

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

Alimentação Artificial de Fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) por meio de Tubos Capilares

Renata Kazuko Sakai

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

ALIMENTAÇÃO ARTIFICIAL DE FÊMEAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE) POR MEIO DE TUBOS CAPILARES

RENATA KAZUKO SAKAI

Sob a Orientação da Professora
Darci Moraes Barros-Battesti

e Co-orientação do Professor
Adivaldo Henrique da Fonseca

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2010

595.42
S158a
T

Sakai, Renata Kazuko, 1982-
Alimentação artificial de fêmeas de
Rhipicephalus sanguineus (Acari: Ixodidae)
por meio de tubos capilares / Renata
Kazuko Sakai. - 2010.
36f. : il.

Orientador: Darci Moraes Barros-
Battesti.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 33-36.

1. Carrapato - Alimentos - Teses. 2.
Rhipicephalus sanguineus - Teses. I.
Barros-Battesti, Darci Moraes. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro, Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

Bibliotecário: _____

Data: ___/___/___

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

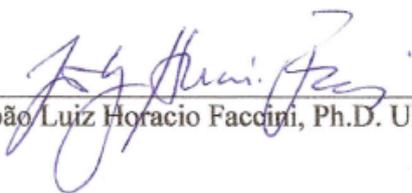
RENATA KAZUKO SAKAI

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 22/02/2010



Darci Moraes Barros-Battesti, Ph.D. Butantan
(Orientadora)



João Luiz Horacio Faccini, Ph.D. UFRRJ



Márcia Arzua, Ph.D. Museu História Natural Curitiba

Dedico este trabalho.....

Aos meus pais Toshio e Amélia e as minhas irmãs Cláudia e Paula pelo incentivo, apoio, carinho e amizade, sem os quais nada seria possível.

Aos meus amigos e ao Valmir que foram fundamentais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por abençoar minha vida.

A Dra. Darci Moraes Barros-Battesti pela oportunidade, orientação e amizade durante todas as fases do trabalho.

Ao Professor Dr. Adivaldo Henrique da Fonseca, pela oportunidade, gentileza, pelos ensinamentos e por estar sempre disposto a ajudar.

Aos professores do Curso de Pós-graduação pelos ensinamentos que foram fundamentais.

Aos funcionários e técnicos do Curso de Pós-graduação.

Aos amigos do laboratório de Doenças Parasitárias da UFRRJ, Bruna de Azevedo Baêta, Jenevaldo Barbosa da Silva, Ana Carolina Nunes de Moraes, Jania de Resende, Matheus Dias Cordeiro, Fábio Jorge Moreira da Silva, Fábio Silva de Souza, Karina Martins Cardoso, Nathalie Costa da Cunha, Rafaella Câmara Teixeira, Raquel da Silva Lisboa, Fabíola do Nascimento Corrêa. Em especial, ao meu amigo Charles Passos Rangel que me auxiliou em todas as etapas deste trabalho.

Ao laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária da UFRRJ, ao professor Fábio Barbour Scott e Francisco de Assis Ribeiro.

As minhas amigas Alice Fragoso Rodrigues de Oliveira, Elise Miyuki Yamasaki, Maria Clara da Silva Negreiros Botelho, Priscilla Aguiar de Paula, Tatianne Godói.

À Prof^a. Marília Massard da Fonseca por ser sempre muito prestativa e gentil.

Ao Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ e especialmente ao Senhor Pedro e ao Senhor Natalino por serem sempre simpáticos, gentis e prestativos.

Aos animais que foram fundamentais.

À CAPES pela concessão da bolsa durante o período de Mestrado.

A todos que contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

BIOGRAFIA

Renata Kazuko Sakai, filha de Toshio Sakai e Keiko Amélia Sakai, nasceu no município de São José dos Campos, Estado de São Paulo.

Cursou o ensino fundamental nas Escolas Edwaldo Freitas Gaia Sant'Ana, Zilah Ferreira Viagi Passarelli de Campos. Em 1999 concluiu o ensino médio no Colégio Agrícola de Jacareí, Estado de São Paulo.

No ano de 2002, ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), colando grau e obtendo o título de Médica Veterinária em 06 de Outubro de 2007.

Durante o período acadêmico realizou estágios em diversas áreas. Foi monitora da disciplina de Doenças Parasitárias.

Em março de 2008 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na Área de Parasitologia Veterinária, ao nível de Mestrado, da UFRRJ, onde foi Bolsista da CAPES.

RESUMO

SAKAI, Renata Kazuko. **Alimentação artificial de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) por meio de tubos capilares.** 2010. 36p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

A alimentação artificial de carrapatos pode ser utilizada para estudar a relação entre vetores e agentes patogênicos, aspectos biológicos, para testar acaricidas e para minimizar a utilização de animais em estudos científicos. Os objetivos deste estudo foram alimentar artificialmente, por meio de tubos capilares, fêmeas parcialmente ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* previamente alimentadas em coelhos e cães. Além disso, foram analisados também o ganho de peso das fêmeas e a influência da técnica nos aspectos biológicos da fase não parasitária desta espécie. Fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* foram obtidas de infestação em coelhos e cães, em diferentes faixas de pesos iniciais e alimentadas artificialmente por 24 horas, para avaliar os melhores ganhos de peso para a próxima etapa. Fêmeas de carrapatos com os melhores ganhos de peso obtidas de infestação em coelhos e cães, foram separadas em cinco grupos de peso homogêneo, pesando entre 35 a 80 mg e 21 a 50 mg, respectivamente. As fêmeas foram fixadas em bandeja de isopor com fita adesiva dupla face e alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, com sangue canino citratado. Após alimentação artificial, os carrapatos foram pesados para avaliar o ganho de peso. Posteriormente, foram fixados em Placas de Petri e mantidos em estufa a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade superior a 80%, para avaliar os aspectos biológicos. Os grupos controles foram obtidos de queda natural de coelhos e cães e mantidos nas mesmas condições de temperatura e umidade. Para análise estatística das variáveis quantitativas foram utilizada análise de variância e teste de Tukey e para as variáveis qualitativas foram utilizados o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, ambas com nível de significância de 5%. A partir de 36 horas de alimentação artificial foi observada diferença estatística significativa entre os grupos, em relação ao ganho de peso, tanto para fêmeas obtidas de coelhos e de cães. Embora as fêmeas de *R. sanguineus* não tenham apresentado ingurgitamento total, a técnica de alimentação artificial de fêmeas oriundas de coelhos e de cães, não apresentou efeitos deletérios sobre os aspectos biológicos da fase não parasitária.

Palavras-chave: *Rhipicephalus sanguineus*, alimentação artificial, tubos capilares.

