

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**“Biologia comparada de carrapatos *Amblyomma parvum*
(Acari: Ixodidae) do Brasil e da Argentina”**

Monize Gerardi

**Uberlândia
Agosto – 2012**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

**“Biologia comparada de carrapatos *Amblyomma parvum*
(Acari: Ixodidae) do Brasil e da Argentina”**

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas como requisito parcial a obtenção do título de Mestre.

Aluna: Monize Gerardi

Orientador: Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó

Co-orientador: Dr. Santiago Nava

**Uberlândia
Agosto – 2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

G358b Gerardi, Monize, 1987-
2012 “Biologia comparada de carrapatos *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) do Brasil e da Argentina” / Monize Gerardi. -- 2012.
107 f. : il.

Orientador: Matias Pablo Juan Szabó.

Coorientador: Santiago Nava.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Parasitologia - Teses. 2. Carrapato - Teses. 3. Relação hospedeiro-parasita - Teses. I. Szabó, Matias Pablo Juan. II. Nava, Santiago. III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. IV. Título.

CDU: 576.8



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas
- E-Mail: colpa@ufu.br - Telefax: www.imunoparasito.ufu.br (034)3218-2333



Monize Gerardi

“Biologia comparada de carrapatos *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) do Brasil e da Argentina”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 10 de agosto de 2012.

Profa. Dra. Darci Moraes Barros-Battesti – INSTITUTO BUTANTAN/SP

Profa. Dra. Deise Aparecida de Oliveira Silva – ICBIM/UFU

Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó (orientador) – FAMEV/UFU

Depois de anos de muito aprendizado, crescimento e desafios, é com muita alegria que concluo mais esta etapa de minha vida. Agradeço a Deus por ter colocado cada pessoa em meu caminho no momento certo, pois só assim consegui chegar até aqui.

*Dedico este trabalho às duas pessoas mais importantes da minha vida, mas que infelizmente não me acompanharam fisicamente em momento algum desta etapa: minha mãe, Margarete (*in memoriam*) e minha avó Maria (*in memoriam*). Vocês foram e continuarão sendo meus maiores exemplos de garra, de força e de amor. Creio que jamais poderia ser o que sou hoje se não fosse a presença de vocês em minha infância. E mesmo que hoje, lágrimas molhem meu rosto diante da vontade de receber o abraço de vocês neste momento tão especial, a certeza de que ainda estamos juntas é maior, pois aqui dentro de mim estarão sempre vivas.*

Amarei vocês para sempre!

Agradecimentos especiais

Ao professor Matias, meu orientador, que confiou em mim esta missão e que contribuiu de forma significativa para a minha permanência neste ramo. Obrigada por me aceitar em sua equipe de trabalho e me proporcionar este crescimento profissional tão grande. Também agradeço o apoio na execução do trabalho e as palavras de incentivo. Agradeço ainda a sua amizade, os conselhos e as preocupações. Foi graças ao nosso esforço que este trabalho se concretizou. Muito obrigada por tudo!

Aos meus familiares, Reinaldo, que além de tio e padrinho, sempre fez papel de um verdadeiro pai. Você, pai, é meu maior exemplo de amor incondicional. A tia Silvia (“madrinha”), tio Evaldo (“padrinho”) e a Débora, que mesmo à distância, sempre demonstram preocupação, além de me darem muito amor e carinho. Vocês me ensinaram a dar os primeiros passos sozinha, ainda na adolescência, após as grandes perdas da minha vida. E hoje sinto que sem vocês, eu não seria nada. Esta conquista também é de vocês!

Ao meu namorado Breno, uma verdadeira luz em minha vida e hoje, meu porto seguro. Desde o início estive ao meu lado e acompanhou de perto todas as horas difíceis. Foi meu melhor amigo. Soube me falar palavras de conforto quando precisei, e também, de felicitações quando mereci. Passou horas me ajudando na parte prática deste trabalho, abriu mão de finais de semana e feriados para me ajudar nos experimentos, passou manhãs de domingos comigo em feiras de adoção de cães. Se eu fosse descrever todos os momentos que me ajudou, não caberia aqui. Você, meu amor, é a certeza clara da existência de Deus em minha vida. É meu maior exemplo de sinceridade. Me orgulho muito do nosso relacionamento e tenho certeza que a nossa jornada juntos será longa! Amo você!

À minha amiga Mariela, praticamente uma irmã. Pessoa iluminada que Deus colocou em meu caminho há dez anos. E que mesmo hoje estando a quilômetros de distância, me presenteia com uma amizade verdadeira, que se renova a cada telefonema ou email trocado. Obrigada Mari, por todo seu apoio, preocupação, carinho e amor. Estaremos sempre juntas!

Às amigas: Marlene e Vanessa. Agradeço cada ajuda na execução deste trabalho, sempre com carinho e boa vontade. Em especial a você, Marlene, que me ensinou muito no período inicial no laboratório, e pela amizade verdadeira que vai além do ambiente de trabalho.

Às companheiras e amigas do Labix: Marcella, Graziela, Khelma, Aline e Ana Helena. Obrigada pela convivência, prestatividade e mais diversas ajudas.

À equipe do laboratório de genética e bioquímica, especialmente à Mariana, por me ajudar com a preparação do extrato.

Às minhas amigas da graduação, Flávia, Heloísa e Natália. Vocês que, apesar de não estarem presentes em meu dia-a-dia, sempre participam de momentos importantes em minha vida e me ajudam quando preciso. Obrigada por todo carinho e afeto.

Às minhas amigas do mestrado, Andressa, Luana, Bárbara, Maraísa e Nayara. Enfrentamos muitos momentos difíceis juntas, mas crescemos muito também. Dividimos momentos de alegrias. Assim, nossa amizade se tornou cada dia mais especial e me mostrou mais uma vez o quanto Deus é generoso comigo, colocando pessoas iluminadas em meu caminho, principalmente quando surgem dificuldades. Agradeço também à Celene, que me ajudou em alguns seminários, tirando dúvidas e me ensinando com muita paciência. Agradeço a preocupação, o carinho e todo o apoio. Levarei a amizade de vocês para sempre em meu coração e em minha memória.

Faço um agradecimento também aos professores José Roberto, Tiago, Jair, Eloísa e especialmente, à professora Deise, sempre disposta a ajudar nos obstáculos que surgiram. Obrigada pela confiança de vocês e pelo apoio no momento em que eu mais precisei.

Agradeço às professoras Márcia e Eliane, por me orientarem no Estágio em Docência e me permitirem um crescimento profissional a mais. À professora Júlia, que me permitiu a entrada em seu laboratório em finais de semana e feriados, para fazer as pesagens dos carrapatos.

Às secretárias da Pós-Graduação, Lucileide e Lucélia. Obrigada pela atenção, pela preocupação em solucionarem os problemas que surgiram e por todo o apoio.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de Mestrado.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas

nos auxiliam muito” (Chico Xavier)

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO	14
1.1. Ecologia e relações hospedeiro-parasito	14
1.2. Taxonomia e ciclo de vida de carrapatos	16
1.3. Interação hospedeiro-carrapato	17
1.4. Transmissão de patógenos e doenças	19
1.5. Imunobiologia e resistência a carrapatos.....	20
1.6. Populações de carrapatos amplamente distribuídas.....	22
1.7. <i>Amblyomma parvum</i> Aragão, 1908	23
2. JUSTIFICATIVA	28
3. OBJETIVOS	29
3.1. Objetivo geral.....	29
3.2. Objetivos específicos.....	29
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA ENTRE CARRAPATOS <i>A. parvum</i> DO BRASIL E DA ARGENTINA	30
4.1.1. Hospedeiros	30
4.1.2. Parasitos	30
4.1.3. Infestações	31
4.1.3.1. Obtenção dos adultos híbridos	31

4.1.4. Avaliação da fertilidade	32
4.1.5. Parâmetros biológicos analisados	32
4.2. COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE CARRAPATOS <i>A. parvum</i> DO BRASIL E DA ARGENTINA	33
4.2.1. Hospedeiros	33
4.2.2. Parasitos	34
4.2.3. Número de ovos contados em amostras de 20 mg de massa de ovos	34
4.2.4. Infestações	35
4.2.5. Parâmetros biológicos analisados	35
4.3. RESISTÊNCIA ADQUIRIDA POR COBAIAS A <i>A. parvum</i> EM INFESTAÇÕES SUCESSIVAS	37
4.3.1. Hospedeiros e parasitos.....	37
4.3.2. Infestações	38
4.4. REAÇÃO CUTÂNEA AO EXTRATO DE <i>A. parvum</i> EM COBAIAS SENSIBILIZADAS POR INFESTAÇÕES	38
4.4.1. Hospedeiros e parasitos.....	38
4.4.2. Preparo do extrato total de carrapatos.....	39
4.4.3. Infestações	40
4.4.4. Inoculação nos animais	40
4.4.5. Avaliação da reação de hipersensibilidade cutânea nos animais	41
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	41
4.6. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	42
5. RESULTADOS	43

5.1. Carrapatos <i>A. parvum</i> do Brasil e da Argentina foram reprodutivamente compatíveis entre si e seus descendentes foram férteis	43
5.2. Parâmetros biológicos de carrapatos <i>A. parvum</i> do Brasil e da Argentina foram semelhantes quando alimentados sobre a mesma espécie hospedeira.....	45
5.2.1. Adultos.....	45
5.2.2. Larvas	46
5.2.3. Ninfas	48
5.2.4. Número de ovos contados em amostras de 20 mg de massa de ovos	49
5.3. A adequação hospedeira de cada espécie animal aos carrapatos <i>A. parvum</i> do Brasil e da Argentina foi semelhante, porém, estágio-específica	49
5.4. Cobaias não desenvolveram resistência a infestações sucessivas com imaturos de carrapatos <i>A. parvum</i> do Brasil e da Argentina.....	50
5.5. Cobaias sensibilizadas por infestações com <i>A. parvum</i> do Brasil não expressaram reação de hipersensibilidade ao extrato do carrapato.....	52
6. DISCUSSÃO	53
7. CONCLUSÕES.....	64
8. FIGURAS	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
APÊNDICE	98
ANEXOS	108

RESUMO

O estudo das relações hospedeiro-carrapato pode fornecer uma gama de informações, incluindo aquelas necessárias para a prevenção de doenças parasitárias e/ou infecciosas. De ampla distribuição Neotropical, o carrapato *Amblyomma parvum* é capaz de se alimentar em várias espécies animais, inclusive o homem, além de ser potencial reservatório e/ou vetor de patógenos. Populações de *A. parvum* do Brasil e da Argentina apresentam divergência genética significativa (3,0 - 3,7%) e relatos de espécies hospedeiras contrastantes. O presente trabalho avaliou a compatibilidade reprodutiva entre carrapatos da Argentina e do Brasil e comparou a biologia de parasitos das duas origens em algumas espécies animais. Além disso, buscou-se compreender também se cobaias desenvolvem resistência a sucessivas infestações com carrapatos de ambas as origens, bem como, avaliar a reação cutânea em cobaias sensibilizadas por infestação com parasitos do Brasil. Foi observado que descendentes do cruzamento entre carrapatos de origens distintas são férteis, demonstrado pela taxa de eclosão de larvas de carrapatos híbridos. Cobaias foram os melhores hospedeiros para as formas imaturas e, cães e bovinos, para as formas adultas de carrapatos de ambas as origens, dadas a recuperação de larvas, peso de ninfas e produção de larvas por uma fêmea maiores nestes hospedeiros. Foi observado ainda, que bovinos são hospedeiros mais adequados para larvas da Argentina que para larvas do Brasil, o que pode indicar uma adaptação e eventualmente, estabilização de um substituto ciclo de vida neste hospedeiro não-Neotropical. Cobaias não desenvolveram resistência a repetidas infestações por *A. parvum* do Brasil, como mostrado pelo favorecimento do desempenho de formas imaturas na terceira infestação destes animais. Também, não expressaram reação de hipersensibilidade ao extrato do carrapato, como visto no

desenvolvimento de reações cutâneas reduzidas nos animais testados, à semelhança dos animais controle. Conclui-se que a biologia de *A. parvum* do Brasil e da Argentina é bastante semelhante. Ficou evidente que preás podem agir como hospedeiros primários para imaturos de *A. parvum* do Brasil assim como o são para aqueles da Argentina, e seu verdadeiro papel na manutenção de larvas e ninfas deste parasito deve ser melhor investigado no Brasil. Por fim, ressalta-se que a divergência genética encontrada entre carrapatos das duas origens não é suficiente para isolá-los reprodutivamente e a importância da reavaliação da utilização do gene mitocondrial 16S de rDNA para a distinção de espécies de ixodídeos.

Palavras-chave: *Amblyomma parvum*, biologia, compatibilidade reprodutiva, hipersensibilidade cutânea, Argentina, Brasil.

ABSTRACT

The study of tick-parasite relationships can provide a range of information, including those necessary for the prevention of parasitic and/or infectious diseases. Widely distributed in the Neotropics, *Amblyomma parvum* ticks can feed in several animal species, including man, besides being a potential reservoir and/or vector of pathogens. Populations of *A. parvum* from Brazil and Argentina have significant genetic divergence (3.0 - 3.7%) and contrasting reports of host species. This study evaluated the reproductive compatibility between ticks from Argentina and from Brazil and compared the biology of parasites from the two sources in a few animal species. In addition, we also evaluated the capacity of guinea pigs to develop resistance to successive infestations with ticks from both sources, as well as the skin reaction in sensitized guinea pigs by infestation with parasites from Brazil. It was observed that the descendants of crosses between ticks from different origins are fertile, demonstrated by the hatching rate of eggs of hybrid ticks. Guinea pigs were the best hosts for immature forms, and dogs and bovines for adult ticks from both sources, given the highest recovery rate of larvae, the greatest weight of engorged nymphs and the highest number of larvae produced by a female on these hosts. It was also observed that bovines are more suitable hosts for larvae from Argentina than for Brazilian cohorts, which may indicate an adaptation and possibly stabilization of a surrogate life cycle in this non-Neotropical host. Guinea pigs did not develop resistance to repeated infestation by *A. parvum* ticks from Brazil, as shown by the enhancement of the immature performance on these animals in the third infestation. Also, these hosts did not express hypersensitivity to the tick extract, as seen in the development of reduced skin reactions in test animals, like the control animals. We conclude that the biology of *A. parvum*

ticks from Brazil and from Argentina is very similar. It was evident that cavies can act as primary hosts for immature forms of Brazilian *A. parvum* as they are for those from Argentina, and its true role in the maintenance of larvae and nymphs of this parasite should be better investigated in Brazil. Finally, we emphasize that the genetic divergence found between ticks from the two sources is not enough to isolate them reproductively and the importance of reevaluate the mitochondrial 16S rDNA gene for distinguishing species of ticks.

Keywords: *Amblyomma parvum*, biology, reproductive compatibility, cutaneous hypersensitivity, Argentina, Brazil.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Ecologia e relações hospedeiro-parasito

As relações hospedeiro-parasito são interações dinâmicas movidas por pressões seletivas do ecossistema em questão. Em um ecossistema estável, uma pressão constante molda progressivamente as relações, tendendo a estabilizar as espécies envolvidas em um estado de equilíbrio e de conforto. Porém, diferentes fatores podem modificar as relações de um meio, dentre eles a interferência humana (PATZ et al., 2004), alterando desta forma, as pressões seletivas. Assim, nas áreas urbanas e rurais, muitas das relações hospedeiro-parasito representam interações estabelecidas em um contexto ecológico distinto e agora, em desequilíbrio. A percepção humana desta situação é muitas vezes dada por uma de suas consequências: a emergência ou reemergência de doenças; e embora isto represente o aspecto mais sensível deste desequilíbrio ao homem, em verdade é apenas uma pequena parte de todo um processo. Por este motivo, para a prevenção de doenças parasitárias/infecciosas há de se buscar também informações mais gerais sobre a relação hospedeiro-parasito.

De forma crescente e ao mesmo tempo preocupante, é o interesse mundial em preservar nichos naturais em interface com a civilização. Assim, criam-se áreas de fauna e flora “preservadas” com fins principalmente para práticas de lazer humano. Entretanto, raramente são consideradas as relações hospedeiro-parasito destes locais, e muito menos, que o encontro de nichos ecológicos distintos pode favorecer a difusão de parasitos e patógenos entre as populações de animais domésticos, selvagens e ainda, o homem. Szabó e colaboradores (2003a) descreveram o impacto de nichos naturais devido à introdução de carrapatos de animais domésticos e/ou doenças transmitidas por estes vetores ameaçando a vida selvagem. De forma semelhante, pode-se afirmar que a

introdução ou reintrodução de animais silvestres em habitats naturais, também favorece a translocação de parasitos e agentes patogênicos (CUNNINGHAM, 1996; DEEM et al., 2012). Todas as situações anteriormente citadas têm tido relevância no cenário atual, principalmente no que diz respeito à epidemiologia e até mesmo, ao surgimento de novas doenças infecciosas transmitidas por carrapatos.

Para a compreensão das relações hospedeiro-parasito, um aspecto fundamental é a definição dos seres envolvidos no processo. Trata-se de um aspecto muitas vezes ingrato, já que para este fim, o ser humano utiliza a denominação de espécie, um conceito com limites muito imprecisos, principalmente em se tratando de parasitos (KUNZ, 2002). Esta imprecisão ocorre em função de espécie não ser uma entidade estática, mas um processo moldado pelo ambiente ao longo do tempo. De qualquer forma, a definição de espécie foi consideravelmente refinada com a utilização de técnicas moleculares desencadeando uma profunda revisão na taxonomia. No entanto, não tardou para se perceber que a taxonomia molecular por si só não é capaz de resolver muitas das dúvidas taxonômicas e de filogenia. Portanto, ficou claro que a definição de espécie, assim como a sua participação nas diversas relações hospedeiro-parasito, precisa de um conjunto de dados que incluam parâmetros morfológicos, biológicos, ecológicos, moleculares, dentre outros.

Esta situação se faz presente também no caso dos carrapatos, um grupo importante de ectoparasitos para animais e humanos. Cada vez mais torna-se evidente que algumas espécies de carrapatos de ampla distribuição geográfica são na verdade um agregado de espécies com morfologia similar mas com características biológicas, ecológicas e capacidade vetorial distintas (SZABÓ et al., 2005; LABRUNA et al., 2009; LABRUNA et al., 2011; MASTROPAULO et al., 2011). Esta constatação exige uma reavaliação inicialmente das espécies de ampla distribuição geográfica nas diversas

áreas de sua ocorrência. Além disso, a avaliação deveria considerar, como já mencionados, os mais diversos parâmetros, tais como perfis moleculares de genes alvo, biologia, hospedeiros potenciais, ecologia e isolamento reprodutivo.

1.2. Taxonomia e ciclo de vida de carrapatos

Sendo ácaros (filo Arthropoda, classe Arachnida) pertencentes à subordem Ixodida, os carrapatos são divididos segundo Barros-Battesti e colaboradores (2006), em três Famílias; Ixodidae (“carrapatos duros” devido à presença de escudo dorsal), Argasidae (“carrapatos moles”) e Nuttalliellidae. Esta última família é representada por apenas uma espécie de carrapato, restrita ao continente Africano e que possui características intermediárias entre as duas primeiras. Em uma recente revisão, Guglielmone e colaboradores (2010) reconheceram 896 espécies de carrapatos, sendo a família Ixodidae a mais numerosa, com 702 espécies em 14 gêneros.

O ciclo de vida dos carrapatos varia conforme a espécie, e ainda, dentro de algumas espécies, pode variar dependendo das condições ambientais e da disponibilidade de hospedeiro (DAS; SUBRAMANIAN, 1972; OUHELI, 1994; ELGHALI; HASSAN, 2010). De modo geral para os ixodídeos, fêmeas ingurgitadas, após a cópula e seu completo ingurgitamento, se desprendem de seu hospedeiro para realizarem a ovipostura em local adequado e protegido. Dos ovos eclodem as larvas (hexápodas), que ao se alimentarem em um hospedeiro, ingurgitam e sofrem muda para formar o estágio de ninfa (octópoda). Da mesma maneira, ninfas se alimentam de sangue de seu hospedeiro e após seu ingurgitamento, sofrem nova ecdise, transformando-se em adultos. Estes procuram o hospedeiro, fêmeas e machos então copulam e após o ingurgitamento, as fêmeas se desprendem e fazem postura dos ovos, fechando o ciclo (NEVES, 2005).

Uma espécie de carrapato pode ser classificada em monoxena, quando todas as mudas ocorrem no hospedeiro, ou em heteroxena (ou carrapato de três hospedeiros), quando o carrapato se desprende de seu hospedeiro para realizar a muda de larvas e ninfas no ambiente. Dentro desta última classificação, ainda encontram-se espécies conhecidas como “carrapatos de dois hospedeiros”. Nestes, têm-se que as larvas e as ninfas se ingurgitam sobre o mesmo hospedeiro se desprendendo para sofrer a ecdise de ninfa para adulto no ambiente (NEVES, 2005).

O período que estes parasitos levam para se alimentar (ingurgitar), sofrer ecdise e, no caso das fêmeas acasaladas e ingurgitadas, para ovipor e as larvas eclodirem dos ovos, depende essencialmente de cada espécie. Ainda, e talvez de maior importância, todos os ixodídeos dependem das condições ambientais, principalmente de temperatura e umidade adequadas para a sua sobrevivência no período não parasitário. Assim, essas condições abióticas regulam a duração das fases que ocorrem fora do hospedeiro (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006), e de forma geral, correlaciona-se temperaturas amenas e alta umidade à maior sobrevivência de carrapatos no meio ambiente.

1.3. Interação hospedeiro-carrapato

Sendo organismos obrigatoriamente hematófagos, para obterem alimento, os carrapatos necessitam penetrar suas peças bucais na pele do hospedeiro e lesionar os vasos sanguíneos de maneira suficiente a liberar o sangue (MANS; NEITZ, 2004). O período parasitário pode variar muito dentre as espécies, mas sabe-se que carrapatos conseguem se alimentar em seus hospedeiros por um período relativamente longo quando comparados aos demais ectoparasitos (SAUER et al., 2000). Para se ter uma ideia, no caso dos “carrapatos duros”, o volume de sangue que é ingerido por uma

fêmea pode fazer seu peso aumentar cerca de cem vezes em relação ao peso inicial (ROMOSER et al., 1996). Desta forma, já é bem conhecido que, em consequência tanto do hábito hematofágico, quanto do longo período de alimentação, eventuais lesões de pequenos vasos sanguíneos e rompimento de células hospedeiras podem ocorrer, culminando assim, com a ativação das reações de defesa por parte dos hospedeiros, que incluem tanto a hemostasia (coagulação sanguínea, agregação plaquetária e vasoconstrição), quanto o sistema imune (RIBEIRO et al., 1987). Entretanto, se estas respostas culminarão com a resistência adquirida do hospedeiro ao carrapato, depende de vários fatores, dentre eles, as próprias espécies envolvidas na interação hospedeiro-parasito em questão (FRANCISCETTI, 2009).

Na verdade, nota-se então que para obterem sucesso na hematofagia, esses parasitos necessitam lidar com a defesa de seu hospedeiro, e o fazem através da produção de moléculas salivares capazes de driblar mecanismos reativos a eles. Recentes pesquisas e revisões trazem uma gama de moléculas com ação anticoagulante e imunossupressora presentes na saliva de ixodídeos (WAXMAN et al., 1990; VALENZUELA, 2004; FUKUMOTO et al., 2006; HEPBURN et al., 2007; PAVEGLIO et al., 2007; HOVIUS et al., 2008). A produção e inoculação destas substâncias no local de fixação dos carrapatos acabam facilitando também a transmissão de patógenos albergados nestes parasitos para seus hospedeiros (WIKEL, 1999; NUTTALL; LABUDA, 2004; RAMAMOORTHY et al., 2005). Sem dúvida, pesquisas futuras nas interações carrapato-hospedeiro e também, carrapato-patógeno-hospedeiro poderão revelar moléculas com potencial de utilização na prática clínica (HOVIUS et al., 2008).

1.4. Transmissão de patógenos e doenças

Desde o início do século XX, carrapatos são reconhecidos como vetores de agentes infecciosos para humanos. Tais agentes incluem bactérias (GRANSTROM, 1997; PAROLA; RAOULT, 2001), vírus (GRANSTROM, 1997; DUMPIS et al., 1999) e protozoários (GRANSTROM, 1997; HOMER et al., 2000). De fato, carrapatos são os principais parasitos dentro do filo Arthropoda a transmitirem patógenos para os animais, e no caso de agentes causadores de doenças em humanos, estão em segundo lugar, após os mosquitos (BALASHOV, 1972). No que se refere aos animais de produção, as perdas econômicas estão ligadas não somente às doenças transmitidas, mas também aos efeitos diretos da infestação por carrapatos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004), tais como lesões cutâneas e espoliação sanguínea (ESTRADA-PENA; JONGEJAN, 1999). Castro (1997) estimou os custos globais com carrapatos e doenças por eles transmitidas em rebanhos bovinos entre 13,9 e 18,7 bilhões de dólares ao ano.

Dentre as principais enfermidades transmitidas por carrapatos ao homem, destacam-se a Doença de Lyme e a Febre Maculosa. A primeira tem como agentes etiológicos algumas espécies de bactérias pertencentes ao complexo *Borrelia burgdorferi* sensu lato e, como vetores, carrapatos do complexo *Ixodes ricinus* (KURTENBACH et al, 2002). Além disso, é a doença transmitida por artrópode mais comum no Hemisfério Norte (MARGOS et al., 2008). No Brasil, apesar da verificação de espiroquetas semelhantes a *Borrelia* em carrapatos do gênero *Amblyomma* sp. (COSTA et al., 2002) e *Ixodes* sp. (ABEL et al., 2000) e de casos humanos com sintomatologia parecida (YOSHINARI et al., 1999; COSTA et al., 2001; MANTOVANI et al., 2007), ainda não se isolou o agente de amostras de pacientes, sendo por isso, denominada de “Lyme-símile” ou Síndrome de Baggio-Yoshinari.

