

T 636.089 69

R. 6966

2002

Daniel Sobreira Rodrigues



**BIOLOGIA DE *Amblyomma rotundatum* KOCH, 1844 (ACARI: IXODIDAE)
PARASITANDO TRÊS GÊNEROS DE OFÍDIOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira

Belo Horizonte
UFMG – Escola de Veterinária
2002

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

23/09/02

1707802-04

0337-24460

R696b
2002

Rodrigues, Daniel Sobreira, 1974-

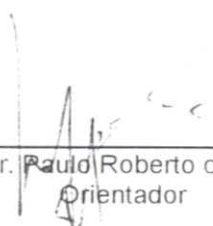
Biologia de *Amblyomma rotundatum* Koch, (Acari: Ixodidae) parasitando três gêneros de ofídios no Brasil / Daniel Sobreira Rodrigues. -Belo Horizonte: UFMG-Escola de Veterinária, 2002. 47p. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária

1. Carrapato - Evolução - Teses. 2. Carrapato como transmissor de doenças - Teses. 3. Cobra - Parasito - Teses. I. Título.

CDD - 636.089 696 8

Dissertação defendida e aprovada em 24 de junho de 2002 pela Comissão Examinadora constituída por:



Prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira
Orientador



Prof. Dr. Marcelo Bahia Lábruna



Dra. Cristina Marques Lisboa Lopes



Prof. Dr. Romário Cerqueira Leite



Prof. Dr. José Oswaldo Costa

À Joana, minha mulher e à nossa vida, nossos bichos, nossas plantas, nossa casa (onde quer que ela esteja). Ao "Cajú", com muita saudade. Aos meus pais Ricardo e Edna, e aos meus irmãos, Felipe e Mariana, pessoas que eu amo muito e que estão sempre muito presentes apesar da distância. Em memória de Henrique Beaurepaire Aragão, pela surpreendente dedicação e contribuição à ciência, além da inspiração para o estudo.

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Paulo Roberto de Oliveira (Paulinho), meu amigo e orientador, uma pessoa abençoada para quem as palavras não conseguem demonstrar a dimensão da gratidão e da admiração que sinto.

Ao Dr. Zenón Baptista Rodriguez, por ser um grande pesquisador, democrático, avesso ao preconceito e ao comodismo, um cara muito bacana que me apresentou com entusiasmo à atividade de pesquisa.

Ao prof. Dr. Romário Cerqueira Leite, pelo apoio, por dividir conosco a sua experiência e contribuir com a elaboração deste trabalho.

A Ricardo Maciel, pela grande ajuda, credibilidade, disponibilidade e apoio, fundamentais para a realização deste estudo.

Ao Veterinário Carlos Eduardo S. Goulart, pelo entusiasmo, disponibilidade e grande contribuição à idealização e realização do projeto, especialmente à metodologia utilizada.

A todos os estagiários: Vanessa, Dudu, Igor (Japa), Maura, Carol e Marquinho do D.A.

Ao prof. Israel, André, Dona Sônia, Ricardo Canesso, Nádia, Nilda, Jorge, Júnia, Toninho, Luciana e Renata, pelo apoio e por tornar o nosso dia a dia dentro da escola mais leve, mais alegre.

Aos meus amigos Pinel, Voica, Tots, Salim, Henrique, Bruno, Goiaba, Cabelo, Fabiano, Guto, e Lazanha, pela ajuda, e a todos que se envolveram de forma direta ou indireta demonstrando confiança.

A FEP-MVZ, a FAPEMIG e em especial a FUNED-Fundação Ezequiel Dias, pela viabilização do projeto.

SUMÁRIO

	RESUMO	11
	ABSTRACT	11
1.	INTRODUÇÃO	13
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1	O ESTUDO DA BIOLOGIA DE <i>Amblyomma rotundatum</i>	14
2.1.1	HISTÓRIA	14
2.1.2	IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE	15
2.1.3	CICLO BIOLÓGICO	16
3	MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1	ESTABELECIMENTO DA COLÔNIA EM LABORATÓRIO	17
3.2	INCUBAÇÃO DOS ESTÁDIOS NÃO PARASITÁRIOS	17
3.3	MANUTENÇÃO DE OFÍDIOS EM CATIVEIRO	17
3.3.1	AMBIENTE EXPERIMENTAL	18
3.3.2	ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS	18
3.3.3	CONTENÇÃO DOS ANIMAIS	18
3.3.4	HIGIENE DAS CAIXAS	18
3.3.5	HOSPEDEIROS	18
3.4	PRODUÇÃO DE INÓCULOS	19
3.5	INFESTAÇÕES EXPERIMENTAIS	19
3.6	PARÂMETROS BIOLÓGICOS OBSERVADOS	20
3.7	ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	20
4	RESULTADOS	25
4.1	ESTÁDIOS PARASITÁRIOS	25
4.1.1	PERÍODO PARASITÁRIO DE LARVAS	25
4.1.2	PERÍODO PARASITÁRIO DE NINFAS	25
4.1.3	PERÍODO PARASITÁRIO DE FÊMEAS	25
4.1.4	ÍNDICES DE RECUPERAÇÃO DE LARVAS, NINFAS E ADULTOS	25
4.1.5	DINÂMICA DE DESPRENDIMENTO DE LARVAS, NINFAS E FÊMEAS	26
4.2	ESTÁDIOS NÃO PARASITÁRIOS E PARÂMETROS REPRODUTIVOS	26
4.2.1	PERÍODO E PERCENTUAL DE MUDA DE LARVAS PARA NINFAS	26
4.2.2	PERÍODO E PERCENTUAL DE MUDA DE NINFAS PARA FÊMEAS	30
4.2.3	PERÍODO DE PRÉ-POSTURA	30
4.2.4	PERÍODO DE POSTURA	30
4.2.5	PERÍODO DE INCUBAÇÃO DOS OVOS	30
4.2.6	PESO DE NINFAS INGURGITADAS	30
4.2.7	PESO DE TELEÓGINAS	31
4.2.8	PESO DE POSTURAS	31
4.2.9	PARÂMETROS REPRODUTIVOS	31
4.3	CICLO BIOLÓGICO TOTAL	32
4.4	CONSEQUÊNCIAS DO PARASITISMO	32
4.5	IDENTIFICAÇÃO DO CARRAPATO	32
5.	DISCUSSÃO	39
5.1	ESTÁDIOS PARASITÁRIOS	39
5.1.1	NÚMERO DE HOSPEDEIROS	39
5.2	ESTÁDIOS NÃO PARASITÁRIOS E PARÂMETROS REPRODUTIVOS	39
5.3	CICLO BIOLÓGICO TOTAL	40

5.4	CONSEQUENCIAS DO PARASITISMO	40
5.5	DESEMPENHO DOS GRUPOS TESTADOS	41
6.	CONCLUSÕES	43
7.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Período parasitário de larvas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas.....	25
Tabela 2.	Período parasitário de fêmeas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas.....	25
Tabela 3.	Valores médios e desvios padrão de período de postura de teleóginas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas	30
Tabela 4.	Valores médios e desvios padrão de período de incubação de ovos de <i>A. rotundatum</i> obtidos após infestações experimentais de fêmeas em três diferentes grupos de ofídios	30
Tabela 5.	Valores médios e desvios padrão de peso de teleóginas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas.....	31
Tabela 6.	Valores médios e desvios padrão de peso de posturas obtidas de fêmeas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas	31
Tabela 7.	Valores médios e desvios padrão de índice de conversão em ovos de fêmeas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas.....	31
Tabela 8.	Eclodibilidade de larvas obtidas de fêmeas de <i>A. rotundatum</i> mantidas sob condições experimentais controladas.....	31
Tabela 9.	Valores médios e desvios padrão de índice de conversão em larvas obtidas de fêmeas de <i>A. rotundatum</i> alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas.....	31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Dessecador adaptado.....	21
Figura 2.	Sala climatizada.....	21
Figura 3.	Aquecedor-ventilador e termostato	21
Figura 4.	Vaporizador.....	21
Figura 5.	Termo-higrômetro	21
Figura 6.	Temporizador.....	21
Figura 7.	Bandeja plástica	23
Figura 8.	Inóculo de larvas	23
Figura 9.	Infestação experimental I.	23

Figura 10.	Infestação experimental II.	23
Figura 11.	Infestação experimental III.	23
Figura 12.	Infestação experimental IV.	23
Figura 13.	Índices de recuperação dos estádios de desenvolvimento de <i>A. rotundatum</i> , após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.	27
Figura 14.	Dinâmica de desprendimento de estádios imaturos de <i>A. rotundatum</i> , após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.	27
Figura 15.	Dinâmica de desprendimento de fêmeas ingurgitadas de <i>A. rotundatum</i> , após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.	28
Figura 16.	Percentuais de larvas de <i>A. rotundatum</i> que realizaram muda para ninfas, após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.	28
Figura 17.	Parasitismo por ninfas.	33
Figura 18.	Parasitismo por fêmeas.	33
Figura 19.	Abcesso caseoso.	33
Figura 20.	Dermatite ulcerativa.	33
Figura 21.	Estomatite e hipopio.	33
Figura 22.	Estomatite caseosa.	33
Figura 23.	Diferentes escudos de fêmeas de <i>A. rotundatum</i>	35
Figura 24.	Vista dorsal e detalhe do capítulo de fêmea de <i>A. rotundatum</i>	35
Figura 25.	Espinhas da coxa IV.	37
Figura 26.	Espinhas da coxa I.	37
Figura 27.	Vista ventral e detalhe do peritrema de fêmea de <i>A. rotundatum</i>	37

RESUMO

O carrapato *Amblyomma rotundatum* parasita animais de sangue frio e reproduz-se obrigatoriamente por partenogênese. Embora seja descrito com frequência, parasitando répteis e anfíbios em condições naturais e em cativeiro, no Brasil, esse ixodídeo tem sua biologia pouco estudada em ofídios. De acordo com observações de campo, grupos de cascavéis (*Crotalus durissus* ssp.) demonstraram possuir resistência a infestações por carrapatos quando comparados a outros grupos de ofídios mantidos em recintos próximos e em condições semelhantes. Com o objetivo de estudar o ciclo de vida e comparar alguns parâmetros biológicos de *A. rotundatum* alimentando-se em três diferentes gêneros de ofídios brasileiros, *Crotalus* sp., *Bothrops* sp. e *Waglerophis* sp. Uma colônia foi estabelecida em laboratório e mantida sob condições experimentais de $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ de temperatura e 75 a 95% de umidade relativa do ar para as fases parasitárias (mantidas sob fotoperíodo de 12 horas) e não parasitárias (mantidas em escotofase). Ofídios da espécie *Crotalus durissus* ssp. não se mostraram hospedeiros eficientes para a manutenção da população de ectoparasitas quando comparados a espécimes do gênero *Bothrops* sp. e da espécie *W. merremii*. A duração total do ciclo biológico variou de aproximadamente dois a cinco meses, sendo também verificado que em condições específicas o número de hospedeiros necessários para que o ciclo biológico de *A. rotundatum* se complete varia entre dois ou três, existindo a possibilidade de um pequeno percentual realizar todas as mudas apenas sobre um hospedeiro. A maioria da população de carrapatos observados realizou ciclo dioxênico. A taxa de mortalidade das serpentes utilizadas foi de 70% e a sintomatologia clínica observada incluiu quadros de estomatite, pneumonia, enterite e abscessos cutâneos.

Palavras-Chave: *Amblyomma rotundatum*, biologia, ofídios

ABSTRACT

Amblyomma rotundatum is an ixodide tick that infests cold blood animals and reproduces exclusively by parthenogenesis. Although this species has been frequently reported infesting reptiles and amphibians, under natural and captivity conditions in other countries, little is known about its biological aspects in Brazil. According to field observations, some groups of rattle snakes (*Crotalus durissus* ssp.) have a natural resistance to ticks when compared to other groups of ophidians kept under similar conditions. With the objective to study the life cycle of *A. rotundatum* and to compare some biological parameters of ticks feeding on three different genera of Brazilian ophidians (*Crotalus* sp., *Bothrops* sp. and *Waglerophis* sp), a tick colony was established and maintained under laboratory conditions, at $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ and 75 to 95% relative humidity, keeping the parasitic stages under a photoperiod of 12 h and the free stages under scotophase. *Crotalus durissus* sp. did not show to be an efficient host for maintenance of ectoparasites when compared to specimens of the genus *Bothrops* sp. and the species *W. merremii*. The total duration of the biological cycle ranged from two to five months. Under specific conditions, the number of hosts required for completion of *A. rotundatum* biological life cycle was two or three. The most of the observed ticks used two-host cycle. The mortality rate of the used snakes was 70%. The observed symptomatology included stomatitis, pneumonia, enteritis and cutaneous abscesses.

Key words: *Amblyomma rotundatum*, biology, ophidian

1. INTRODUÇÃO

O carrapato *Amblyomma rotundatum* pertence à Família Ixodidae e Subfamília Amblyomminae, parasita especificamente animais de sangue frio e foi descrito na literatura, pela primeira vez, por Koch em 1844, a partir de uma única fêmea coletada no estado do Pará, Brasil (Robinson, 1926).

Esse ixodídeo possui características muito peculiares, a que chama maior atenção é a sua forma de reprodução obrigatoriamente partenogenética. Pode-se afirmar que a ocorrência de machos dessa espécie é um evento raríssimo, sendo de pouco ou nenhum significado do ponto de vista reprodutivo e para a manutenção da espécie. Até o presente momento apenas tem-se conhecimento de dois exemplares machos, descritos em um único trabalho (Keirans e Oliver, 1993).