ABSTRACT

SAKAI, Renata Kazuko. **Artificial feeding of female *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) through capillary tubes.** 2010. 36p. Dissertation (Master Science in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Artificial feeding of ticks can be used to study the relationship between vectors and pathogens, biological aspects, to test acaricides and to minimize the use of animals in scientific studies. The objectives of this study were artificially feeding through capillary tubes, females partially engorged of *Rhipicephalus sanguineus* previously fed on rabbits and dogs. In addition, the gain in weight of females and the influence of the technique in the biological aspects of non-parasitic phase of this species were also analyzed. Partially engorged females of *R. sanguineus* were obtained from infestation in rabbits and dogs in different intervals of initial weights and fed artificially for 24 hours to assess the best weight gains for the next stage. Female ticks with the best gains in weight were obtained on rabbits and dogs were separated into five groups of homogeneous weight, between 35 and 80mg and 21 to 50mg, respectively. The females were fixed in polystyrene tray with double-sided tape and fed artificially through capillary tubes for 6, 12, 24, 36 and 42 hours with citrated canine blood. After artificial feeding, ticks were again weighed to analyze the weight gain. Subsequently, they were fixed in Petri dishes and incubated at $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ and humidity above 80%, in order to analyze the biological aspects. Control groups were obtained from natural fall of rabbits and dogs and the ticks were kept under the same conditions of temperature and humidity. For the statistical analysis, ANOVA and Tukey test were used for quantitative variables. In addition, the nonparametric Kruskal-Wallis was applied for qualitative variables, both with 5% of significance level. After 36 hours of artificial feeding there were difference statistically significant between groups, in relation to weight gain, for both females obtained from rabbits and dogs. Although the females of *R. sanguineus* had not been submitted to complete engorgement, the technique of artificial feeding of females derived from rabbits and dogs, no deleterious effects on the biological aspects of non-parasitic stage were observed.

Key words: *Rhipicephalus sanguineus*, artificial feeding, capillary tubes.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos, antes e depois da alimentação artificial, e o ganho médio de peso das fêmeas nas diferentes faixas, após alimentação artificial por 24 horas em tubos capilares. 13
- Tabela 2.** Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães antes e depois da alimentação artificial, e o ganho médio de peso das fêmeas nas diferentes faixas, após alimentação artificial por 24 horas em tubos capilares. 14
- Tabela 3.** Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos antes e depois da alimentação artificial, ganho médio de peso após alimentação artificial por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e porcentagem de ganho de peso. 16
- Tabela 4.** Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães, antes e depois da alimentação artificial, ganho médio de peso após alimentação artificial por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e porcentagem de ganho de peso. 17
- Tabela 5.** Aspectos biológicos referentes à postura de ovos e eclosão de larvas a partir de fêmeas de *R. sanguineus* parcialmente ingurgitadas (n=10), obtidas de infestação experimental em coelhos e alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36, 42 horas e de fêmeas do grupo controle, mantidas a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade superior a 80%. 19
- Tabela 6.** Aspectos biológicos referentes à postura de ovos e eclosão de larvas a partir de fêmeas de *R. sanguineus* parcialmente ingurgitadas (n=12), obtidas de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36, 42 horas, e de fêmeas do grupo controle, mantidas a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade superior a 80%. 22

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Coelho infestado experimentalmente com adultos de *R. sanguineus*. 9
- Figura 2.** Cães sem raça definida infestados naturalmente com *R. sanguineus*, pertencentes ao LQEPV. 10
- Figura 3.** Alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* por meio de tubos capilares com sangue canino citratado. 11
- Figura 4.** Ganho de peso médio de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* (em diferentes faixas de peso) obtidas de infestação experimental em coelhos (Faixa 1 > 20-35; faixa 2 > 35-50; faixa 3 >50-65; faixa 4 >65-80mg). 15
- Figura 5.** Ganho de peso médio de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* (em diferentes faixas de peso) obtidas de infestação natural em cães (Faixa 1 > 20-35; faixa 2 > 35-50; faixa 3 >50-65; faixa 4 >65-80mg). 15
- Figura 6.** Ganho de peso médio de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos e natural em cães, alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas. 18
- Figura 7.** Ritmo médio de postura diária de fêmeas de *R. sanguineus* alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e de fêmeas do grupo controle provenientes de infestação experimental em coelhos. 21
- Figura 8.** Ritmo médio de postura diária de fêmeas de *R. sanguineus* provenientes de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, e de fêmeas do grupo controle. 24

LISTA DE ABREVIACOES

BOD	“Biological Oxygen Demand”-Demanda Biológica de Oxignio
IEN	Índice de Eficiência Nutricional
IPO	Índice de Produção de Ovos
LDP	Laboratório de Doenças Parasitárias
LQEPV	Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária
mg	miligrama
n	quantidade
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
rRNA	Ácido ribonucleico ribossomal
SBY	Síndrome Baggio-Yoshinari
SRD	Sem raça definida
T	Temperatura
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
U	Umidade
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1	Alimentação Artificial de Carrapatos por Meio de Tubos Capilares	3
2.2	Aspectos Biológicos de Fêmeas de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos, Incubação dos Ovos e Eclosão das Larvas (Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e Umidade Igual ou Superior a 80%)	4
2.3	Aspectos Biológicos de Fêmeas de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Natural e Experimental em Cães, Incubação dos Ovos e Eclosão das Larvas (Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e Umidade Igual ou Superior a 80%)	6
2.4	Alimentação Artificial de Carrapatos: Perspectiva para o Isolamento do Agente Etiológico da Doença de Lyme-Simile	6
3	MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1	Local do Experimento	8
3.2	Procedência e Manutenção da Colônia de <i>R. sanguineus</i> em Coelhos (Etapa 1)	8
3.3	Procedência de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> Oriundas de Infestação Natural em Cães (Etapa 2)	9
3.4	Avaliação do Peso Inicial de Fêmeas de <i>R. sanguineus</i> Parcialmente Ingurgitadas Sobre o Ganho de Peso Após Alimentação Artificial por Meio de Tubos Capilares	9
3.5	Alimentação Artificial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> (Infestação Experimental em Coelhos e Natural em Cães), por 6, 12, 24, 36 e 42 Horas	11
3.6	Obtenção do Grupo Controle de <i>R. sanguineus</i> de Infestação Experimental em Coelhos e de Infestação Natural em Cães	11
3.7	Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de Fêmeas de <i>R. sanguineus</i>	12
3.8	Análise Estatística	12
4	RESULTADOS	13
4.1	Avaliação do Peso Inicial de Fêmeas de <i>R. sanguineus</i> Parcialmente Ingurgitadas Sobre o Ganho de Peso de Fêmeas Alimentadas Artificialmente por Meio de Tubos Capilares	13
4.2	Alimentação Artificial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos e de Infestação Natural em Cães, nos Períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 Horas	16
4.3	Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos e Alimentadas Artificialmente	18

4.3.1	Pesos (em mg) das fêmeas ingurgitadas, períodos médios de pré-postura e postura dos ovos, pesos médios das posturas e das quenóginas, e Índices Médios de Produção de Ovos (IPO) e de Eficiência Nutricional (IEN)	18
4.3.2	Períodos de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão	20
4.4	Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Natural em Cães e Alimentadas Artificialmente	20
4.4.1	Pesos (em mg) das fêmeas ingurgitadas, períodos médios de pré-postura e postura dos ovos, pesos médios das posturas e das quenóginas, e Índices Médios de Produção de Ovos (IPO) e de Eficiência Nutricional (IEN)	23
4.4.2	Períodos de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão	25
5	DISCUSSÃO	26
5.1	Avaliação do Peso Inicial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas Sobre o Ganho de Peso de <i>R. sanguineus</i> Alimentadas Artificialmente por Meio de Tubos Capilares	26
5.2	Alimentação Artificial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos e de Infestação Natural em Cães, nos Períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 Horas	26
5.3	Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos	27
5.4	Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de <i>R. sanguineus</i> Obtidas de Infestação Natural em Cães	29
6	CONCLUSÕES	31
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33

1 INTRODUÇÃO

Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806), comumente conhecido como “carrapato dos cães” ou “carrapato marrom dos cães”, é uma espécie amplamente distribuída nas Américas, Europa, África, Ásia e Austrália. O cão doméstico é o hospedeiro natural para todos os estágios de *R. sanguineus*, não desenvolvendo imunidade efetiva. Felinos, coelhos, bovinos, equinos, pequenos ruminantes, pássaros, animais silvestres e possivelmente humanos foram relatados como hospedeiros alternativos.