A Febre Maculosa, doença esta de notificação obrigatória e potencialmente fatal, tem como agente etiológico bactérias do gênero *Rickettsia*, sendo *R. rickettsii* no Brasil, a principal espécie envolvida. Com relação aos vetores, estão envolvidos artrópodes do gênero *Amblyomma* como *Amblyomma cajennense* Fabricius, 1787 e *Amblyomma aureolatum* Pallas, 1772 (SANGIONI et al., 2005). Porém, mais recentemente, Spolidorio e colaboradores (2010) no estado de São Paulo e Silva e colaboradores (2011) na Bahia, confirmaram casos desta doença em que uma nova espécie do gênero *Rickettsia* (molecularmente próxima de *R. parkeri*, *R. africae*, e *R. sibirica*) esteve envolvida, agente este que pode estar distribuído por algumas áreas da Mata Atlântica. Posteriormente, Szabó e colaboradores (dados submetidos), confirmaram que o carrapato envolvido no caso de São Paulo foi *Amblyomma ovale* Koch, 1844, espécie esta nunca antes relacionada à Febre Maculosa, mas já conhecida e relatada como potencial transmissor da doença a humanos (FIGUEIREDO et al., 1999).

1.5. Imunobiologia e resistência a carrapatos

O resultado da relação hospedeiro-carrapato, na verdade, depende da resistência expressa pelo hospedeiro. Sendo assim, hospedeiros que desenvolvem forte resistência à determinada espécie de carrapato, não podem mantê-lo no ambiente, pois dificultam a alimentação do parasito, impedindo o seu desenvolvimento biológico máximo (SZABÓ et al., 1995a). Por outro lado, o não desenvolvimento de resistência parece estar associado às relações hospedeiro-carrapato naturais (RANDOLPH, 1979) e tende também a facilitar a transmissão de agentes que, por ventura, estejam albergados nos parasitos. Assim, um hospedeiro é considerado adequado (ou primário) quando sua resistência desenvolvida ao parasito é ineficiente ou inexistente (RANDOLPH, 1979; RIBEIRO, 1989; FIELDEN et al., 1992; RIBEIRO, 1995). Além disso, hospedeiros que

não manifestam resistência ao carrapato são também mais susceptíveis a doenças transmitidas por estes vetores (WIKEL et al., 1997), podendo desenvolver infecções e/ou se constituírem em reservatórios dos agentes patogênicos.

O desencadeamento da resposta do hospedeiro frente ao carrapato tem início quando da inserção das peças bucais na pele, pois é quando ocorre a quebra da primeira barreira física de defesa (FRANCISCHETTI, 2009). O recrutamento de células inflamatórias para o local culmina com a liberação de mediadores vasoativos, por exemplo, a histamina por basófilos. Estes mediadores são responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular, além de dor, prurido e eritema locais. Os sinais clássicos de desconforto da inflamação na pele do hospedeiro induzem a comportamentos de autolimpeza (ALEXANDER, 1986), que acabam constituindo um importante fator para reduzir a carga parasitária e, portanto, de resistência ao parasito (BENNETTI, 1969).

Materiais antigênicos e o próprio cimento, que são secretados pelos carrapatos quando da sua alimentação (KAUFMAN, 1989) estimulam os mecanismos de defesa dos hospedeiros, que envolvem células apresentadoras de antígenos, citocinas, complemento, linfócitos T e B e produção de anticorpos (WIKEL; BERGMAN, 1997), além do recrutamento de células inflamatórias para o local, tais como neutrófilos, eosinófilos, mastócitos e basófilos (FRANCISCHETTI, 2009). Em vários relatos, a resistência dos hospedeiros aos carrapatos foi observada a partir da segunda infestação, além de estar associada a um infiltrado predominantemente de basófilos (ALLEN, 1973; WIKEL, 1996; SZABÓ; BECHARA, 1999; SZABÓ et al, 2003), também denominado de hipersensibilidade cutânea basofílica ou Reação de Jones-Mote (DVORAK; DVORAK, 1993).

A resistência adquirida por hospedeiros pode ser avaliada através de sucessivas infestações, nas quais os parâmetros biológicos dos carrapatos são analisados. Desta

forma, a resistência pode ser manifestada por alterações nos parâmetros biológicos daqueles carrapatos alimentados em hospedeiros sensibilizados (previamente infestados) quando comparados à primoinfestação simultânea de outros hospedeiros (SZABÓ et al., 1995a; CASTAGNOLLI et al., 2003). Tais alterações no desempenho dos carrapatos podem constituir em diminuição do número de carrapatos que se fixam e que completam o ingurgitamento, redução do peso, do número de carrapatos que sofrem ecdise, aumento no período de ingurgitamento e consequente redução da fecundidade e morte dos parasitos (WILLADSEN, 1980).

1.6. Populações de carrapatos amplamente distribuídas

Aspecto relacionado aos carrapatos que também tem merecido estudos e que nas últimas décadas sofreu revoluções é a sistemática (GUGLIELMONE et al., 2010). Tem-se observado que algumas espécies de carrapatos amplamente distribuídas podem apresentar divergências genéticas e/ou comportamentais quando estão em localidades diferentes. *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806, o carrapato mais difundido pelo mundo (PEGAM et al., 1987; DANTAS-TORRES, 2010) e antes considerado uma população homogênea, pode ser representado por um complexo de espécies (SZABÓ et al., 2005). Relatos desta espécie de carrapato parasitando seres humanos são muito frequentes no hemisfério Norte, principalmente nos Estados Unidos (GODDARD, 1989; CAMPBELL; BOWLES, 1994; FELZ et al., 1996; HARRISON, 1997) e na região do Mediterrâneo, onde *R. sanguineus* atua como vetor e reservatório de *Rickettsia conorii*, agente da Febre Maculosa do Mediterrâneo (MATSUMOTO et al., 2005). Por outro lado, no Brasil, esta espécie de carrapato é quase que inteiramente relacionada aos cães (SZABÓ et al., 2005).

De grande importância na pecuária, o carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* Canestrini, 1887 de regiões diferentes também tem sido alvo de estudos e já foi relatada a divergência (genética e reprodutiva) entre exemplares provenientes da Austrália e da Argentina (LABRUNA et al., 2009). Mais recentemente, Labruna e colaboradores (2011) realizaram estudos semelhantes com o carrapato *A. cajennense*, espécie esta de maior importância médica e veterinária (ESTRADA-PENA et al., 2004), além de ser a mais agressiva ao homem na região Neotropical (GUGLIELMONE et al., 2006). Populações de carrapatos de duas localidades geográficas distintas do Brasil (São Paulo e Rondônia) e uma da Colômbia foram cruzadas e, uma população do Brasil também foi cruzada com uma da Argentina. Os resultados mostraram que *A. cajennense* também pode ser representada por um complexo de diferentes espécies, visto que as populações de São Paulo, Rondônia e Colômbia foram incompatíveis reprodutivamente, enquanto a população de São Paulo foi compatível com a da Argentina (LABRUNA et al., 2011). Estudos moleculares anteriores já sugeriam a existência desta incompatibilidade entre populações de *A. cajennense*, sendo ela associada às regiões biogeográficas particulares (BEATI et al., 2007).

1.7. *Amblyomma parvum* Aragão, 1908

De importância ainda não tão bem conhecida, a espécie *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) se classifica como um parasito heteroxeno e seu ciclo de vida se completa em três hospedeiros.

A distribuição deste ixodídeo abrange extensa área que vai do sul do México ao norte da Argentina (GUGLIELMONE et al., 2003; NAVA et al., 2008a; 2008b), ganhando destaque principalmente na província do Chaco argentino, seguido pelo Cerrado brasileiro (NAVA et al., 2008a). Acompanhando sua ampla distribuição, é

vasto o número de espécies hospedeiras para este parasito, incluindo animais domésticos, selvagens e até mesmo o homem (GUGLIELMONE, et al., 1991, NAVA et al., 2006a).

No Brasil, uma série de relatos mostraram que este carrapato é encontrado parasitando principalmente animais silvestres, dentre eles, veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*), quatis (*Nasua nasua*) (PEREIRA et al., 2000), tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) (MARTINS et al., 2004), todos na região do Pantanal Sul Mato-Grossense. Nesta mesma região, Cançado (2008) encontrou algumas destas espécies anteriormente citadas sendo parasitadas, além de cutia (*Dasiprocta asarae*), cateto (*Tayaçu tajacu*), porco-monteiro (*Sus scrofa*), mão-pelada (*Procyon cancrivorus*) e em pequenos roedores do gênero *Trichomys* sp.

Diversas espécies de carnívoros selvagens também foram encontradas parasitadas por *A. parvum*, tais como, onça parda (*Puma concolor*), onça pintada (*Panthera onça*), jaguatirica (*Leopardus pardalis*), gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) em diferentes regiões do país (LABRUNA et al., 2005a). Mais recentemente, Horta e colaboradores (2011) encontraram ninfas desta espécie de carrapato em roedor cavídeo (*Galea spixii*) e equimídeo (*Thricomys apereoides*) em áreas de caatinga do estado de Pernambuco.

Interessantemente, dentre os poucos relatos em animais domésticos, Szabó e colaboradores (2007) registraram *A. parvum* parasitando búfalos, cães e equinos em áreas de Cerrado. E apesar de não encontrar este carrapato efetivamente parasitando bovinos, não descartou essa possibilidade devido à alta prevalência de outra espécie de carrapato, *R. microplus*, podendo mascarar a presença do primeiro. No Pantanal Sul

Mato-Grossense, Cançado (2008) também relatou cães domésticos e bovinos sendo parasitados por *A. parvum*. A agressividade desta espécie de ixodídeo ao homem e a sua abundância na vegetação, tendo predominância em áreas de cerrado *sensu stricto* também foram relatadas (SZABÓ et al., 2007; CANÇADO, 2008).

Estudos da suscetibilidade de diferentes espécies hospedeiras ao parasitismo por *A. parvum* realizados no Brasil, demonstraram que este carrapato pode ser considerado tão generalista (OLEGÁRIO et al., 2011), que se assemelha a *A. cajennense*. Esses autores demonstraram que apesar da preferência variável dos diversos estágios do parasito por diferentes espécies de animais, tais como, cães, equinos, bovinos, caprinos, coelhos e cobaias, sua distribuição pode ser mais favorecida por condições ambientais que pela própria diversidade de hospedeiros.

Na Argentina, por outro lado, estudos mostraram que o ciclo de vida de *A. parvum* está associado a animais domésticos, bovinos e caprinos principalmente, como hospedeiros de estágios adultos (NAVA et al., 2008b), e de pequenos roedores cavídeos para as formas imaturas (NAVA et al., 2006b).

Na verdade, roedores da subfamília Caviinae (Rodentia: Caviidae) encontram-se divididos em três gêneros, *Cavia* Pallas, 1766, *Galea* Meyen, 1883 e *Microcavia* Gervais; Ameghino, 1880; e o número de espécies que compõem cada um deles ainda é controverso, principalmente entre os gêneros *Cavia* e *Galea* (GUGLIELMONE; NAVA, 2010). A distribuição destes animais é ampla na América do Sul, abrangendo quase todo o continente, com exceção da Bacia Amazônica (GUGLIELMONE; NAVA, 2010). Alguns membros da família Caviidae passaram por um processo de domesticação há cerca de 6.000 anos, e compõem agora a espécie *Cavia porcellus*, também denominada de “cobaia” ou “porquinho-da-Índia”. Por outro lado, os equivalentes selvagens deste grupo de animais são denominados de “preás”, sendo

Cavia aperea um dos representantes da espécie ancestral que lhes deu origem (EISENBERG, 1989; FURNARI, 2006).

Preás, na Argentina, têm alta abundância na natureza e são reconhecidamente importantes para a manutenção do ciclo de *A. parvum*, especialmente *Galea musteoides* (NAVA et al., 2006b; 2008a). No Brasil, indícios de que o mesmo ocorre foram registrados por Szabó e colaboradores (2007), quando se associou à alta infestação por *A. parvum* de um cão, inclusive com fêmeas ingurgitadas, o seu hábito de perseguir roedores. Entretanto, a definição de hospedeiros naturais para imaturos desta espécie de carrapato em território brasileiro não é clara ainda, apesar de alguns relatos terem mostrado aves (LUZ et al., 2012) e roedores (cavídeos e equimídeos) sendo parasitados (CANÇADO, 2008; HORTA et al., 2011). Os equimídios são filogeneticamente próximos aos cavídeos, porém até agora, não há relatos de sua importância para o ciclo de *A. parvum*.

De notável importância ainda, é a existência de *A. parvum* preferencialmente em regiões secas (NAVA et al., 2008a), se favorecendo assim, a perda de florestas úmidas, principalmente na América do Sul, como *A. cajennense* (ESTRADA-PENA et al., 2004). Assim, na comparação que se pode fazer entre *A. parvum* e *A. cajennense* observam-se a preferência por determinadas condições abióticas e a capacidade de parasitar ampla gama de hospedeiros, dentre eles, animais domésticos, selvagens e seres humanos. Adicionalmente, a semelhança entre essas espécies de carrapatos tem uma possível e maior preocupação: o potencial de veiculação de patógenos. Já foram detectados em *A. parvum* da Argentina, bactérias como *Ehrlichia chaffensis*, agente etiológico da Erliquiose Monocítica Humana (TOMASSONE et al., 2008) e ainda, uma *Rickettsia* de patogenicidade desconhecida (PACHECO et al., 2007). Portanto, aliada à

ampla distribuição geográfica e à menor especificidade por hospedeiros de *A. parvum*, está a capacidade de transmissão de doenças ao homem e aos animais.

Entretanto, apesar dos expostos, ainda se tem pouco conhecimento sobre o ciclo de vida desta espécie de carrapato na natureza. Percebe-se também, que pode haver uma divergência quanto às espécies animais parasitadas por *A. parvum* entre carrapatos da Argentina e do Brasil. Além disso, ao se comparar as sequências do gene mitocondrial 16S rDNA de *A. parvum* do Brasil e da Argentina, foram constatadas divergências capazes de serem consideradas espécies diferentes (NAVA et al., 2008a). Destaca-se assim, a importância de se aprofundar o conhecimento a respeito do seu ciclo de vida e das eventuais diferenças de aspectos da sua biologia e, conseqüentemente, capacidade vetorial, entre carrapatos do Brasil e da Argentina.

2. JUSTIFICATIVA

A determinação clara das similaridades e dissimilaridades entre as populações de carrapatos *A. parvum* do Brasil e Argentina quando alimentados sobre hospedeiros domésticos variados, bem com a constatação ou não de barreira reprodutiva, permitem verificar se estas devem ser tratadas como espécies distintas ou apenas subpopulações com características peculiares. Também, a confirmação de hospedeiros não resistentes a esta espécie de ixodídeo pode fornecer informações adicionais sobre o ciclo de vida de *A. parvum* na natureza. Sendo assim, todas estas constatações têm implicações na lida com a epidemiologia de agentes transmitidos e potencial difusão do parasito no meio rural e doméstico. Além disso, pode-se inferir sobre a dissimilaridade mínima do gene mitocondrial 16S rDNA para a distinção de espécies de carrapatos, principalmente quando se trata de populações de ixodídeos amplamente distribuídas, morfologicamente idênticas, mas com características contrastantes em sua biologia.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Comparar a biologia de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina, elucidando o potencial de algumas espécies animais em atuarem como seus hospedeiros (primários ou não) e, verificar se há isolamento reprodutivo entre as duas populações do parasito.

3.2. Objetivos específicos

- Confirmar se há ou não barreira reprodutiva entre *A. parvum* da Argentina e do Brasil por meio da avaliação da fertilidade dos descendentes do cruzamento entre eles, averiguando também a possibilidade de partenogênese por esta espécie de carrapato;
- Comparar o desempenho biológico de *A. parvum* do Brasil e da Argentina quando alimentados sobre algumas espécies de animais domésticos através de infestações artificiais;
- Verificar se cobaias adquirem resistência a *A. parvum* do Brasil e da Argentina no decorrer de infestações sucessivas;
- Avaliar a reação imune induzida em cobaias por infestações com *A. parvum* do Brasil através do teste cutâneo de hipersensibilidade.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA ENTRE CARRAPATOS *A. parvum* DO BRASIL E DA ARGENTINA

4.1.1. Hospedeiros

Nos experimentos foram utilizados quatro coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, sem distinção de sexo e isentos de contato prévio com carrapatos. Esta espécie hospedeira foi escolhida devido à maior disponibilidade, facilidade de manipulação e por ser usada rotineiramente para alimentação de diversas espécies de carrapato em laboratório. Durante o período experimental, os animais utilizaram colares de restrição para limitar a autolimpeza oral e dificultar a retirada das câmaras de alimentação. A alimentação dos mesmos foi feita com ração comercial e água *ad libitum*.

4.1.2. Parasitos

Foram utilizados nos experimentos amostras do carrapato *A. parvum* de duas origens distintas e de colônias já estabelecidas no Laboratório de Ixodologia da Faculdade de Medicina Veterinária (FAMEV) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). A primeira derivada de exemplares de Araguapaz, Goiás, Brasil (15° 04' 18'' S; 50° 25' 03'' W) e a segunda de carrapatos (colônia) fornecidos pelo Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuária, Estação Experimental Agropecuária Rafaela (Santa Fé), Argentina. No período experimental, os carrapatos foram mantidos em frascos transparentes com tampa perfurada. Os frascos foram identificados quanto à data e à origem e acondicionados em dessecador contendo no compartimento inferior, solução saturada de cloreto de potássio (KCL PA Synth), que visa manter uma umidade relativa

de aproximadamente 85% (WIKEL, 1979). Os dessecadores foram então mantidos em estufas BOD a 27°C com fotoperíodo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Todos os carrapatos utilizados (adultos) foram liberados sobre os hospedeiros com aproximadamente quinze dias de idade (após ecdise das ninfas ingurgitadas).

4.1.3. Infestações

As infestações desta etapa experimental foram realizadas no Laboratório de Ixodologia da Universidade Federal de Uberlândia e se basearam nas descrições de Szabó e colaboradores (1995a). Para tal, carrapatos foram restritos aos hospedeiros por câmaras de plástico transparente coladas com material atóxico (Brascoplast® Standard, Brascola LTDA) e reforçadas com esparadrapo ao dorso depilado do animal (Fig.1a). Os carrapatos foram liberados para o interior destas câmaras de alimentação um dia após sua montagem sobre o hospedeiro e foram então fechadas com tampas perfuradas. As câmaras foram examinadas diariamente e os carrapatos ingurgitados recolhidos e pesados. Posteriormente, os parasitos foram acondicionados em potes de acrílico devidamente identificados e levados para estufa BOD, como descrito anteriormente (4.1.2).

4.1.3.1. Obtenção dos adultos híbridos

Inicialmente, carrapatos adultos (primeira geração) das duas origens foram cruzados entre si utilizando-se como hospedeiro um coelho. Quatro câmaras de alimentação foram montadas sobre o animal, sendo duas para cruzamentos homólogos e duas para cruzamentos heterólogos. Nas duas primeiras câmaras, carrapatos puros (cinco casais) de ambas as origens foram alimentados, sendo uma câmara para carrapatos da Argentina e a outra para carrapatos do Brasil (cruzamentos homólogos).

Nas outras duas câmaras foram colocadas fêmeas da Argentina com machos do Brasil (cinco casais) e na segunda, cinco fêmeas do Brasil e cinco machos da Argentina (cruzamentos heterólogos). As larvas e ninfas provenientes de todos os cruzamentos foram alimentadas separadamente também em coelhos até se obterem os adultos que foram então utilizados na etapa seguinte (vide 4.1.4). As fêmeas resultantes dos cruzamentos heterólogos serão denominadas daqui por diante como “híbridas” para facilitar a identificação dos diferentes tratamentos.

4.1.4. Avaliação da fertilidade

Seis câmaras de alimentação foram montadas sobre cada coelho, utilizando-se no total, quatro animais (replicatas). Na primeira câmara, foram liberados seis casais de *A. parvum* da Argentina e na segunda, o mesmo número de casais de *A. parvum* do Brasil. A terceira e a quarta câmaras foram utilizadas para alimentar respectivamente, seis casais híbridos de fêmeas da Argentina e machos do Brasil, e seis casais híbridos do cruzamento inverso (fêmeas do Brasil e machos da Argentina). Finalmente, nas duas últimas câmaras, somente fêmeas puras dos carrapatos de origens diferentes foram utilizadas (seis fêmeas da Argentina em uma câmara e seis fêmeas do Brasil na outra). Estas duas últimas câmaras objetivaram averiguar se eventuais ovipostura e eclosão das larvas daquelas fêmeas híbridas não poderiam ser devido à possível capacidade de partenogênese desta espécie de carrapato e não à sua fecundação pelo macho híbrido.

4.1.5. Parâmetros biológicos analisados

Todos os parâmetros biológicos das fêmeas foram observados (como descrito mais adiante em 4.2.5), mas a fertilidade das fêmeas híbridas foi avaliada por suas

oviposturas e taxa de eclosão de larvas em relação aos obtidos das amostras de casais puros e de fêmeas colocadas para alimentar na ausência de machos.

4.2. COMPARAÇÃO DOS PARÂMETROS BIOLÓGICOS DE CARRAPATOS *A. parvum* DO BRASIL E DA ARGENTINA

4.2.1. Hospedeiros

As infestações foram realizadas sobre cinco ou seis hospedeiros de cada espécie (dependendo da disponibilidade e descrito mais adiante) tais como, bovinos (*Bos taurus taurus*), cães (*Canis familiares*), coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) e cobaias (*Cavia porcellus*). Todos os animais estavam em idade adulta, com exceção de bovinos, que foram utilizados ainda na condição de bezerros, entre dez e vinte dias de idade, devido à maior facilidade de manipulação. Cães, coelhos e cobaias foram alimentados diariamente com ração comercial e tinham água à vontade e bezerros foram tratados conforme aos hábitos e regras da fazenda experimental.

Estes animais foram utilizados por diversos fatores. Cães foram escolhidos devido à observação no cerrado de Goiás que essa espécie de hospedeiro pode ser naturalmente infestada com adultos de *A. parvum* (SZABÓ et al., 2007). Coelhos foram utilizados devido à facilidade de obtenção, manipulação e uso rotineiro no laboratório, como já citado anteriormente. NAVA e colaboradores (2008b) descreveram, na Argentina, a infestação de bovinos com adultos de *A. parvum* e, roedores cavídeos como hospedeiros essenciais para completar o ciclo deste carrapato na natureza, pois alimentam as formas imaturas. Por isso, bovinos e cobaias também foram utilizados neste estudo.

4.2.2. Parasitos

Utilizados como descrito em 4.1.2.

Os parasitos utilizados nesta etapa experimental variaram da terceira à sexta geração das colônias e foram mantidos por alimentação em coelhos. Os carrapatos liberados sobre os hospedeiros tiveram sempre a mesma idade, ou seja, aproximadamente quinze dias, sendo para larvas esta idade contada a partir do término da eclosão, para ninfas e adultos, após a ecdise de ambos. Com relação ao número de carrapatos por câmara, foram utilizados sempre cinco casais de adultos, vinte ninfas e larvas correspondentes a 20 mg de ovos.

4.2.3. Número de ovos contados em amostras de 20 mg de massa de ovos

A fim de se evitar efeitos prejudiciais às larvas que podem ocorrer quando da contagem das mesmas para posterior liberação no interior das câmaras, foi realizada uma estimativa do número de larvas eclodidas em uma quantidade fixa de ovos. Para tal, fez-se uma contagem de dez amostras de 20 mg de ovos de fêmeas da Argentina e a mesma quantidade de ovos de fêmeas do Brasil. Tais fêmeas foram alimentadas em coelhos e, portanto, todas as larvas utilizadas para as infestações das diversas espécies hospedeiras também foram provenientes de carrapatos alimentados em coelhos. Além disso, somente massas de ovos com taxa de eclosão variando entre 95 e 100% foram selecionadas para os experimentos (adaptado de Lopes e colaboradores (1998)). A pesagem dos ovos foi feita em balança eletrônica analítica de alta precisão (GEHAKA AG200) e a contagem em lupa estereoscópica (Leica CLS 150x).

4.2.4. Infestações

As infestações experimentais foram realizadas em canis no Hospital Veterinário, na Fazenda Experimental do Glória e no Laboratório de Ixodologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). O procedimento de contenção dos parasitos nos animais foi feito como descrito em 4.1.3. As infestações nas diversas espécies hospedeiras foram realizadas no verão de 2011/2012, diminuindo assim, possíveis variações sazonais dos carrapatos.

Para cães, bovinos e coelhos, foram utilizadas seis câmaras por animal, sendo três para carrapatos da Argentina e três para carrapatos do Brasil (uma para cada estágio do carrapato - larva, ninfa e adulto). Para cada espécie de hospedeiro referida, foram utilizados cinco animais (replicatas). Já em cobaias, cuja extensão corporal é menor que os animais anteriormente citados, foram utilizadas somente duas câmaras por animal, sendo uma para carrapatos da Argentina e outra para carrapatos do Brasil. Nestes animais, ao contrário dos primeiros, as infestações com diferentes estágios do carrapato não foram feitas simultaneamente, ou seja, foram utilizados seis animais (replicatas) para alimentar larvas e, posteriormente, seis animais para ninfas. Formas adultas dos carrapatos não foram utilizadas nas cobaias. Em todas as espécies hospedeiras, com exceção dos bovinos, foram utilizados colares de restrição (Fig.1a-d).

4.2.5. Parâmetros biológicos analisados

Os seguintes parâmetros biológicos dos carrapatos foram avaliados durante e após as infestações: peso das formas imaturas ingurgitadas (PI); peso da fêmea ingurgitada (PFI); peso da massa de ovos (PMO) vinte dias após início da ovipostura; períodos de ingurgitamento (Ping), de ecdise (Pecd), de pré-postura (Ppp) e de incubação dos ovos (Pinc); taxa de ecdise (% Ecd) das formas imaturas; índice de

eficiência de conversão da reserva alimentar em ovos (% IECO), taxa de eclosão de larvas (% Eclo); porcentagem de recuperação (% Rec) de carrapatos.