Acredita-se que *A. rotundatum* faça parte do grupo de carrapatos mais antigos do gênero, fato esse ressaltado por Labruna et al. (1997) que observaram o pequeno número de ovos por grama de postura na espécie. Acredita-se que essa característica está relacionada aos carrapatos mais primitivos, que faziam posturas de ovos maiores e mais pesados e evoluíram juntamente com hospedeiros como anfíbios e répteis do final da era Paleozóica e do início da era Mesozóica. (Hoogstral, 1985 e Oliver, 1989).

O *A. rotundatum* parasita um grupo diverso de hospedeiros, e com bastante frequência é observado fixado em sapos do gênero *Bufo* sp. e em ofídios de diversas espécies em condições naturais e em cativeiro. Quelônios e lacertílios também são comumente descritos como hospedeiros, embora os relatos sejam menos frequentes. (Rohr, 1909; Aragão, 1912; Aragão, 1936; Oba e Shumaker, 1983/84; Peralta et al., 1995; Amorim et al., 1996; Guerra et al., 2000). Poucas são as descrições de *A. rotundatum* parasitando animais de sangue quente em condições naturais. Existem relatos de parasitismo por fêmeas adultas em capivara (*Hidrochaeris hidrochaeris*), tatu (*Dasypus novemcinctus*), tamanduá (*Tamandua tetradactyla*) e no homem (*Homo*

sapiens) (Floch e Fauran, 1958 citado por Jones et al. 1972; Wells et al., 1981; Knight, 1992; Freire et al., 1995), mas considera-se que esses eventos sejam acidentais, pois nenhuma tentativa de manutenção desse carrapato em laboratório, utilizando animais de sangue quente como hospedeiros, produziu indivíduos ingurgitados (Aragão, 1912).

A distribuição geográfica de *A. rotundatum* se limita às Américas incluindo atualmente os seguintes países: Brasil, Argentina, Colômbia, Bolívia, Peru, Venezuela, Republica Dominicana, Guatemala, Panamá, Costa Rica, Jamaica, Granada, Ilha de Guadalupe, Guianas, Ilha de Martinica, Tinidad e Tobago, México e Estados Unidos da América (Robinson, 1926; Aragão, 1938; Vogelsang e Dias, 1953; Jones et al., 1972; Oliver, 1993). Nos Estados Unidos a situação é particular, pois o carrapato foi introduzido acidentalmente no sul da Flórida junto a um de seus principais hospedeiros, *Bufo marinus*, que foi levado para essa região como uma tentativa de controle biológico de grandes populações de moscas que se desenvolviam em plantações de cana-de-açúcar. Essa condição acabou provocando o conseqüente estabelecimento das duas espécies na região (Becklund, 1968; Oliver, 1993). No Brasil, *A. rotundatum* encontra-se amplamente distribuído, sendo descrito nos seguintes estados: Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Santa Catarina, Paraná, Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Pernambuco, Maranhão, Pará, Amazonas e no Distrito Federal (Aragão 1912; Aragão, 1936; Wells et al., 1981; Petit et al., 1990; Barros e Baggio, 1992; Knight, 1992; Labruna et al., 1997; Guerra et al., 2000; Silva e Gonzales, 1972 citados por Evans et al., 2000).

As infestações por esses carrapatos são extremamente patogênicas para os animais parasitados e, mesmo em baixas infestações, podem provocar a morte dos hospedeiros. A causa da morte tem sido relacionada à inoculação de toxinas, embora ainda não existam estudos que comprovem essa hipótese (Aragão, 1912; Oba e Shumaker, 1983/84; Amorim et al., 1996). Sabe-se, porém, que esse carrapato

é transmissor do hematozoário *Hemolivia stelatta* entre os sapos e que, infecções secundárias e estresse, causados pelo ectoparasitismo, podem facilmente provocar septicemia e levar um réptil à morte (Petit et al., 1990; Mader, 1996).

O escasso conhecimento que se possui acerca das diferentes espécies do gênero *Amblyomma*, ressalta a necessidade de mais informações. Um grande número de espécies está envolvido com a transmissão de doenças para o homem e para os animais. As diferentes combinações entre habitats, parasitas e hospedeiros, junto às transformações impostas pelo homem à natureza, estabelecem relações epidemiológicas diversas, responsáveis tanto pelo aparecimento de uma nova enfermidade, quanto pela manutenção de uma já existente. Foi comprovado que répteis podem funcionar como reservatórios para *Cowndria ruminantium*, rickettsiose originária do continente africano, específica de ruminantes da família Bovidae e transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma*, incluindo os estádios imaturos de *A. dissimile* (Jongejan, 1992; Sonenshine, 1993). Assim, embora *A. rotundatum* seja considerado um parasita que causa pequeno impacto econômico nos sistemas de produção de animais domésticos, podemos considerar que o mesmo é de grande importância para zoológicos, biotérios, centros de extração de veneno e produção de soro anti-ofídico, assim como para a realização de investigações sobre doenças de ciclo silvestre e para a medicina de répteis e anfíbios, área da Clínica Veterinária em grande expansão.

Considerando a sua importância, tornam-se necessários mais estudos sobre a biologia desse ixodídeo. Segundo observações de campo, nos fossos de manutenção de ofídios da Fundação Ezequiel Dias, em Belo Horizonte, Minas Gerais, observam-se grandes infestações recorrentes por *A. rotundatum* em cobras não peçonhentas e em jararacas. No fosso das cascavéis que se localiza entre os outros dois, embora sejam introduzidos semanalmente novos exemplares de vida livre, apenas são observadas pequenas infestações em animais debilitados. Essa observação,

associada a existência de poucos relatos sobre serpentes do gênero *Crotalus* sp. parasitadas por carrapatos, e de poucos estudos sobre a biologia de *A. rotundatum*, principalmente em ofídios, motivaram a realização de um estudo comparando alguns aspectos bionômicos dessa espécie parasitando três gêneros diferentes de serpentes brasileiras. Desta forma, este trabalho teve os seguintes objetivos:

1. Descrever o ciclo biológico de *A. rotundatum* sob condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar, utilizando ofídios como hospedeiros.
2. Comparar parâmetros biológicos de *A. rotundatum* alimentados em três gêneros de ofídios brasileiros: *Crotalus* sp. (cascavel), *Bothrops* sp. (jararaca) e *Waglerophis* sp. (boipeva, como representante das não peçonhentas).

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O ESTUDO DA BIOLOGIA DE *Amblyomma rotundatum*

2.1.1 HISTÓRIA

Os primeiros estudos sobre a biologia de *A. rotundatum* datam do início do século. Rohr em 1909 realizou o primeiro estudo sobre a biologia desse ixodídeo, por ele identificado como *A. goeldii*, utilizando *Boa constrictor constrictor* como hospedeiro. Nesse momento o autor descreve apenas parte do ciclo biológico da espécie, já que as posturas obtidas, não deram origem a larvas. O aspecto mais interessante desse trabalho está na observação do fato de que todas as 398 ninfas ingurgitadas evoluíram para fêmeas, o que não era esperado para uma espécie de carrapato com forma de reprodução sexuada. Poucos anos depois, Aragão (1912) a partir de uma ninfa ingurgitada obtida de *Bufo* sp. e nove teleóginas obtidas de *B. c. constrictor*, realizou diversas infestações experimentais em diferentes espécies de hospedeiros de sangue frio (sapos, cobras, taratarugas e lagartos), mantendo uma colônia em laboratório por quatro gerações. Esse fato permitiu Aragão esclarecer que a espécie com a qual Rohr trabalhou não se tratava de *A. goeldii* e sim, de uma nova espécie, a

qual chamou de *A. agamum*, reconhecendo a sua condição de reprodução obrigatoriamente partenogenética. Aragão, então publica pela primeira vez, o ciclo biológico completo de *A. rotundatum* e descreve características morfológicas de larvas, ninfas e fêmeas, publicando uma prancha colorida com vistas dorsal e ventral da fêmea não ingurgitada.

A observação de aspectos curiosos sobre esse carrapato não foi um privilégio de Rohr. Nesse mesmo estudo, Aragão observa ainda, que cerca de 50% das larvas fixadas realizaram muda para ninfas sobre o hospedeiro, ou seja, realizaram ciclo dioxeno; ninfas que não completaram o período de ingurgitamento, em função da morte do hospedeiro, facilmente se fixaram em novos hospedeiros, e que animais parasitados em condições experimentais freqüentemente morriam. Todos os hospedeiros por ele utilizados vieram a óbito, sendo o fato atribuído à inoculação de toxinas: "um sapo de proporções moderadas não suporta a picada simultânea de 10 adultos e uma centena já faz correr risco uma jibóia de 1,5m de comprimento".

Brumpt em 1924, após levar larvas de *A. rotundatum* fixadas em *Bufo* sp. para a França, realiza um estudo em que confirma a condição de reprodução partenogenética, bem como o fato de um percentual significativo das larvas realizar muda sobre o hospedeiro. A sinonímia entre *A. agamum* e *A. rotundatum* ocorre em 1926, quando Robinson compara exemplares estudados por Brumpt com o único exemplar, de hospedeiro desconhecido, coletado no estado do Pará-Brasil, descrito por Koch, em 1844, como *Amblyomma rotundatum*. Robinson ainda faz uma descrição detalhada dos aspectos morfológicos de fêmeas não ingurgitadas enriquecida com ilustrações. As considerações de Robinson foram prontamente ratificadas por Aragão (1936), reconhecendo a sinonímia e publicando uma revisão sobre o assunto.

2.1.2 IDENTIFICAÇÃO DA ESPÉCIE

A fêmea de *A. rotundatum* em jejum apresenta forma oval regular e sulco marginal bem acentuado, limitando posteriormente os 11 festões. O escudo é

cordiforme de cor castanha escura com três manchas cor de cobre, uma mediana, especialmente acentuada no ângulo posterior do escudo, e duas laterais, ocupando a região lateral aos sulcos cervicais. Existem numerosas pontuações finas sobre todo o escudo, sendo algumas, maiores e mais profundas nas porções laterais. O rostro é longo e o hipostômio espatulado apresenta três fileiras de dentes de cada lado da metade anterior. A base do capítulo é retangular, com ângulos posteriores apenas salientes e áreas porosas médias, ovais, afastadas e quase paralelas. Todas as coxas apresentam dois espinhos curtos e rombos e o peritrema, situado após o quarto par de patas, possui formato triangular oval. (Aragão, 1912; Robinson, 1926).

Embora sejam detalhadas as descrições morfológicas da espécie, alguns fatores tornam difícil a sua identificação. *A. dissimile* possui características anatômicas muito próximas a *A. rotundatum*, parasita animais de sangue frio e possui distribuição geográfica semelhante. De acordo com Robinson (1926), Aragão e Fonseca (1961), Jones et al., (1972) e Vogelsang e Dias (1953), as duas espécies podem ser distinguidas por três características: o formato mais agudo ou arredondado dos espinhos das coxas, o tamanho relativo dos espinhos da coxa IV e os padrões de pontuações no escudo. No entanto, Keirans e Litwak (1989), em uma chave pictórica, mostram os espinhos das coxas rombos, e idênticos na coxa IV, para *A. dissimile*, características até então atribuídas a *A. rotundatum*. Com o objetivo de esclarecer dúvidas sobre a distinção entre essas duas espécies, Lampo (1997), realiza um estudo com marcadores genéticos, observando uma forte correlação entre os mesmos e o tamanho relativo dos espinhos da coxa IV, mas não em relação ao padrão de pontuações do escudo. Lampo ressalta a desigualdade entre os espinhos externo e interno da coxa IV (sendo o externo maior do que o interno) e o modo de reprodução predominantemente sexual de *A. dissimile* (Brumpt, 1934; Oliver, 1971; Shumaker e Barros, 1994; Manzanilla, 1999), como as principais diferenças entre as espécies. Lampo não se refere ao formato dos espinhos externos mais agudos em *A.*

dissimile e mais arredondados em *A. rotundatum*, embora isso tenha sido demonstrado em ilustrações.

A identificação de espécie a partir de estádios imaturos é um trabalho ainda mais árduo, menos estudado e não menos importante que a identificação de exemplares adultos (Clifford e Anastos, 1960). Embora poucas espécies do gênero *Amblyomma* tenham seus estádios imaturos caracterizados existem alguns estudos detalhados sobre a morfologia dos estádios de larva e ninfa de *A. rotundatum*. (Aragão, 1912; Keirans e Oliver, 1993; Amorim e Freire, 1995; Keirans e Durden, 1998; Amorim e Freire, 1999; Amorim et al., 2001).

2.1.3 CICLO BIOLÓGICO

No estudo conduzido por Rhor em 1909, utilizando *B. c. constrictor* como hospedeiro, foram observados período de muda de ninfa para adulto de 9 a 13 dias, a 30°C, e de 22 a 27 dias sob condições ambientais sugerindo que, com o aumento da temperatura, tem-se a diminuição da duração do ciclo biológico. Com exceção do período de muda para adultos, todos os outros parâmetros citados por Rohr foram observados a partir de cinco teleóginas, avaliadas sob condições ambientais não descritas.

Aragão (1912), em seu estudo conduzido na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, de julho de 1911 a abril de 1912, utilizando diversos hospedeiros de sangue frio, observou a duração total do ciclo da espécie de aproximadamente três a quatro meses sob condições ambientais não especificadas. O autor ressaltou ainda, a necessidade de atmosfera úmida para a eclosão das larvas e para a manutenção das mesmas. Oba e Shumaker (1983/84) estudaram a biologia de *A. rotundatum* em infestações experimentais em *B. marinus* e observaram uma variação total do ciclo de cinco a oito meses sob condições de 27°C de temperatura e cerca de 80% de umidade relativa do ar e estimaram uma variação de seis a nove meses em condições ambientais médias de 19,5°C e 75%UR. Nesse experimento o ciclo biológico observado foi exclusivamente trioxênico. Após Brumpt, 1924, nenhum autor verificou a ocorrência

de comportamento dioxênico para *A. rotundatum*.