Este carrapato pode transmitir inúmeros patógenos, tais como *Ehrlichia canis* e *Babesia canis*, além da suspeita de ser um vetor alternativo para a transmissão de *Leishmania chagasi* (= *Leishmania infantum*) entre cães, demonstrando novas perspectivas na epidemiologia da leishmaniose visceral canina (COUTINHO et al., 2005). No Brasil, Cunha et al. (2009) sugerem que há uma considerável chance da participação ativa de *R. sanguineus* na transmissão de *Rickettsia rickettsii* para humanos.

A necessidade da manutenção de animais em laboratório para o estudo da biologia e interação deste artrópode com agentes patogênicos torna-se mais difícil devido ao alto custo, necessidade de mão de obra e infra-estrutura adequada, além da questão ética relacionada ao uso de animais em experimentações científicas. Nesse contexto, a alimentação artificial de carrapatos oferece vantagens em relação à alimentação em animais, por ser uma técnica executável, baixo custo, por possibilitar a análise de alguns aspectos biológicos e por reduzir o número de animais em experimentos.

A utilização de membranas naturais e artificiais na alimentação artificial de carrapatos argasídeos tem apresentado grandes avanços. No entanto, para carrapatos ixodídeos há certa dificuldade, porque a superfície da membrana não apresenta estímulos adequados para a alimentação. Entretanto, a alimentação artificial de ixodídeos por meio de tubos capilares é um método eficiente, revelando-se promissor para estudos de isolamento de agentes patogênicos.

A alimentação artificial de carrapatos pode ser utilizada para estudar a relação entre vetores e agentes patogênicos, aspectos biológicos e para testar acaricidas. Diferentes substâncias podem ser empregadas na alimentação artificial, como sangue total (desfibrinado, heparinizado, com EDTA e citratado), plasma, soros de animais, e meios de cultura ou sangue infectado com patógenos.

No Brasil, estudos de alimentação artificial por tubos capilares, foram realizados com fêmeas parcialmente ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787), *Rhipicephalus (B.) microplus* (Canestrini, 1887), *R. sanguineus* e *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), pois é no final da alimentação sobre o hospedeiro que ocorre a fase rápida de ingurgitamento. Em nenhum desses estudos foram constatados efeitos deletérios da técnica de alimentação artificial, sobre os aspectos biológicos da fase não parasitária destas espécies.

Considerando a praticidade e a importância da alimentação artificial para carrapatos, no presente estudo, fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* foram alimentadas artificialmente, por meio de tubos capilares, e seus aspectos biológicos foram avaliados. Dessa forma, este trabalho teve por objetivos específicos:

1- Verificar a influência do peso inicial sobre o ganho de peso de fêmeas parcialmente ingurgitadas em coelhos e cães, quando submetidas à alimentação por meio de tubos capilares;

2- Verificar o ganho de peso de fêmeas parcialmente ingurgitadas obtidas de

infestação experimental em coelhos e natural em cães, quando submetidas à alimentação artificial nos períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 horas;

3- Verificar a influência da técnica nos aspectos biológicos da fase não parasitária desta espécie.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Alimentação Artificial de Carrapatos por Meio de Tubos Capilares

A primeira descrição da técnica que utiliza tubos capilares para alimentar carrapatos foi feita por Chabaud (1950), ao alimentar artificialmente *Hyalomma excavatum* (Koch, 1844), *Hyalomma dromedarii* (Koch, 1844), *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) (citado como *Dermacentor pictus*) e *R. sanguineus*.

Nos Estados Unidos, Burgdorfer (1957) alimentou artificialmente por meio de tubos capilares machos e fêmeas de *Dermacentor andersoni* (Stiles, 1908) e *Amblyomma maculatum* (Koch, 1844) com suspensão da bactéria *Leptospira pomona* por 4 a 6 horas. Após alguns dias esses carrapatos foram alimentados em cobaias, e muitos dos animais testados tornaram-se infectados com *L. pomona*. A mesma técnica foi aplicada com sucesso em estudos com *D. andersoni* e vírus rábico.

Na África, Purnell e Joyner (1967) demonstraram que ocorre o processo de salivação do carrapato durante a alimentação artificial por meio de tubos capilares. Os autores utilizaram fêmeas parcialmente ingurgitadas de *Rhipicephalus appendiculatus* (Neumann, 1901) previamente infectadas com *Theileria parva*, e após a alimentação artificial, verificaram que estes carrapatos foram capazes de contaminar os capilares com sangue livre de infecção.

Ainda não houve nenhum relato de ingurgitamento total em relação aos ixodídeos, entretanto estudos realizados na França por Rau e Hannoun (1968) obtiveram sucesso ao alimentar adultos e ninfas do argasídeo *Argas reflexus reflexus* (Fabricius, 1794) através de tubos capilares, com sangue de frango ou pombo heparinizado. Os autores observaram que houve o ingurgitamento total dessas fêmeas as quais fizeram posturas férteis e as ninfas mudaram para os próximos estágios.

Na Austrália, Willadsen et al. (1984) ao trabalharem com alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. microplus* através de tubos capilares com sangue de bovinos, coelhos, ratos e cobaias, observaram que os carrapatos alimentaram-se com todos os tipos de sangue, mas só obtiveram sucesso no ingurgitamento e oviposição quando alimentados com sangue do hospedeiro natural.

Na Suíça, Lösel et al. (1993) alimentaram artificialmente fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. appendiculatus* por meio de tubos capilares, com soro de coelhos que tinham sido previamente infestados com carrapatos e com soro obtidos dos mesmos animais antes da infestação. Os autores verificaram ganho de peso significativamente menor quando as fêmeas foram alimentadas com soro de coelhos infestados. Ainda nesse estudo os carrapatos foram também alimentados artificialmente com soro de bovinos (que são seus hospedeiros naturais) que tinham sido previamente infestados e com soro de bovinos não expostos à infestação. Como resultado, os autores observaram que não houve diferença significativa no ganho de peso, demonstrando assim a diferença entre o hospedeiro natural e a resistência adquirida por animais de laboratório.

Em Cuba, De la Vega et al. (2000) obtiveram sucesso ao alimentar artificialmente fêmeas de *R. microplus* recém mudadas, por meio de capilares por 35 minutos utilizando sangue heparinizado ou desfibrinado. Em seguida, estas fêmeas foram colocadas novamente no hospedeiro natural para completar o ingurgitamento. A alimentação artificial não causou efeito negativo sobre os carrapatos, ou em seu desenvolvimento posterior.