Onde:

Ping = número de dias decorridos desde a liberação dos carrapatos sobre o hospedeiro até o seu desprendimento;

Pecd = número de dias decorridos desde o desprendimento dos carrapatos até o início da ecdise;

Ppp = número de dias decorridos desde o desprendimento da fêmea até o início da ovipostura;

Pinc = número de dias decorridos desde o início da ovipostura até o início da eclosão da primeira larva;

% IECO = $\frac{\text{PMO}}{\text{PFI}} \times 100$;

PFI

% Ecd = $\frac{\text{número de carrapatos (larvas ou ninfas) que sofreram ecdise}}{\text{número de carrapatos (larvas ou ninfas) liberadas}} \times 100$

número de carrapatos (larvas ou ninfas) liberadas

% Eclo = obtida pela média da avaliação visual, por três pessoas, da massa de larvas que eclodiram, conforme Szabó e colaboradores (1995a);

% Rec = $\frac{\text{número de fêmeas alimentadas (ou larvas ou ninfas) ingurgitadas}}{\text{número de fêmeas (ou larvas ou ninfas) liberadas}} \times 100$

número de fêmeas (ou larvas ou ninfas) liberadas

Para comparar a adequação das diferentes espécies hospedeiras aos carrapatos de origens distintas, calculou-se o número médio de carrapatos produzidos em cada espécie animal, conforme Olegário e colaboradores (2011), onde:

Número médio de carrapatos adultos obtidos a partir de uma fêmea ingurgitada =

1 x recuperação média de adultos x peso médio da massa de ovos x número médio de carrapatos em 1mg de ovos x eclosão média de larvas x recuperação média de larvas x ecdise média das larvas x recuperação média das ninfas x ecdise média das ninfas;

Número médio de larvas produzidas por uma fêmea ingurgitada = 1 x recuperação

média de adultos x peso médio da massa de ovos x número médio de carrapatos em 1mg de ovos x eclosão média de larvas;

Número médio de ninfas obtidas de 100 larvas = 100 x recuperação média de larvas x ecdise média das larvas;

Número médio de adultos obtidos de 10 ninfas = 10 x recuperação média das ninfas x ecdise média das ninfas;

Número médio de adultos obtidos de 100 larvas = 100 x recuperação média de larvas x ecdise média das larvas x recuperação média das ninfas x ecdise média das ninfas.

4.3. RESISTÊNCIA ADQUIRIDA POR COBAIAS A *A. parvum* EM INFESTAÇÕES SUCESSIVAS

4.3.1. Hospedeiros e parasitos

Utilizaram-se neste experimento cobaias (*C. porcellus*) como hospedeiros, que foram mantidas no Laboratório de Ixodologia desta Universidade. Durante os experimentos foram alimentados com ração comercial e tiveram água à vontade.

Estágios imaturos (larvas e ninfas) de *A. parvum* do Brasil e da Argentina foram utilizados para as infestações.

4.3.2. Infestações

As infestações contaram com um total de vinte e quatro cobaias como hospedeiros. Inicialmente, seis animais (replicatas) foram infestados (como descrito em 4.1.3) utilizando-se duas câmaras por animal (Fig.1b). Na primeira câmara, foram liberadas vinte ninfas de origem brasileira, e na segunda, o mesmo número de ninfas de origem argentina. Após o término da coleta dos carrapatos e a retirada das câmaras de alimentação, com um intervalo de quinze dias foi realizada uma segunda infestação nestes animais, da mesma forma que a primeira. Finalmente, uma terceira infestação foi realizada quinze dias após o término da segunda e, simultaneamente a ela, o mesmo número de cobaias (seis) sem contato prévio com carrapatos, foram infestados da mesma maneira que os primeiros. Assim, foram comparados os parâmetros biológicos dos carrapatos entre cobaias de terceira infestação (animais sensibilizados) e cobaias de primeira infestação, ou cobaias primoinfestadas (sem contato prévio com carrapatos). Além disso, o comportamento dos animais quanto ao prurido foi observado em todas as infestações. De maneira idêntica, foram realizadas infestações para o estágio de larva (correspondente a 20 mg de ovos) de ambas as origens, como descrito em 4.2.3.

4.4. REAÇÃO CUTÂNEA AO EXTRATO DE *A. parvum* EM COBAIAS SENSIBILIZADAS POR INFESTAÇÕES

4.4.1. Hospedeiros e parasitos

Nesta etapa experimental, foram utilizados somente carrapatos de origem brasileira. Buscou-se compreender se preás poderiam ser hospedeiros adequados para as formas imaturas de *A. parvum* do Brasil assim como são para estes parasitos na

Argentina, uma vez que relatos desta espécie em roedores caviões são escassos no Brasil.

O teste cutâneo de hipersensibilidade foi escolhido por permitir uma análise das reações de cada hospedeiro aos tecidos do carrapato sem interferência da saliva do ácaro. Desta forma, tentou-se correlacionar a intensidade e qualidade da reação cutânea induzida pelo extrato de carrapato, ao grau de resistência do hospedeiro.

4.4.2. Preparo do extrato total de carrapatos

O extrato de carrapatos foi preparado de acordo com a técnica utilizada por Szabó e colaboradores (1995b) para carrapatos *R. sanguineus*. Duzentos exemplares adultos não alimentados de *A. parvum* do Brasil provenientes da colônia (descrito em 4.1.2) foram lavados exaustivamente em salina tamponada com fosfatos (PBS) estéril, mantidos em álcool 70% por dois minutos e lavados novamente em PBS estéril. Após serem secos em gaze estéril, foram mantidos por setenta e duas horas em freezer a -18°C (tempo suficiente para causar a morte dos ácaros), triturados (em graal e pistilo de porcelana) juntamente com PBS estéril, refrigerada, pH 7,2 e mantidos em cama de gelo picado. O material resultante (aproximadamente 10% p/v) foi ultrassonicado em frequência de 20kHz (dez ciclos de trinta segundos cada) (Bandelin SONOPULS mini20). Em seguida, o extrato foi centrifugado a 12.000g por uma hora a 4°C. O sedimento resultante foi então descartado e o sobrenadante filtrado através de filtro para seringa com membrana poliestersulfônica (PES) de 0,22µm de porosidade. Ao final, foi determinada a concentração proteica utilizando o método de Bradford (1976) através de espectrofotometria (Espectrofotômetro BEL PHOTONICS LGS 53). O extrato foi mantido a -40°C até a sua utilização.

4.4.3. Infestações

Foram utilizadas doze cobaias como hospedeiros, sendo que somente seis delas foram infestadas (ver adiante). Somente o estágio de ninfa dos carrapatos foi utilizado, visto que, há reação cruzada entre antígenos expostos por todos os estágios de uma determinada espécie de carrapato (SZABÓ et al., 2000). Inicialmente, seis animais (replicatas) foram infestados como descrito em 4.1.3, porém, utilizando somente uma câmara por animal (e vinte ninfas dos carrapatos do Brasil na câmara). Após o término da coleta dos carrapatos e a retirada das câmaras de alimentação, com quinze dias foi realizada a segunda infestação igualmente à primeira nos mesmos animais.

4.4.4. Inoculação nos animais

A inoculação do extrato nos animais ocorreu após quinze dias decorridos da segunda infestação das cobaias sensibilizadas (descrito em 4.4.3) e, simultaneamente em cobaias sem contato prévio com carrapatos. Para tal, procedeu-se com a tricotomia da metade superior das faces interna e externa dos pavilhões auriculares destes animais. Em seguida, a superfície da área depilada foi desengordurada com éter e então, feita uma antissepsia com álcool iodado. O inóculo foi feito intradermicamente, em local marcado da face interna do pavilhão auricular esquerdo, com 25µg do extrato em 0,02ml de PBS estéril. A quantidade do extrato utilizada foi baseada em estudos anteriores com *R. sanguineus* (SZABÓ et al., 1995b). Igual volume de PBS puro foi injetado no pavilhão direito para controle das reações inespecíficas induzidas pelo ato da injeção. Seringas de insulina estéreis foram utilizadas para as inoculações.

4.4.5. Avaliação da reação de hipersensibilidade cutânea nos animais

A avaliação da reação nos hospedeiros foi realizada com o auxílio de um espessímetro (Mitutoyo 0-10mm x 0,01mm) nos seguintes tempos pós inoculação: 10 minutos, 1, 2, 5, 18, 24, 48, 72 e 96 horas. Medidas da espessura normal do pavilhão antes da inoculação (do extrato ou do PBS) foram também anotadas. Em cada hospedeiro, a medida da reação cutânea de hipersensibilidade foi expressa pela porcentagem média de aumento do pavilhão auricular (nos diferentes tempos após a inoculação) em relação ao tempo zero e obtida da subtração do valor encontrado na orelha inoculada com PBS daquele encontrado da inoculação com o extrato. Assim, descartaram-se possíveis reações inflamatórias que ocorrem com o simples ato da inoculação.

4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados dos parâmetros biológicos dos carrapatos alimentados nos diversos hospedeiros e da avaliação da compatibilidade reprodutiva foram submetidos a uma análise de variância e as médias foram comparadas através do teste Tukey. Para as contagens das amostras de 20 mg de ovos, bem como para as mensurações das reações do teste de hipersensibilidade cutânea, os valores obtidos foram comparados através do teste Mann Whitney ou *t* de Student. No teste de resistência adquirida a infestações sucessivas, os parâmetros dos carrapatos de primeira e terceira infestações foram comparados através do teste *t* de Student. O nível de significância foi determinado em $p < 0,05$. O programa utilizado foi GraphPad Prism[®] versão 5.0 e Mypstat[®] versão 12.0.

4.6. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

Todos os experimentos foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (Protocolos CEUA/UFU 097/11 e 030/12) (Anexos).

5. RESULTADOS

5.1. Carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina foram reprodutivamente compatíveis entre si e seus descendentes foram férteis

Os parâmetros biológicos resultantes dos carrapatos são mostrados na Tabela 1 (Apêndice) e ilustrados nas figuras 2, 3 e 4.

O peso médio das fêmeas ingurgitadas foi semelhante entre os diversos tratamentos, variando entre 389,0 mg e 446,3 mg, com exceção do peso daquelas alimentadas na ausência de machos, que teve menores valores, diferindo significativamente das demais. Nestas, fêmeas do Brasil tiveram peso médio de 80,1 mg e as da Argentina, 47,5 mg, mas sem diferença estatística entre elas (Fig.2a). De maneira semelhante, o peso médio das massas de ovos de fêmeas puras e híbridas foi significativamente maior, se comparado com aquelas alimentadas sem machos, variando entre 198,0 mg e 273,0 mg nas duas primeiras, e entre 7,4 mg e 17,6 mg nas últimas. Porém, neste parâmetro houve uma diferença significativa entre oviposturas de fêmeas puras do Brasil e híbridas de fêmeas do Brasil, nas quais, a massa de ovos pesou cerca de 38% a mais que as primeiras (Fig.2b).

O período médio de ingurgitamento de fêmeas puras do Brasil foi de 8,9 dias e significativamente menor que o das híbridas de fêmea da Argentina (10,6 dias), mas não diferiu das puras da Argentina (10,2 dias) e das híbridas de fêmea do Brasil (10 dias). Já o mesmo período médio das fêmeas do Brasil alimentadas sem os machos, foi de 15,8 dias, sendo significativamente maior que todas as anteriores. Nas fêmeas da Argentina alimentadas sem machos, o período de ingurgitamento não pôde ser calculado, visto que todas foram retiradas e não desprendidas naturalmente (Fig.3a). Tal intervenção ocorreu no vigésimo quarto dia após a liberação dos carrapatos nas câmaras de alimentação, e

até então, nenhuma fêmea tinha se desprendido, apesar de ainda estarem vivas, possibilitando assim a ovipostura.

De forma geral, o período médio de pré-postura foi semelhante para todas as fêmeas, variando de 4,3 dias a 6,3 dias, exceto para aquelas puras da Argentina alimentadas na ausência de machos, nas quais foi de 11 dias, sendo significativamente maior (Fig.3b). Quanto ao período médio de incubação dos ovos, fêmeas puras do Brasil levaram 31,9 dias, sendo significativamente maior que as fêmeas puras da Argentina (29,6 dias), as híbridas de fêmea da Argentina (29,6 dias) e as híbridas de fêmea do Brasil (30,5 dias). Fêmeas que se alimentaram sem machos realizaram oviposturas, mas não se observou eclosão de larvas. Este parâmetro foi observado por até cem dias após o início da ovipostura. Portanto, não houve período de incubação para as posturas de tais fêmeas (Fig.3c).

A taxa média de eclosão de larvas dos diferentes tratamentos foi significativamente maior nas posturas de híbridas de fêmea do Brasil (87,9%) quando comparada com aquelas puras do Brasil (59,9%). Porém, nas posturas de fêmeas puras da Argentina e de híbridas de fêmea da Argentina, este período variou entre 74,8 e 77,7% e, portanto, não diferiram significativamente das demais. Nas posturas de fêmeas alimentadas na ausência de machos os ovos foram inférteis, não se observando desta forma, eclosão de larvas (Fig.4a).

O índice médio de eficiência de conversão da reserva alimentar em ovos foi semelhante entre todas as fêmeas alimentadas na presença de machos (puras e híbridas), variando entre 48,2% e 58,2%. Mas estes valores foram significativamente maiores que daquelas fêmeas alimentadas sem os machos (9,8% e 11,2% para fêmeas da Argentina e do Brasil respectivamente) (Fig.4b).

A maior taxa média de recuperação foi encontrada para fêmeas puras da Argentina (91,7%), porém, sem diferença significativa daquelas puras do Brasil e das híbridas (87,5%). Nas fêmeas puras alimentadas sem machos, a recuperação média diferiu significativamente das primeiras, sendo que nas da Argentina, a recuperação foi nula (devido a nenhuma fêmea ter se desprendido naturalmente) e nas do Brasil, foi de 20,8%, cerca de quatro vezes menor que as puras e híbridas alimentadas com machos. Não houve diferença significativa entre as fêmeas alimentadas sem machos de ambas as origens (Fig.4c).

5.2. Parâmetros biológicos de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina foram semelhantes quando alimentados sobre a mesma espécie hospedeira

No geral, foi observado que a maioria das diferenças significativas entre parâmetros de carrapatos da Argentina e do Brasil esteve relacionada ao desempenho dos parasitos em espécies hospedeiras diferentes, e não relacionada à sua origem geográfica. Ainda assim, poucas diferenças significativas foram notadas entre parâmetros de carrapatos do Brasil e da Argentina.

5.2.1. Adultos

Quando comparados separadamente em cada espécie hospedeira utilizada, os parâmetros biológicos de fêmeas de *A. parvum* ingurgitadas não apresentaram diferenças significativas entre carrapatos do Brasil e da Argentina. Os dados na íntegra estão discriminados na Tabela 2 (Apêndice).

Os pesos médios da fêmea ingurgitada e da massa de ovos variaram respectivamente de 370,5 mg a 454,5 mg (Fig.5a) e de 185,9 mg a 238,3 mg (Fig.5b).

O período médio de ingurgitamento variou de 8,6 a 10,7 dias, sendo o menor valor obtido em carrapatos do Brasil alimentados em cães, porém, sem diferença significativa em relação aos carrapatos da Argentina alimentados nos mesmo hospedeiro (Fig.6a). O período médio de pré-postura foi mais curto em fêmeas do Brasil alimentadas em bovinos (3,8 dias), mas sem diferir significativamente daquele das fêmeas da Argentina alimentados também em bovinos. O maior valor médio encontrado neste parâmetro (4,7 dias) foi para carrapatos das duas origens alimentados sobre cães (Fig.6b). O período de incubação médio de ovos foi significativamente mais longo em carrapatos de ambas as origens quando alimentados sobre cães e bovinos (variando entre 32,8 e 33,6 dias) em relação àqueles alimentados sobre coelhos (28,5 e 29,2 dias) (Fig.6c).

Valores médios da taxa de recuperação variaram entre 68% e 92%, e do índice de conversão da reserva alimentar, entre 46,3% e 56,4%, mas sem diferença significativa entre todos os tratamentos (Fig.7a e 7b). Finalmente, a taxa média de eclosão de larvas foi significativamente menor em fêmeas do Brasil alimentadas sobre coelhos (65,4%), não diferindo estatisticamente das fêmeas da Argentina alimentadas do mesmo hospedeiro (82,5%) e do Brasil alimentadas em cão (86,4%). Estas duas últimas, entretanto, não diferiram dos maiores valores encontrados, que variaram de 90,6 a 97,6% nas fêmeas da Argentina de cão e de ambas as origens de bovino (Fig.7c).

5.2.2. Larvas

Diferentemente dos adultos, alguns parâmetros biológicos de larvas se mostraram estatisticamente diferentes entre carrapatos da Argentina e do Brasil, quando analisados por espécie hospedeira. Os dados referentes a todos os parâmetros deste estágio são mostrados na Tabela 3 (Apêndice).

Os pesos médios de larvas ingurgitadas variaram de 0,48 a 0,55 mg e sem diferença estatística entre todos os tratamentos (Fig.8a). Por outro lado, o período de ingurgitamento médio, que variou entre 4,2 e 5,7 dias, foi mais curto nos carrapatos alimentados em cães (ambas as origens) e do Brasil alimentados em bovinos, mas sem diferença significativa em relação aos carrapatos do Brasil de cobaias e da Argentina de bovinos (Fig.8b).

O período médio de ecdise das larvas ingurgitadas foi mais curto em carrapatos da Argentina alimentados em coelho (9,1 dias) e este valor diferiu significativamente do valor obtido de carrapatos do Brasil alimentados no mesmo hospedeiro. Já o maior valor encontrado deste parâmetro (12 dias) foi em carrapatos do Brasil alimentados em cão, mas sem diferença significativa em relação aqueles de origem argentina do mesmo hospedeiro (Fig.8c).

A maior taxa média de recuperação deste estágio foi de 55,9% em carrapatos do Brasil alimentados em cobaias, e ainda, os parasitos da Argentina deste mesmo hospedeiro tiveram o mesmo parâmetro significativamente menor (42,5%). Por outro lado, carrapatos do Brasil alimentados em bovino tiveram uma taxa de recuperação média de 11,3%. Este valor também diferiu significativamente daqueles de carrapatos de origem argentina no mesmo hospedeiro, que foi de 26,7% (Fig.8d). Por fim, a taxa média de ecdise das larvas ingurgitadas foi menor em carrapatos do Brasil alimentados em bovinos (76,3%), porém, este valor não diferiu dos carrapatos de origem argentina do mesmo hospedeiro (86,4%). Nos demais hospedeiros, este parâmetro não diferiu significativamente (Fig.8e).

5.2.3. Ninfas

Quando alimentadas sobre a mesma espécie hospedeira, ninfas de *A. parvum*, assim como larvas, apresentaram algumas diferenças significativas entre parasitos de origem brasileira e argentina. Os parâmetros biológicos das ninfas são mostrados na Tabela 4 (Apêndice).

Ninfas do Brasil ingurgitadas tiveram um peso médio significativamente maior (7,3 mg) que as da Argentina (6,3 mg) quando alimentadas em cobaias. O menor peso médio observado foi de 4,4 mg em carrapatos da Argentina alimentados em cão, porém, sem diferir estatisticamente dos pesos médios de carrapatos do Brasil alimentados no mesmo hospedeiro (Fig.9a).

O período médio de ingurgitamento foi significativamente mais longo (6,8 dias) em carrapatos da Argentina alimentados em coelho, em relação aquele de carrapatos do Brasil do mesmo hospedeiro (4,6 dias). O período mais curto observado foi de 3,7 dias em carrapatos da Argentina alimentados sobre cão, porém sem diferir significativamente daqueles de origem brasileira do mesmo hospedeiro (Fig.9b).

Carrapatos alimentados em cobaias, de ambas as origens apresentaram o período médio de ecdise mais longo (16,6 dias). Nos demais tratamentos este parâmetro variou de 13,8 a 15,4 dias, mas sem diferir significativamente entre carrapatos das duas origens (Fig.9c). Com relação à taxa média de recuperação, os valores encontrados variaram de 46 a 81,7 %, entretanto, sem diferença estatística entre todos os tratamentos (Fig.9d). Por outro lado, a menor taxa média de ecdise foi observada em carrapatos de bovinos, tanto do Brasil (82,9 %), como da Argentina (79,5 %). Esta taxa foi maior em carrapatos alimentados em cobaias, coelhos e cães e variou de 97,5 a 100 %, mas sem diferença significativa entre carrapatos da Argentina e do Brasil em cada espécie hospedeira (Fig.9e).

5.2.4. Número de ovos contados em amostras de 20 mg de massa de ovos

Em amostras de 20 mg de ovos provenientes de fêmeas de *A. parvum* do Brasil, foram contados em média 389,9 ovos (329 - 426) e nas de fêmeas da Argentina, 368,4 ovos (346 - 383) (Fig.10). Portanto, foram considerados os valores médios de 390 e 368, respectivamente, para definir o número de larvas do Brasil e da Argentina que foram liberados nos hospedeiros após a eclosão. Ressalta-se que os valores obtidos nas contagens de ovos variaram de forma heterogênea e suas medianas foram significativamente diferentes entre si nas contagens (Tabela 5 - Apêndice).

5.3. A adequação hospedeira de cada espécie animal aos carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina foi semelhante, porém, estágio-específica

De forma complementar à comparação dos parâmetros biológicos de carrapatos da Argentina e do Brasil, buscou-se elucidar qual o potencial de cada espécie hospedeira utilizada para manter *A. parvum* na natureza, e em qual espécie animal estes carrapatos produziram um maior número de descendentes. Assim, foram feitos cálculos da produção de um determinado estágio a partir de outro, e os resultados são mostrados na Tabela 6 (Apêndice).

Novamente, a maioria das diferenças encontradas foi entre carrapatos alimentados nos diferentes hospedeiros e não entre os carrapatos de origem geográfica distinta. Entretanto, em um caso foi notada diferença entre carrapatos da Argentina e do Brasil.

A produção média de ninfas a partir de 100 larvas foi significativamente maior nos carrapatos da Argentina e do Brasil alimentados em cobaias se comparada aos outros hospedeiros, sendo respectivamente de 58 e 53,1 ninfas. Por outro lado nos bovinos, obteve-se o menor valor, com apenas 5,7 ninfas de origem brasileira

produzidas. Interessantemente, este valor foi significativamente menor que o número de ninfas de origem argentina produzidas neste mesmo hospedeiro (23,2 ninfas) (Fig.11a).

Na obtenção de adultos a partir de 100 larvas, cobaias forneceram os melhores resultados com médias de 46,4 e 40,5 adultos de carrapatos do Brasil e da Argentina, respectivamente. O menor valor encontrado para esta análise foi de 3,6 adultos do Brasil em bovinos, porém sem diferença significativa em relação aos de origem argentina alimentados neste mesmo hospedeiro (Fig.11b).

A produção média de adultos a partir de 10 ninfas variou entre 4,6 e 8 carrapatos. Embora estes valores não tenham diferido entre si, um número maior de carrapatos foi obtido de cobaias (Fig.12).

Um maior número médio de larvas foi obtido a partir de um casal de adultos quando carrapatos do Brasil foram alimentados em cão (4595 larvas), porém, sem diferir significativamente do número de carrapatos da Argentina obtidos do mesmo hospedeiro. O menor valor encontrado nesta análise foi de 2134 larvas do Brasil de adultos alimentados em coelhos. Ainda assim, não foi observada nenhuma diferença significativa entre carrapatos de origem argentina e brasileira em cada espécie hospedeira utilizada (Fig.13a).

Por último, o número médio de adultos obtidos a partir de um casal de adultos variou entre 196,2 e 450,5 carrapatos, mas não foi detectada nenhuma diferença significativa entre os tratamentos (Fig.13b).

5.4. Cobaias não desenvolveram resistência a infestações sucessivas com imaturos de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina

De maneira geral, os parâmetros biológicos de carrapatos imaturos alimentados em cobaias de terceira infestação (sensibilizadas) e primoinfestadas (controle) não

diferiram entre si significativamente. Este resultado demonstra a ausência de resistência adquirida por cobaias aos imaturos de *A. parvum* ao longo de infestações sucessivas. Os dados dos parâmetros biológicos dos carrapatos deste experimento estão apresentados nas Tabelas 7 a 10 (Apêndice).

Larvas do Brasil apresentaram parâmetros biológicos médios tais como, peso, períodos de ingurgitamento e de ecdise, taxas de recuperação e de ecdise estatisticamente semelhantes entre si nas diferentes infestações (Fig.14a-e). Por outro lado, ninfas do Brasil alimentadas em cobaias de terceira infestação apresentaram um período de ingurgitamento médio de 4,7 dias e significativamente mais curto que o mesmo período de ninfas alimentadas em cobaias de primeira infestação (5,2 dias) (Fig.15b). Os demais parâmetros de ninfas de origem brasileira não diferiram entre cobaias de diferentes infestações (Fig.15a, c, d, e).

Com relação aos carrapatos de origem argentina, o peso médio de larvas ingurgitadas em cobaias de terceira infestação foi de 0,6 mg, sendo significativamente maior que os de primeira (0,5 mg) (Fig.16a). Além disso, o período de ingurgitamento deste estágio em cobaias de terceira infestação foi de 4,7 dias em média e, portando, significativamente mais curto que os de primeira (5,5 dias) (Fig.16b). Parâmetros como período médio de ecdise, taxa média de ecdise e taxa média de recuperação não diferiram significativamente entre carrapatos alimentados em cobaias de primeira e terceira infestações (Fig.16c, d, e).

Por fim, ninfas da Argentina, assim como larvas do Brasil mostraram parâmetros biológicos médios estatisticamente semelhantes quando alimentados em cobaias previamente expostos aos carrapatos (terceira infestação) ou sem contato prévio com os mesmos (primeira infestação) (Fig.17a-e).