Oba e Shumaker (1983/84), na mesma ocasião, compararam ainda o comportamento reprodutivo de 15 teleóginas sob condições ambientais de temperatura e umidade relativa; sete teleóginas, em condições de 27°C e cerca de 45%UR e 26, em condições de 27°C e cerca de 80%UR. Os autores perceberam uma diminuição do período de pré-postura com o aumento da temperatura e a necessidade de altos valores de umidade relativa do ar para a ocorrência de eclodibilidade, registrando também, uma correlação positiva entre peso de fêmeas ingurgitadas e o número de ovos postos, para aquelas mantidas em condições de 27°C e cerca de 80% de UR.

A observação de que o parasitismo por *A. rotundatum* freqüentemente acarreta morte e problemas clínicos ao hospedeiro, foi ressaltada por Aragão (1912) e verificada por Oba e Shumaker (1983/84) e Amorim et al. (1996). Esses últimos afirmaram que quatro neóginas fixadas são suficientes para debilitar um ofídio. Amorim et al. (1996) coletaram ninfas ingurgitadas de *B. c. constrictor* e realizaram um estudo sobre o comportamento de fêmeas de *A. rotundatum* parasitando *Crotalus durissus* ssp., nascidas em cativeiro sem contato prévio com esse ectoparasita, em condições ambientais não especificadas. Das 23 neóginas utilizadas para infestar seis cascavéis, apenas sete teleóginas foram recuperadas e avaliadas. Essa publicação e a de Rohr, 1909, foram as únicas que utilizaram apenas ofídios como hospedeiros, não existindo a informação sobre o ciclo completo de *A. rotundatum* parasitando serpentes.

Horta et al. (1999) estudaram a fase adulta desse ixodídeo parasitando *Bufo* sp., sob condições ambientais, em três diferentes épocas do ano e também verificaram a influência da temperatura sobre a duração do ciclo biológico. O período parasitário médio de fêmeas de 105 dias em infestação realizada no mês de julho (média de 22,6°C), foi estatisticamente diferente do período parasitário médio de 22 dias, em infestação realizada no mês de janeiro (média de 27,8°C). As fases não

parasitárias, nesse experimento, foram mantidas a 27°C e umidade relativa do ar acima de 85%.

Almeida et al. (1999b) e Faccini et al. (1999a,b) realizaram estudos sobre os estádios parasitários e não parasitários de *A. rotundatum* utilizando *Bufo ictericus* como hospedeiro. Os estádios não parasitários foram mantidos sob condições de 27±1°C, aproximadamente 80% de umidade relativa do ar e escotofase nos dois experimentos, não sendo citadas as condições ambientais a que foram submetidas as fases parasitárias do carrapato.

Almeida et al. (1999a) realizou ainda, o estudo de número de ovos por grama de postura desse ixodídeo, observando o valor de 8.350 ovos/g, semelhante ao valor de aproximadamente 8.700 ovos/g obtido por Labruna et al. em 1997, ao estudar esse parâmetro em seis diferentes espécies de carrapatos brasileiros.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O conjunto de material e métodos utilizados no presente estudo está relacionado com a manutenção de uma colônia de *A. rotundatum* em laboratório, utilizando ofídios como hospedeiros, a observação de parâmetros biológicos e análise estatística dos dados obtidos. O experimento foi realizado no período compreendido entre março de 2001 e março de 2002.

3.1 ESTABELECIMENTO DA COLÔNIA EM LABORATÓRIO

O primeiro passo para o estabelecimento de uma colônia em laboratório foi a obtenção de teleóginas. Com esse objetivo, foram observadas todas as serpentes que chegavam do ambiente natural para as dependências da Fundação Ezequiel Dias, com a finalidade de identificar e separar as que se encontravam infestadas com *A. rotundatum*. Um espécime de *Bothrops alternatus* e um de *B. newiedii*, naturalmente infestados, foram colocados em caixas separadas circundadas com fita adesiva de dupla face até o desprendimento espontâneo dos carrapatos, quando foram coletados.

Seis fêmeas ingurgitadas foram obtidas, identificadas de acordo com Robinson (1926) e Aragão e Fonseca (1961) como *A. rotundatum*, pesadas, acondicionadas individualmente em placas de Petri e incubadas em estufa sob condições controladas, como descrito no item 3.2. Após o final do período de oviposição, as fêmeas foram pesadas novamente, recolocadas em placas de Petri e incubadas. Já as posturas obtidas, foram pesadas, acondicionadas em seringas plásticas com as partes anteriores cortadas e vedadas com algodão hidrófilo, incubadas e observadas sob microscópio estereoscópico diariamente para acompanhar o estado e o desenvolvimento embrionário dos ovos.

3.2 INCUBAÇÃO DOS ESTÁDIOS NÃO PARASITÁRIOS

Os espécimes de estádios de desenvolvimento não parasitário foram mantidos em condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar no Laboratório de Endoectoparasitoses do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

As condições de 27°C de temperatura, 75 a 95% de umidade relativa do ar e escotofase, foram obtidas utilizando-se um dessecador, sem a tampa, com o compartimento inferior preenchido com água, colocado dentro de uma estufa B.O.D., para acondicionar os recipientes com os carrapatos. (Figura 1)

As condições de incubação foram constantes durante todo o experimento e utilizadas para o acondicionamento dos espécimes de todos os estádios de desenvolvimento obtidos, incluindo os que completaram o período de fixação ao hospedeiro e os que não foram inoculados.

3.3 MANUTENÇÃO DE OFÍDIOS EM CATIVEIRO

Os hospedeiros foram mantidos em uma sala do Laboratório de Produção de Materiais Biológicos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, acondicionados individualmente em caixas plásticas brancas

ou transparentes, com tampas, numeradas, com água potável "ad libitum" e pedras abrasivas para ajudar no processo fisiológico da troca de pele. (Figura 2)

3.3.1 AMBIENTE EXPERIMENTAL

Uma sala, com área de 11,5m² e 3m de altura, foi utilizada para a manutenção dos ofídios, sendo mantida sob condições controladas de umidade relativa do ar de 75 a 95%, temperatura ambiente de 27°C ± 1, e fotoperíodo de 12 horas. Os seguintes equipamentos foram utilizados para criar essas condições ambientais: um aquecedor-ventilador elétrico, com 12 watts de potência, controlado por um termostato analógico com diferencial de 1,5°C (Figura 3); um vaporizador médio eletro-automático, que funcionou durante 12 a 14 horas diárias, desligando automaticamente com a diminuição do nível de água (Figura 4); um temporizador analógico instalado junto ao interruptor de luz da sala, programado para ligar quatro lâmpadas fluorescentes às 6:00 horas e desligar às 18:00 horas (Figura 6). Os valores de temperatura e umidade relativa foram monitorados por dois termohigrômetros digitais colocados em pontos diferentes da sala dentro das caixas plásticas próximos aos hospedeiros (Figura 5).

3.3.2 ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS

Os hospedeiros foram alimentados em intervalos de 15 a 20 dias com camundongos adultos ou filhotes de ratazanas vivos. Ração úmida para felinos foi utilizada para a alimentação forçada via sonda esofágica de boipevas e de outros exemplares que não estavam se alimentando de forma espontânea, utilizando sonda uretral felina n.º.10, com a extremidade anterior cortada. Antes de ser utilizada era adicionada água à ração úmida, na proporção de 1/1 e homogeneizada em liquidificador para evitar a obstrução da sonda. A quantidade utilizada por animal foi calculada considerando 10% do peso vivo (Mader, 1996).

3.3.3 CONTENÇÃO DOS ANIMAIS

Para facilitar o manejo dos ofídios, duas caixas de manejo foram utilizadas para acomodar temporariamente os hospedeiros durante os momentos de limpeza e inspeção das caixas de manutenção. Para transportar os ofídios de uma caixa para outra foi utilizado um gancho especial para tal finalidade.

Para a medicação e inoculação de carrapatos, as serpentes peçonhentas foram contidas fazendo com que entrassem, com auxílio do gancho, em mangueiras plásticas transparentes do tipo "mangueira cristal", com uma das extremidades vedadas. Após a entrada de pelo menos o terço inicial do corpo, as mesmas eram imobilizadas segurando-se com a mão, simultaneamente, o corpo do hospedeiro e a extremidade da mangueira por onde ele entrou.

Já as serpentes não peçonhentas, foram contidas colocando-as sobre um tecido espesso, para melhorar aderência e evitar traumatismos, fixando suas cabeças com a extremidade do gancho e segurando-as manualmente fixando a articulação da mandíbula.

3.3.4 HIGIENE DAS CAIXAS

As caixas de manutenção foram higienizadas em intervalos de aproximadamente 15 dias, utilizando-se água, detergente e desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio a 2%. Com o advento da morte de algum hospedeiro, o mesmo procedimento era adotado antes da caixa de manutenção ser utilizada para a manutenção de outro animal. Como os hospedeiros não passaram por período de quarentena, nem tiveram qualquer tipo de tratamento preventivo, as caixas de manejo foram desinfetadas com solução de hipoclorito de sódio a 2% nos intervalos de utilização por cada hospedeiro.

3.3.5 HOSPEDEIROS

De acordo com o objetivo do trabalho, foram mantidos em cativeiro pelo menos três indivíduos de cada gênero, *Bothrops* sp., *Crotalus* sp. e *Waglerophis* sp., para a realização das infestações experimentais, mais um indivíduo de jibóia (*B. c.*

constrictor), para a obtenção de inóculos de larvas e fêmeas. Foram utilizadas serpentes de vida livre e do cativeiro, de acordo com a disponibilidade da Fundação Ezequiel Dias e de doações particulares. O sexo e a idade dos hospedeiros não foram considerados, sendo identificados quanto ao gênero, avaliados pelo estado geral de saúde e ausência de ectoparasitas, e pesados antes de serem submetidos às condições experimentais.

3.4 PRODUÇÃO DE INÓCULOS

Dois tipos de inóculos foram preparados durante o experimento: de larvas não ingurgitadas e de fêmeas não ingurgitadas. Não foram realizadas infestações experimentais de ninfas, já que um grande número de ninfas ingurgitadas foi recuperado a partir de inoculações de larvas. O fato que inviabilizou a produção de inóculos de ninfas, foi o pequeno número de ninfas não ingurgitadas obtidas em grandes intervalos de tempo. Assim, não foi possível produzir inóculos em quantidade suficiente, no momento adequado e com características homogêneas.

Entre 20 e 50 dias após a eclosão das larvas, essas foram utilizadas para a produção dos inóculos. Um dia antes de cada infestação experimental, quatro posturas foram retiradas das seringas e colocadas em uma bandeja plástica branca circundada com vaselina sólida para se evitar a dispersão de carrapatos. (Figura 7) Com o auxílio de um estilete, foram colocadas aproximadamente 150 larvas dentro de cada seringa plástica utilizada por inóculo produzido. Para possibilitar esse procedimento a seringa, sem o êmbolo, com a parte anterior cortada e vedada com algodão hidrófilo, foi mantida na posição vertical com o algodão voltado para cima. As larvas então, foram conduzidas, com auxílio da ponta do estilete, para parte interior da parede da seringa, onde se fixavam, dirigindo-se para a extremidade superior vedada. Após completado o número de 150 larvas, cada seringa foi vedada na extremidade livre, com algodão hidrófilo, antes dos êmbolos serem recolocados. Os inóculos (Figura 8) foram mantidos em condições de incubação até o momento da utilização. O número de

inóculos produzidos para cada infestação foi o dobro do número utilizado, permitindo assim a seleção, no momento da inoculação, dos que continham carrapatos que apresentavam melhor motilidade.

O inóculo de fêmeas não ingurgitadas foi produzido entre 20 e 50 dias após o dia da mudança de estágio de ninfa ingurgitada para fêmea não ingurgitada. As fêmeas com melhor motilidade foram separadas em grupos de cinco em cada placa de Petri, 30 minutos antes da infestação.

3.5 INFESTAÇÕES EXPERIMENTAIS

Para esse experimento, foram realizadas duas infestações experimentais de larvas não ingurgitadas e duas de fêmeas não ingurgitadas. Os hospedeiros utilizados nesses eventos foram:

- primeira infestação de larvas, dia 17/08/01: três exemplares de *Crotalus* sp., três de *Bothrops* sp. e três de *Waglerophis* sp.
- primeira infestação de fêmeas, dia 06/11/01: quatro exemplares de *Crotalus* sp., quatro de *Bothrops* sp. e quatro de *Waglerophis* sp.
- segunda infestação de larvas e fêmeas, dia 18/12/01: cinco exemplares de *Crotalus* sp., quatro de *Bothrops* sp. e três de *Waglerophis* sp.

Na primeira infestação experimental de larvas, dia 17/08/01, todos indivíduos utilizados como hospedeiros eram de vida livre. Na segunda infestação, dia 18/12/01, foram utilizados outros animais: cinco exemplares de *Crotalus* sp. nascidos de mesma postura em cativeiro; três de *Bothrops* sp. já adaptados ao cativeiro e um de vida livre, e três de *Waglerophis* sp. de vida livre. Entre a primeira infestação de fêmeas, dia 06/11/01, e a segunda, dia 18/12/01, apenas foram substituídos dois *Waglerophis* sp. porque vieram a óbito. Os indivíduos *Crotalus* sp. infestados dia 06/11/01 não tiveram contato prévio com nenhuma espécie de carrapato.