Broadwater et al. (2002) obtiveram sucesso na infecção de ninfas de *Ixodes scapularis* (Fay, 1821) através da alimentação artificial por meio de tubos capilares, com solução contendo *Borrelia burgdorferi*, o agente causador da Doença de Lyme. As ninfas infectadas mudaram para adultos que foram alimentados em roedores de laboratório que adquiriram o patógeno.

Abel (2004) trabalhou com fêmeas de *A. cajennense* previamente alimentadas em coelhos. As fêmeas foram removidas antes de terminarem o ingurgitamento, sendo submetidas à alimentação por meio de tubos capilares por períodos de 2, 6 e 12 horas com sangue bovino citratado. O ganho médio de peso foi significativo já a partir de 2h.

Kocan et al. (2005) alimentaram artificialmente por meio de tubos capilares *Dermacentor variabilis* (Say, 1821) com *Anaplasma marginale*, demonstrando o uso potencial deste sistema para identificar os aspectos das interações entre patógenos e vetores.

Rangel (2008) trabalhou com a alimentação artificial por meio de tubos capilares de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. microplus*, alimentadas artificialmente com sangue bovino citratado por períodos de 6, 12, 24 e 36 horas, observando que as fêmeas alimentadas artificialmente não atingiram ingurgitamento total. Em estudos experimentais com fêmeas de *D. nitens* oriundas de infestação natural em equinos, Rangel et al. (2008) avaliaram os pesos iniciais dessas fêmeas antes de submetê-las à alimentação por tubos capilares. Duas faixas de pesos, 40 a 60 miligramas e de 61 a 100 miligramas, foram estabelecidas e para cada faixa de peso foram formados 4 grupos homogêneos. Em seguida as fêmeas foram alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24 e 36 horas com sangue bovino citratado. Os autores verificaram que as fêmeas pertencentes ao grupo com maior peso inicial tiveram maior ganho de peso no final da alimentação em relação às outras, sugerindo que o peso inicial influencia no ganho de peso final após alimentação artificial.

2.2 Aspectos Biológicos de Fêmeas de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos, Incubação dos Ovos e Eclosão das Larvas (Temperatura de $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ e Umidade Igual ou Superior a 80%)

Apenas um trabalho foi realizado em relação à alimentação artificial por meio de tubos capilares de fêmeas de *R. sanguineus* avaliando os aspectos biológicos da fase não parasitária.

Cunha et al. (2008) ao trabalharem com a alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* oriundas de coelhos, observaram pesos médios das fêmeas 66,0; 69,10 e 73,60mg após alimentação artificial com sangue canino citratado por meio de tubos capilares por 6, 12 e 24 horas, respectivamente. As mesmas fêmeas alimentadas artificialmente tiveram um período médio de pré-postura e postura de 4,10; 4,0 e 4,10 dias e 6,90; 7,60 e 6,90 dias, respectivamente. Os pesos médios das posturas provenientes das fêmeas alimentadas artificialmente foram de 42,60; 46,90 e 41,60mg, respectivamente. Os pesos médios das quenóginas não foram citados. Os Índices de Produção de Ovos (IPOs) e Índices de Eficiência Nutricional (IENs) foram de 55,90; 58,20; 51,10% e 86,70; 85,60; 82,30%, respectivamente. Os períodos médios de incubação dos ovos das fêmeas alimentadas artificialmente não foram citados, os percentuais de eclosão das larvas foram de 81,10; 93,80 e 68,0%, respectivamente.

Devido a escassez de trabalhos com alimentação artificial de *R. sanguineus*, a revisão dos aspectos biológicos se referem aos grupos controles alimentados em hospedeiros experimentais.

No Brasil, Coelho (1993) ao estudar os parâmetros da oviposição, obteve fêmeas ingurgitadas com peso variando entre 82,60 a 228,60mg e com peso médio de 166,02mg. As fêmeas alimentadas em coelhos tiveram um período médio de pré-postura de 3,85 dias e

período médio de postura de 10,81 dias. Embora o autor não tenha mencionado o peso médio das posturas, as quenóginas tiveram um peso médio de 35,33mg. Os IPOs e IENs foram de 64,50% e de 79,92%, respectivamente. O período médio de incubação dos ovos foi de 15,25 dias e a porcentagem média de eclosão das larvas de 95,88%.

Bellato e Daemon (1997) ao verificar os aspectos biológicos de fêmeas ingurgitadas em coelhos, obteve espécimes com pesos variando de 128,50 a 236,0mg e peso médio de 178,80mg. O período de pré-postura variou de 2,0 a 4,0 dias, com média de 3,19 dias, e o período de postura foi de 9,0 a 18,0 dias com média de 13,71 dias. O autor verificou posturas com pesos de 67,40 a 156,0mg, e peso médio de 114,27mg, enquanto que as quenóginas pesaram de 25,30 a 52,60 e o peso médio foi de 35,60mg. Os IPOs 63,89%, com variação de 50,90 a 67,60% e IENs 79,77%, com variação de 66,10 a 83,80%. O período médio de incubação dos ovos foi de 18,24 dias, variando entre 18,0 a 20,0 dias e a porcentagem média de eclosão de 84,43%, variando de 7,0 a 99,0%.

Bastos (1997) ao analisar o poder infestante de fêmeas com diferentes idades obteve pesos médios de 173,39; 171,59 e 181,66mg ao utilizar fêmeas com idades de 15, 30 e 45 dias, respectivamente. Para essas mesmas fêmeas, os períodos médios de pré-postura e postura obtidos foram de 4,13; 4,67; 4,80 e 12,0; 11,80; 12,0, respectivamente. Os pesos médios das posturas e das quenóginas foram, respectivamente, de 110,82; 116,29; 117,0 mg e 39,99; 32,73 e 35,98 mg. Os IPOs e IENs foram de 63,91; 67,68; 64,40% e de 82,93; 83,45; 80,21%, respectivamente, segundo as diferentes idades das fêmeas. O período médio de incubação dos ovos foi de 22,0; 24,60 e 24,87 dias e as porcentagens médias de eclosão das larvas que eclodiram daquelas posturas foram de 94,20; 78,93 e 89,60%, respectivamente.

Amorim (1998) ao avaliar o efeito de diferentes razões sexuais sobre a fase parasitária e não parasitária, obteve fêmeas com peso variando entre 22,70 a 225,30mg e peso médio de 148,63mg. Os períodos de pré-postura variaram de 3,0 a 7,0 dias, com média de 4,32 dias, e os períodos de posturas foram de 3,0 a 21,0 dias, com média de 15,0 dias. Os pesos médios da postura e da quenóquina foram, respectivamente, de 93,32mg variando de 8,40 a 156,30mg, e de 30,67mg variando de 5,90 a 109,70mg. O IPO observado foi de 60,40%, variando de 10,66 a 78,03% e o IEN foi 77,70%, variando 13,13 a 99,25%. O período médio de incubação dos ovos foi de 22,0 dias, variando entre 17,0 a 28,0 dias e a porcentagem média de eclosão das larvas de 85,16%, variando de 1,0 a 100,0%.