5.5. Cobaías sensibilizadas por infestações com *A. parvum* do Brasil não expressaram reação de hipersensibilidade ao extrato do carrapato

Tanto no grupo de animais teste (previamente sensibilizados), quanto no grupo controle (não infestados), observou-se um pequeno e rápido aumento no local da inoculação, mas sem diferença estatística entre eles nos diferentes tempos (Tabela 11 - Apêndice).

No grupo teste, a primeira medida do pavilhão auricular (10 minutos após a inoculação) mostrou um aumento médio de 13,3%, atingindo o pico máximo de aumento nas 18 horas após a inoculação, que foi de 33,1%. Ao final das aferições, ou seja, passadas 96 horas da inoculação, o grupo teste apresentou um aumento médio do pavilhão auricular de 17,3%. No grupo controle, por outro lado, foi observada uma reação imediata, sendo o pico máximo de aumento de 41,4% já na primeira aferição pós-inoculação (10 minutos). Ao final (96 horas), o aumento médio do pavilhão deste grupo ficou em 9,8%. Embora tenha havido contrastes entre valores que quantificam a reação local de cada grupo, em nenhum tempo pós-inoculação foi observada diferença significativa entre valores obtidos no grupo teste e no grupo controle (Fig.18).

6. DISCUSSÃO

Diversos critérios para diferenciação de espécies estão descritos na literatura, e esta divergência de ideias é esperada, uma vez que é baseada em propriedades de maior interesse aos diferentes grupos de pesquisadores (QUEIROZ, 2005; TIBAYRENC, 2006). No entanto, nem mesmo as teorias dos pioneiros e talvez, mais importantes cientistas, como Darwin, Mayr, Simpson, têm convencido quanto ao conceito de “espécie” e também, como devemos identificá-la (HEY, 2001). Na verdade, deve-se ter cautela quanto aos critérios utilizados para definir populações de patógenos e de parasitos amplamente distribuídos como pertencentes ou não a um mesmo táxon, no caso, à mesma espécie.

Um dos objetivos deste estudo foi avaliar a compatibilidade reprodutiva entre carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina. Esta meta foi traçada desde que são notórias algumas diferenças entre as duas populações quando se trata de hospedeiros de maior ocorrência. Além disso, divergência importante foi encontrada na sequência do gene mitocondrial 16S rDNA entre as duas populações (NAVA et al., 2008a).

Entretanto, os resultados deste trabalho mostraram que os híbridos de carrapatos *A. parvum* da Argentina e do Brasil são férteis. Além disso, os descendentes dos cruzamentos heterólogos aqui obtidos, mostraram melhor desempenho reprodutivo quando comparados com aqueles provenientes de cruzamentos homólogos, exemplificado por maiores valores do peso da massa de ovos e da taxa de eclosão de larvas. Estes resultados foram semelhantes ao encontrado por Labruna e colaboradores (2011) para populações de *A. cajennense* do Brasil (São Paulo) e da Argentina, que também foram compatíveis entre si; e ainda, remontam ao fenômeno da heterose, já que populações de localidades geográficas distintas foram cruzadas. Este fenômeno foi

descrito primeiramente por Darwin (1876) e relatado mais recentemente em vários grupos de animais e vegetais (VEITIA; VAIMAN, 2011).

A alimentação de fêmeas na ausência de machos simultaneamente à alimentação de carrapatos puros e híbridos forneceu, neste trabalho, um controle adicional aos experimentos. Assim, excluiu-se a possibilidade de partenogênese por esta espécie de carrapato. Este processo reprodutivo em que machos são dispensáveis para a reprodução é bem conhecido em carrapatos *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (OBA; SCHUMAKER, 1983; KEIRANS; OLIVER, 1993; LABRUNA et al., 2005b), e poderia ser responsável por oviposturas de fêmeas híbridas de *A. parvum*, colocando em dúvida assim, a existência de cruzamento e fecundação entre machos e fêmeas híbridas.

Dentre os parâmetros biológicos dos carrapatos, o peso de cada estágio ingurgitado e a taxa de recuperação refletem bem o sucesso dos parasitos em se alimentar em determinada espécie de hospedeiro. Assim, neste trabalho, quando analisado o desempenho biológico dos parasitos nas várias espécies hospedeiras, as observações gerais reforçam resultados prévios (OLEGÁRIO et al., 2011; NAVA et al., 2008a). Cobaías foram os hospedeiros mais adequados para imaturos de *A. parvum* de ambas as origens, como mostrado pela alta taxa de recuperação de larvas e maior peso de ninfas ingurgitadas. Este último parâmetro está associado à emergência de fêmeas de maior tamanho e, portanto, potencial para maior peso de fêmeas ingurgitadas e das respectivas massas de ovos. Assim, um maior número de descendentes é gerado e seu ciclo é mantido com sucesso na natureza. A adequação de cobaías como hospedeiros para as larvas de *A. parvum* foi reforçada pela elevada produção de carrapatos por esta espécie hospedeira. Maior quantidade de adultos e ninfas foi produzida a partir de larvas (de ambas as origens) alimentadas sobre cobaías quando comparados com as demais espécies hospedeiras.

Dentre todos os estágios, ninfas de *A. parvum* deste trabalho tiveram o desempenho mais uniforme nos diversos hospedeiros. Na verdade, o estágio de ninfa de várias espécies de carrapato é bem conhecido por sua menor especificidade por hospedeiro e, conseqüentemente, maior capacidade vetorial (PETERKOVÁ et al., 2008). Olegário e colaboradores (2011) compararam o desempenho biológico de *A. parvum* do Brasil em várias espécies hospedeiras e também relataram a maior plasticidade de ninfas. Assim, a ninfa de *A. parvum* talvez seja o estágio mais importante em se tratando de transmissão de patógenos entre várias espécies animais, incluindo o homem.

Cães e bovinos mostraram uma tendência à melhor adequação para adultos de carrapatos de origem brasileira e argentina. Destes hospedeiros foi obtido o maior número de larvas por fêmea ingurgitada. De fato, *A. parvum* é frequentemente encontrado em canídeos selvagens (LABRUNA et al., 2005a) e cães domésticos (SZABÓ et al., 2007) no Brasil e em bovinos na Argentina (NAVA et al., 2008a). De maneira geral, coelhos foram hospedeiros adequados para *A. parvum* ao permitirem desempenho biológico próximo ao observado nos melhores hospedeiros.

Apesar dos resultados anteriormente expostos que estabeleceram as duas populações como pertencentes à mesma espécie e que demonstraram o desempenho biológico similar entre *A. parvum* do Brasil e da Argentina nas várias espécies hospedeiras, uma diferença interessante foi detectada entre carrapatos das duas origens. Quando alimentadas em bovinos, larvas de origem argentina apresentaram taxa de recuperação significativamente maior em relação às larvas do Brasil. Neste contexto, é na Argentina que ocorre maior número de relatos de carrapatos adultos em bovinos (Nava et al., 2008b). Na verdade, não seria a primeira vez; Nava e colaboradores (2006b) observaram que bovinos poderiam manter o ciclo completo de *Amblyomma*

neumanni Ribaga, 1902, outra espécie Neotropical de carrapato. Os resultados do presente estudo foram ainda reforçados pela observação de que os imaturos do Brasil tiveram melhor desempenho biológico (recuperação das larvas e peso de ninfas) em cobaias em relação aos imaturos da Argentina, sugerindo que carrapatos do Brasil são mais dependentes de roedores cavídeos nestes estágios. A esse respeito é possível supor que, mesmo sendo roedores cavídeos os hospedeiros mais adequados para imaturos de *A. parvum* (Nava et al., 2008b), o contato frequente pode estar levando a uma adaptação das larvas aos bovinos na Argentina e eventualmente, estabilizar um ciclo de vida neste hospedeiro não-Neotropical.

Contrastes encontrados neste trabalho já eram esperados uma vez que, considerando populações amplamente distribuídas, os padrões de especificidade dos carrapatos por hospedeiros podem variar em função da extensão geográfica e de diferenças ambientais. Além disso, a introdução de espécies hospedeiras fisiologicamente aceitáveis no ambiente do carrapato pode também levar a novos padrões de infestações (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006). Mesmo assim, é possível supor ainda que uma especiação possa estar a caminho, pelo menos em relação às populações argentina e brasileira de *A. parvum*, justificando em partes, o contraste observado na preferência por hospedeiros das duas populações. Implicações destas observações na transmissão de patógenos são até o momento desconhecidas, mas não descartadas, uma vez que *A. parvum* também é agressivo para humanos (SZABÓ et al., 2007; CANÇADO et al, 2008).

O reconhecimento de hospedeiros primários e/ou naturais de uma espécie de carrapato constitui importante informação para se inferir a respeito da ecologia e até mesmo da epidemiologia de doenças transmitidas por esses vetores. Diversos estudos já demonstraram que em relações hospedeiro-carrapato tidas como naturais não há

manifestação de resistência por parte do hospedeiro (RANDOLPH, 1979; RIBEIRO, 1989; FIELDEN et al., 1992; RIBEIRO, 1995). Assim, mecanismos de defesa de hospedeiros envolvidos na suscetibilidade ou na resistência às infestações com carrapatos, têm sido deveras estudado, principalmente naquelas espécies de parasito que mais exigem controle estratégico. De fato, há décadas já é nítido que em relações hospedeiro-parasito naturais, a saliva dos ácaros controla com eficiência respostas imunes de seus hospedeiros, respostas estas que seriam capazes de rejeitar seus parasitos. Assim, o conhecimento das moléculas envolvidas na indução de imunossupressão do hospedeiro pode ser de extrema importância na identificação de antígenos vacinais. Uma imunização adequada seria aquela que induzisse uma resposta imune eficiente, a qual é normalmente suprimida durante a alimentação do ácaro devido à presença da saliva (WIKEL et al., 1994).

Dentro deste contexto, outro objetivo do presente trabalho foi verificar se roedores caviões (representados aqui por cobaias) desenvolvem resistência a repetidas infestações de *A. parvum* do Brasil comparativamente aos carrapatos da Argentina. Assim, os parâmetros biológicos de *A. parvum* alimentado em animais sensibilizados, ou seja, quando decorrido tempo suficiente para o hospedeiro desenvolver resposta imune de resistência ao parasito, foram comparados com parasitos alimentados em animais primoinfectados (sem desenvolvimento de resposta imune). Foi observado que nas duas situações o desempenho dos carrapatos foi bastante semelhante. Além do que, pôde-se notar que as infestações sucessivas não prejudicaram parâmetros alimentares dos parasitos, ao invés disso, as diferenças significativas encontradas entre parâmetros das diferentes infestações, mostrou um maior peso e menor período de ingurgitamento na terceira infestação.

Szabó e colaboradores (1995a; 2003b) obtiveram resultados bem próximos aos deste estudo quando da infestação de cães (hospedeiros naturais) e roedores, como hamsters e cobaias (hospedeiros resistentes) com adultos de *R. sanguineus*. Na primeira espécie animal, os parâmetros biológicos dos carrapatos foram semelhantes ao longo das diferentes infestações e com uma tendência à melhoria do desempenho dos parasitos com a sucessão das mesmas. Por outro lado, em roedores, especialmente em cobaias, os parâmetros foram significativamente prejudicados na segunda e terceira infestações.

Estudos semelhantes foram realizados por Castagnolli e colaboradores (2003) utilizando equinos (*Equus caballus*) e asininos (*Equus asinus*) como hospedeiros de *A. cajennense*. Capivaras e antas são relatadas como hospedeiros naturais para o parasito (ARAGÃO, 1936; LABRUNA et al., 2001), mas tem sido demonstrado que cavalos podem manter populações deste carrapato na pastagem, alimentando todos os seus estágios. Por outro lado, observações empíricas destes autores indicavam asininos como hospedeiros resistentes a *A. cajennense*. Assim, infestações sucessivas nestes animais a campo, comparativamente com animais sem contato prévio com carrapatos, mostraram que cavalos manifestam alguma resistência, embora baixa, a *A. cajennense*, demonstrada pelos menores valores de recuperação de larvas e peso de ninfas na segunda infestação. Em asininos, ao contrário, observaram forte redução do peso de todos os estágios ingurgitados e da massa de ovos, quando comparados tanto aos cavalos primoinfestados (sem resistência) quanto aos cavalos sensibilizados (CASTAGNOLLI et al., 2003).

O mecanismo básico e a intensidade da reação imune adquirida em hospedeiros resistentes à determinada espécie de carrapato, podem ser avaliados através do teste cutâneo de hipersensibilidade em animais sensibilizados por infestações com o carrapato em questão. No Brasil, o carrapato do cão, *R. sanguineus* é o principal alvo

destes estudos (BECHARA et al.; 1994; SZABÓ et al., 1995a; 1995b; 2003; VERONEZ et al., 2010). Já se sabe que cães e cobaias, sendo respectivamente, hospedeiros suscetíveis (naturais) e resistentes a este parasito, se comportam de maneira fisiologicamente diferente quando infestados. Além das diferenças anteriormente citadas com relação ao desempenho de *R. sanguineus*, cães apresentam infiltrados locais (fixação dos carrapatos) de neutrófilos e uma intensa reação de hipersensibilidade imediata. Por outro lado, roedores apresentam infiltrados locais basofílico e eosinofílico, além de moderada reação de hipersensibilidade imediata e forte reação tardia (SZABÓ et al. 1995b; SZABÓ; BECHARA, 1999).

No presente trabalho, a reação cutânea aos antígenos do carrapato *A. parvum* também foi avaliada em cobaias sensibilizadas por repetidas infestações. Este teste permite uma análise quantitativa, dada pelo grau da distensão tecidual, e análise qualitativa dada pelo surgimento temporal do tumor (aumento de volume) no ponto de inoculação do extrato. De forma mais específica, o padrão reativo pode fornecer indícios de maior ou menor envolvimento da imunidade celular (hipersensibilidade tardia), da imunidade humoral histaminóide (hipersensibilidade imediata) ou de anergia no processo. Foi observado que as reações cutâneas de cobaias ao extrato de *A. parvum* não diferiram significativamente entre animais sensibilizados por infestações e aqueles não sensibilizados nos diferentes tempos após a inoculação. Assim, os aumentos de volume observados podem ser atribuídos a reações inespecíficas de caráter inflamatório. Na verdade, se ocorreram reações de hipersensibilidade por mecanismos imunes, estas foram reduzidas e mascaradas pela reação inespecífica. Portanto, de forma geral, o teste cutâneo indicou que as cobaias sensibilizadas expressam reações cutâneas reduzidas, o que favoreceria o parasito, e ainda explica, pelo menos em parte, o sucesso alimentar

das formas imaturas neste hospedeiro, se comportando então, como hospedeiro primário para larvas e ninfas de *A. parvum*.

Questão importante relacionada ao reconhecimento de hospedeiros naturais e/ou primários para estes ectoparasitos foi verificada por Wikel e colaboradores (1997). Estes autores demonstraram que hospedeiros que não manifestam resistência à determinada espécie de carrapato são também mais susceptíveis às doenças transmitidas por estes vetores. Assim, destaca-se a possibilidade de roedores caviões desenvolverem infecções e/ou se constituírem em reservatórios dos agentes patogênicos envolvidos, especificamente *Rickettsia* sp. pertencente ao grupo da Febre Maculosa, como já isolado de *A. parvum* da Argentina (PACHECO et al., 2007). Neste caso, infere-se o risco de agentes zoonóticos serem mantidos na natureza e então transmitidos destes hospedeiros a outros animais e até mesmo ao homem, visto à ampla gama de hospedeiros suscetíveis a *A. parvum* (LABRUNA et al., 2005a; CANÇADO, 2008; SZABÓ et al., 2007).

O presente trabalho demonstrou claramente que roedores caviões (representados aqui por *C. porcellus*) apresentam suscetibilidade a infestações por *A. parvum* originário do Brasil. Assim, a inexistência de relatos habituais destes hospedeiros sendo naturalmente infestados por *A. parvum* no país, pode estar associada à alguma dificuldade de captura ou à possível menor abundância destes animais na natureza. De forma complementar, divergências encontradas entre *A. parvum* do Brasil e da Argentina quanto às espécies animais parasitadas (NAVA et al., 2006b; 2008b; SZABÓ et al., 2007) podem ser devidas também, à coevolução dos parasitos com espécies hospedeiras diferentes nas localidades geográficas distintas. Na verdade, as relações hospedeiro-parasito são movidas por pressões seletivas do ecossistema em questão e populações de uma mesma espécie que evoluem em meios diferentes, podem

ter especificidades distintas por hospedeiros sendo incorporadas à sua carga genética (THOMPSON, 2001).

Em termos de evolução, estima-se que roedores da subfamília Caviinae tenham surgido na América do Sul há 10 milhões de anos (DUNNUM; SALAZAR-BRAVO, 2010a; 2010b), enquanto os ixodídeos, há 100 milhões (GRIMALDI et al., 2002) e portanto, as relações Ixodidae-Caviinae são consideradas relativamente recentes (GUGLIELMONE; NAVA, 2010). De qualquer forma, o verdadeiro papel na manutenção de formas imaturas de *A. parvum* por roedores cavídeos deve ser melhor investigado no Brasil, principalmente naqueles locais onde se encontram diversas espécies animais parasitadas, dentre animais domésticos e selvagens e ainda, com abundância na vegetação, como o Cerrado brasileiro e as regiões do Pantanal Sul-Mato-Grossense (SZABÓ et al., 2007; CANÇADO, 2008).

Ressalta-se ainda que este trabalho relata a primeira espécie de carrapato que não induz à manifestação de resistência em cobaias, como já relatados com *Dermacentor andersoni* Stiles, 1908 (ALLEN, 1973), *Amblyomma americanum* Linnaeus, 1758 (McLAREN et al., 1983), *Rhipicephalus appendiculatus* Neuman, 1901 (BROWN, 1988) e *R. sanguineus* (SZABÓ et al., 1995a; 1995b). Allen (1989) discutiu fatores que poderiam fazer com que animais de laboratório, como coelhos, camundongos e cobaias fossem mais resistentes a ixodídeos que as demais espécies animais. Porém, se reações de hipersensibilidade nestes animais são mais eficazes ao ponto de indução de resistência a várias espécies de ixodídeos, a saliva de *A. parvum* com certeza contém moléculas capazes de controlá-la e obtêm sucesso, pelo menos em cobaias. Desta informação ressalta-se ainda, a importância de estudos de moléculas salivares presentes quando da alimentação de carrapatos em seus hospedeiros primários

e/ou naturais, e a posterior utilização de tais substâncias em áreas farmacológicas, visto que são potentes imunossupressoras e anticoagulantes.

Todos os resultados aqui obtidos reforçam mais uma vez a dificuldade para diferenciação definitiva de espécies, principalmente entre parasitos e patógenos, como descrito por Tybairenc (2006). Em suma, a divergência encontrada na sequência gênica mitocondrial 16S rDNA por NAVA e colaboradores (2008a) entre *A. parvum* do Brasil e da Argentina não é suficiente para distingui-los taxonomicamente, visto que há compatibilidade reprodutiva entre eles e ainda, o desempenho biológico das duas populações é bastante semelhante quando alimentados sobre a mesma espécie hospedeira. Além disso, cobaias foram hospedeiros adequados para imaturos do parasito originário do Brasil, assim como é também para carrapatos da Argentina. Sugere-se então, a necessidade de estudos comparativos morfológicos, biológicos e moleculares, juntamente com aqueles reprodutivos para a diferenciação de espécies de ixodídeos.

Um exemplo claro dentro de revisões de sistemáticas da ixodologia foi a sinonimização de *Boophilus* a *Rhipicephalus* (MURRELL; BARKER, 2003). Anteriormente, vários estudos apenas evidenciavam que os gêneros eram parafiléticos utilizando diferentes genes, dentre eles, as sequências 16S de rDNA (MANGOLD et al., 1998); 12S de rDNA (MURRELL et al., 1999); 12S e COI de DNA mitocondrial (MURRELL et al., 2000) e ITS2 (MURRELL et al., 2001). Entretanto, foi com a análise de quatro sequências gênicas (12S rDNA, COI, ITS2 e 18S) e de trinta padrões morfológicos que se pode confirmar todas as evidências (MURRELL; BARKER, 2003).

Por fim, sugere-se que as populações brasileira e argentina de *A. parvum*, apesar de apresentarem grande divergência molecular na sequência 16S rDNA mitocondrial, são populações pertencentes a uma mesma espécie. Esta observação demonstra a

necessidade de se rever a utilização deste gene para a distinção de espécies de carrapatos.

7. CONCLUSÕES

- Híbridos de *A. parvum* do Brasil e Argentina foram férteis;
- *A. parvum* do Brasil e da Argentina não realizaram partenogênese;
- Cobaías foram hospedeiros adequados para imaturos (larvas e ninfas) de *A. parvum*, do Brasil e da Argentina;
- Cães e bovinos foram hospedeiros adequados para adultos de *A. parvum* do Brasil e da Argentina;
- Ninfas de *A. parvum* apresentaram menor especificidade por hospedeiro em relação aos outros estágios;
- Bovinos foram hospedeiros mais adequados para larvas de *A. parvum* da Argentina que para o mesmo estágio do carrapato do Brasil;
- Cobaías não desenvolveram resistência a *A. parvum* do Brasil e da Argentina após infestações sucessivas com larvas e ninfas;
- Cobaías sensibilizadas por infestações com *A. parvum* do Brasil não expressaram reações cutâneas significativas de hipersensibilidade ao extrato de carrapato;

- A divergência de 3 - 3,7 % encontrada na sequência 16S de DNA ribossomal mitocondrial (rDNA) entre *A. parvum* do Brasil e da Argentina não é suficiente para separá-los como espécies distintas.

8. FIGURAS



Figura 1. Câmaras de alimentação para infestação em (a) coelho (*O. cuniculus*), tanto para a comparação dos parâmetros quanto para o teste de isolamento reprodutivo; (b) cobaia (*C. porcellus*), (c) cão (*C. familiares*) e (d) bovino (*B. taurus taurus*), Uberlândia, 2012.

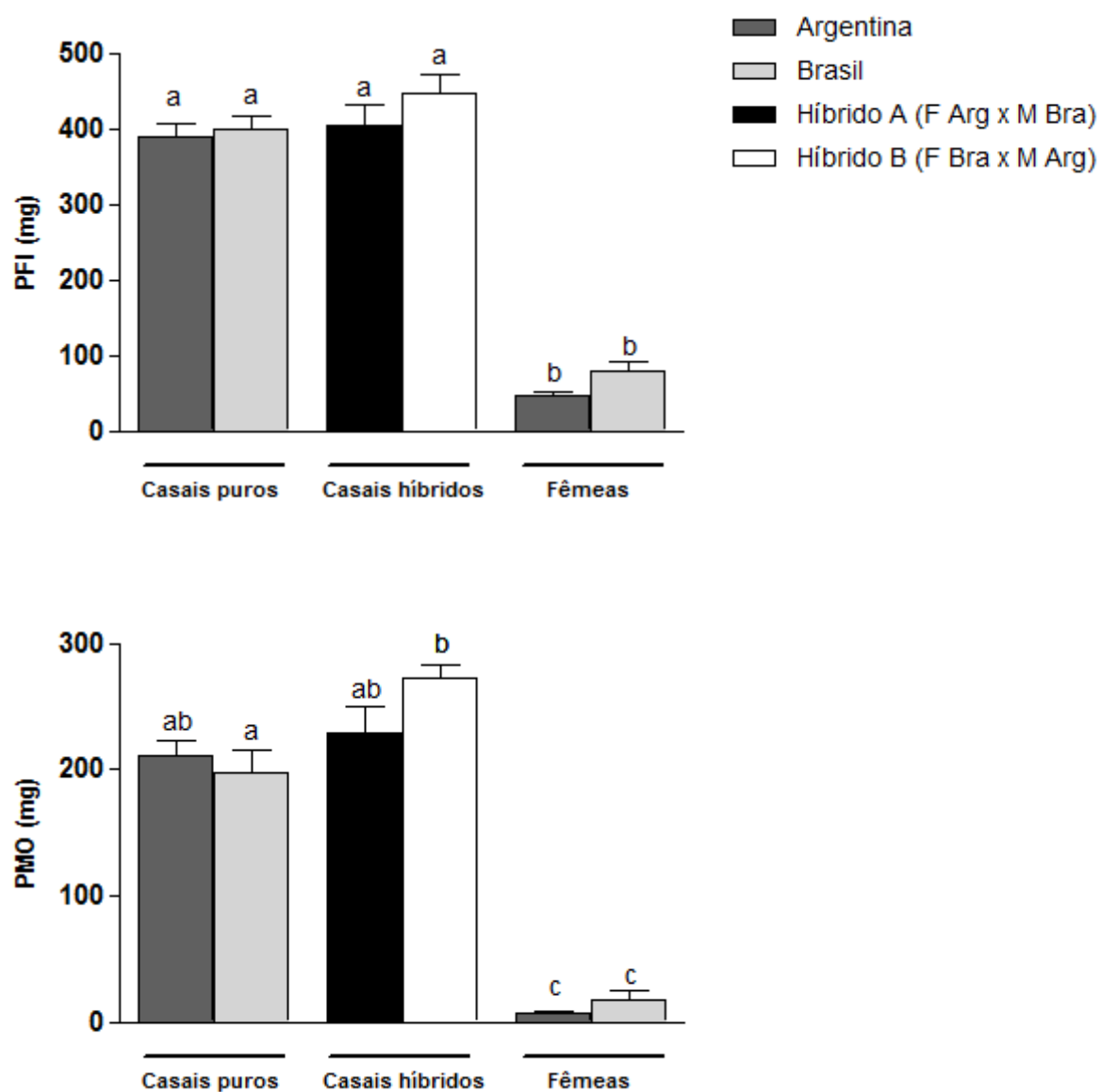


Figura 2. (a) Peso da fêmea ingurgitada (PFI); (b) peso da massa de ovos (PMO) de fêmeas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina (alimentados na presença ou na ausência de machos) e híbridos resultantes do cruzamento entre carrapatos de origem argentina e brasileira, Uberlândia, 2011. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