O mesmo procedimento foi utilizado para a inoculação de larvas e fêmeas não ingurgitadas. Após a contenção do hospedeiro, uma tira de flanela de aproximadamente 10 a 15cm de largura e

20 a 25cm de comprimento, variável de acordo com o diâmetro do corpo do hospedeiro, foi envolvida ao terço médio do corpo de cada animal e fixada com esparadrapo formando um cilindro. Uma das extremidades desse cilindro de flanela foi fixada ao corpo do hospedeiro com auxílio de esparadrapo, formando um saco de fundo cego onde foram introduzidos os inóculos. A outra extremidade livre foi rapidamente fixada com esparadrapo para evitar a dispersão dos carrapatos. (Figuras 9 a 12)

Os exemplares adultos foram colocados manualmente dentro do saco de flanela, já os inóculos de larvas foram colocados, retirando-se o algodão da parte anterior da seringa, colocando-o manualmente dentro do saco e pressionando o êmbolo em direção ao interior do mesmo, deixando lá o algodão que se encontrava no fundo da seringa. A borda superior de todas as caixas de manutenção foi circundada com fita adesiva de dupla face para conter uma eventual dispersão dos carrapatos. Passados três dias das infestações experimentais os hospedeiros foram novamente contidos para a retirada das flanelas.

As observações foram realizadas diariamente, transferindo-se temporariamente cada hospedeiro por vez, para a caixa de manejo e realizando-se a inspeção da caixa de manutenção. Após o retorno do hospedeiro para a sua caixa original, a caixa de manejo também era inspecionada antes da sua desinfecção. Todos os exemplares de carrapatos observados não fixados ao hospedeiro foram coletados manualmente, acondicionados em placas de Petri e imediatamente incubados. As ninfas e fêmeas ingurgitadas coletadas foram pesadas antes da incubação.

3.6 PARÂMETROS BIOLÓGICOS OBSERVADOS

Foram observados dados relativos aos estádios parasitários e não parasitários desse ectoparasita, incluindo alguns parâmetros reprodutivos.

Com relação aos estádios parasitários foram observados período parasitário e índice de recuperação de larvas, ninfas e adultos. Também foi possível observar a dinâmica

de desprendimento de larvas, ninfas e adultos obtidos após a infestação.

Os índices de recuperação foram calculados dividindo-se o número de exemplares recuperados pelo total inoculado. O período parasitário médio de ninfas foi estimado a partir da diferença entre valores observados para os exemplares que realizaram ciclo dioxênico e trioxênico. Ou seja, foi calculada a diferença entre o valor médio de período de larva não ingurgitada a queda de ninfa ingurgitada e valores médios de período parasitário e de muda de larvas. Os exemplares que estavam realizando muda foram identificados pela desidratação da cutícula e pela formação de um halo claro, na extremidade anterior.

Com relação aos estádios não parasitários foram verificados períodos de muda e percentuais de muda, de larvas e ninfas; pesos de ninfas ingurgitadas, fêmeas ingurgitadas e posturas; períodos de pré-postura, postura e período de incubação dos ovos. Os pesos de ninfas e fêmeas ingurgitadas e posturas foram mensurados em balança analítica digital.

Foram avaliados os parâmetros reprodutivos de eclodibilidade de larvas, índice de conversão em ovos e índice de conversão em larvas.

A eclodibilidade foi avaliada estimando-se a proporção de cascas de ovos em relação ao número total de ovos em cada postura. De acordo com Szabó (1995), o índice de conversão em ovos foi calculado multiplicando-se por 100 o resultado da divisão do peso das teleóginas pelo peso de suas posturas e o índice de conversão em larvas, multiplicando-se pelo valor de eclodibilidade, o resultado da divisão do peso das teleóginas pelo peso de suas posturas.

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os dados de índice de recuperação de larvas, ninfas e adultos e os índices de muda de larva e ninfa foram avaliados, utilizando-se o teste do qui-quadrado e os demais parâmetros, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. A estatística descritiva foi utilizada para a avaliação de todos os parâmetros observados (Sampaio, 1998).



Figura 1. Dessecador adaptado.



Figura 2. Sala climatizada.

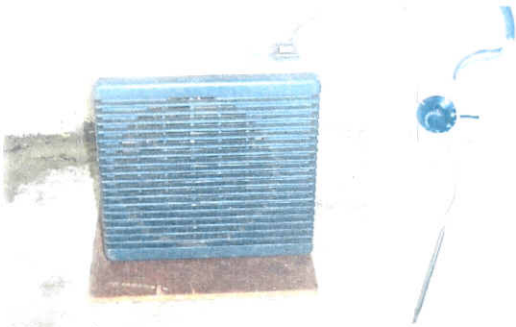


Figura 3. Aquecedor-ventilador e termostato.



Figura 4. Vaporizador.



Figura 5. Termo-higrômetro.

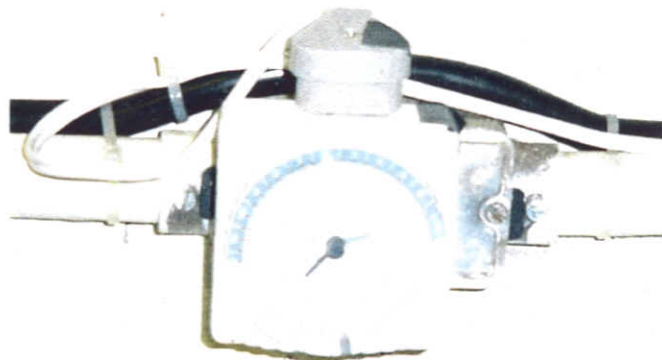


Figura 6. Temporizador.



Figura 7. Bandeja plástica.

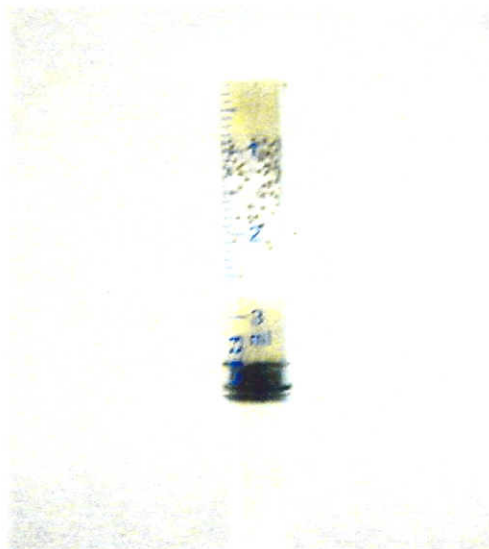


Figura 8. Inóculo de larvas.

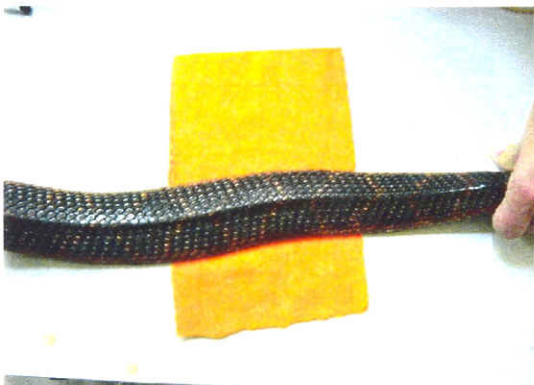


Figura 9. Infestação experimental I.



Figura 10. Infestação experimental II.

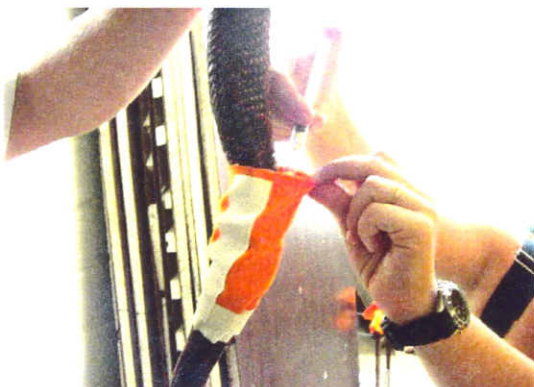


Figura 11. Infestação experimental III.

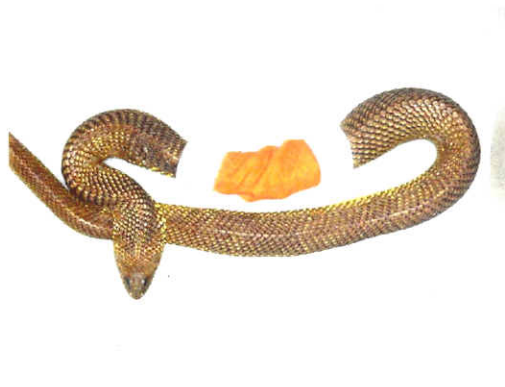


Figura 12. Infestação experimental IV.

4. RESULTADOS

4.1 ESTÁDIOS PARASITÁRIOS

4.1.1 PERÍODO PARASITÁRIO DE LARVAS

Tabela 1. Período parasitário de larvas de *A. rotundatum* alimentadas em três diferentes grupos de ofídios, sob condições experimentais controladas.

Grupos	Média e desvio padrão (dias)
Cascavéis	17,98±4,29
Jararacas	15,58±5,97
Boipevas	15,71±4,27
total	16,29±4,91

O período parasitário, considerado a partir do momento da infestação até o desprendimento espontâneo de larvas ingurgitadas, teve uma variação de 6 a 32 dias para os três grupos testados. Não houve diferenças significativas entre os grupos de jararacas e boipevas, sendo o grupo de cascavéis significativamente maior ($p < 0,02$). (Tabela 1)

4.1.2 PERÍODO PARASITÁRIO DE NINFAS

O intervalo entre a inoculação de larvas não ingurgitadas e desprendimento de ninfas ingurgitadas variou de 25 a 57 dias (média de 38,00 dias e desvio padrão de $\pm 5,45$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos de jararacas e boipevas. O grupo de cascavéis não foi utilizado para a comparação em função do número reduzido de exemplares obtidos. Foram avaliadas apenas duas ninfas obtidas de cascavéis, enquanto foram avaliadas centenas, obtidas de jararacas e boipevas.

O período parasitário médio de ninfas foi estimado em aproximadamente 10 dias. Aragão (1912) ressalta que a muda para o estágio de ninfa ocorre mais rapidamente sobre o hospedeiro do que quando ocorre no ambiente. Isso elevaria para aproximadamente 12 dias a média do período parasitário de ninfas observado no presente estudo. No entanto, tal fato não foi considerado, pois para a observação do

período de muda de larva para ninfa, sobre os hospedeiros, seria necessária a contenção diária dos mesmos, o que inviabilizaria a realização do experimento.

4.1.3 PERÍODO PARASITÁRIO DE FÊMEAS

Tabela 2. Período parasitário de fêmeas de *A. rotundatum* alimentadas em três diferentes grupos de ofídios, sob condições experimentais controladas.

Grupos	Média e desvio padrão (dias)
Cascavéis	18,27±6,30
Jararacas	12,60±3,79
Boipevas	13,45±4,28
total	14,15±4,28

O período parasitário de fêmeas, observado para os três grupos testados apresentou uma variação de 6 a 30 dias. Foram observados maiores períodos de fixação para o grupo das cascavéis, sendo estatisticamente significante essa diferença ($p < 0,02$). (Tabela 2) Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre jararacas e boipevas.

4.1.4 ÍNDICES DE RECUPERAÇÃO DE LARVAS, NINFAS E ADULTOS

O índice de recuperação de larvas não ingurgitadas foi calculado considerando-se as larvas que não se fixaram até o momento da retirada da flanela, após três dias da infestação experimental e aquelas que, após a fixação, se desprenderam sem completar o repasto sanguíneo. Os índices de recuperação de larvas não ingurgitadas para os grupos de cascavéis, jararacas e boipevas foram de 45%, 20% e 12% respectivamente, sendo observada diferença estatisticamente significante entre os três grupos ($p < 0,00$). O mesmo foi observado com relação ao índice de recuperação de larvas ingurgitadas, incluindo as que estavam realizando muda. Foi significativa a diferença entre os três grupos ($p < 0,00$). Os índices de recuperação de larvas ingurgitadas para os grupos de cascavéis, jararacas e boipevas foram de 4%, 8% e 22% respectivamente.

O índice de recuperação de ninfas foi o parâmetro observado que demonstrou, de forma mais marcante, a diferença entre o grupo de cascavéis e os demais grupos testados. Foi observado o valor de 0,2% para o grupo de cascavéis, sendo o mesmo, significativamente menor ($p < 0,00$) que 17% para jararacas e 20% para boipevas. Não foi verificada diferença estatística entre os grupos de jararacas e boipevas.

O índice de recuperação de adultos foi estatisticamente semelhante para cascavéis (24%) e jararacas (37%), sendo os mesmos diferentes do grupo de boipevas, que apresentou valor de 65% para esse parâmetro ($p < 0,02$). (Figura 13)

4.1.5 DINÂMICA DE DESPRENDIMENTO DE LARVAS, NINFAS E FÊMEAS

No presente experimento, a dinâmica de desprendimento do hospedeiro, dos diversos estádios de desenvolvimento, demonstra que nas condições experimentais utilizadas, a maioria das larvas de *A. rotundatum* realiza muda sobre o hospedeiro. Ou seja, realiza ciclo dioxênico. Aproximadamente 64% das larvas que ingurgitaram realizaram muda sobre os animais. Na Figura 14, pode-se observar a intercessão entre a queda de larvas e ninfas ingurgitadas, quando ocorre também o desprendimento dos estádios intermediários, larvas ingurgitadas realizando muda e ninfas não ingurgitadas. Os dados utilizados para a elaboração da Figura 14 correspondem a observações de infestações de 3.150 larvas em 21 hospedeiros sob condições experimentais, item.3.3.1.