Penna (1999) ao estudar a biologia de *R. sanguineus* quando imersos em água destilada, obteve fêmeas com peso médio de 151,40mg. Para estas fêmeas foi verificado período médio de pré-postura de 4,30 dias, e período médio de postura de 12,10 dias. Embora o autor não tenha mencionado os pesos médios de postura e da quenóquina, registrou IPO de 54,50% e IEN de 66,30%. O período médio de incubação dos ovos foi de 22,0 dias e a porcentagem média de eclosão das larvas de 98,40%.

Pinto (2000) ao estudar a sensibilidade natural do carrapato frente às diferentes raças de coelhos observou fêmeas com pesos médios de 142,83; 151,07 e 121,13mg, obtidas de coelhos das raças Califórnia, Nova Zelândia e Mestiços (Nova Zelândia x Califórnia), respectivamente. Essas mesmas fêmeas apresentaram períodos médios de pré-postura e postura de 3,72; 3,77; 3,37 dias e 12,75; 13,73; 14,07 dias, assim como, IPOs e IENs de 63,23; 65,59; 65,21% e de 83,26; 84,34; 88,64%, respectivamente. Os períodos médios de incubação dos ovos foram de 21,55; 21,0 e 21,0 dias e a porcentagem média de eclosão das larvas de 89,45; 92,43 e 80,53%, respectivamente.

Szabó et al. (2005) ao estudarem os aspectos biológicos da espécie, observaram peso médio das fêmeas ingurgitadas de 173,40mg. O período médio de pré-postura foi de 2,50 dias, e embora os autores não tenham citado o período de postura, o peso médio da postura foi de

103,90mg. O IPO observado foi de 59,90% e o IEN não foi citado. O período médio de incubação dos ovos foi de 19,0 dias.

Melo (2007) obteve fêmeas ingurgitadas com peso variando de 79,0 a 244,0mg, e peso médio de 148,34mg. Os períodos de pré-postura e postura observados foram de 1,0 a 3,0 dias, com média de 1,80 dias, e de 8,0 a 15,0 dias, com média de 11,40 dias, respectivamente. O peso médio das posturas foi de 105,60mg, variando entre 95,0 a 114,0mg. O IPO observado variou de 59,0 a 75,0%, com índice médio de 68,40% e o IEN não foi mencionado. O período médio de incubação dos ovos foi de 23,80 dias, variando entre 23,0 a 24,0 dias e a porcentagem de eclosão das larvas variou de 95,0 a 100,0%.

Piranda et al. (2008) ao estudarem o efeito da temperatura sobre a viabilidade das fêmeas, verificaram período médio de postura de 14,70 dias, variando de 9,0 a 18,0 dias. O IPO foi de 66,0%, variando entre 33,20 a 88,20% e o IEN não foi mencionado pelos autores. A porcentagem média de eclosão das larvas foi de 72,10%, variando entre 1,0 a 99,0%.

2.3 Aspectos Biológicos de Fêmeas de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Natural e Experimental em Cães, Incubação dos Ovos e Eclosão das Larvas (Temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$ e Umidade Igual ou Superior a 80%)

Ainda não foi realizado nenhum trabalho com a alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* oriundas de infestação natural em cães. Devido a esta escassez de trabalhos com alimentação artificial, a revisão dos aspectos biológicos se referem aos poucos trabalhos que foram realizados no Brasil evidenciando os aspectos biológicos de fêmeas alimentadas naturalmente e experimentalmente em cães, assim como para os períodos de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão.

Coelho (1993) observou pesos médios das fêmeas ingurgitadas de 110,75mg e 133,53mg, variando de 27,20 a 176,50mg, obtidas respectivamente de cães naturalmente infestados e de cães infestados experimentalmente. Essas mesmas fêmeas apresentaram período médio de pré- postura e postura de 5,43 e 5,73 dias e de 15,24 e 11,77 dias, respectivamente. Os pesos médios das quenóginas foram de 20,94 e 37,07mg, respectivamente. Os IPO de 61,68 e 52,16% e IEN de 76,31 e 73,76%, respectivamente. Os períodos médios de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão das larvas provenientes de fêmeas obtidas de infestação natural e experimental em cães foram de 14,95 e 16,80 dias, e de 94,50 e 78,84%, respectivamente.

Bechara et al. (1995) ao estudarem os aspectos biológicos em infestações experimentais em cães, observaram peso médio das fêmeas ingurgitadas de 126,0mg (temperatura (T) de $29\pm 2^\circ\text{C}$ e umidade (U) de $80\pm 5\%$). O período médio de pré-postura observado foi de 4,20 dias e o peso médio da postura de 76,0mg. Os autores verificaram ainda que o período médio de incubação dos ovos foi de 22,90 dias (T $29\pm 2^\circ\text{C}$ e U $80\pm 5\%$) e porcentagem média de eclosão de 90,20% em infestação experimental.

Szabó et al. (2005) ao estudarem os aspectos biológicos em infestações experimentais, obtiveram peso médio das fêmeas ingurgitadas de 154,77mg; período médio de pré-postura de 4,09 dias; peso médio da postura de 87,59mg e IPO de 58,29%. O período médio de incubação dos ovos observado por esses autores foi de 18,52 dias e a porcentagem média de eclosão das larvas foi de 94,45%.

2.4 Alimentação Artificial de Carrapatos: Perspectiva para o Isolamento do Agente Etiológico da Doença de Lyme-Simile

Um primer foi recentemente desenhado com 850 pares de bases para o gene 16S rRNA a partir de um gancho do flagelo da *B. burgdorferi*, agente etiológico da Doença de

Lyme no Hemisfério Norte. Este primer foi obtido no Laboratório de Investigação em Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP – LIM-17 (MANTOVANI, E. Tese de doutorado, em andamento). Com isto, a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) foi realizada com iniciadores para amplificar genes capazes de identificar a bactéria. Dessa forma, foi possível observar, pela primeira vez, positividade para 12 pacientes com Síndrome Baggio-Yoshinari (SBY), nome atual da doença de Lyme-simile que ocorre no Brasil, que apresenta quadro clínico compatível à doença de Lyme (BONOLDI, 2010).

A SBY é uma doença recorrente diagnosticada no Brasil, cujo agente etiológico tem morfologia atípica (forma L). Esta forma é comum às bactérias espiroquetas que perdem o flagelo ou a parede celular que lhes confere o aspecto helicoidal, ou por pressão do meio pela ação de antibióticos (MIKLOSSY et al., 2008) ou ainda por terem grande capacidade adaptativa. No ambiente intracelular a bactéria na forma L pode sobreviver por longos períodos no hospedeiro, e este pode ser o motivo porque a SBY é uma doença recorrente.

Segundo Bonoldi (2010), os carrapatos envolvidos no ciclo de transmissão da SBY são *A. cajennense*, *R. microplus* e *Ixodes loricatus* (Neumann, 1899). Mais recentemente foi encontrado positividade pela PCR para a espécie *R. sanguineus* (BONOLDI, V. N.; comunicação pessoal, estudos em andamento). Até o momento não foi possível isolamento do agente etiológico da SBY que tem morfologia atípica e se parece com outras bactérias desprovidas de parede celular. Esses microrganismos invadem células endoteliais e crescem temporariamente em meio de cultivo SP4 cuja formulação pode ser encontrada em Yunker et al. (1987), no qual crescem também bactérias do gênero *Spiroplasma*.