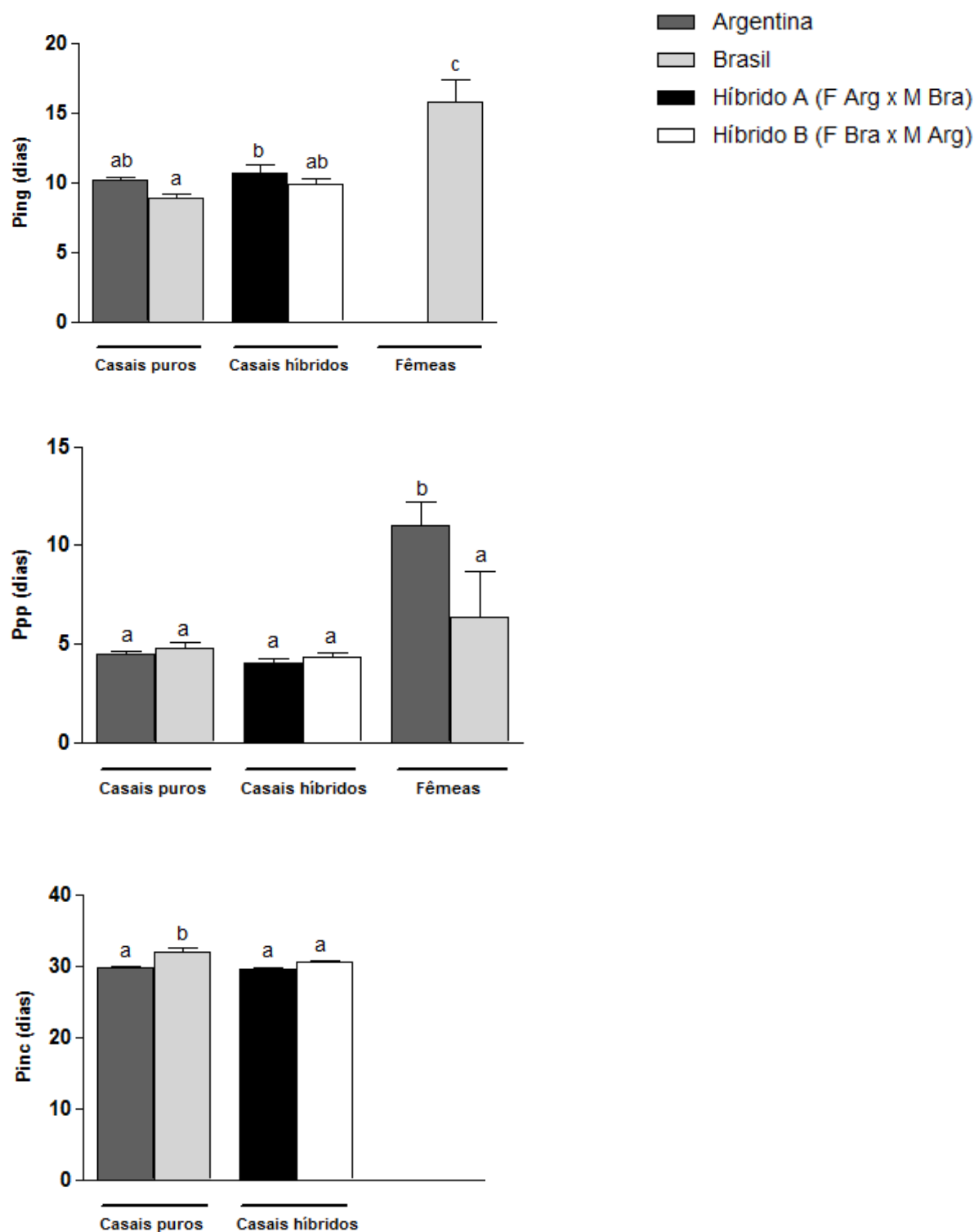


Figura 3. (a) Período de ingurgitamento (Ping); (b) período pré-postura (Ppp); (c) período de incubação de ovos (Pinc) de fêmeas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina (alimentados na presença ou não de machos) e híbridos resultantes do cruzamento entre carrapatos de origem argentina e brasileira, Uberlândia, 2011. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

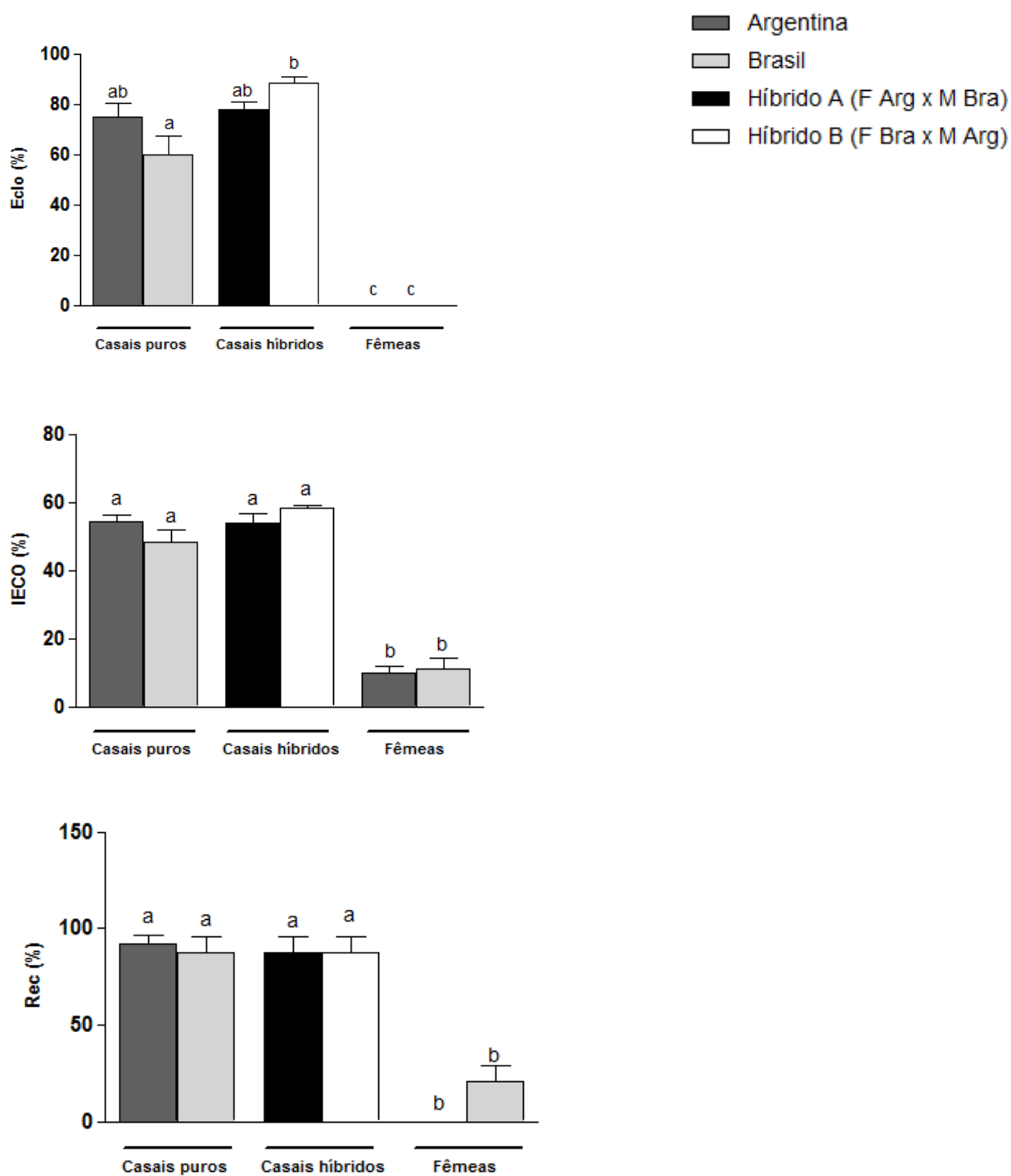


Figura 4. (a) Taxa de eclosão de larvas (Eclo); (b) conversão da reserva alimentar em ovos (IECO); (c) recuperação (Rec) de fêmeas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina (alimentados na presença ou não de machos) e híbridos resultantes do cruzamento entre carrapatos de origem argentina e brasileira, Uberlândia, 2011. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

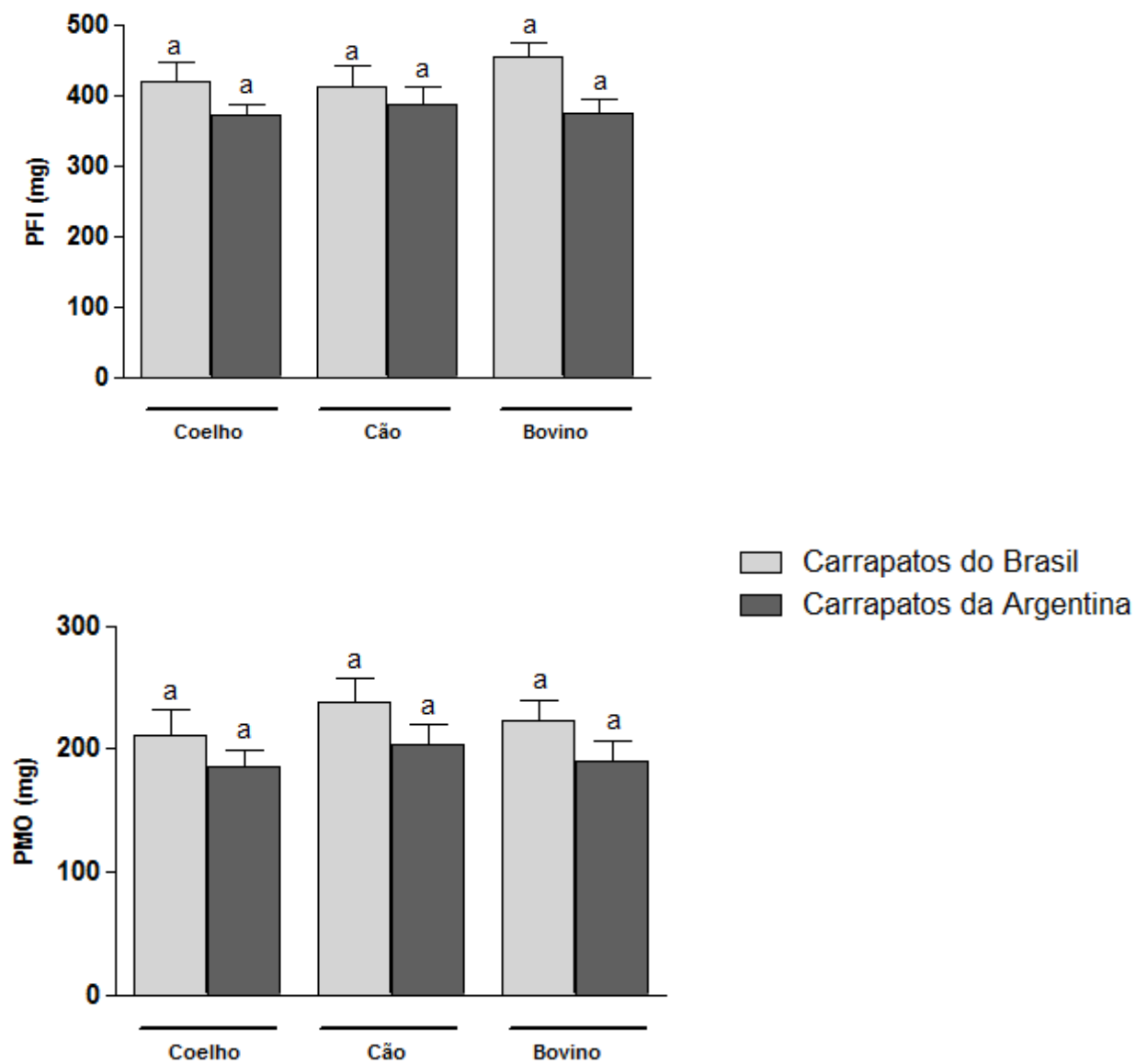


Figura 5. (a) Peso da fêmea ingurgitada; (b) peso da massa de ovos de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados nas diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

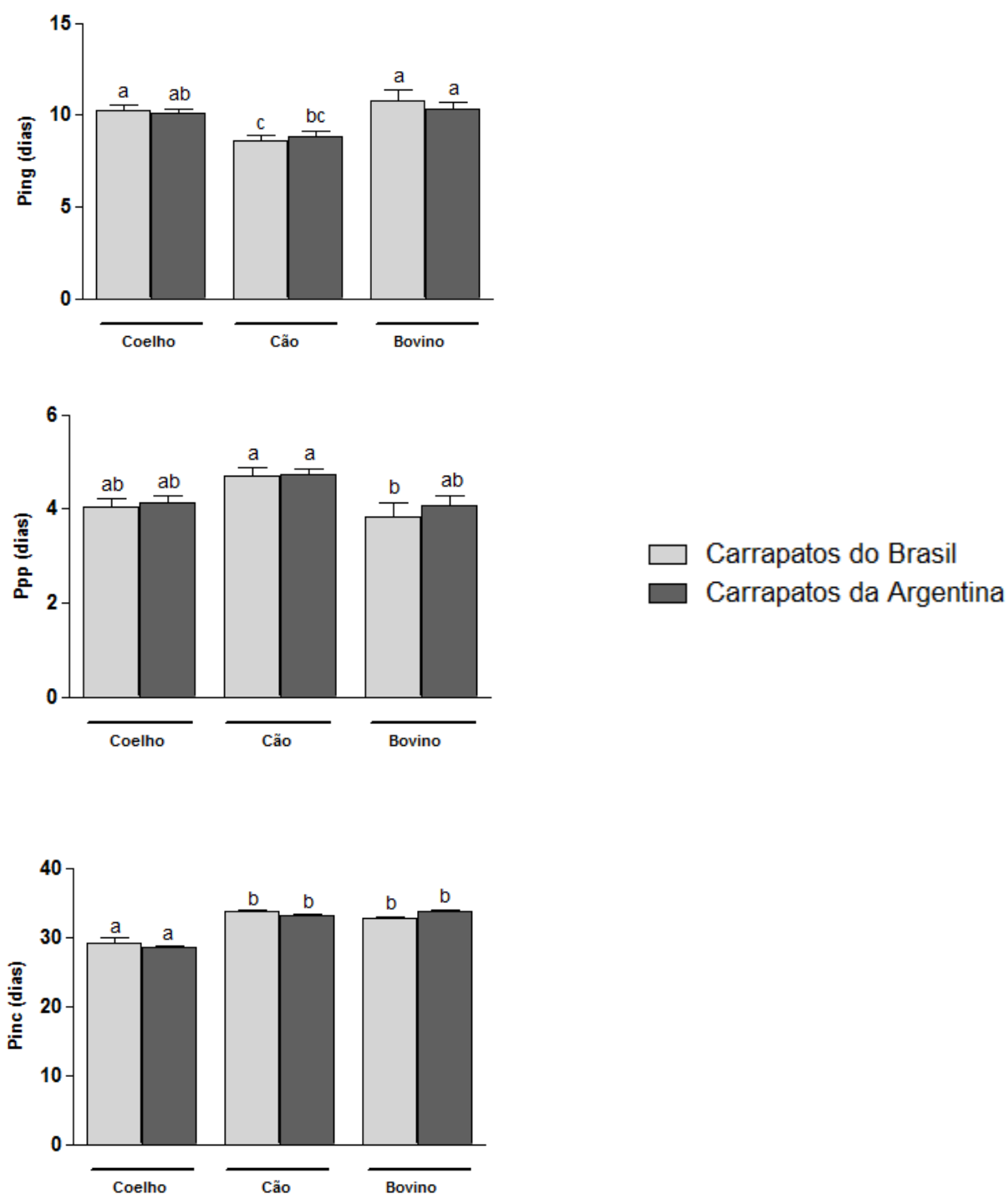


Figura 6. (a) Período de ingurgitamento; (b) período pré-postura; (c) período de incubação dos ovos de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados nas diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

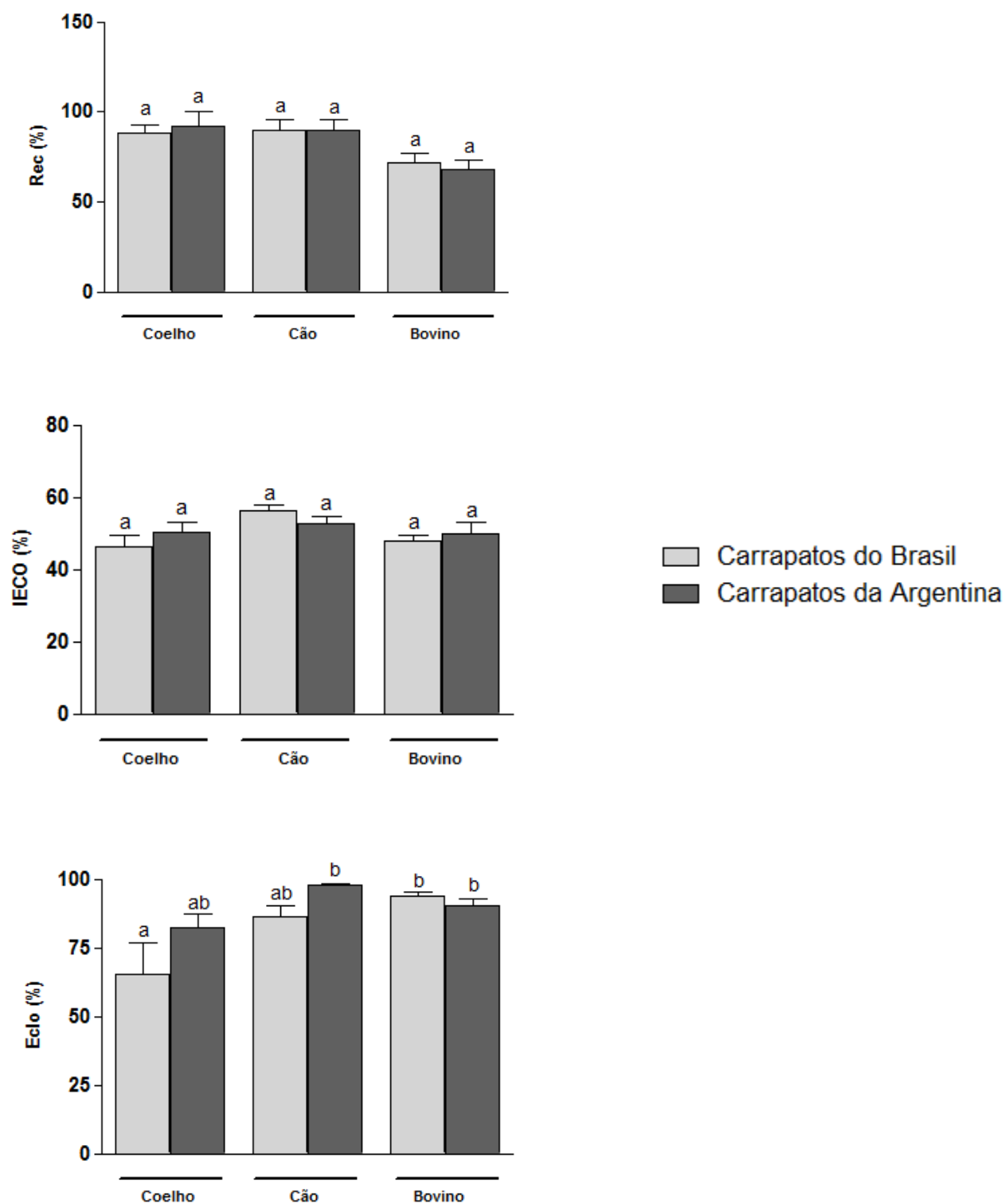


Figura 7. (a) Taxa de recuperação; (b) eficiência na conversão de reserva alimentar em ovos; (c) eclosão de larvas de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados nas diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

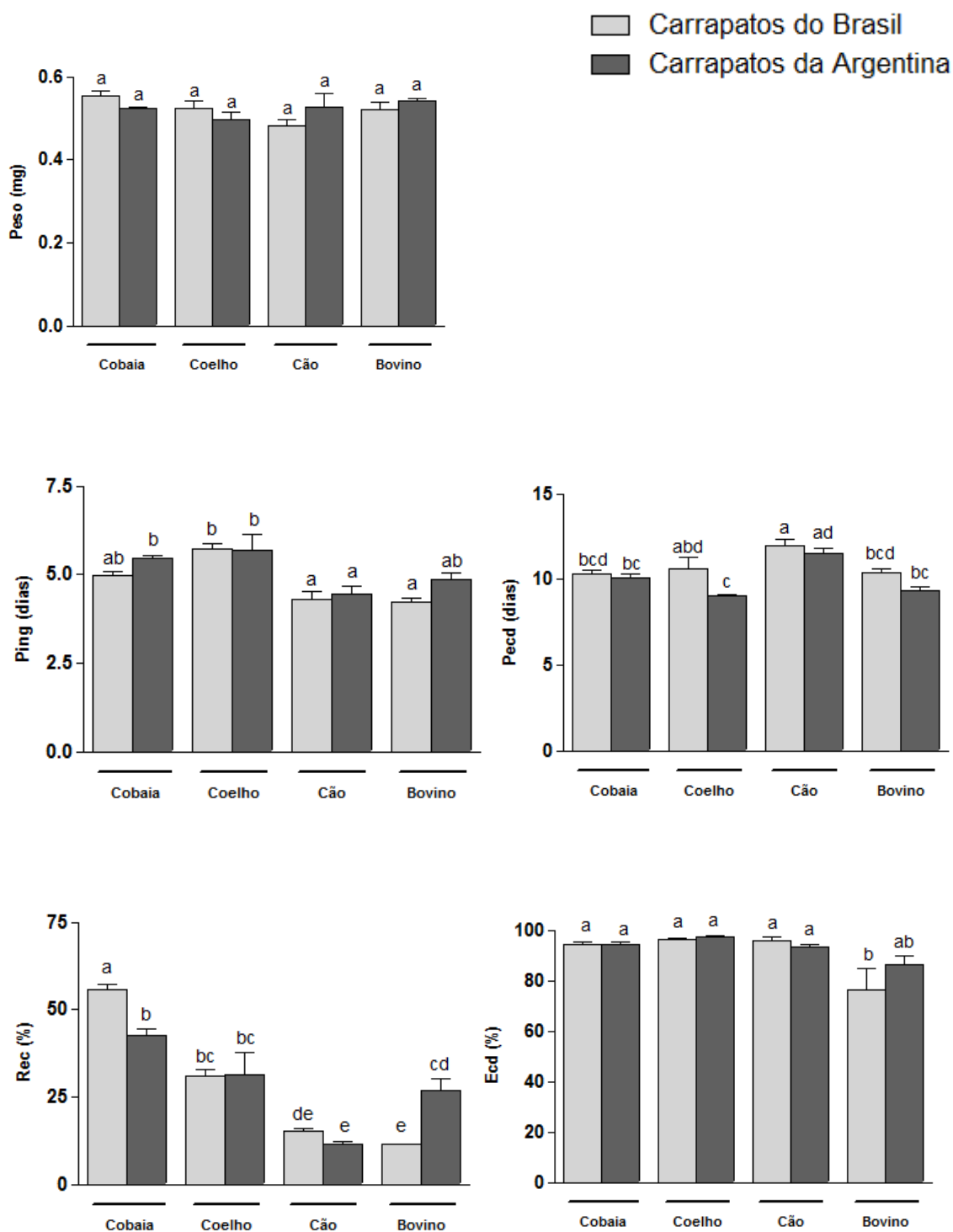


Figura 8. (a) Peso; (b) período de ingurgitamento; (c) período de ecdise; (d) taxa de recuperação; (e) taxa de ecdise de larvas *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados nas diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

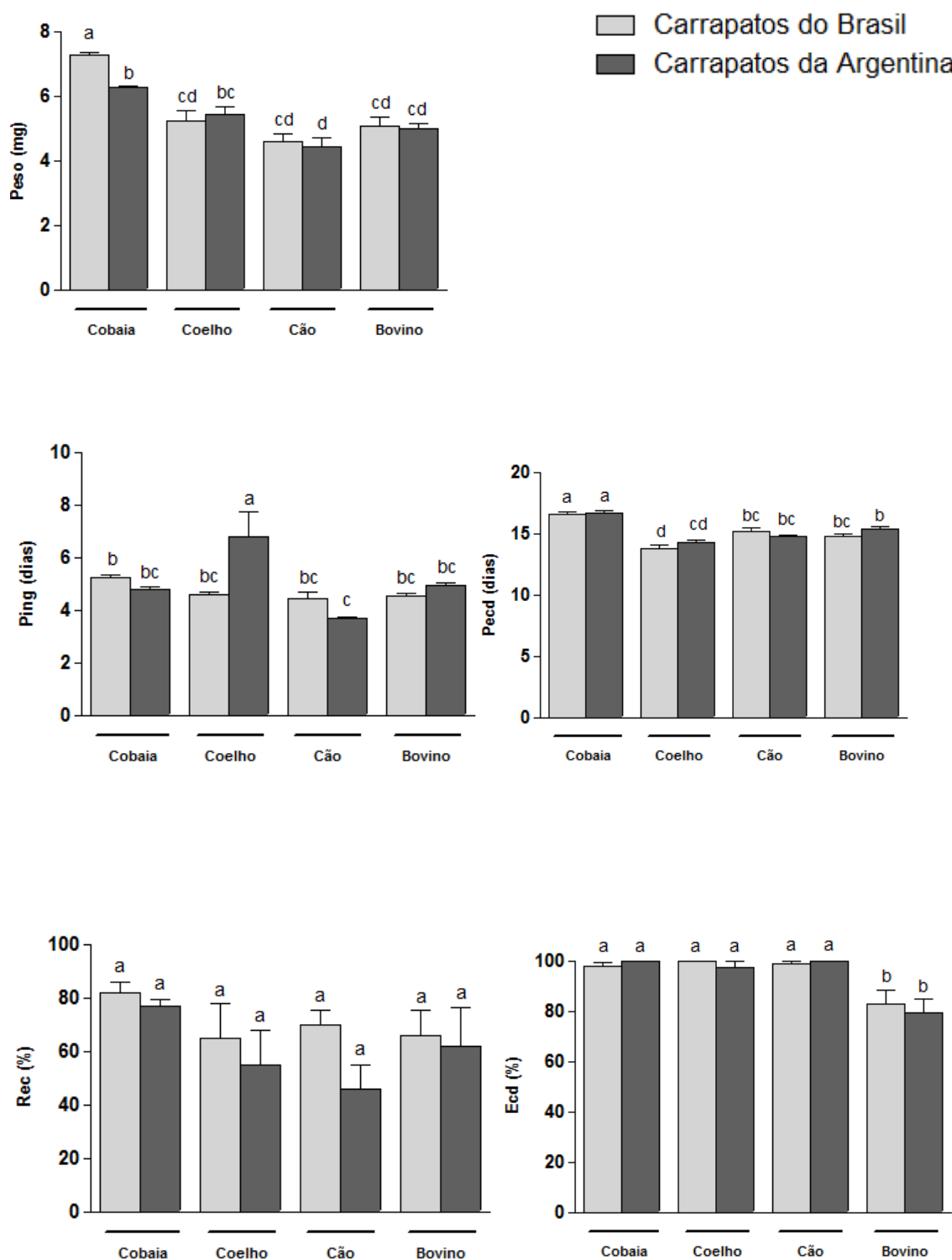


Figura 9. (a) Peso; (b) período de ingurgitamento; (c) período de ecdise; (d) taxa de recuperação; (e) taxa de ecdise de ninfas *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados nas diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