Incluindo os ensaios realizados antes do experimento, após infestações de ofídios somente com larvas, foi realizada a coleta de sete ninfas ingurgitadas realizando muda sobre *B. neuwiedii*, do qual foram destacadas antes de proceder a necrópsia do animal, uma ninfa ingurgitada realizando muda sobre *Waglerophis merremii*, essa desprendida de forma espontânea, e uma neógina, de *B. jararaca*. Isso indica que há possibilidade de que o ciclo se complete utilizando apenas um hospedeiro. Em condições experimentais o desprendimento espontâneo de teleóginas se concentrou entre 6 e 23 dias. (Figura 15)

4.2 ESTÁDIOS NÃO PARASITÁRIOS E PARÂMETROS REPRODUTIVOS

4.2.1 PERÍODO E PERCENTUAL DE MUDA DE LARVAS PARA NINFAS

O período de muda de larvas para ninfas, observado para os três grupos testados, variou de 9 a 18 dias (média de 12,31 dias e desvio padrão de $\pm 2,17$). O período de muda foi significativamente diferente entre os três grupos ($p < 0,05$), observando-se os valores de $11,43 \pm 1,60$ dias para o grupo das boipevas, $12,88 \pm 1,96$ dias para o grupo das jararacas e $15,43 \pm 2,37$ para o grupo das cascavéis. Já o percentual de larvas que realizou muda para o estágio seguinte foi significativamente menor para o grupo das cascavéis ($p < 0,00$), sendo semelhantes os valores registrados para os grupos de jararacas e de boipevas. (Figura 16). Os exemplares que não realizaram muda morreram durante o processo.

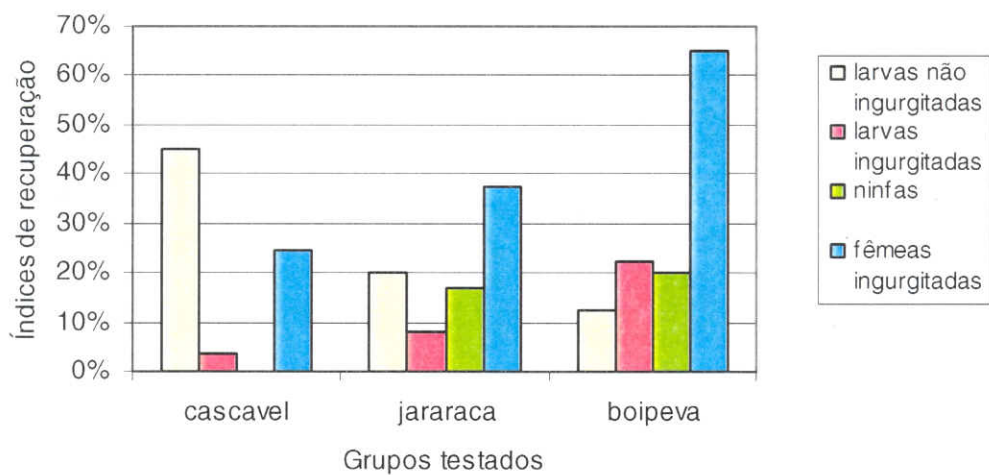


Figura 13. Índices de recuperação dos estádios de desenvolvimento de *A. rotundatum* após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.

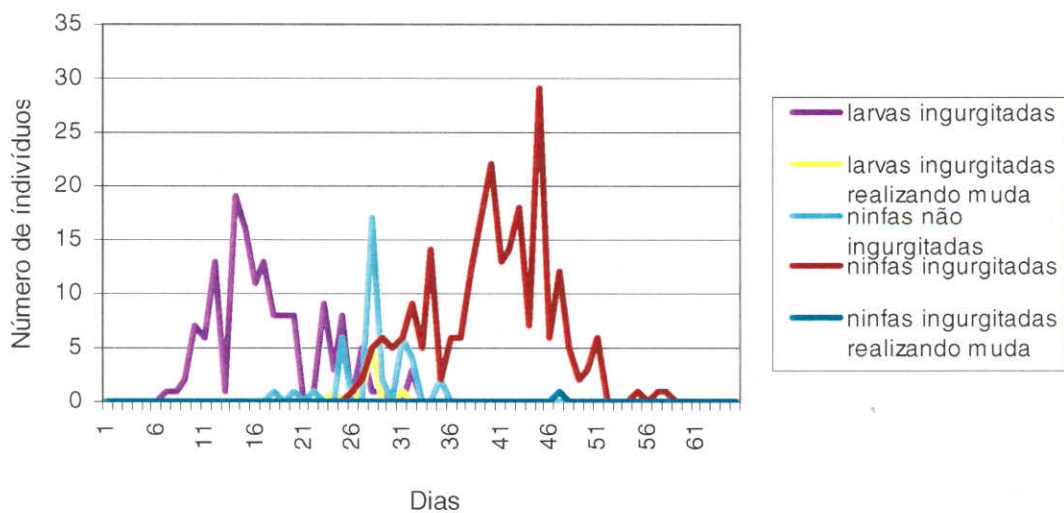


Figura 14. Dinâmica de desprendimento de estádios imaturos de *A. rotundatum* após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.

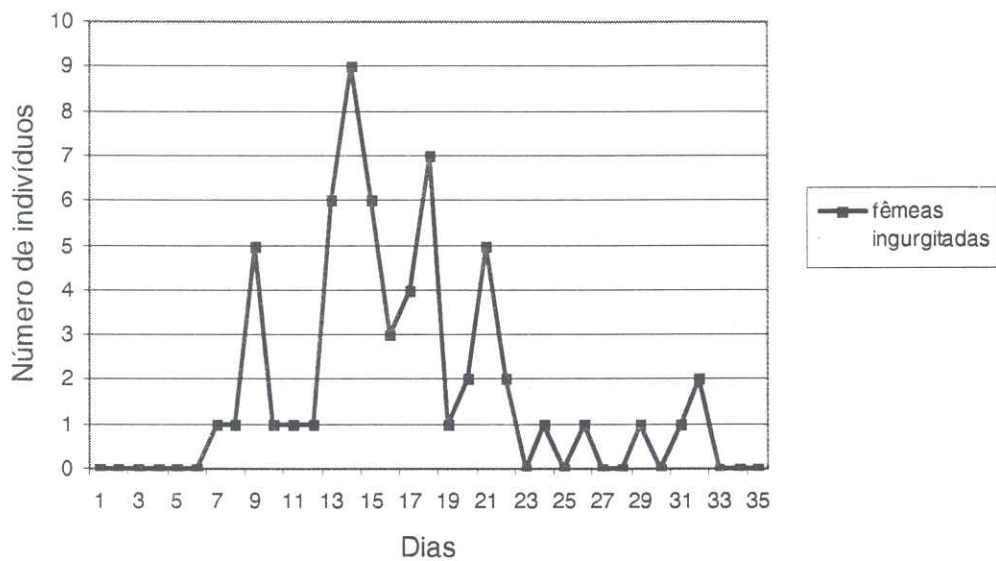


Figura 15. Dinâmica de desprendimento de fêmeas ingurgitadas de *A. rotundatum* após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.

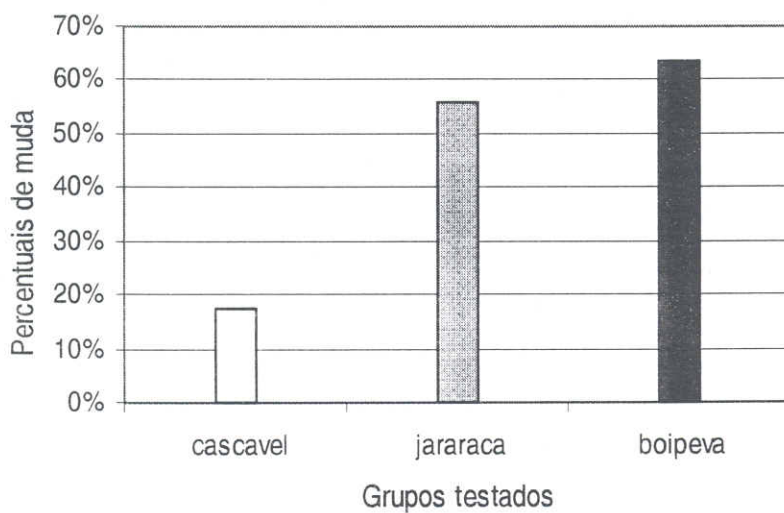


Figura 16. Percentuais de larvas de *A. rotundatum* que realizaram muda para ninfas após infestações experimentais em três diferentes grupos de ofídios.

4.2.2 PERÍODO E PERCENTUAL DE MUDA DE NINFAS PARA FÊMEAS

O período médio de muda de ninfas para fêmeas, observado para os três grupos, foi de $16,53 \pm 0,88$ com variação de 14 a 19 dias e o percentual de muda, de aproximadamente 60%. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de jararacas e boipevas. O grupo das cascavéis também não foi utilizado para a comparação desses parâmetros em função do número reduzido de exemplares de carrapatos obtidos.

4.2.3 PERÍODO DE PRÉ-POSTURA

O período médio de pré-postura para os três grupos testados foi de 5,93 dias com desvio padrão de $\pm 1,67$ (variação de 2 a 10 dias) e os resultados obtidos para os três grupos foram muito homogêneos, não sendo observadas diferenças estatisticamente significativas.

4.2.4 PERÍODO DE POSTURA

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão de período de postura de teleóginas de *A. rotundatum* alimentadas em três diferentes grupos de ofídios, sob condições experimentais controladas.

Grupos	Primeira infestação (dias)	Segunda infestação (dias)	Total (dias)
Cascavel	$25,75 \pm 5,79$	$15,67 \pm 7,42$	$19,70 \pm 8,30$
Jararaca	$18,50 \pm 6,30$	$18,17 \pm 4,62$	$18,36 \pm 5,44$
Boipeva	$16,00 \pm 3,50$	$19,29 \pm 3,81$	$17,05 \pm 3,84$
Total	$18,19 \pm 5,72$	$17,79 \pm 5,34$	$18,02 \pm 5,51$

O valor médio observado para os três grupos testados foi de $18,02 \pm 5,51$, com variação de 5 a 32 dias, não existindo diferença estatística entre os grupos testados. No entanto, um fato chama a atenção: o período de postura observado na primeira infestação do grupo das cascavéis foi de $25,75 \pm 5,79$, enquanto que na segunda foi de $15,67 \pm 7,42$, demonstrando uma tendência à diminuição, embora não tenha sido observada significância

estatística. Os valores observados para os grupos das jararacas e boipevas mantiveram-se estáveis ou aumentaram. (Tabela 3)

4.2.5 PERÍODO DE INCUBAÇÃO DOS OVOS

Tabela 4. Valores médios e desvios padrão de período de incubação dos ovos de *A. rotundatum* obtidos após infestações experimentais de fêmeas em três diferentes grupos de ofídios.

Grupos	Primeira infestação (dias)	Segunda infestação (dias)	Total (dias)
Cascavel	$38,50 \pm 8,35$	$26,17 \pm 10,55$	$31,10 \pm 11,20$
Jararaca	$29,88 \pm 10,02$	$31,00 \pm 2,76$	$30,40 \pm 7,57$
Boipeva	$27,80 \pm 5,72$	$32,71 \pm 5,50$	$29,40 \pm 60,00$
Total	$30,00 \pm 8,16$	$30,01 \pm 7,16$	$30,04 \pm 7,68$

O período de incubação dos ovos foi considerado como o intervalo de tempo compreendido entre o início da oviposição e o final da eclosão das larvas. O valor médio observado para os três grupos testados foi de $30,04 \pm 7,68$, com variação de 9 a 47 dias, não sendo registradas diferenças estatisticamente significativas. O período de incubação observado na primeira infestação para grupo de cascavéis foi de $38,50 \pm 8,35$, enquanto na segunda foi de $26,17 \pm 10,55$, demonstrando a mesma tendência à diminuição, observada para o período de postura, embora também não tenha sido observada significância estatística. Os valores observados para os grupos das jararacas e boipevas mantiveram-se estáveis ou aumentaram. (Tabela 4)

4.2.6 PESO DE NINFAS INGURGITADAS

O valor médio observado foi de 25mg e a variação, de 10 a 46mg. Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os três grupos avaliados.

4.2.7 PESO DE TELEÓGINAS

Tabela 5. Valores médios e desvios padrão de peso de teleóginas de *A. rotundatum* alimentadas em três diferentes grupos de ofídios sob condições experimentais controladas.

Grupos	Primeira infestação (mg)	Segunda infestação (mg)	Total (mg)
Cascavel	1.214±189	934±266	1.061±267
Jararaca	913±269	1.182±119	1.021±255
Boipeva	670±197	634±307	659±230
Total	899±295	902±331	864±308

O peso médio das teleóginas observado para o grupo de boipevas foi significativamente menor ($p < 0,00$) que os valores observados para os grupos de cascavéis e jararacas que foram semelhantes entre si. No entanto, foi observada uma diminuição do peso de teleóginas do grupo das cascavéis entre a primeira e a segunda inoculação, sendo observado um aumento ou estabilidade para os grupos de jararacas e boipevas. Para esse parâmetro foi observada uma variação de 135 a 1.435mg. (Tabela 5)

4.2.8 PESO DE POSTURAS

Tabela 6. Valores médios e desvios padrão de peso de posturas obtidas de fêmeas de *A. rotundatum* alimentadas em três diferentes grupos de ofídios, sob condições experimentais controladas.

Grupos	Primeira infestação (mg)	Segunda infestação (mg)	Total (mg)
Cascavel	660±102	364±209	482±266
Jararaca	442±203	550±147	488±183
Boipeva	272±105	299±185	281±132
Total	380±196	399±204	388±197

O peso de postura observado no presente estudo variou entre 30 e 812mg. Para esse parâmetro, também foram observadas: a semelhança estatística entre os valores observados, para os grupos de jararacas e cascavéis, e a tendência à diminuição do peso das posturas entre a primeira e a segunda inoculação, para o grupo de cascavéis, sendo observado um aumento

ou estabilidade para os grupos de jararacas e boipevas. (Tabela 6) O valor obtido para o grupo de boipevas também foi significativamente menor ($p < 0,00$).