Desta forma surgiu a necessidade de se cultivar células embrionárias de carrapatos brasileiros para o isolamento do agente etiológico a partir de sangue de pacientes e/ou órgãos de carrapatos (projeto financiado pela FAPESP, Barros-Battesti, D. M. em andamento).

Considerando que os vetores amplificam a borrelia, a alimentação artificial das espécies de carrapatos envolvidas na transmissão da SBY, por meio de capilares com sangue de pacientes, parece um método bastante promissor para o isolamento e identificação do agente etiológico desta doença no Brasil.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Experimento

O trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Doenças Parasitárias (LDP), pertencente ao Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica, RJ.

O estudo foi realizado em duas etapas:

Etapa 1 - na primeira etapa foram obtidas larvas oriundas de fêmeas provenientes de infestação natural em cães, sendo que estas larvas foram alimentadas em coelhos até o estágio adulto. As fêmeas deste grupo foram removidas parcialmente ingurgitadas para serem submetidas à alimentação artificial. Este grupo, portanto, foi obtido de infestação experimental em coelhos.

Etapa 2 - Na segunda etapa as fêmeas foram obtidas de infestação natural em cães.

As fêmeas parcialmente ingurgitadas obtidas nas duas etapas foram alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares.

3.2 Procedência e Manutenção da Colônia de *R. sanguineus* em Coelhos (Etapa 1)

Os carrapatos utilizados na primeira etapa foram obtidos de infestação natural em cães pertencentes ao canil do Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária (LQEPV), do Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), município de Seropédica, RJ.

Após a coleta, os carrapatos foram levados ao Laboratório de Doenças Parasitárias, lavados em água destilada, secos em papel filtro e a identificação foi confirmada com base na chave para gêneros proposta por Onofrio et al. (2006).

Para a manutenção da colônia, as fêmeas de *R. sanguineus* foram acondicionadas em Placas de Petri e mantidas em estufa com Demanda Biológica de Oxigênio “Biological Oxygen Demand” (B.O.D.) à temperatura de $27\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade acima de 80%. No 18º dia após o início da postura, os ovos foram recolhidos, pesados em balança analítica (Bioprecisa FA2104N), separados em alíquotas de 250 mg e colocados em seringas plásticas com uma das extremidades cortada e vedada com algodão hidrófilo. Posteriormente, as seringas foram mantidas em estufa B.O.D. sob as mesmas condições de temperatura e umidade já citadas.

Foram realizadas observações diárias para avaliar o dia de início da eclosão larval e desta maneira estabelecer a idade de infestação das larvas. Para a realização das infestações experimentais foram utilizados coelhos mestiços (*Oryctolagus cuniculus*), Nova Zelândia x Califórnia cedidos pelo setor de Cunicultura, Instituto de Zootecnia da UFRRJ, com idade de 60 a 90 dias, de ambos os sexos, pesando entre 1,5 a 3,0 kg e sem contato prévio com carrapatos ou produtos acaricidas. Os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais no biotério do LDP, recebendo ração comercial e água *ad libitum*.

As larvas com 15 a 20 dias de idade, foram alimentadas em coelhos com toucas de algodão aderidas à base das orelhas, de acordo com Neitz et al. (1971). Ninfas e adultos com 15 a 20 dias de idade foram alimentadas em coelhos com toucas de algodão aderidas ao dorso do animal (Figura 1). No sétimo dia de alimentação, fêmeas parcialmente ingurgitadas foram recolhidas cuidadosamente por torção manual sobre o próprio eixo.

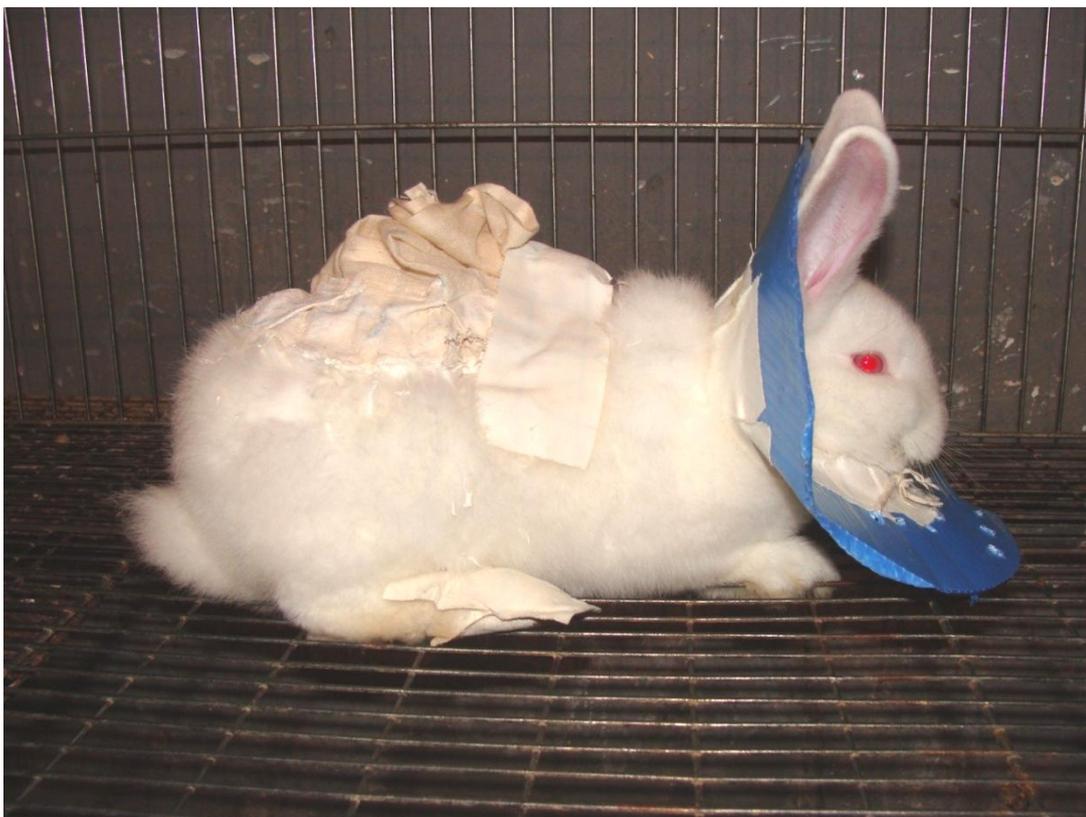


Figura 1. Coelho infestado experimentalmente com adultos de *R. sanguineus*.

3.3 Procedência de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de *R. sanguineus* Oriundas de Infestação Natural em Cães (Etapa 2)

Na segunda etapa, as fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* provenientes de infestações naturais foram obtidas de dois cães fêmeas, sem raça definida (SRD), pesando entre 13 a 18 kg, e sabidamente não tratadas recentemente com produtos acaricidas (Figura 2). Os cães foram mantidos no canil do LQEPV, onde receberam diariamente ração comercial e água. As fêmeas de *R. sanguineus* foram removidas dos hospedeiros por torção sobre o próprio eixo e posteriormente levadas ao LDP para serem alimentadas artificialmente.