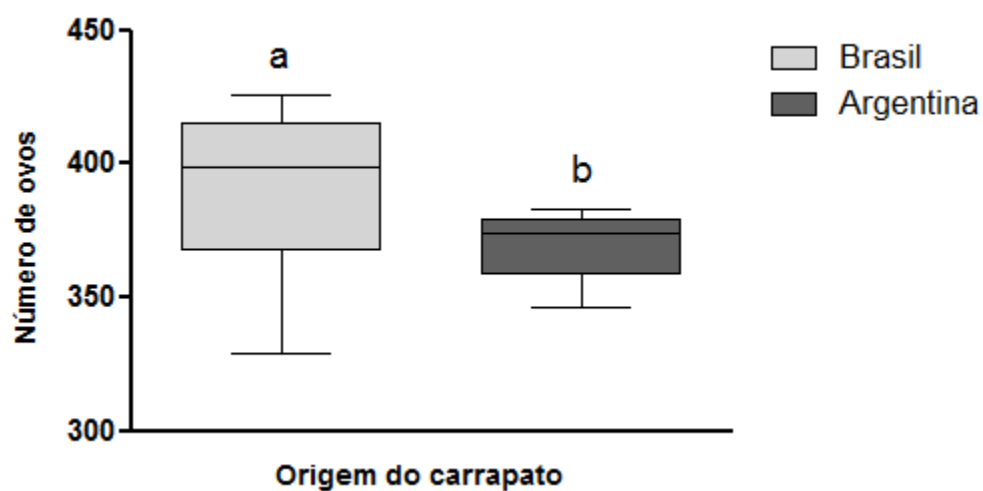


Figura 10. Número de ovos contados em amostras de 20 mg de massa de ovos provenientes de fêmeas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentadas em coelhos, Uberlândia, 2012. Dados expressos em mediana e interquartis. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

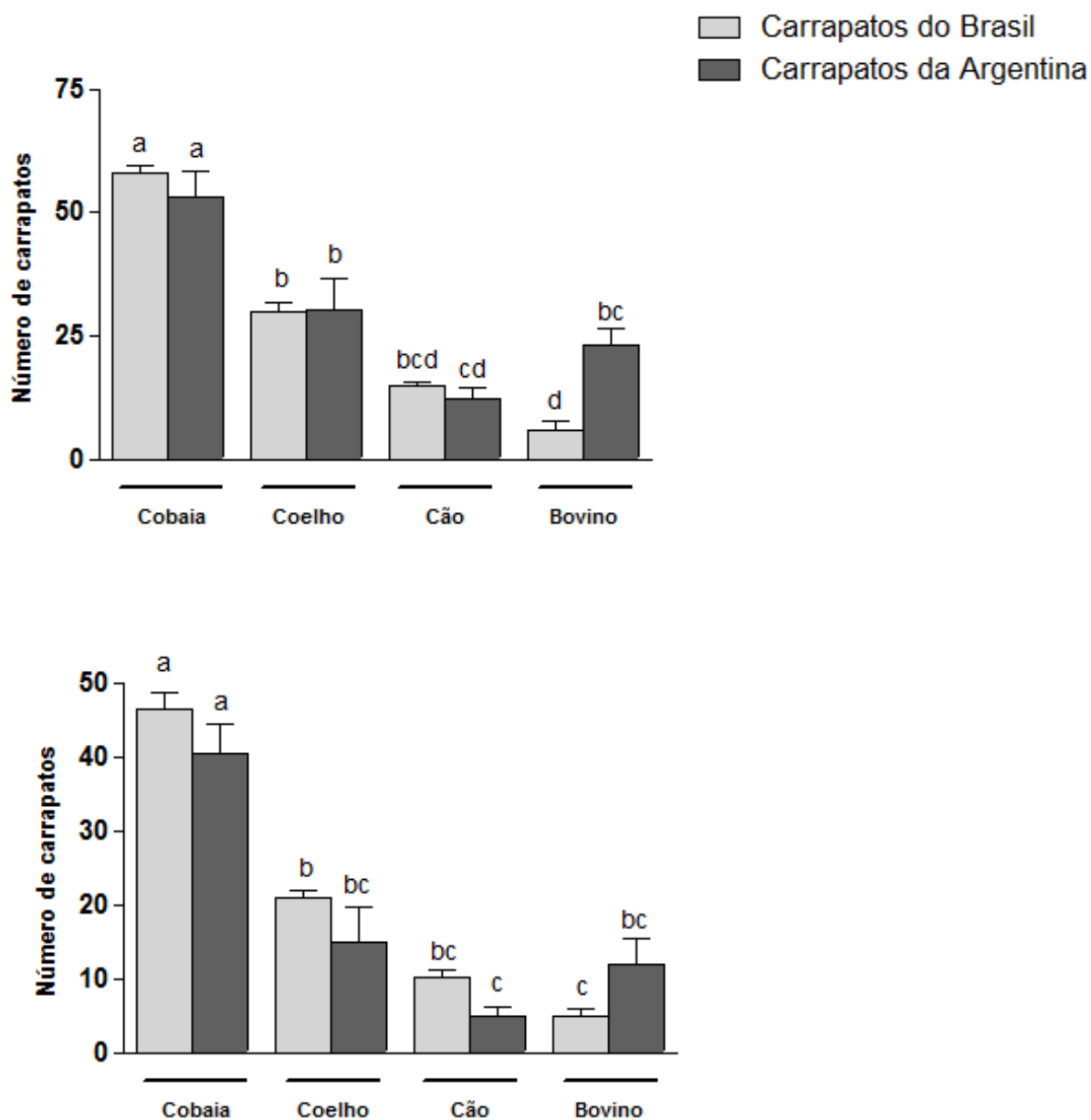


Figura 11. (a) Número de ninfas; (b) número de adultos obtidos a partir de 100 larvas de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina, quando alimentados sobre diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

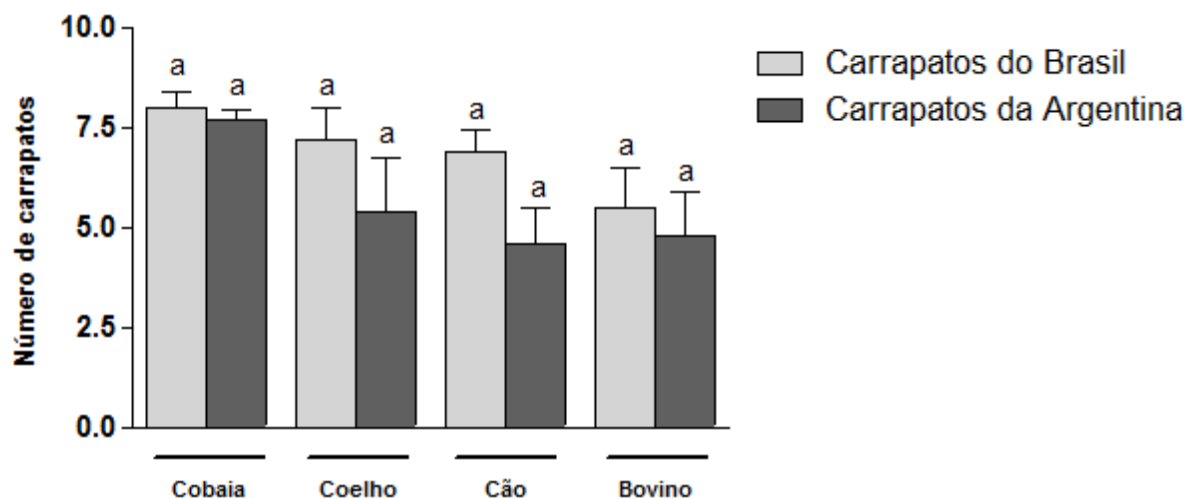


Figura 12. Número de adultos obtidos a partir de 10 ninfas de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina, quando alimentados sobre diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

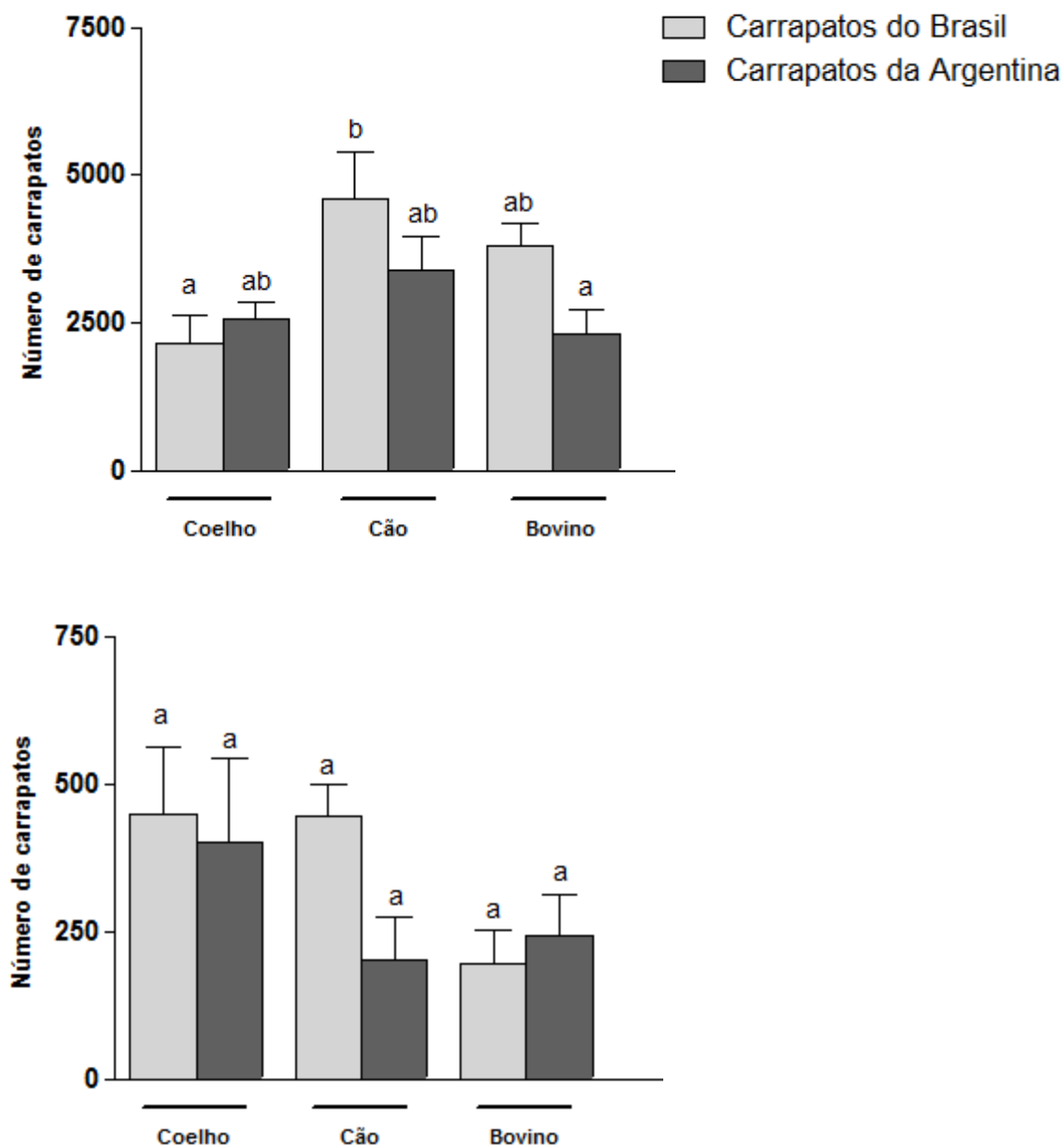


Figura 13. (a) Número de larvas; (b) número de adultos obtidos a partir de um casal de adultos de carrapatos *A. parvum* do Brasil e da Argentina, quando alimentados sobre diversas espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

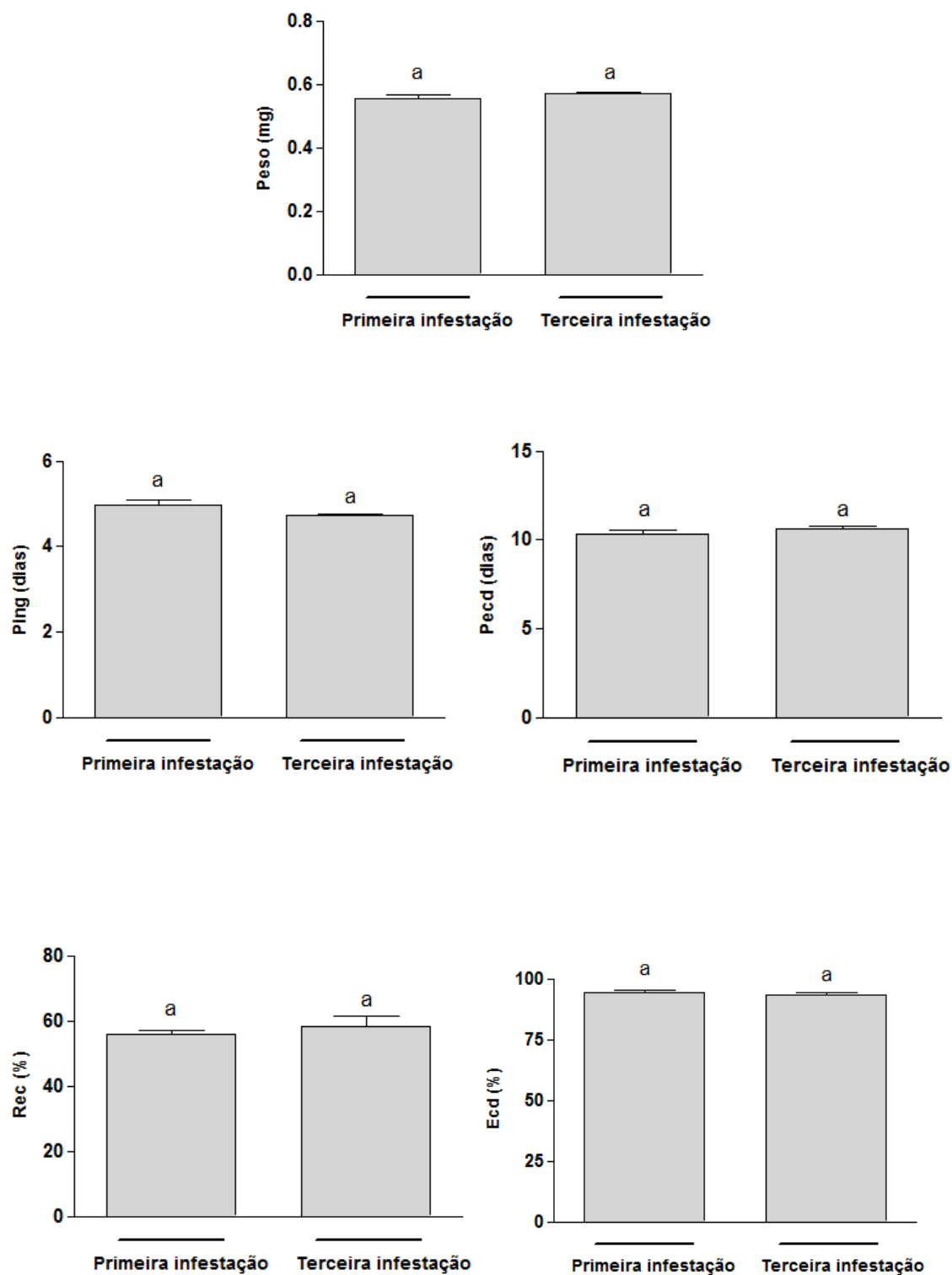


Figura 14. (a) Peso; (b) período de ingurgitamento; (c) período de ecdise; (d) taxa de recuperação; (e) taxa de ecdise de larvas de carrapatos *A. parvum* do Brasil alimentados sobre cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

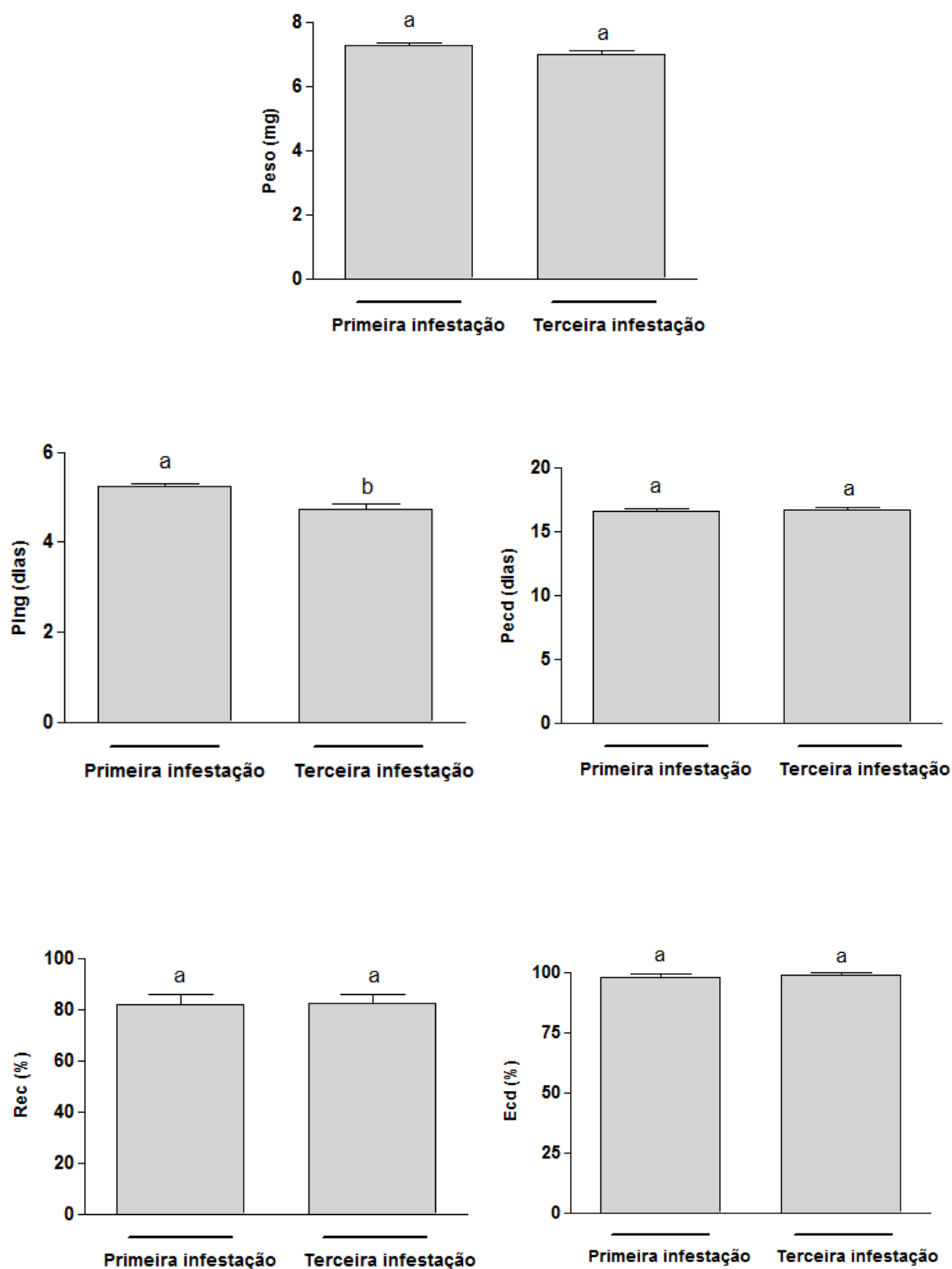


Figura 15. (a) Peso; (b) período de ingurgitamento; (c) período de ecdise; (d) taxa de recuperação; (e) taxa de ecdise de ninfas de carrapatos *A. parvum* do Brasil alimentados sobre cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

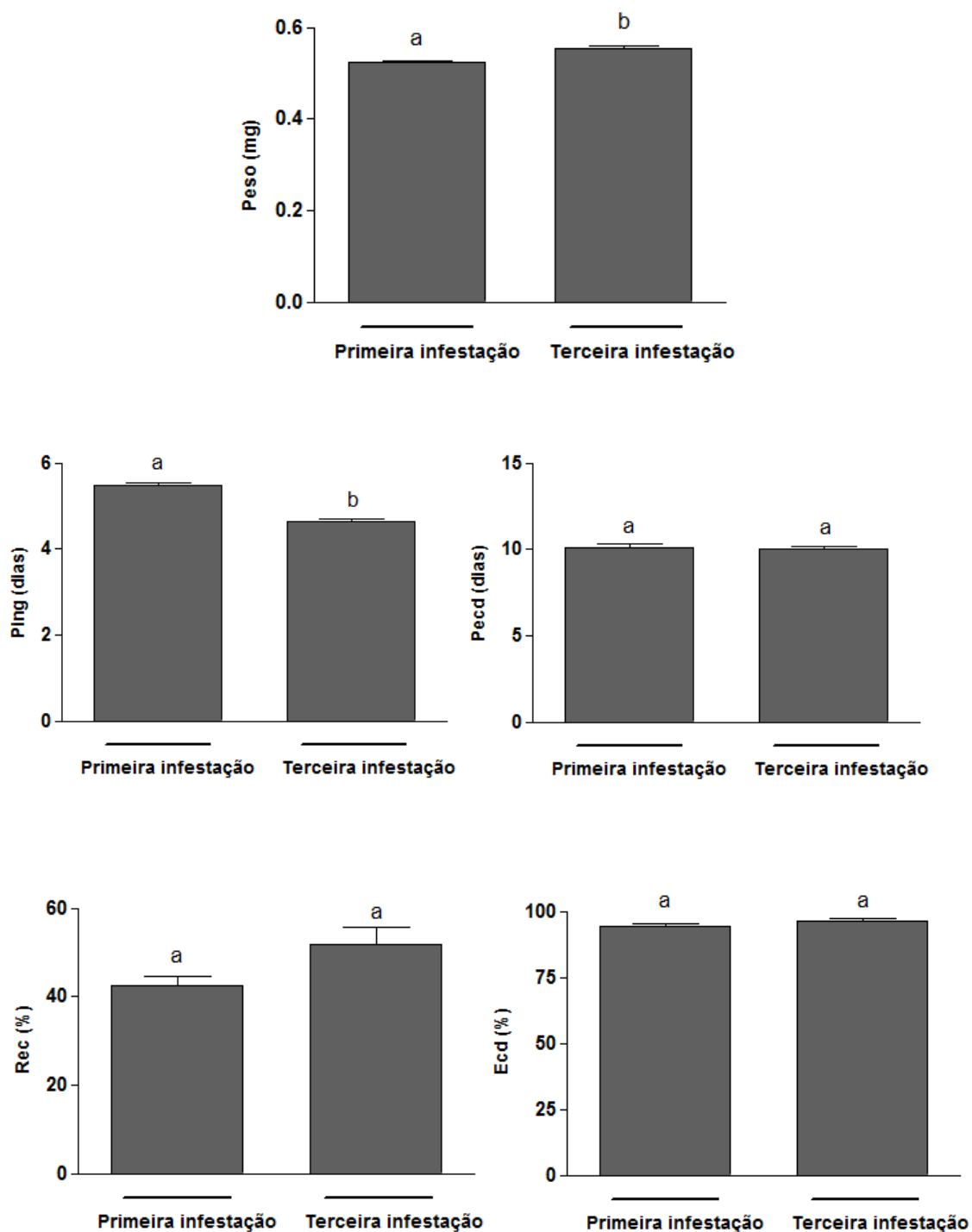


Figura 16. (a) Peso; (b) período de ingurgitamento; (c) período de ecdise; (d) taxa de recuperação; (e) taxa de ecdise de larvas de carrapatos *A. parvum* da Argentina alimentados sobre cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