O número máximo de aproximadamente 6.900 ovos postos por uma única teleógina foi calculado considerando-se o número médio de 8.525 ovos por grama de postura (média entre os valores observados por Labruna et al. em 1997 e Almeida, 1999a).

4.2.9 PARÂMETROS REPRODUTIVOS

Tabela 7. Valores médios e desvios padrão de índice de conversão em ovos de fêmeas de *A. rotundatum* alimentadas em três diferentes grupos de ofídios, sob condições experimentais controladas.

Grupos	Primeira infestação	Segunda infestação	Total
Cascavel	51%±4%	39%±14	44%±13%
Jararaca	47%±12%	46±13%	47%±12%
Boipeva	41%±11%	42%±12%	41%±11%
Total	44%±11%	43%±13%	44%±12%

Tabela 8. Eclodibilidade de larvas obtidas de fêmeas de *A. rotundatum* mantidas sob condições experimentais controladas.

Grupos	Média e desvio padrão
Cascavel	93%±3%
Jararaca	87%±6%
Boipeva	85%±16%
Total	88%±12%

Tabela 9. Valores médios e desvios padrão de índice de conversão em larvas obtidas de fêmeas de *A. rotundatum*, alimentadas em três diferentes grupos de ofídios, sob condições experimentais controladas.

Grupos	Primeira infestação	Segunda infestação	Total
Cascavel	46%±5%	37%±14%	40%±12%
Jararaca	41%±12%	43 %±12%	42%±12%
Boipeva	35%±13%	38%±10%	36%±12%
Total	38%±12%	39%±11%	39%±12%

No presente estudo foram observadas, para os três grupos testados, variações de 15 a 60%, 20 a 95% e 3 a 56%, para os parâmetros de índice de conversão de ovos, eclodibilidade e índice de conversão em larvas, respectivamente. Os valores obtidos para a eclodibilidade das posturas foram significativamente maiores para o grupo de cascavéis ($p < 0,05$), não havendo diferença entre os outros dois grupos testados (Tabela 8). No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo de cascavéis e os demais, para os parâmetros de índice de conversão de ovos e índice de conversão em larvas. Pelo contrário, enquanto para os grupos das jararacas e boipevas os valores desses parâmetros mantiveram-se ou sofreram um ligeiro aumento entre a primeira e a segunda infestação experimental, o grupo das cascavéis apresentou uma tendência a diminuição desses valores (Tabela 7 e Tabela 9).

4.3 CICLO BIOLÓGICO TOTAL

Foi observada uma média de aproximadamente 105 dias e uma variação de 56 a 163 dias para o ciclo biológico total de *A. rotundatum* parasitando três diferentes gêneros de ofídios brasileiros sob condições controladas de temperatura, umidade relativa do ar e luminosidade, conforme itens 3.2 e 3.3.1. Para o cálculo desse parâmetro não foi considerado o intervalo

existente entre o momento da muda e o interesse pela alimentação, e o período de pré-fixação de todos estádios de desenvolvimento foi considerado inferior a 24 horas (Faccini, 1999b).

4.4 CONSEQÜÊNCIAS DO PARASITISMO

Foram observados índices de morbidade de 100% e mortalidade de 70% dos hospedeiros neste experimento. A sintomatologia clínica dos animais incluiu anorexia; enfraquecimento; disecidise; anemia; congestão, edema e exudato caseoso associados à gengiva; descargas oral e nasal de aspecto mucoso; diarreia; dermatite e abscessos cutâneos e infecção purulenta do espaço espetaculo-conjuntival (hipopio). (Figuras 17 a 23) As alterações "post-mortem" indicaram diagnósticos de estomatite, pneumonia, enterite e septicemia, sendo que a associação de todos foi o achado mais freqüente. Todos os animais apresentaram quadros de estomatite.

4.5 IDENTIFICAÇÃO DO CARRAPATO

Em função da pouca disponibilidade de material e da dificuldade de identificação da espécie estudada, decidiu-se pela publicação de fotos de características morfológicas importantes para a identificação de fêmeas de *A. rotundatum*. (Figuras 24 a 28)

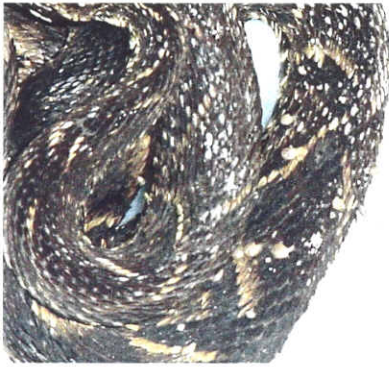


Figura 17. Parasitismo por ninfas.



Figura 18. Parasitismo por fêmeas.



Figura 19. Abcesso caseoso

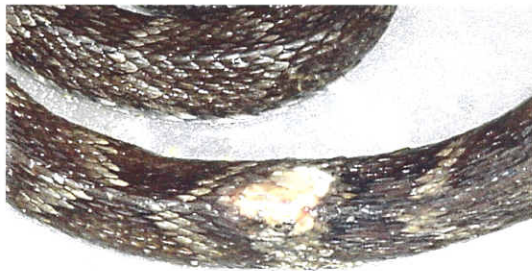


Figura 20. Dermatite ulcerativa.



Figura 21. Estomatite e hipopio.



Figura 22. Estomatite caseosa.



Figura 23. Diferentes escudos de fêmeas de *A. rotundatum*.



Figura 24. Vista dorsal e detalhe do capitulo de fêmea de *A. rotundatum*.

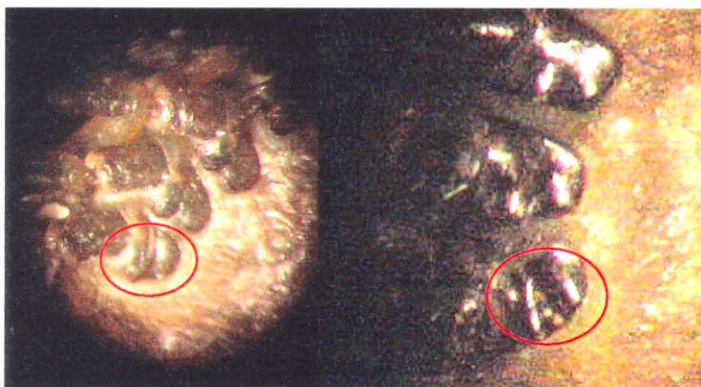


Figura 25. Espinhos da coxa IV.



Figura 26. Espinhos da coxa I.

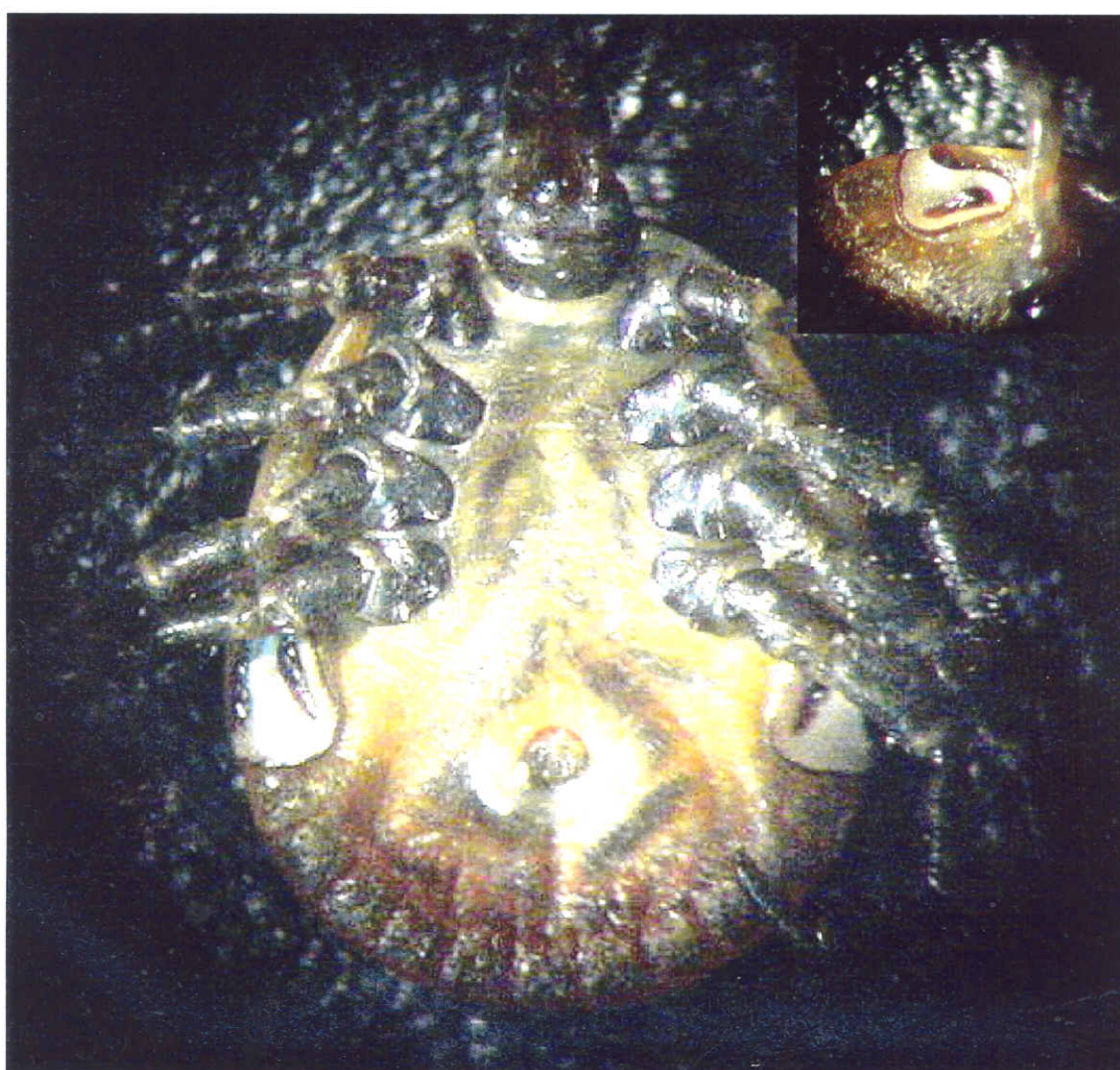


Figura 27. Vista ventral e detalhe do peritrema de fêmea de *A. rotundatum*.

5. DISCUSSÃO

5.1 ESTÁDIOS PARASITÁRIOS

Foi observada uma grande diferença entre os valores de períodos parasitários de larvas, ninfas e adultos, registrados nos estudos sobre a biologia de *A. rotundatum* (Rohr, 1909; Aragão, 1912; Oba e Shumaker, 1983/84; Amorim et al., 1996; Almeida, 1999b; Faccini et al., 1999a,b; Horta et al., 1999). Essa diferença deve estar relacionada ao fato de que todos esses experimentos foram conduzidos em condições ambientais. A influência da temperatura sobre a duração dos períodos de fixação é bastante acentuada quando em animais de sangue frio. Balashov (1972), utilizando camundongos como hospedeiros para *Ixodes ricinus*, observou período parasitário para larvas de dois a cinco dias sob condições de 20°C, 25°C e 30°C. Quando utilizou lagartos como hospedeiros para esse mesmo carrapato, o autor observou variação de 8 a 12 dias a 20°C, 6 a 11 dias a 25°C e 3 a 6 dias a 30°C. Para *A. rotundatum*, Horta et al. (1999) registrou a temperatura ambiente no momento das diferentes infestações realizadas e observou um período parasitário médio para fêmeas de 105 dias (70 a 129 dias), em infestação realizada no mês de julho, quando a temperatura média foi de 22,6°C, significativamente diferente de 22 dias (18 a 24 dias), em infestação realizada no mês de janeiro, quando a média foi de 27,8°C. Assim, torna-se fundamental o registro e o controle das condições ambientais para que os períodos de fixação desse carrapato possam ser comparados com mais precisão.

5.1.1 NÚMERO DE HOSPEDEIROS

Poucas são as espécies de carrapato que realizam ciclo de dois hospedeiros. São citados como exemplo algumas espécies do gênero *Hyalomma* (*H. dendritum*, *H. anatolicum*, *H. scupense* e *H. plumbeum*) e *Rhipicephalus bursa* (Balashov, 1972; Sonenshine, 1993).

Balashov (1972) ressalta que algumas espécies de carrapatos, que

reconhecidamente realizam ciclo dioxênico, podem realizá-lo de forma trioxênica ou mesmo monoxênica dependendo do animal parasitado.

Para *A. rotundatum*, apenas Aragão (1912) observou ocorrência de ciclo dioxênico utilizando sapos para alimentar larvas, verificando tal fato, também quando utilizou um ofídio e um quelônio como hospedeiros. Brumpt em 1924 relata que na primeira geração de uma colônia, obtida a partir de teleóginas coletadas em ofídios e alimentada em *Bufo* sp., nenhuma larva realizou muda sobre o hospedeiro, ao passo que um grande percentual da segunda geração realizou ciclo dioxênico quando alimentada em um quelônio. A partir de 1924, todos os estudos que avaliaram os estádios imaturos desse carrapato utilizaram sapos (*Bufo* sp.) como hospedeiros e não observaram ocorrência de muda sobre o animal (Oba e Shumaker, 1983/84; Petit et al., 1990; Almeida et al., 1999b; Faccini et al., 1999a,b) o que, apesar da observação de Aragão em 1912, sugere que esse carrapato tende a realizar ciclo trioxênico quando parasita tal animal. A característica dioxênica da espécie havia sido observada apenas por Aragão (1912) e Brumpt (1924) e até então, não havia nenhum registro da ocorrência de muda de ninfa para adulto de *A. rotundatum* sobre o animal parasitado. Embora, no presente estudo, não tenha sido recuperada nenhuma fêmea ingurgitada a partir de infestações com larvas, é possível que, em condições específicas, um percentual da população realize ciclo monoxênico, já que menores temperaturas também estão relacionadas com maiores índices de muda sobre o hospedeiro (Balashov, 1972).

