanderley, A. G. & Alves, L. C. 2009. Potencial acaricida do óleo de andiroba *Carapa guianensis* Aubl. sobre

- fêmeas adultas ingurgitadas de *Anocentor nitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 61, 877-882.
- Fernandes, J. I., Correia, T. R., Ribeiro, F. A., Cid, Y. P., Tavares, P. V. & Scott, F. B. 2010. Eficácia in vitro do nim (*Azadirachta indica*) no controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 32, 64-68.
- Labruna, M. B. 2004. Biologia-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia e Veterinária*, 13, 123-124.
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E. j. & McLaughlin, J. L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Médica*, 45, 31-34.
- Moreira, A. C. P., Lima, E. O., Wanderley, P. A., Carmo, E. S. & Souza, E. L. 2010. Chemical composition and antifungal activity of *Hyptis suaveolens* (L.) poit leaves essential oil against *Aspergillus* species. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 28-33.
- Paz, G. F., Leite, R. C. & Oliveira, P. R. 2008. Controle de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae) no canil da escola de veterinária da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia e Veterinária*, 17, 41-44.
- Rezende, H. A. & Cocco, M. I. M. 2002. A utilização de fitoterapia no cotidiano de uma população rural. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, 36, 282-288.
- SAS. 2004. *SAS/STAT User guide, Version 9.1.2*. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA.
- Walker, J. B., Keirans, J. E. & Horak, I. G. 2005. *The genus Rhipicephalus (Acari, Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world*. Cambridge University Press, London.

**Article History:**

Received 14 April 2017

Accepted 16 May 2017

Available on line 1 August 2017

**License information:** This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.