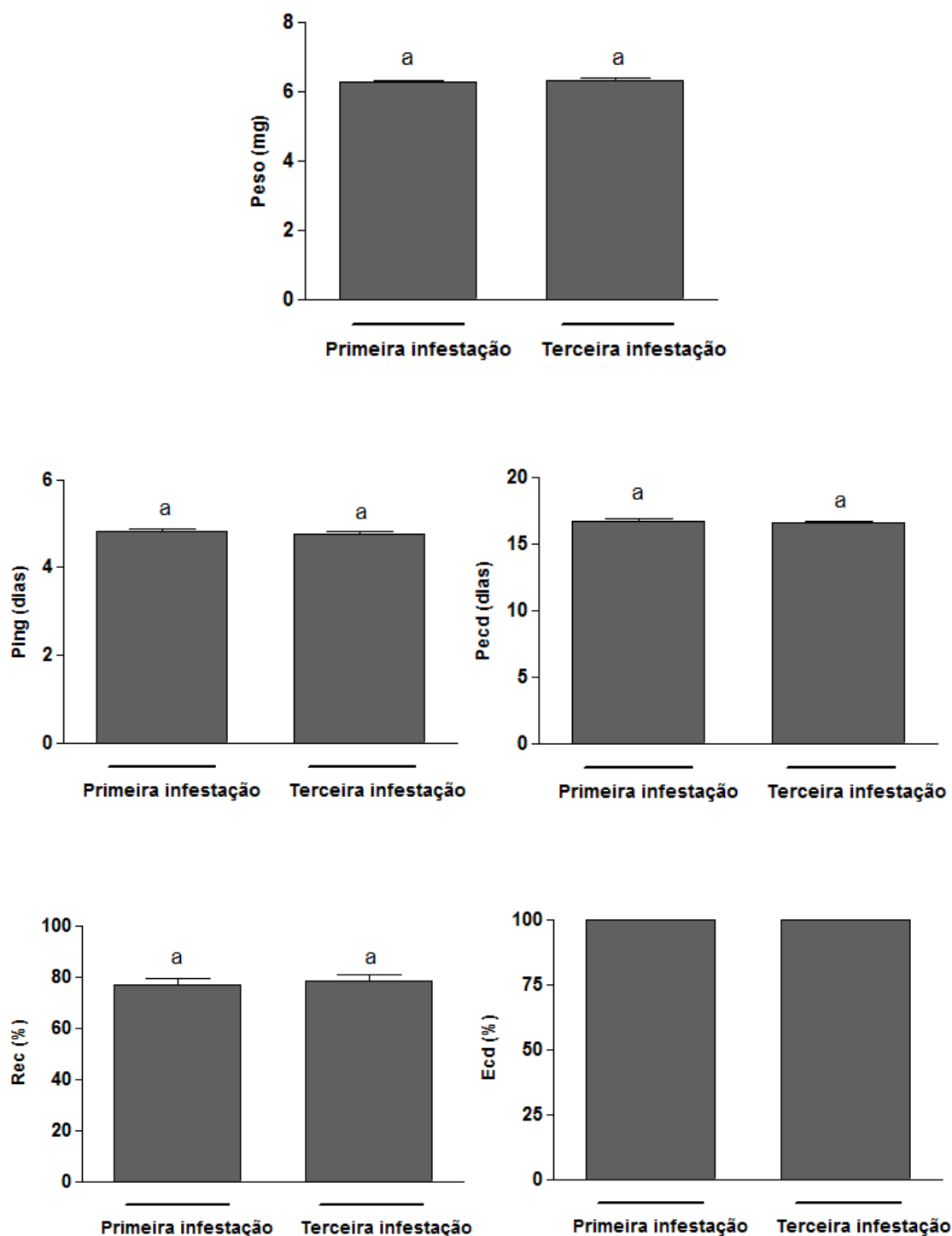


Figura 17. (a) Peso; (b) período de ingurgitamento; (c) período de ecdise; (d) taxa de recuperação; (e) taxa de ecdise de ninfas de carrapatos *A. parvum* da Argentina alimentados sobre cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012. . Dados expressos em média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

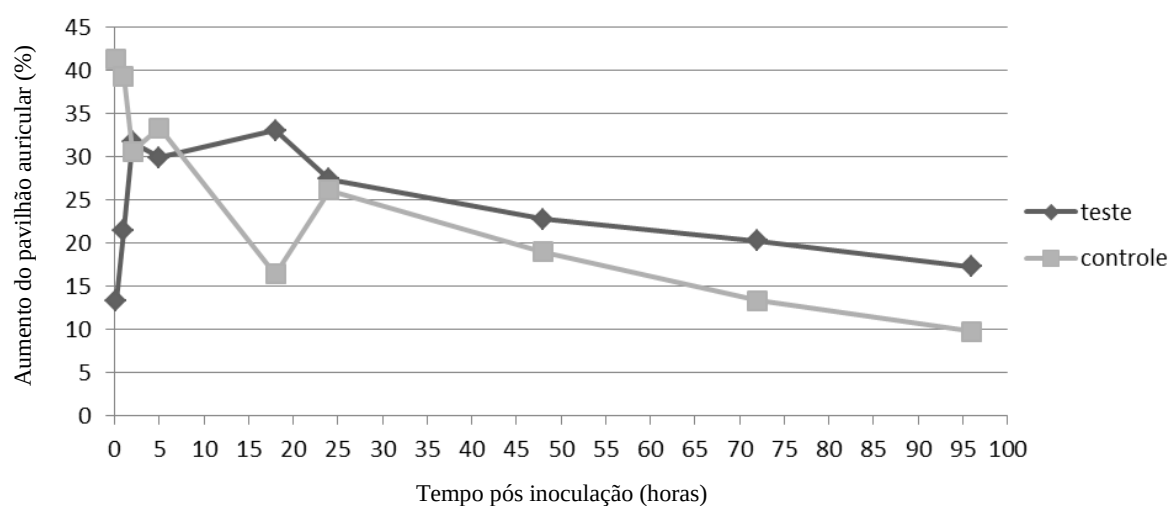


Figura 18. Hipersensibilidade cutânea induzida por extrato total de adultos de *A. parvum* no pavilhão auricular de cobaias previamente sensibilizadas (teste) por infestações com ninfas e de cobaias sem sensibilização prévia (controle). Dados expressos em porcentagens médias de aumento da espessura auricular decorrido da inoculação em relação aos valores obtidos antes da mesma, Uberlândia, 2012.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, I.S.; MARZAGÃO, G.; YOSHINARI, N.H.; SCHUMAKER, T.T. *Borrelia*-like spirochetes recovered from ticks and small mammals collected in the Atlantic Forest Reserve, Cotia county, State of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.95, p.621-624, 2000.
- ALLEN, J.R. Tick resistance: basophils in skin reactions of resistant guinea pigs. **International Journal for Parasitology**, v.3, p.195-200, 1973.
- ALLEN, J.R. Immunology of interactions between ticks and laboratory animals. **Experimental and Applied Acarology**, v.7, p.5-13, 1989.
- ALEXANDER, J.O'D. The physiology of itch. **Parasitology Today**, v.2, p.345-351, 1986.
- ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.31, p.759-841, 1936.
- BALASHOV, Y.S. Bloodsucking ticks (Ixodidae) - vectors of disease of man and animals. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v.8, p.161-376, 1972.
- BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Introdução. In: **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. 1 ed. São Paulo/BR: Vox/ICTTD-3/Butantan. Cap.1, p.1-2, 2006.
- BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D.; LABRUNA, M.B.; GUGLIELMONE, A.A.; GUZMAN-CORNEJO, M.C.; CÁCERES, A.G.; FACCINI, J.L.H.; LEON, R.; BLACKFORD, E.J. **Phylogeography of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), a widespread American tick species, based on the analysis of mitochondrial gene sequences**. Abstract of the 56th Annual Meeting, Entomological Society of America, San Diego, CA, 2007, 834 p.
- BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.; MUKAI, L.S.; ROSA, P.S.C. Immunisation of dogs, hamsters and guinea pigs against *Rhipicephalus sanguineus* using crude unfed adult tick extracts. **Veterinary Parasitology**, v.52, p.79-90, 1994.
- BENNETT, G.F. *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): experimental infestations on cattle restrained from grooming. **Experimental Parasitology**, v.26, p.323-328, 1969.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.

BROWN, S.J. Western blot analysis of *Amblyomma americanum*-derived stage specific and shared antigens using serum of guinea pigs expressing resistance. **Veterinary Parasitology**, v.28, p.163-171, 1988.

CAMPBELL, B.S.; BOWLES, D.E. Human bite tick records in a United States Air Force population, 1989–1992: implications for tick-borne disease risk. **Journal of Wilderness Medicine**, v.5, p.405-412, 1994.

CANÇADO, P.H.D. **Carrapatos de animais silvestres e domésticos no Pantanal sul Mato-grossense (Sub-região da Nhecolândia): espécies, hospedeiros e infestações em áreas com diferentes manejos**. 65p. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária) Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica. 2008.

CASTAGNOLLI, K.C.; FIGUEIREDO, L.B.; SANTANA, D.A.; CASTRO, M.B.; ROMANO, M.A.; SZABÓ, M.P.J. Acquired resistance of horses to *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) ticks. **Veterinary Parasitology**, v.117, p.271-283, 2003.

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

COSTA, I.P.; BONOLDI, V.L.; YOSHINARI, N.H. Perfil clínico e laboratorial da doença de Lyme-símile no Estado de Mato Grosso do Sul: análise de 16 pacientes. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.41, p.142-150, 2001.

COSTA, I.P.; BONOLDI, V.L.M.; YOSHINARI, N.H. Search for *Borrelia* sp. in ticks collected from potential reservoirs in an urban forest reserve in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil: a short report. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.5, p.631-635, 2002.

CUNNINGHAM, A. A. Disease risks of wildlife translocations. **Conservation Biology**, v.10, n.2, p.349-353, 1996.

DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**, v.1, n.25, p.1-17, 2010.

DARWIN, C.R. **The effects of cross and self-fertilization in the vegetable kingdom**, John Murray: London, 1876.

DAS, H.I.; SUBRAMANIAN, G. Biology of *Hyalomma dromedarii* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Indian Journal of Animal Sciences**, v.42, p.285-289, 1972.

DEEM, S.L.; CRUZ, M.B.; HIGASHIGUCHI, J.M.; PARKER, P.G. Diseases of poultry and endemic birds in Galapagos: implications for the reintroduction of native species. **Animal Conservation**, v.15, p.73-82, 2012.

DUMPIS, U.; CROOK, D.; OKSI, J. Tick-borne encephalitis. **Clinical Infectious Diseases**, v.28, n.4, p.882-890, 1999.

DUNNUM, J.; SALAZAR-BRAVO, J. Phylogeny, evolution, and systematics of the *Galea musteloides* complex (Rodentia: Caviidae). **Journal of Mammalogy**, v.91, p.243-259, 2010a.

DUNNUM, J.; SALAZAR-BRAVO, J. Molecular systematics, taxonomy and biogeography of the genus *Cavia* (Rodentia: Caviidae). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v.4, p.376-389, 2010b.

DVORAK, A.M., DVORAK, H.F. Cutaneous basophil hypersensitivity - a twenty-year perspective, 1970 to 1990. In: FOREMAN, J.C. (Ed.). **Immunopharmacology of mast cells and basophils** (Ed). Academic Press, London. Cap.10, p.153-180, 1993.

EISENBERG, J.F. **Mammals of the Neotropics. The Northern Neotropics**. Chicago: University of Chicago Press, 550 p., 1989.

ELGHALI, A.; HASSAN, S.M. Drop-off rhythms and survival periods of *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae) fed on camels (*Camelus dromedarius*) in the Sudan. **Veterinary Parasitology**, v.170, p.302-306, 2010.

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

ESTRADA-PENA, A.; GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J. The distribution preferences of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.98, n.3, p.283-292, 2004.

FACCINI, J.L.H.; BARROS-BATTESTI, D.M. Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**, 1 ed. São Paulo/BR: Vox/ICTTD-3/Butantan. Cap.2, p.5-10, 2006.

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

FIELDEN, L.J.; RECHAV, Y.; BRYSON, N.R. Acquired immunity to larvae of *Amblyomma marmoreum* and *A. hebraeum* by tortoises, guinea-pigs and guinea-fowl. **Medical and Veterinary Entomology**, v.6, p.251-254, 1992.

FIGUEIREDO, L.T.M.; BADRA, S.J.; PEREIRA, L.E.; SZABÓ, M.P.J. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n.6, p.613-619, 1999.

FRANCISCHETTI, I.M.B.; SÁ-NUNES, A.; MANS, B.J.; SANTOS, I.M.; RIBEIRO, J.M.C. The role of saliva in tick feeding. **Frontiers in Bioscience**, v.14, p.2051-2088, 2010.

FURNARI, N. **Corte intra e interespecífica em cobaias (*Cavia porcellus*) e preás (*Cavia aperea*)**. 148p. Dissertação (Mestrado em Psicologia Experimental), Instituto de Psicologia, Universidade de São Paulo. São Paulo. 2006.

FUKUMOTO, S.; SAKAGUCHI, T.; YOU, M.; XUAN, X.; FUJISAKI, K. Tick troponin I-like molecule is a potent inhibitor for angiogenesis. **Microvascular Research**, v.71, p.218-221, 2006.

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

GONZALEZ-ACUNA, D.; ESTRADA-PENA, A.. Ticks (Ixodidae) on human in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v.40, p.83-100, 2006.

GRANSTROM, M. Tick-borne zoonoses in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v.3, n.2, p.156-169, 1997.

GRIMALDI, D.A.; ANGEL, M.S.; NASCIMBENE, P.C. Fossiliferous cretaceous amber from Myanmar (Burma): its rediscovery, biotic diversity, and paleontological significance. **American Museum Novitates**, v.3361, p.1-71, 2002.

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

GUGLIELMONE, A.A.; ESTRADA-PENA, A.; KEIRANS, J.E.; ROBBINS, R.G. **Ticks (Acari: Ixodidae) of the zoogeographic region**. Atlanta, Houten, The Netherlands, International Consortium on Ticks and Tick-Borne Diseases (ICTTD-2), 2003, 173 p.

GUGLIELMONE, A.A.; BEAT, L.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; NAVA, S.; VENZAL, J.M.; MANGOLD, A.J.; SZABO, M.J.P.; MARTINS, J.R.; GONZALEZ ACUÑA, D.; ESTRADA-PENNA, A.. Ticks (Ixodidae) on human in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 83-100, 2006.

GUGLIELMONE, A.A.; NAVA, S. Rodents of the subfamily Caviinae (Hystricognathi, Caviidae) as hosts for hard ticks (Acari: Ixodidae). **Mastozoologia Neotropical**, v.17, n.2, p.279-286, 2010.

GUGLIELMONE, A.A.; ROBBINS, R.G.; APANASKEVICH, D.A.; PETNEY, T.N.; ESTRADA-PENA, A.; HORAK, I.G.; SHAO R.; BARKER, S.C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, v.2528, p.1-28, 2010.

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

HEPBURN, N.J.; WILLIAMS, A.S.; NUNN, M.A.; CHAMBERLAIN-BANOUB, J.C.; HAMER, J.; MORGAN, B.P.; HARRIS, C.L. *In vivo* characterization and therapeutic efficacy of a C5-specific inhibitor from the soft tick *Ornithodoros moubata*. **The Journal of Biological Chemistry**, v.282, p.8292-8299, 2007.

HEY, J. The mind of the species problem. **TRENDS in Ecology & Evolution**, v.16, n.7, p.326-329, 2001.

HOMER, M.J.; AGUILAR-DELFIN, I.; TELFORD, S.R.; KRAUSE, P.J.; PERSING, D.H.; Babesiosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.13, n.3, p.451-469, 2000.

HORTA, M.C.; NASCIMENTO, G.F.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B.; MACHADO, L.C.P.; NICOLA, P.A. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing free-living wild animals in the Caatinga biome in the State of Pernambuco, northeastern Brazil. **Systematic & Applied Acarology**, v.16, p.207-211, 2011.

HOVIUS, J.W.R.; LEVI, M.; FIKRIG, E. Salivating for knowledge: potential pharmacological agents in tick saliva. **PLoS Medicine**, v.5, p.202-208, 2008.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v.129 (suppl. S1), p.S3-S14, 2004.

LABRUNA, M.B., KERBER, C.E., FERREIRA, F., FACCINI, J.L.H., DeWAAL, D.T., GENNARI, S.M. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.97, p.1-14, 2001.

LABRUNA, M.B.; JORGE, R.S.P.; SANA, D.A.; JÁCOMO, A.T.A.; KASHIVAKURA, C.K.; FURTADO, M.M.; FERRO, C.; PEREZ, S.A.; SILVEIRA, L.; SANTOS, T.S.Jr; MARQUES, S.R.; MORATO, R.G.; NAVA, A.; ADANIA, C.H.; TEIXEIRA, R.H.F.; GOMES, A.A.B.; CONFORTI, V.A.; AZEVEDO, F.C.C.; PRADA, C.S.; SILVA, J.C.R.; BATISTA, A.F.; MARVULO, M.F.V.; MORATO, R.L.G.; ALHO, C.K.R.; PINTER, A.; FERREIRA, P.M.; BARROS-BATTESTI, D.M. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.36, p.149-163, 2005a.

LABRUNA, M.B.; TERRASSINI, F.A.; CAMARGO, L.M. First report of the male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a field-collected host. **Journal of Medical Entomology**, v.42, p.945-947, 2005b.

LABRUNA, M.B.; NARANJO, V.; MANGOLD, A.J.; THOMPSON, C.; ESTRADA-PENA, A.; GUGLIELMONE, A.A.; JONGEJAN, F.; DE LA FUENTE, J. Allopatric speciation in ticks: genetic and reproductive divergence between geographic strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **BMC Evolutionary Biology**, v.9, n.46, p.1-12, 2009.

LABRUNA, M.B.; SOARES, J.F.; MARTINS, T.F.; SOARES, H.S.; CABRERA, R.R. Cross-mating experiments with geographically different populations of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.54, p.41-49, 2011.

LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B.; OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; RODRIGUES, Z.B.; CARVALHO, H.A.; FREITAS, C.M.V.; VIEIRA Jr, C.R. Host specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.93, n. 3, p.347-351, 1998.

LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H.; LANDULFO, G.A.; BERTO, B.P.; FERREIRA, I. Bird ticks in an area of the Cerrado of Minas Gerais State, southeast Brazil. **Experimental and Applied Acarology** (in press), 2012.

MANGOLD, A.J.; BARGUES, M.D.; MAS-COMA, S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v.84, p.478-484, 1998.

MANS, B.J.; NEITZ, A.W.H. Adaptation of ticks to a blood-feeding environment: evolution from a functional perspective. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v.34, p.1-17, 2004.

MANTOVANI, E.; COSTA, I.P.; GAUDITANO, G.; BONOLDI, V.L.N.; HIGUCHI, M.L.; YOSHINARI, N.H. Description of Lyme disease-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne disease or Lyme disease variation? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.40, p.443-456, 2007.

MARGOS, G.; GATEWOOD, A.G.; AANENSEN, D.M.; HANINCOVÁ, K.; TEREKHOVA, D.; VOLLMER, S.A.; CORNET, M.; PIESMAN, J.; DONAGHY, M.; BORMANE, A.; HURN, M.A.; FEIL, E.J.; FISH, D.; CASJENS, S.; WORMSER, G.P.; SCHWARTZ, I.; KURTENBACH, K. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.105, p.8730-8735, 2008.

MARTINS, J.R.; MEDRI, I.M.; OLIVEIRA, C.M.; GUGLIELMONE, A.A. Ocorrência de carrapato em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, p.293-295, 2004.

MASTROPAULO, M.; NAVA, S.; GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J. Biological differences between two allopatric populations of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Argentina. **Experimental and Applied Acarology**, v.53, p.371-375, 2011.

MATSUMOTO, K.; BROUQUI, P.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Experimental infection models of ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group with *Rickettsia conorii*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.5, p.363-372, 2005.

McLAREN, D.J.; WORMS, M.J.; ASKENASE, P.W. Cutaneous basophil associated resistance to ectoparasites (ticks). Electron microscopy of *Rhipicephalus appendiculatus* larval feeding sites in actively sensitized guinea-pigs and recipients of immune serum. **Journal of Pathology**, v.139, p.291-308, 1983.

MURRELL, A.; CAMPBELL, N.J.H.; BARKER, S.C. Mitochondrial 12S rDNA indicates that the Rhipicephalinae (Acari: Ixodida: Ixodidae) is paraphyletic. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.12, p.83-86, 1999.

MURRELL, A.; CAMPBELL, N.J.H.; BARKER, S.C. Phylogenetic analyses of the Rhipicephaline ticks indicate that the genus *Rhipicephalus* is paraphyletic. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.16, p.1-7, 2000.

MURRELL, A.; CAMPBELL, N.J.H.; BARKER, S.C. Recurrent gains and losses of large (84-109 bp) repeats in the rDNA internal transcribed spacer 2 (ITS2) of Rhipicephaline ticks. **Insect Molecular Biology**, v.10, p.587-596, 2001.

MURRELL, A.; BARKER, S.C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v.56, p.169-172, 2003.

NAVA, S.; CAPARROS, J.A.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. Ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) infesting humans in Northwestern Cordoba Province, Argentina. **Medicina**, v.66, p.225-228, 2006a.

NAVA, S.; MANGOLD, A.J. The natural hosts for larvae and nymphs of *Amblyomma neumanni* and *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.40, p.123-131, 2006b.

NAVA, S.; SZABÓ, M.P.J.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. Distribution, hosts, 16S rDNA sequences and phylogenetic position of the Neotropical tick *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v.102, n.5, p.409-425, 2008a.

NAVA, S.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. Aspects of the life cycle of *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) under natural conditions. **Veterinary Parasitology**, v.156, p.270-276, 2008b.

NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 11^a ed. São Paulo: Atheneu, 2003, 418 p.

NUTTALL, P.A.; LABUDA, M. Tick–host interactions: saliva-activated transmission. **Parasitology**, v.129, S177-S189, 2004.

OBA, M.S.P.; SCHUMAKER, 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 de temperatura do ar. **Memórias do Instituto Butantan**, v.47, p.195-204, 1983.

OLEGÁRIO, M.M.M.; GERARDI, M.; TSURUTA, S.A.; SZABÓ, M.P.J. Suitability of domestic hosts and life cycle of the tick *Amblyomma parvum*, Aragão 1908 (Acari: Ixodidae). **Veterinary Parasitology**, v.179, p. 203-208, 2011.

OUHELI, H. Comparative development of *Hyalomma marginatum* (Koch, 1844), *H. detritum* (Schulze, 1919), *H. lusitanicum* (Koch, 1844) and *H. dromedarii* (Koch, 1844) under laboratory conditions. **Acta Parasitologica**, v.39, n.3, p.153-157, 1994.

PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; NAVA, S.; BRANDÃO, E.P.; RICHTZENHAIN, J.L.; LABRUNA, M.B. Detection of a novel spotted fever group rickettsia in *Amblyomma parvum* ticks (Acari: Ixodidae) from Argentina. **Experimental and Applied Acarology**, v.43, p.63-71, 2007.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Tick and tick-borne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. **Clinical Infectious Diseases**, v.32, p.897-928, 2001.

PATZ, J.; GRACZYK, T.K.; GELLER, N.; YITTER, A.Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. **International Journal for Parasitology**, v.30, p.1395-1405, 2000.

PAVEGLIO, S.A.; ALLARD, J.; MAYETTE, J.; WHITTAKER, L.A.; JUNCADILLA, I.; ANGUITA, J.; POYNTER, M.E. The tick salivary protein, salp15, inhibits the development of experimental asthma. **The Journal of Immunology**, v.178, p.7064-7071, 2007.

PEGRAM, R.G.; KEIRANS, J.E.; CLIFFORD, C.M.; WALKER, J.B. Clarification of the *Rhipicephalus sanguineus* group (Acari, Ixodoidea, Ixodidae). II. *R. sanguineus* (Latreille, 1806) and related species. **Systematic Parasitology**, v.10, n.1, p.27-44, 1987.

PEREIRA, M.C.; SZABÓ, M.P.J.; BECHARA, G.H.; MATUSHIMA, E.R.; BARBANTE, M.J.D.; REHAV, Y.; FIELDEN, L. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.37, p.979-983, 2000.

PETERKOVÁ, K.; VANCOVÁ, I.; HAJNICKÁ, V.; SLOVÁK, M.; SIMO, L.; NUTTALL, P.A. Immunomodulatory arsenal of nymphal ticks. **Medical and Veterinary Entomology**, v.22, p.167-171, 2008.

QUEIROZ, K. Ernst Mayr and the modern concept of species. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.102 (suppl. 1), p.6600-6607, 2005.

RAMAMOORTHY, N.; NARASIMHAN, S.; PAL, U.; BAO, F.; YANG, X.F.; FISH, D.; ANGUITA, J.; NORGARD, M.V.; KANTOR, F.S.; ANDERSON, J.F.; KOSKI, R.A.; FIKRIG, E. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. **Nature**, v.436, p.573-577, 2005.

RANDOLPH, S.E. Population regulation in ticks - role of acquired resistance in natural and unnatural hosts. **Parasitology**, v.79, p.141-156, 1979.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.32, p.463-478, 1987.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in tick/host interactions. **Experimental and Applied Acarology**, v.7, n.1, p.15-20, 1989.

RIBEIRO, J.M.C. How ticks make a living. **Parasitology Today**, v.11, n.3, p.91-93, 1995.

ROMOSER, W.S. The vector alimentar system. In: BEATY, B.J.; MARQUARDT, W.C. **The Biology of Disease Vectors**. University Press of Colorado, Colorado, p.298-317, 1996.

SANGIONI, L.A.; HORTA, M.C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S.M.; SOARES, R.M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, v.11, p.255-270, 2005.

SAUER, J.R.; McSWAIN, J.L.; BOWMAN, A.S.; ESSENBERG, R. Tick salivary gland physiology. **Annual Review of Entomology**, v.40, p.245-267, 1995.

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

SILVA, N.; EREMEEVA, M.E.; ROZENTAL, T.; RIBEIRO, G.S.; PADDOCK, C.D.; RAMOS, E.A.G.; FAVACHO, A.R.M.; REIS, M.G.; DASCH, G.A.; LEMOS, E.R.S.; KO, A.I. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, n.2, p.275-278, 2011.

SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.3, p.521-523, 2010.

SZABÓ, M.P.J.; MUKAI, L.S.; ROSA, P.C.S.; BECHARA, G.H. Differences in the acquired resistance of dogs, hamsters, and guinea pigs to repeated infestations with adult ticks *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, v.2, p.43-50, 1995a.