5.2 ESTÁDIOS NÃO PARASITÁRIOS E PARÂMETROS REPRODUTIVOS

Os valores observados no presente experimento para período e percentual de muda de larvas para ninfas, período de muda ninfas para fêmeas, período de pré-postura, período de postura, período de incubação dos ovos, peso de teleóginas, peso de posturas e parâmetros reprodutivos

foram muito próximos aos valores citados na literatura para condições de 27°C e 80%UR (Oba e Shumaker, 1983/84; Petit et al., 1990; Almeida, 1999b; Horta et al., 1999; Faccini et al., 1999a,b). No entanto, uma maior ou menor amplitude de valores foi observada para os parâmetros comparados. As diferentes espécies de hospedeiros utilizadas, a condição imunológica dos mesmos e as condições experimentais adotadas nos diferentes estudos são argumentos suficientes para justificar essa variação.

Vale ressaltar que foi possível observar a maior postura (812mg) e a maior teleógina, (1.435mg) já descritas para essa espécie. Os valores máximos reportados até então foram: postura de 563mg, observado por Horta et al. (1999), e teleógina de 1.187mg, observado por Oba e Shumaker (1983/84).

5.3 CICLO BIOLÓGICO TOTAL

Oba e Shumaker (1983/84) observaram variação total do ciclo de 135 a 250 dias, utilizando condições de 27°C e 80%UR, para os estádios não parasitários, e condições ambientais para os estádios parasitários. Os menores valores registrados no presente estudo (56 a 163 dias) devem estar relacionados às condições experimentais, já que também os estádios parasitários foram mantidos sob condições controladas de 27°C±1.

5.4 CONSEQÜÊNCIAS DO PARASITISMO

Como os animais utilizados, oriundos do ambiente natural, não passaram por um período de quarentena, de adaptação ao cativeiro e nem foram medicados antes de serem introduzidos ao experimento, esses não são bons exemplos para se avaliar os prejuízos causados pelas infestações experimentais. A sobrevivência de ofídios em cativeiro muitas vezes é baixa em função da não adaptação às condições a que são submetidos, pois são animais muito sensíveis (Leinz et al., 1989).

Um dos grupos de cascavéis utilizados no experimento nasceu em cativeiro, era manipulado com frequência, alimentava-se

normalmente, estava vermifugado e em ótimo estado de saúde, sendo um bom grupo para avaliar as conseqüências do parasitismo por *A. rotundatum* em condições experimentais. Após passarem por duas infestações com adultos e uma infestação com larvas, todas as serpentes pararam de se alimentar e apresentaram quadros infecciosos variáveis, apresentando estomatite e abscessos cutâneos. Dessas cinco cascavéis, apenas uma veio a óbito, todas as outras quatro serpentes recuperaram-se após tratamento com enrofloxacin via intramuscular durante 20 dias (dose de 5mg/kg a intervalos de 48 horas), tratamento tópico (solução de sulfato de gentamicina a 0,3% e miconazol a 1%), higiene das regiões afetadas e alimentação artificial, via sonda esofágica (Mader, 1996).

Após a recuperação não foram realizadas novas infestações. Desde então, os animais foram mantidos nas mesmas condições de cativeiro, voltaram a se alimentar naturalmente e não apresentaram nenhuma alteração do estado clínico. Isso afasta a hipótese de que outra condição, que não o parasitismo por *A. rotundatum* sob condições experimentais pudesse estar provocando a enfermidade. Vale ressaltar, que o grupo das cascavéis foi o que sofreu parasitismo menos intenso, pois apresentou menores valores para os índices de recuperação de larvas, ninfas e adultos.

Os sintomas observados nos hospedeiros utilizados no presente experimento são compatíveis com as informações disponíveis sobre aspectos clínicos de ectoparasitismo em répteis. Infestações com ectoparasitas estão comumente relacionadas a perda de apetite, depressão, disecidise e dermatite, provocando ulcerações e abscessos. Essas são condições suficientes para provocar a imunossupressão dos animais, já que apenas a má adaptação ao cativeiro seria causa determinante desse processo. Sem um sistema imunológico eficiente, surgem então infecções bacterianas oportunistas, geralmente causadas por microrganismos gram-negativos, provocando com bastante frequência quadros de estomatite, pneumonia e septicemia em répteis.

Os casos de estomatite são muito frequentes em ofídios mantidos em cativeiro e se não tratados, geralmente evoluem para quadros de pneumonia e/ou septicemia, culminando com a morte dos animais. Mais de 75% das causas de mortalidade em répteis estão relacionadas a infecções bacterianas (Wallach e Boever, 1983; Fowler, 1986; Mader, 1996). Foi possível isolar *Enterobacter cloacae* de secreção caseosa oral, de abscesso cutâneo e "swab" cloacal de uma dessas serpentes. Essa bactéria é um microrganismo amplamente difundido, ocorrendo na água, no solo e na pele e trato digestivo do homem e de animais, como um microrganismo comensal. As enterobactérias são isoladas com frequência, de pulmão e vias aéreas superiores e intestino de ofídios doentes e saudáveis, estando relacionadas com a ocorrência de estomatites, pneumonias e processos septicêmicos (Hilf et al., 1990; Mavridis et al., 1993a,b; Izuca et al., 1983/84).

Embora não existam estudos sobre a composição da saliva desse carrapato, eventuais toxinas presentes podem estar relacionadas à imunossupressão dos hospedeiros. Sabe-se que a picada de *Ixodes ricinus* pode provocar abscedação local e metastática em cordeiros, sendo a imunossupressão do hospedeiro provocada por inoculação de toxinas do carrapato, e a infecção secundária causada por *Staphylococcus* spp., os principais aspectos relacionados a ocorrência do quadro (Webster e Mitchel, 1989). A saliva de *I. daminni* possui capacidade imunossupressora comprovada pela presença de PGE₂, um inibidor da atividade de células T, além de kininase, uma enzima que inativa moléculas de bradicininas do hospedeiro, diminuindo a dor no local da picada (Sonshine, 1993). Associações entre infecções secundárias por *Staphylococcus*, infecções metastáticas e parasitismo por *I. dentatus* em coelhos silvestres, *Sylvilagus* spp. (Nelson et al., 1975) também são descritas.

Os carrapatos são citados também como possíveis veiculadores de vermes, protozoários, bactérias e vírus entre os

ofídios (Wallach e Boever, 1983; Fowler, 1986; Mader, 1996). Sabe-se apenas que o *A. rotundatum* é vetor, entre os sapos (*Bufo* sp.), de um hematozoário chamado *Hemolivia stelata* (Petit et al., 1990), que o *Ornithodoros talage* é transmissor, entre os ofídios, de uma filária chamada *Macdonaldius oschei* e que o ácaro *Ophionyssus natricis* transmite a bactéria *Aeromonas hydrophila* entre ofídios, agente também comumente associado a quadros de pneumonia e estomatite (Mader, 1996).

5.5 DESEMPENHO DOS GRUPOS TESTADOS

A duração de estádios de desenvolvimento, os índices de recuperação, os percentuais de eficiência de muda e os parâmetros reprodutivos têm sido utilizados com frequência para observar a ocorrência de especificidade parasitária de carrapatos e de resistência de hospedeiros ao seu parasitismo (Trager, 1939; Wikel e Allen, 1976; Norval, 1978; Brown e Askenase, 1981; Wikel, 1981; Szabó et al., 1995). Geralmente os carrapatos, tendem a apresentar maiores durações de estádios de desenvolvimento, menores índices de recuperação e percentuais de muda e índices reprodutivos menos eficientes quando alimentados em animais previamente sensibilizados ou hospedeiros não usuais (Nelson et al., 1975; Randolph, 1979). Isso ocorre devido a diferentes mecanismos imunológicos ativados pelos hospedeiros em resposta aos antígenos inoculados pelo carrapato (Willadsen, 1980; Brown e Askenase, 1981; Brown, 1988).

No presente estudo o grupo de cascavéis foi o que apresentou ser o menos eficiente enquanto hospedeiros, sendo altamente significativa essa diferença para os parâmetros de período parasitário de larvas e fêmeas, índice de recuperação de larvas não ingurgitadas e ingurgitadas, índice de recuperação de ninfas e percentual de muda de larvas para ninfas.

Também foi observada uma tendência à diminuição de valores registrados, entre a primeira e a segunda infestação de fêmeas, para o mesmo grupo de cascavéis sem

contato prévio com carrapatos, para os parâmetros de período de postura, período de incubação dos ovos, peso de teleóginas e posturas e índices de conversão em ovos e larvas. Embora essa diminuição de valores não tenha sido estatisticamente significativa, ela sugere a ocorrência de imunidade adquirida para esse grupo, já que os valores registrados para os outros, mantiveram-se estáveis ou aumentaram.

Além disso, durante um ensaio realizado com infestações de larvas, antes da realização do experimento, e durante a primeira infestação experimental de larvas, apenas foram utilizadas cascavéis oriundas do ambiente natural. Nessas infestações só foi possível recuperar, de uma única serpente, duas larvas ingurgitadas que não realizaram muda, e aproximadamente 60 larvas, entre não ingurgitadas e parcialmente ingurgitadas, que morreram nos primeiros dois dias de incubação. Esses exemplares foram removidos do hospedeiro por ocasião da morte do mesmo e encontravam-se em estado de ingurgitamento atrasado em relação aos outros grupos, dos quais já estavam sendo obtidas ninfas ingurgitadas. Todos os outros exemplares de estádios imaturos obtidos de cascavéis foram coletados em uma única infestação a partir de animais sem contato prévio com carrapatos. Não foram realizadas infestações de fêmeas de *A. rotundatum* em cascavéis oriundas do ambiente.

Um outro aspecto, que deve ser analisado com cuidado, é a predileção por habitats para as diferentes espécies testadas. *W. merremii* habita obrigatoriamente regiões úmidas, próximas à água onde encontram seu principal alimento, sapos do gênero *Bufo sp.*, um hospedeiro freqüentemente parasitado por *A. rotundatum* (Vanzolini et al. 1980). Ofídios do gênero *Bothrops*, com 18 espécies descritas no Brasil, têm predileção por diferentes habitats, dependendo da espécie considerada (muitas preferem matas mais fechadas onde é alta a umidade) e o gênero *Crotalus* (no Brasil ocorre apenas uma espécie e 06 sub-espécies) prefere ambientes abertos, quentes e com baixa umidade relativa do ar,

não sendo esse o ambiente ideal para a manutenção da espécie de carrapato em questão (Sazima, 1988; Campbel e Lamar, 1989).

Embora o ambiente ocupado pelas cascavéis não seja considerado adequado para os carrapatos, essas realizam deslocamentos, assim como algumas espécies do gênero *Bothrops* que ocorrem na mesma região e que são observadas sendo parasitadas com freqüência, como é o caso de *B. moojeni* (Campbel e Lamar, 1989; Borges e Araújo, 1998). As condições de temperatura e umidade do ambiente são importantes para a ocorrência infestações, mas não são as únicas relacionadas a baixas eficiências de parasitismo observadas em cascavéis, já que neste experimento todos os hospedeiros testados foram mantidos sob as mesmas condições. Os motivos pelos quais as cascavéis apresentam resistência ao parasitismo por *A. rotundatum* podem estar relacionados a filogenia dos ofídios, pois todas as espécies do gênero *Crotalus* apresentam predileção por ambientes áridos (Campbel e Lamar, 1989), sendo essa uma característica muito marcante, também pode ser antiga o suficiente para influenciar a adaptação ou não de um parasita por seu hospedeiro.

Embora tenham sido estatisticamente menores os valores registrados de peso de teleóginas e posturas, para o grupo de boipevas, e maiores os de eclodibilidade, para o grupo de cascavéis, isso não influenciou significativamente os índices reprodutivos registrados, que foram estatisticamente semelhantes entre os grupos. O grupo de boipevas foi o único formado somente por indivíduos oriundos do ambiente. Sugere-se que ofídios oriundos do ambiente estão expostos com maior freqüência a pequenas infestações por carrapatos, portanto são indivíduos geralmente mais resistentes ao parasitismo (Mader, 1996). Ainda assim, as serpentes da espécie *W. merremii* apresentaram os melhores índices para a maioria dos parâmetros avaliados, sendo muito próximos os valores observados para os espécimes do gênero *Bothrops*, indicando

uma maior adaptação do carrapato a esses hospedeiros.