3.4 Avaliação do Peso Inicial de Fêmeas de *R. sanguineus* Parcialmente Ingurgitadas Sobre o Ganho de Peso Após Alimentação Artificial por Meio de Tubos Capilares

Fêmeas parcialmente ingurgitadas em coelhos foram coletadas em diferentes faixas de peso inicial, assim como aquelas alimentadas em cães.

Os pesos iniciais estabelecidos foram estipulados de acordo com aqueles propostos por Rangel et al. (2008) para a espécie *D. nitens*, com modificações: >20 a 35; >35 a 50; >50 a 65; >65 a 80mg.

Posteriormente, as fêmeas selecionadas foram levadas ao LDP, lavadas em água destilada, secas em papel filtro, e examinadas em microscópio estereoscópico (Wild Heerbrugg) para verificação da integridade do aparelho bucal. Em seguida, essas fêmeas foram fixadas em bandejas de isopor, com auxílio de fita adesiva dupla face.



Figura 2. Cães sem raça definida infestados naturalmente com *R. sanguineus*, pertencentes ao LQEPV.

O sangue utilizado na alimentação artificial foi coletado com Vaccuntainer, acoplado ao tubo contendo anticoagulante citrato de sódio, diretamente da veia jugular ou da veia radial de dois cães saudáveis, não tratados recentemente com acaricidas. Os tubos de sangue foram armazenados sob refrigeração a 4°C por no máximo 24 horas.

Para preenchimento dos capilares, os tubos contendo sangue foram retirados da geladeira e mantidos à temperatura ambiente momentos antes do início da alimentação.

Os tubos capilares preenchidos com sangue canino citratado foram dispostos sobre o aparelho bucal dos carrapatos previamente colados nas bandejas de isopor (Figura 3).

Durante o período de alimentação os carrapatos foram mantidos no interior de uma estufa B.O.D. (temperatura de $27\pm 1^\circ$ C e umidade acima de 80%) por 24 horas. A cada 3 horas os tubos capilares foram substituídos e de hora em hora foram desobstruídos com auxílio de uma agulha.

Ao final do período de alimentação os tubos capilares foram retirados, e os carrapatos descolados da fita adesiva foram lavados para remover restos de sangue. A seguir foram secos em papel filtro e pesados em balança analítica com as especificações anteriormente citadas, para avaliação do ganho de peso após a alimentação artificial.

Os intervalos de pesos iniciais (>20 a 35; >35 a 50; >50 a 65; >65 a 80mg) que compreenderam fêmeas com maior ganho médio de peso após alimentação artificial por 24h foram os escolhidos para verificação dos outros períodos (6, 12, 24, 36 e 42 horas).

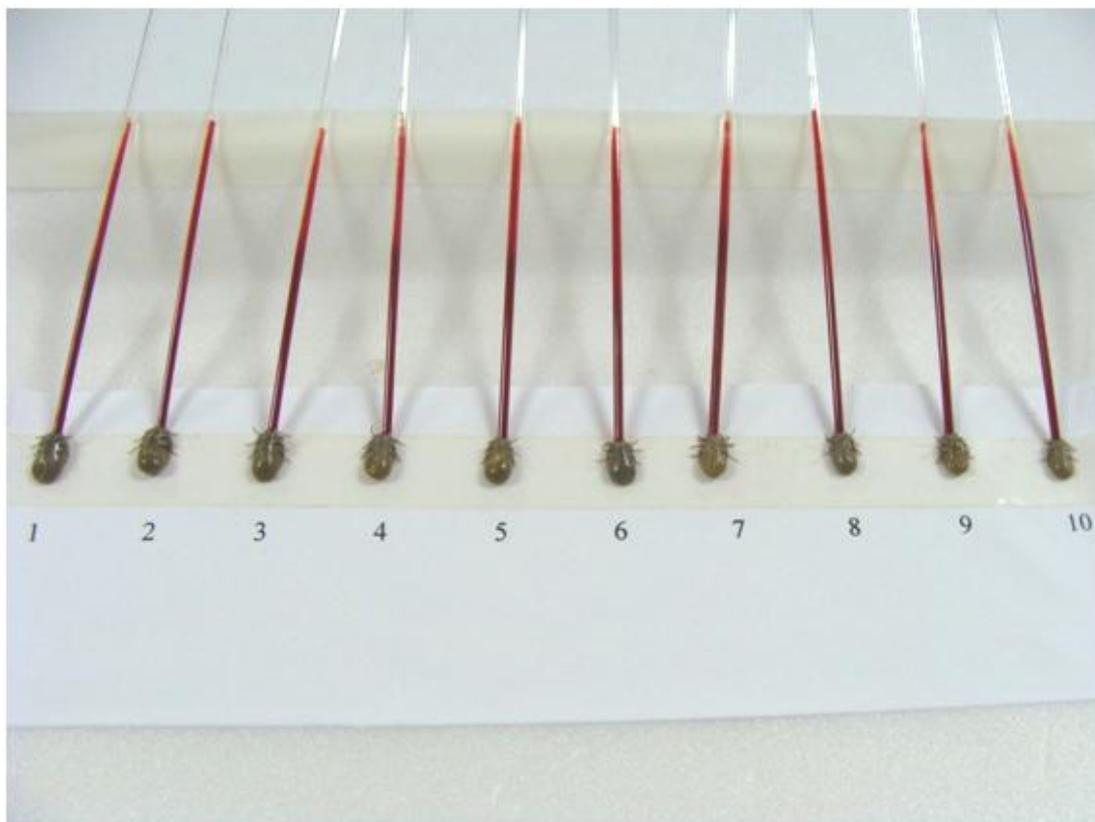


Figura 3. Alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* por meio de tubos capilares com sangue canino citratado.

3.5 Alimentação Artificial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de *R. sanguineus* (Infestação Experimental em Coelhos e Natural em Cães), por 6, 12, 24, 36 e 42 Horas

Cinquenta fêmeas de *R. sanguineus* parcialmente ingurgitadas em coelhos obtidas a partir do sétimo dia de alimentação, pesando entre 35 a 80mg, e outras sessenta fêmeas obtidas de infestação natural em cães, pesando entre 20 a 50mg, foram selecionadas. A seguir foram levadas ao LDP, lavadas em água destilada e secas em papel filtro. Após a verificação da integridade do aparelho bucal elas foram pesadas, separadas em cinco grupos de pesos homogêneos, sendo selecionadas dez fêmeas pré-alimentadas em coelhos e doze pré-alimentadas em cães, por grupo. As fêmeas foram fixadas em bandejas de isopor com auxílio de fita adesiva dupla face e alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares observando os seguintes períodos de tempo: 6, 12, 24, 36 e 42 horas.

As etapas seguintes do processo de alimentação artificial, já foram descritas anteriormente.