SZABÓ, M.P.J.; MORELLI, J.; BECHARA, G.H. Cutaneous hypersensitivity induced in dogs and guinea pigs by extracts of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v.19, p.723-730, 1995b.

SZABÓ, M.P.J.; BECHARA, G.H. Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pigs. **Experimental and Applied Acarology**, v.23(11), p.915-928, 1999.

SZABÓ, M.P.J.; BERTIPAGLIA, E.C.A.; BECHARA, G.H. Cross Reactivity between Instars of the *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) tick. **Annals New York Academy of Sciences**, v.916, p.605-609, 2000.

SZABÓ, M.P.J.; LABRUNA, M.B.; PEREIRA CAMPOS, M.; DUARTE, J.M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild marsh-deer (*Blastocerus dichotomus*) from Southeast of Brazil: infestations prior and after habitat loss. **Journal of Medical Entomology**, v.40, p.268-274, 2003a.

SZABÓ, M.P.J.; AOKI, V.L.; SANCHES, F.P.S.; AQUINO, L.P.T.C.T.; GARCIA, M.V.; MACHADO, R.Z.; BECHARA, G.H. Antibody and blood leukocyte response in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) tick-infested dogs and guinea pigs. **Veterinary Parasitology**, v.115, p.49-59, 2003b.

SZABÓ, M.P.J.; MANGOLD, A.J.; JOÃO, C.F.; BECHARA, G.H.; GUGLIELMONE, A.A. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.131-140, 2005.

SZABÓ, M.P.J.; OLEGÁRIO, M.M.M.; SANTOS, A.L.Q. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. **Experimental and Applied Acarology**, v.43, p.73-84, 2007.

TIBAYRENC, M. The species concept in parasites and other pathogens: a pragmatic approach? **TRENDS in Parasitology**, v.22, n.2, p. 66-70, 2006.

THOMPSON, J.N. Coevolution. In: **Encyclopedia of life sciences**. John Wiley & Sons Ltd, Chichester. London, Nature Publishing Group, 2001. (Disponível em: http://server2.icav.up.pt/CPINHO/expl_bia-evf_1283_2012/1_Johnson2001.pdf).

TOMASSONE, L.; NUNEZ, P.; GURTNER, R.E.; CEBALLOS, L.A.; OROZCO, M. M.; KITRON, U.D.; FARBER, M. Molecular detection of Ehrlichia chaffeensis in Amblyomma parvum ticks, Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.12, p.1953-1955, 2008.

VALENZUELA, J.G. Exploring tick saliva : from biochemistry to 'sialomes' and functional genomics. **Parasitology**, v.129, S83-S94, 2004.

VEITIA, R.A.; VAIMAN, D. Exploring the mechanistic bases of heterosis from the perspective of macromolecular complexes. **The FASEB Journal**, v.25, p.476-482, 2011.

VERONEZ, V.A.; CASTRO, M.B.; BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J. Histopathology of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks fed on resistant hosts. **Experimental and Applied Acarology**, v.50, p.151-161, 2010.

YOSHINARI, N.H.; BARROS, P.J.; GAUDITANO, G.; FONSECA, A.H. Report of 57 cases of Lyme-like disease (LLD) in Brazil. **Arthritis & Rheumatism**, v.43 (suppl. S188), 1999.

WAXMAN, L.; SMITH, D.E.; ARCURI, K.E.; VLASUK, G.P. Tick anticoagulant peptide (TAP) is a novel inhibitor of blood coagulation factor Xa. **Science**, v.248, p.593-596, 1990.

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

WIKEL, S.K. Acquired resistance to ticks. Expression of resistance by C4-deficient guinea-pigs. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.28, p.586-590, 1979.

WIKEL, S.K.; RAMACHANDRA, R.N.; BERGMAN, D.K. Tick-induced modulation of the host immune response. **International Journal for Parasitology**, v.24, n.1, p.59-66, 1994.

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

WIKEL, S.K.; RAMACHANDRA, R.N.; BERGMAN, D.K.; BURKOT, T.R.; PIESMAN, J. Infestation with pathogen free nymphs of *Ixodes scapularis* induces host resistance to transmission of *Borrelia burgdorferi* by ticks. **Infection and Immunity**, v.65, n.1, p.335-338, 1997.

WIKEL, S.K.; BERGMAN, D. Tick-host immunology: significant advantages and challenging opportunities. **Parasitology Today**, v.13, n.10, p.383-389, 1997.

WIKEL, S.K. Tick modulation of host immunity: an important factor in pathogen transmission. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.851-859, 1999.

KAUFMAN, W.R. Tick-host interaction: a synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, v.5, n.2, p.47-55, 1989.

KEIRANS, J.E.; OLIVER, J.H.Jr. 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. **Journal of Parasitology**, v.79, p.860-865, 1993.

KUNZ, W. When is a parasitespecies a species? **TRENDS in Parasitology**, v.18, n.3, p.121-124, 2002.

KURTENBACH, K.; De MICHELIS, S.; ETTI, S.; SCHAFER, S.M.; SEWELL, H.S.; BRADE, V.; KRAICZY, P. *Borrelia burgdorferi* sensu lato - the key role of host complement. **TRENDS in Microbiology**, v.10, n.2, p.74-79, 2002.

APÊNDICE

Tabela 1. Parâmetros biológicos de fêmeas de *A. parvum* do Brasil ou da Argentina, puras e híbridas resultantes do cruzamento de fêmeas e machos de origens diferentes (brasileira ou argentina) e puras ingurgitadas na ausência de machos, alimentadas em coelhos, Uberlândia, 2011.

Carrapato	Recuperação (%)	Peso (mg)		Período (dias)			Eclosão de larvas (%)	Eficiência na produção de ovos (%)
		Fêmea ingurgitada	Massa de ovos	Ingurgitamento	Pré postura	Incubação dos ovos		
Casais puros (Arg)	91,7 ± 9,62 a (83,3 - 100)	389,0 ± 77,9 a (237 - 546)	212,0 ± 51,1 ab (108 - 283)	10,2 ± 0,907 ab (9 - 12)	4,5 ± 0,673 a (3 - 6)	29,6 ± 0,953 a (28 - 31)	74,8 ± 25,5 ab (15 - 99)	54,4 ± 8,77 a (31,7 - 64,6)
Casais puros (Bra)	87,5 ± 16 a (66,7 - 100)	400,0 ± 75,1 a (287 - 549)	198,0 ± 83,4 a (15,3 - 315)	8,9 ± 1,41 a (8 - 14)	4,8 ± 1,33 a (4 - 9)	31,9 ± 2,82 b (30 - 42)	59,9 ± 33,2 a (0 - 98,7)	48,2 ± 16,1 a (4,29 - 60,2)
Híbrido A (F Arg x M Bra)	87,5 ± 16 a (66,7 - 100)	404 ± 129,2 a (122 - 623)	228,0 ± 100 ab (27,2 - 376)	10,6 ± 2,89 b (9 - 21)	4,0 ± 1,05 a (1 - 5)	29,6 ± 0,746 a (28 - 31)	77,7 ± 14 ab (51,7 - 98,7)	53,8 ± 13,3 a (9,82 - 65)
Híbrido B (F Bra x M Arg)	87,5 ± 16 a (66,7 - 100)	446,3 ± 111,4 a (30,3 - 579)	273,0 ± 47 b (189 - 351)	10 ± 1,73 ab (8 - 16)	4,3 ± 0,885 a (2 - 6)	30,5 ± 0,841 a (29 - 32)	87,9 ± 11,1 b (63,3 - 99,3)	58,2 ± 4,6 a (43 - 63,1)
F Arg	0 b	47,5 ± 21,1 b (18,1 - 96,4)	7,4 ± 4,6 c (0,7 - 13,1)	-	11,0 ± 2,97 b (8 - 16)	-	0 c	9,8 ± 4,76 b (1,18 - 13,9)
F Bra	20,8 ± 16 b (0 - 33,3)	80,1 ± 50,4 b (16,6 - 226)	17,6 ± 17,6 c (2,4 - 48,4)	15,8 ± 3,49 c (14 - 22)	6,3 ± 5,82 a (1 - 14)	-	0 c	11,2 ± 7,2 b (2,84 - 21,5)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Arg, Argentina; Bra, Brasil; F, fêmea; M, macho. Híbrido A (F Arg M Bra), carrapatos híbridos descendentes do cruzamento entre fêmea da Argentina e macho do Brasil; Híbrido B (F Bra M Arg), carrapatos híbridos descendentes do cruzamento de fêmea do Brasil e macho da Argentina.

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 2. Parâmetros biológicos de fêmeas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentadas em diferentes espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012.

Espécie hospedeira	Origem	Recuperação (%)	Peso (mg)		Período (dias)			Eclosão de larvas (%)	Eficiência na produção de ovos (%)
			Fêmea ingurgitada	Massa de ovos	Ingurgitamento	Pré postura	Incubação dos ovos		
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Bra	88 ± 10,95 a (80 - 100)	419,7 ± 129,1 a (123,7 - 624,8)	211,3 ± 96,07 a (5,4 - 361,9)	10,3 ± 1,32 a (9 - 14)	4,1 ± 0,8 ab (3 - 6)	29,2 ± 2,52 a (27 - 35)	65,4 ± 42,51 a (1 - 99,99)	46,3 ± 14,74 a (20,33 - 46,58)
	Arg	92 ± 17,89 a (60 - 100)	370,5 ± 76,69 a (213,4 - 523,1)	185,9 ± 60,56 a (58,6 - 281,3)	10,1 ± 1,06 ab (8 - 12)	4,1 ± 0,69 ab (3 - 5)	28,5 ± 1,31 a (26 - 32)	82,5 ± 22,97 ab (10 - 99,99)	50,3 ± 13,13 a (17,33 - 69,02)
<i>Cannis familiares</i>	Bra	90 ± 11,55 a (80 - 100)	410,9 ± 132,3 a (97,3 - 583,1)	238,3 ± 78,77 a (50,4 - 348,5)	8,6 ± 1,2 c (7 - 11)	4,7 ± 0,77 a (4 - 7)	33,6 ± 1,39 b (31 - 36)	86,3 ± 15,49 ab (50 - 99,9)	56,4 ± 5,79 a (40,22 - 62,97)
	Arg	90 ± 11,55 a (80 - 100)	387,6 ± 102,0 a (122,7 - 527,3)	204,1 ± 67,41 a (65,6 - 299,2)	8,8 ± 1,1 bc (7 - 11)	4,7 ± 0,57 a (4 - 6)	33,1 ± 0,96 b (32 - 35)	97,6 ± 3,41 b (90 - 99)	52,5 ± 9,19 a (28,03 - 63,58)
<i>Bos taurus taurus</i>	Bra	72 ± 10,95 a (60 - 80)	454,5 ± 84,91 a (324,7 - 628,4)	222,8 ± 69,29 a (126,2 - 383,4)	10,8 ± 2,46 a (7 - 15)	3,8 ± 1,25 b (2 - 7)	32,8 ± 0,88 b (32 - 35)	93,8 ± 7,3 b (75 - 99,99)	47,9 ± 7,0 a (36,87 - 61,01)
	Arg	68 ± 10,95 a (60 - 80)	375,1 ± 76,63 a (263,7 - 565,4)	190,1 ± 65,55 a (23,2 - 281,5)	10,4 ± 1,32 a (8 - 12)	4,1 ± 0,9 ab (3 - 6)	33,7 ± 1,25 b (32 - 36)	90,6 ± 9,76 b (70 - 99,99)	50,0 ± 12,94 a (7,48 - 64,05)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Bra, Brasil; Arg, Argentina.

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 3. Parâmetros biológicos de larvas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados em diferentes espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012.

Espécie hospedeira	Origem	Recuperação (%)	Peso (mg)	Período (dias)		Ecdise (%)
				Ingurgitamento	Ecdise	
<i>Cavia porcellus</i>	Bra	55,9 ± 3,34 a (50,76 - 60)	0,55 ± 0,03 a (0,44 - 65,3)	5,0 ± 0,34 ab (3 - 8)	10,4 ± 0,53 bcd (9 - 11)	94,4 ± 2,14 a (91,13 - 96,83)
	Arg	42,5 ± 5,18 b (32,34 - 46,74)	0,52 ± 0,01 a (0,37 - 62,6)	5,5 ± 0,18 b (3 - 8)	10,0 ± 0,54 bc (9 - 11)	94,5 ± 2,66 a (91,3 - 97,71)
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Bra	30,9 ± 4,39 bc (24,62 - 35,64)	0,52 ± 0,04 a (0,3 - 33,1)	5,7 ± 0,29 b (4 - 11)	10,6 ± 1,5 abd (9 - 14)	96,1 ± 1,5 a (94,79 - 98,5)
	Arg	31,3 ± 14,53 bc (8,7 - 45, 65)	0,50 ± 0,04 a (0,3 - 40,6)	5,7 ± 0,95 b (3 - 9)	9,1 ± 0,1 c (8 - 11)	97,2 ± 0,97 a (95,83 - 98,21)
<i>Cannis familiares</i>	Bra	15,3 ± 1,62 de (13,08 - 17,44)	0,48 ± 0,03 a (0,4 - 17,9)	4,3 ± 0,52 a (3 - 7)	12,0 ± 0,84 a (10 - 17)	95,9 ± 3,68 a (89,47 - 98,39)
	Arg	11,4 ± 2,36 e (7,34 - 13,4)	0,53 ± 0,08 a (0,41 - 11,2)	4,5 ± 0,52 a (3 - 7)	11,5 ± 0,75 ad (9 - 14)	93,1 ± 2,92 a (88,89 - 96,15)
<i>Bos taurus taurus</i>	Bra	11,3 ± 0,75 e (10,26 - 12,3)	0,52 ± 0,04 a (0,2 - 17,7)	4,2 ± 0,2 a (3 - 8)	10,4 ± 0,4 bcd (9 - 14)	76,3 ± 18,49 b (53,33 - 97,78)
	Arg	26,7 ± 7,81 cd (13,59 - 34,51)	0,54 ± 0,02 a (0,4 - 47,9)	4,9 ± 0,46 ab (4 - 7)	9,4 ± 0,38 bc (9 - 11)	86,4 ± 7,77 ab (74,32 - 94,44)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Bra, Brasil; Arg, Argentina.

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 4. Parâmetros biológicos de ninfas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentados em diferentes espécies hospedeiras, Uberlândia, 2012.

Espécie hospedeira	Origem	Recuperação (%)	Peso (mg)	Período (dias)		Ecdise (%)
				Ingurgitamento	Ecdise	
<i>Cavia porcellus</i>	Bra	81,7 ± 9,8 a (75 - 100)	7,3 ± 0,19 a (4 - 57,5)	5,2 ± 0,2 b (3 - 8)	16,6 ± 0,32 a (16 - 20)	98,1 ± 3,06 a (93,33 - 100)
	Arg	76,7 ± 6,06 a (70 - 85)	6,3 ± 0,09 b (4,65 - 51,2)	4,8 ± 0,16 bc (3 - 8)	16,6 ± 0,45 a (16 - 19)	100 ± 0 a (100 - 100)
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Bra	65 ± 28,94 a (55 - 95)	5,2 ± 0,67 cd (4 - 43,3)	4,6 ± 0,22 bc (3 - 7)	13,8 ± 0,59 d (12 - 16)	100 ± 0 a (100 - 100)
	Arg	55 ± 28,94 a (25 - 95)	5,4 ± 0,5 bc (2 - 38,6)	6,8 ± 2,08 a (4 - 12)	14,3 ± 0,34 cd (11 - 16)	97,5 ± 5,59 a (87,5 - 100)
<i>Cannis familiares</i>	Bra	70 ± 12,25 a (50 - 80)	4,6 ± 0,62 cd (2,7 - 46,3)	4,5 ± 0,54 bc (3 - 6)	15,2 ± 0,64 bc (14 - 17)	98,8 ± 2,8 a (93,75 - 100)
	Arg	46 ± 19,81 a (30 - 80)	4,4 ± 0,67 d (2,6 - 53,3)	3,7 ± 0,11 c (3 - 7)	14,7 ± 0,37 bc (14 - 18)	100 ± 0 a (100 - 100)
<i>Bos taurus taurus</i>	Bra	66 ± 20,43 a (35 - 90)	5,1 ± 0,62 cd (2,7 - 64,5)	4,5 ± 0,26 bc (4 - 7)	14,8 ± 0,29 bc (14 - 15)	82,9 ± 12,07 b (66,67 - 100)
	Arg	62 ± 31,54 a (25 - 95)	5,0 ± 0,36 cd (2 - 44,7)	4,9 ± 0,28 bc (3 - 7)	15,4 ± 0,43 b (14 - 16)	79,5 ± 12,19 b (69,23 - 100)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Bra, Brasil; Arg, Argentina.

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 5. Número de ovos em 20 mg de massa de ovos, com vinte dias de postura por fêmeas de *A. parvum* do Brasil e da Argentina alimentadas em coelhos, Uberlândia, 2012.

Origem	Número de ovos em 20mg	
	Média	Mediana
Brasil	389,9 ± 33,43 a (329 - 426)	398,5 a (367 - 415,3)
Argentina	368,4 ± 13,80 a (346 - 383)	374,0 b (358 - 379)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).
ou mediana e interquartis (entre parênteses).
Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 6. Número de espécimes de *A. parvum* do Brasil e da Argentina produzidas por cada uma das diferentes espécies hospedeiras, após infestação com larvas, ninfas e adultos, Uberlândia, 2012.

Infestação inicial com: Estágio alimentado: Produzido e calculado:		100 larvas L	10 ninfas N	100 larvas L e N	Um casal de adultos A	Um casal de adultos A, L e N
Hospedeiros		Origem				
<i>Cavia porcellus</i>	Bra	58 ± 3,59 a	8 ± 0,89 a	46,4 ± 5,42 a	-	-
		(53 - 63)	(7 - 10)	(37 - 54)	-	-
	Arg	53,1 ± 12,97 a	7,7 ± 0,61 a	40,5 ± 9,31 a	-	-
		(40 - 68)	(7 - 9)	(30 - 54)	-	-
<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Bra	29,7 ± 4,38 b	7,2 ± 1,72 a	20,8 ± 2,36 b	2134 ± 1069 a	450,5 ± 252,2 a
		(23 - 34)	(6 - 10)	(18 - 24)	(1220 - 3977)	(249,2 - 881,2)
	Arg	30,4 ± 14,05 b	5,4 ± 3 a	15 ± 10,61 bc	2556 ± 653,6 ab	402,6 ± 315,7 a
		(8 - 44)	(3 - 10)	(7 - 33)	(1927 - 3588)	(165,4 - 867,3)
<i>Cannis familiares</i>	Bra	14,7 ± 1,75 bcd	6,9 ± 1,14 a	10,2 ± 2,14 bc	4595 ± 1749 b	447 ± 122 a
		(13 - 17)	(5 - 8)	(8 - 14)	(2553 - 6526)	(245,6 - 566,8)
	Arg	12,4 ± 5,02 cd	4,6 ± 1,98 a	6,4 ± 5,65 c	3397 ± 1276 ab	200,8 ± 164 a
		(7 - 20)	(3 - 8)	(3 - 16)	(1919 - 5355)	(103,2 - 492,6)
<i>Bos taurus taurus</i>	Bra	5,7 ± 4,35 d	5,5 ± 2,18 a	3,6 ± 3,41 c	3808 ± 816,4 ab	196,2 ± 125,1 a
		(2 - 11)	(3 - 9)	(1 - 9)	(2642 - 4739)	(63,52 - 372,2)
	Arg	23,2 ± 7,58 bc	4,8 ± 2,39 a	12 ± 7,97 bc	2294 ± 964 a	242,3 ± 159,8 a
		(12 - 33)	(3 - 8)	(3 - 23)	(742,8 - 3043)	(58,34 - 451,7)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

L, larvas; N, ninfas; A, adultos; Bra, Brasil; Arg, Argentina.

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 7. Parâmetros biológicos de larvas de *A. parvum* do Brasil alimentadas em cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012.

Infestação	Recuperação (%)	Peso (mg)	Período (dias)		Ecdise (%)
			Ingurgitamento	Ecdise	
Primeira	55,9 ± 3,34 a (50,76 - 60)	0,55 ± 0,03 a (0,44 - 65,3)	5,0 ± 0,34 a (3 - 8)	10,4 ± 0,53 a (9 - 11)	94,4 ± 2,14 a (91,13 - 96,83)
Terceira	58,1 ± 7,9 a (44,87 - 67,44)	0,57 ± 0,01 a (0,43 - 73,1)	4,7 ± 0,12 a (3 - 7)	10,6 ± 0,45 a (9 - 12)	93,4 ± 1,66 a (91,25 - 95,63)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 8. Parâmetros biológicos de ninfas de *A. parvum* do Brasil alimentadas em cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012.

Infestação	Recuperação (%)	Peso (mg)	Período (dias)		Ecdise (%)
			Ingurgitamento	Ecdise	
Primeira	81,7 ± 9,8 a (75 - 100)	7,3 ± 0,19 a (4 - 57,5)	5,2 ± 0,2 a (3 - 8)	16,6 ± 0,32 a (16 - 20)	98,1 ± 3,06 a (93,33 - 100)
Terceira	82,5 ± 7,58 a (75 - 95)	7,0 ± 0,26 a (4,9 - 58,4)	4,7 ± 0,26 b (3 - 8)	16,7 ± 0,43 a (16 - 18)	99,0 ± 2,41 a (94,11 - 100)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 9. Parâmetros biológicos de larvas de *A. parvum* da Argentina alimentadas em cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012.

Infestação	Recuperação (%)	Peso (mg)	Período (dias)		Ecdise (%)
			Ingurgitamento	Ecdise	
Primeira	42,5 ± 5,18 a (32,34 - 46,74)	0,52 ± 0,01 a (0,37 - 62,6)	5,5 ± 0,18 a (3 - 8)	10,1 ± 0,54 a (9 - 11)	94,5 ± 2,66 a (91,3 - 97,71)
Terceira	51,8 ± 9,5 a (40,22 - 64,4)	0,55 ± 0,01 b (0,5 - 78,3)	4,7 ± 0,13 b (3 - 7)	10,0 ± 0,41 a (9 - 11)	96,5 ± 2,04 a (94,55 - 99,32)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 10. Parâmetros biológicos de ninfas de *A. parvum* da Argentina alimentadas em cobaias sem contato prévio com carrapatos (primeira infestação) e em cobaias previamente sensibilizadas (terceira infestação), Uberlândia, 2012.

Infestação	Recuperação (%)	Peso (mg)	Período (dias)		Ecdise (%)
			Ingurgitamento	Ecdise	
Primeira	76,7 ± 6,06 a (70 - 85)	6,3 ± 0,09 a (4,65 - 51,2)	4,8 ± 0,16 a (3 - 8)	16,6 ± 0,45 a (16 - 19)	100 ± 0 a (100 - 100)
Terceira	78,3 ± 6,06 a (70 - 85)	6,3 ± 0,18 a (4,9 - 55,8)	4,8 ± 0,16 a (3 - 7)	16,6 ± 0,16 a (15 - 18)	100 ± 0 a (100 - 100)

Dados expressos em média, desvio padrão e variação (entre parênteses).

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

Tabela 11. Porcentagens de aumento do pavilhão auricular de cobaias, ao longo do tempo, após inoculação com extrato total de adultos não alimentados de *A. parvum*, Uberlândia, 2012.

Grupos	Tempo								
	10min	1h	2h	5h	18h	24h	48h	72h	96h
Teste	13,3 ± 6,59 (16,5 a)	21,5 ± 12,96 (19,1 a)	31,7 ± 15,51 (32,7 a)	30,0 ± 11,79 (23,3 a)	33,1 ± 16,94 (37,1 a)	27,4 ± 16,42 (32,8 a)	22,8 ± 16,64 (17,5 a)	20,3 ± 15,75 (15,8 a)	17,3 ± 15,7 (15,8 a)
Controle	41,4 ± 37,0 (42,7 a)	39,4 ± 34,15 (37,4 a)	30,7 ± 27,96 (26,7 a)	33,4 ± 23,62 (32,9 a)	16,4 ± 10,52 (16,0 a)	26,1 ± 20,79 (30,8 a)	19,0 ± 14,68 (20,1 a)	13,4 ± 11,81 (12,4 a)	9,8 ± 8,92 (8,8 a)

Dados expressos em média, desvio padrão e mediana (entre parênteses).

Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente ($p>0,05$).

ANEXOS



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail:ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº 224/11 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 097/11**

Projeto Pesquisa: “Estudo comparativo da biologia de carrapatos *Amblyomma parvum* (Aragão: 1908) (Acari: Ixodidae) de duas populações distintas quando alimentados em diversas espécies animais e avaliação de isolamento reprodutivo entre eles”.

Pesquisador Responsável: Matias Pablo Juan Szabó

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE À CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

AO FINAL DA PESQUISA DEVE SER ENTREGUE À CEUA UM RELATÓRIO. O MODELO DESTES ESTÁ NO SITE.

.

Uberlândia, 20 de dezembro de 2011

Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes
Presidente da CEUA/UFU



Universidade Federal de Uberlândia

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação

Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)

Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A - Campus Santa Mônica -
Uberlândia-MG –

CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail: ceuaufu@yahoo.com.br;

www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 057/12 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 030/12

Projeto Pesquisa: "Estudo comparativo da biologia de carrapatos
mblyommaparvum (Aragão: 1908) (Acari: Ixodidae) de duas populações
distintas quando alimentados em diversas espécies animais e avaliação de
isolamento reprodutivo entre eles."

Pesquisador Responsável: Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com
animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO
DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE
ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

AO FINAL DA PESQUISA DEVE SER ENTREGUE À CEUA UM RELATÓRIO.
O MODELO DESTES ESTÁ NO SITE.

.

Uberlândia, 27 de Junho de 2012

Prof. Dr. Jonas Dantas Batista
Coordenador *Pro tempore* da CEUA/UFU