6. CONCLUSÕES

- Foi verificado que, nas condições experimentais utilizadas, o número de hospedeiros necessários para que o ciclo biológico de *A. rotundatum* se complete varia entre dois e três, existindo a possibilidade que um pequeno percentual da população realize ciclo monoxênico.
- A duração total do ciclo biológico de *A. rotundatum*, alimentados em ofídios, variou aproximadamente, de dois a cinco meses sob as condições experimentais utilizadas.
- Observou-se que ofídios da espécie *Crotalus durissus* ssp. não foram hospedeiros eficientes para a manutenção da população de *A. rotundatum* quando comparados a espécimes do gênero *Bothrops* sp. e da espécie *W. merremii*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A.S.T. Número de ovos por grama de postura de *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia, 1999a, p.86.
- ALMEIDA, A.S.T. Resultados preliminares do ciclo biológico de *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 infestados em anuro (*Bufo ictericus*) em condições experimentais. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia, 1999b, p.86.
- AMORIM, M.; FREIRE, N.M.S. Descrição morfológica do estágio de larva de carrapato (Acari: Ixodidae). 1. *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844. *Revista Parasitologia Al dia*, v.19, n.1-2, p.09-19, 1995.
- AMORIM, M.; GAZÊTA, G.S.; CRISTALLI, R.S.; FREIRE, N.M.S. Biologia de *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) sob condições de laboratório: dinâmica de infestação de fêmeas não alimentadas em *Crotalus durissus* (L.). *Revista da Universidade Rural, Série Ciência e Vida*, v.18, n.1-2, p.35-36, 1996.
- AMORIM, M.; FREIRE, N.M.S. Chave dicotômica para identificação de larvas de algumas espécies do gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Entomologia y Vectores*, v.6, n.1, p. 75-90, 1999.
- AMORIM, M.; GAZÊTA, G.S.; FREIRE, N.M.S. Estudo do órgão de Haller de larvas do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) do Brasil. *Entomologia y Vectores*, v.8, n.1, p. 121-132, 2001.
- ARAGÃO, H. B. Contribuição para a sistemática e biologia dos ixodidas. Partenogenese em carrapatos. *Amblyomma agamum* n. sp. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.4, n.1, p.96-119, 1912.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.31, n.3-4, p.759-843, 1936.
- ARAGÃO, H. B. Nota sobre ixodideos da Republica Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.33, n.2; p.319-327, 1938.
- ARAGÃO, H.B.; FONSECA, F. Notas de ixodologia. IX. O complexo *ovale* do gênero *Amblyomma*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* (separata), v.59, p. 131-148, 1961.
- BARROS, D.M.; BAGGIO, D. Ectoparasites Ixodida Leach, 1817 on wild mammals in the state os Paraná, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.87, n.2, p.291-296, 1992.
- BALASHOV, Y.S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) vectors of diseases of man and animals. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, v.8, n.5, p.337, 1972.

- BECKLUND, W.W. Ticks of veterinary significance found on imports in the United States. *The Journal of Parasitology*, v.54, n.3, p.622-628, 1968.
- BORGES, R.C.; ARAUJO, A.F.B. Seleção de habitat em duas espécies de jararaca (*Bothrops moogeni* Hoge e *B. neuwiedii* Wagler) (Serpentes: Viperidae). *Revista Brasileira de Biologia*, v.58, n.4, p.591-601, 1998.
- BROWN, S.J. Highlights of contemporary research on host immune responses to ticks. *Veterinary parasitology*, v. 28, p. 321-334, 1988.
- BROWN, S.J.; ASKENASE, P.W. Cutaneous basophil responses and immune resistance of guinea pigs to ticks: passive transfer with peritoneal exudate cells or serum. *The Journal of Immunology*, v.127, n.5, p.2163-2167, 1981
- BRUMPT, E. Particularités évolutives de l'*Amblyomma agamum*. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, v.2, n.2, p.113-120, 1924.
- BRUMPT, E. L'Ixodine *Amblyomma dissimile* du Venezuela ne présente pas de parthénogenèse facultative. *Annales de Parasitologie*, v.12, n.2, p.116-120, 1934.
- CAMPBELL, J.A.; LAMAR, W.W. The Venomous Reptiles of Latin América. New York: Cornell University Press. 1989.
- CLIFFORD, C.M.; ANASTOS, G. The use of chaetotaxy on the identification of larval ticks (Acarina: Ixodidae). *The Journal of Parasitology*, v.46, n.5, p.567-578, 1960.
- EVANS, E.D.; MARTINS, J.R.; GUGLIEMONE, A.A.A. Review of the ticks (Acarina, Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution - 1. The state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.95, n.4, p.453-470, 2000.
- FACCINI, J.L.H.; LIMA, L.M.Q.; PRATA, M.C.A.; et al. Biologia da fase não parasitária de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844), (Acarina: Ixodidae) alimentados em *Bufo ictericus*. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia, 1999a, p.91.
- FACCINI, J.L.H.; LIMA, L.M.Q.; PRATA, M.C.A.; DAEMON, E. Biologia da fase parasitária de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844), (Acarina: Ixodidae) em *Bufo ictericus*. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia, 1999b, p.91.
- FLOCH, H.; FAURAN, P. Ixodidés de la Guyane et des Antilles Françaises. *Archives de l'Institut Pasteur de la Guyane Française Publication*, n.446, p.1-94, 1958.
- FOWLER, M.E. Zoo and Wild Animal Medicine. 2.ed, Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1986. p. 108-185: Reptiles.
- FREIRE, N.M.S.; PERALTA, A.S.L.; TEIXEIRA, R.H.F.; GAZETA, G.S.; AMORIM, M. *Amblyomma rotundatum* parasitando *Homo sapiens* no parque zoológico do MPEG e em Itaboraí. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGICOS. Foz do Iguaçu, Arquivo da SZB, 1995, p.20.
- GUERRA, R.M.S.N.C.; SILVA, A.L.A.; FREIRE, N.M.S. *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acarina: Ixodidae) in *Kinosternon scorpioides* L. (Chelonia: Kinosternidae) in Maranhão state, Brazil. *Entomologia y Vectores*, v.7, n.3, p. 335-338, 2000.
- HILF, M.; WAGNER, R.A.; YU, V.L.A. prospective study of upper airway flora in healthy boid snakes with pneumonia. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, v.2, n.3, p.318-325, 1990.

HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv. Parasitol.*, v.24, p.135-238, 1985.

HORTA, M.C.; SOUZA, S.L.P.; LABRUNA, M.B. Aspectos biológicos da fase adulta de *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia, 1999, p.87.

IIZUCA, H.; CANTER, H.M.; OLIVEIRA, E.P.T. et al. Estomatite ulcerativa infecciosa em *Boa constrictor constrictor* mantidas em cativeiro. *Memórias do Instituto Butantan*, v.47/48, p.113-120, 1983/84.

JONES, E. K.; CLIFFORD, C.M.; KEIRANS, J.E.; KOHLS, G.E. The ticks of venezuela (ACARINA: IXODOIDEA) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisphere. *Brigham Young University Science Bulletin*, v.7, n.4, september, 1972.

JONGEJAN, F. Experimental transmission of *Cowdria ruminantium* (Rickettsiales) by the american reptile tick *Amblyomma dissimile* Koch, 1844. *Experimental and Applied Acarology*, v.15, p.117-121, 1992.

KEIRANS, J.E.; LITWAK, T.R. Pictorial key to the adults of hard ticks, family Ixodidae (Ixodida: Ixodoidea), east of de Mississipi river. *Journal of Medical Entomology*, v.26, n.5, p.435-448, 1989.

KEIRANS, J.E., OLIVER Jr., J.H. First description of the male and redescription of the immature stages of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae), a recently discovered tick in the U.S.A. *The Journal of Parasitology*, v.79, n.6, p.860-865, 1993.

KEIRANS, J.E., DURDEN, L.A. Illustrated key to nymphs of the tick genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) found in the United States. *Journal of Medical Entomology*, v.35, n.4, p.489-495, 1998.

KNIGHT, J.C. Observations potential tick vectors of human disease in the Cerrado region of central Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.25, n.2, p.145-146, 1992.

LABRUNA, M.B.; LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R. Study of wheat of eggs from six Ixodid species from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.92, n.2, p.205-207, 1997.

LAMPO, M.; RANGEL, Y.; MATA, A. Genetic markers for the identification of two ticks species, *Amblyomma dissimile* and *Amblyomma rotundatum*. *The Journal of Parasitology*, v.83, n.3, p.382-386, 1997.

LEINZ, F.F.; JANEIRO-CIQUINI, T.R.F.; ISHIZUKA, M.M.; LANG, L.V. Sobrevivência de *Bothrops jararacussu* (Serpentes, Viperidae, Crotalinae) mantidas em cativeiro. *Memórias do Instituto Butantan*, v.51, n.1, p.33-38, 1989.

MADER, D.R. Reptile Medicine and Surgery. Philadelphia: W.B. Saunders, 1996, 512p.

MANZANILLA, J.; APONTE, O. Biology of *Amblyomma dissimile* (Acari: Ixodidae), ectoparasite of *Iguana iguana* (Reptiles: Iguanidae). *Acta Biológica Venezuéllica*, v.19, n.1, p.59-71, 1999.

MAVRIDIS, S.C., Hipólito, M., BALDASSI, L., M et al. Estudo da microbiota aeróbica de serpentes *Bothrops sp.* (Serpente, Viperidae), recém-capturadas. *Memórias do Instituto Butantan*, v.55, n.2, p.59-64, 1993a.

MAVRIDIS, S.C.; Hipólito, M.; BALDASSI, L.M. et al. Inquérito bacteriológico de serpentes doentes e mortas mantidas em cativeiro. *Memórias do Instituto Butantan*, v.55, supl. 1, p.55-62, 1993b.

NELSON, W.A.; KEIRANS, J.E.; BELL, J.F.; CLIFFORD, C.M. Host-ectoparsite relationships. *Journal of Medical Entomology*, v.12, n.2, p.143-166, 1975.

- NORVAL, R.A.I. Repeated feeding of *Amblyomma hebraeum* (Acarina: Ixodidae) immatures on laboratory hosts. Hosts effects on tick yield, engorged weight and engorgement period. *The Journal of Parasitology*, v.64, n.5, p. 910-917, 1978.
- OBA, M.S.P.; SHUMAKER, T.T.S. Estudo da biologia de *Amblyomma rotundatum* (KOCH, 1844), em infestações experimentais de *Bufo marinus* (L., 1758) sob condições variadas de umidade relativa e temperatura do ar. *Memórias do Instituto Butantan*, v.47/48, p.195-204, 1983/84.
- OLIVER Jr., J.H. Parthenogenesis in mites and ticks (Arachnida: Acari). *American Zoologist*, v. 11, p. 283-299, 1971.
- OLIVER Jr., J.H. Biology and sistemattics of ticks (Acari: Ixodidae). *Annual Review Ecological Systematic.*, v. 20, p. 397-430, 1989.
- OLIVER Jr., J.H.; HAYES, M.P.; KEIRANS, J.E.; LAVENDER, D.R. Establishment of the foreign parthenogenetic tick *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) in Florida. *The Journal of Parasitology*, v.79, n.5, p.786-790, 1993.
- PERALTA, A.S.L.; AMORIM, M.; GAZETA, G.S.; SERRA-FREIRE, N.M. Jacaré coroa e iguana: dois novos hospedeiros para *Amblyomma rotundatum* no parque do MPEG. In: XIX CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGICOS. Foz do Iguaçu, Arquivo da SZB, 1995, p.20.
- PETIT, G.; LANDAU, I.; BACCAM, D.; LAINSON, R. Description et cycle biologique d'*Hemolivia stellata* N. G., N. SP., Hémoigrégarine de crapadus brésiliens. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée.*, v.65, n.1, p.3-15, 1990.
- RANDOLPH, S.E. Population regulation in ticks: the role of acquired resistance in natural and unnatural hosts. *Parasitology*, v.79, p.141-156, 1979.
- ROBINSON, L.E. The genus *Amblyomma*. Grã Bretanha: Cambridge Univ. Press, 301p., 1926.
- ROHR, C. J. Estudos sobre Ixódidas do Brasil. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz. 220p., 1909.
- SAMPAIO, I.B.M., Estatística Aplicada à Experimentação Animal. 1 ed. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SAZIMA, I. Um estudo de biologia comportamental da jararaca *Bothrops jararaca*, com uso de marcas naturais. *Memórias do Instituto Butantan*, v.50, n. 3, p.83-99, 1988.
- SILVA, N.; GONZALES, J.C. Novas espécies de carrapatos identificadas no Rio Grande do Sul. In: PROC. II CONGRS SOVERGS. Santa Maria,RS, 1972, p.10.
- SHUMAKER, T.T.S.; BARROS, D.M. Notes on the biology of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) on *Bufo marinus* (Linnaeus, 1758) from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.*, v.89, n.1, p.29-31, 1994.
- SONENSHINE, D.E. Biology of ticks. New York, Oxford University Press, v.1 e 2, 465p., 1993.
- SZABÓ, M.P.J.; MUKAI, L.S.; ROSA, P.C.S.; BECHARA, G.H. Differences in the aquired resistance of dogs, hamsters, and guinea pigs to repeated infestations with adult ticks *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE). *Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.32, n.1, p.43-50, 1995.
- TRAGER, W. Aquired immunity to ticks. *Parasitology*, v.25, p.57-81, 1939.
- VANZOLINI, P.E.; RAMOS-COSTA, A.M.M.; VITT, L.J. Répteis da Caatinga. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de ciências. 1980.
- VOGELSANG, E.G.; DIAS, J.A.T.S. Contribución al estudio de la fauna ixodológica de Venezuela. *Revista de Medicina Veterinaria yParasitologia*, v. 12, p. 3-62, 1953.

WALLACH, J.D.; BOEVER, W.J. Diseases of Exotic Animals: Medical and Surgical Management. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1983. p. 979-1046: Reptiles and Amphibians.

WEBSTER, K.A., MITCHEL, G.B.B. Experimental production of tick pyaemia. *Veterinary Parasitology*, v.34, p.129-133, 1989.

WELLS, E.A.; D'ALESSANDRO, A.; MORALES, G.A.; ANGEL, D. Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an area of the Llanos Orientales of Colombia. *Journal of Wild Life Diseases*, v.17, n.1, p.153-162, 1981.

WIKEL, S.K. The induction of host resistance to tick infestation. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.30, n.1, p.284-288, 1981.

WIKEL, S.K.; ALLEN J.R. Aquired resistance to ticks I. Passive transfer of resistance. *Imunnology*, v.30, p. 311-316, 1976.

WILLADSEN, P.W. Immunity to ticks. In: LUMSDEN, W.H.R.; MULLER, R.; BAKER, J.R., (Ed.). *Advances in Parasitology*, v.18. London and New York: Academic Press, 1980. p.293-313.