Após avaliação do ganho de peso dos grupos alimentados por diferentes períodos, as fêmeas alimentadas artificialmente foram fixadas em Placas de Petri e acondicionadas em estufa B.O.D. nas condições acima citadas para posterior avaliação dos parâmetros biológicos da fase não parasitária.

3.6 Obtenção do Grupo Controle de *R. sanguineus* de Infestação Experimental em Coelhos e de Infestação Natural em Cães

Os grupos controles foram obtidos a partir de infestação experimental em coelhos e de infestação natural em cães. Os carrapatos foram coletados aleatoriamente, após queda natural.

Ambos os grupos foram lavados, secos em papel filtro, pesados, fixados em Placas de Petri e levados para estufa BOD nas condições já citadas, para acompanhamento dos parâmetros biológicos da fase não parasitária.

3.7 Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de Fêmeas de *R. sanguineus*

Além da observação do ganho de peso antes e após a alimentação artificial nos períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 horas, foram feitas observações diárias para acompanhar os seguintes aspectos relativos à fase não parasitária:

Pesos das fêmeas alimentadas - Pesos das fêmeas após a alimentação artificial e pesos das fêmeas do grupo controle.

Pesos das quenóginas - Pesos obtidos três dias após o término das posturas de cada fêmea.

Pesos das posturas - Pesos totais das posturas de cada fêmea.

Índice de produção de ovos (IPO) - Índice calculado segundo Bennet (1974).

$$\text{IPO} = \frac{\text{peso da postura (mg)}}{\text{peso da fêmea alimentada (mg)}} \times 100$$

Índice de eficiência nutricional (IEN) - Índice calculado segundo Bennet (1974).

$$\text{IEN} = \frac{\text{peso da postura (mg)}}{\text{peso inicial fêmea- quenóquina (mg)}} \times 100$$

Período de pré-postura - Número de dias decorridos entre o final da alimentação e o primeiro dia de postura.

Período de postura - Período entre o primeiro e o último dia de postura de cada fêmea.

Período de incubação - Período entre a postura do primeiro ovo e a eclosão da primeira larva de cada fêmea.

Percentual de eclosão - Estimativa visual da quantidade de larvas eclodidas em relação à postura total de cada fêmea.

Ritmo de postura diária – Pesos diários das posturas de cada fêmea.

3.8 Análise Estatística

Para análise estatística das variáveis quantitativas foram utilizadas análise de variância e teste de Tukey, com significância de 5%. Para as variáveis qualitativas foi utilizado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com significância de 5%. Ambas as análises foram baseadas em Sampaio (2002). Todos os testes foram realizados utilizando-se o programa Instat.

4 RESULTADOS

4.1 Avaliação do Peso Inicial de Fêmeas de *R. sanguineus* Parcialmente Ingurgitadas Sobre o Ganho de Peso de Fêmeas Alimentadas Artificialmente por Meio de Tubos Capilares

Na Tabela 1 encontram-se os valores médios, desvios padrão e limites mínimos e máximos de pesos das fêmeas de *R. sanguineus* (n=15) obtidas de infestação experimental em coelhos antes e depois da alimentação artificial. O ganho de peso nas diferentes faixas, após alimentação artificial por 24 horas foi de 13,93; 17,08; 20,43 e 17,99mg nas faixas de peso 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Apesar de não haver diferença estatística significativa entre as diferentes faixas de peso observadas, as fêmeas das faixas 2, 3 e 4 apresentaram tendência de melhores ganhos de peso. Estas três faixas de peso foram utilizadas para formar grupos homogêneos e as fêmeas foram então alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas.

Tabela 1. Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos, antes e depois da alimentação artificial, e o ganho médio de peso das fêmeas nas diferentes faixas, após alimentação artificial por 24 horas em tubos capilares.

Faixas de peso iniciais (mg)	Peso das fêmeas		
	Média ± desvio padrão (Limite mínimo-Limite máximo)		
	Antes (n=15)	Depois	Ganho médio de peso
1 >20 a 35	29,14±3,77 (22,0-34,10)	43,07±11,93 (26,70-65,80)	13,93±9,62 ^a (1,60-32,90)
2 >35 a 50	41,47±4,34 (35,30-48,60)	58,55±12,18 (40,10-82,90)	17,08±11,03 ^a (2,80-39,20)
3 >50 a 65	57,32±4,12 (51,40-64,70)	77,75±19,01 (47,10-111,40)	20,43±16,45 ^a (-4,30-52,60)
4 >65 a 80	70,73±4,38 (65,80-79,30)	88,73±12,48 (70,40-111,10)	17,99±10,19 ^a (-1,40-34,20)

Nas colunas, médias com pelo menos uma letra minúscula comum são equivalentes ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa.

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios, desvios padrão e limites mínimos e máximos, de pesos das fêmeas de *R. sanguineus* (n=12) obtidas de infestação natural em cães antes e depois da alimentação artificial. O ganho de peso (em mg) nas diferentes faixas, após

alimentação artificial por 24 horas, foi de 20,64; 23,65; 9,67; 3,79 nas faixas de peso 1, 2, 3 e 4, respectivamente. A partir da faixa de peso 3, foi observada diferença estatística significativa entre os grupos. As faixas 1 e 2 foram as que apresentaram melhores ganhos de peso, sendo estas posteriormente escolhidas para formarem os grupos homogêneos. As fêmeas foram então alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas.

Tabela 2. Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães antes e depois da alimentação artificial, e o ganho médio de peso das fêmeas nas diferentes faixas, após alimentação artificial por 24 horas em tubos capilares.

Faixas de peso iniciais (mg)		Peso das fêmeas		
		Média ± desvio padrão (Limite mínimo-Limite máximo)		
		Antes (n=12)	Depois	Ganho médio de peso
1	>20 a 35	30,48±2,40	51,13±15,45	20,64±14,47 ^{a, b}
		(25,30-33,60)	(22,40-77,40)	(-2,90-46,30)
2	>35 a 50	41,74±2,62	65,39±12,31	23,65±13,30 ^a
		(38,40-45,50)	(49,90-88,60)	(10,10-49,20)
3	>50 a 65	57,13±4,17	66,79±6,28	9,67±7,36 ^{b, c}
		(50,90-64,40)	(57,60-79,80)	(0,30-28,90)
4	>65 a 80	72,15±4,90	75,94±7,47	3,79±6,04 ^c
		(65,50-79,80)	(65,0-89,30)	(-2,60-19,60)

Nas colunas, médias com pelo menos uma letra minúscula comum são equivalentes ($p < 0,05$).

Na Figura 4, ao analisar o ganho de peso de fêmeas de *R. sanguineus* alimentadas artificialmente por 24 horas em coelhos, foi observado ganho crescente de peso a partir da faixa 1 com melhor ganho para as fêmeas da faixa 3. As fêmeas da faixa 4 apresentaram ganho de peso menor que as fêmeas da faixa 3, porém, ainda assim, o ganho foi maior do que aquele registrado nas faixas 1 e 2.

Na Figura 5, ao analisar o ganho de peso médio de fêmeas de *R. sanguineus* alimentadas artificialmente por 24 horas oriundas de cães, foi observado que a partir da faixa 1 até a 2 o ganho de peso foi crescente, decrescendo nas faixas 3 e 4.

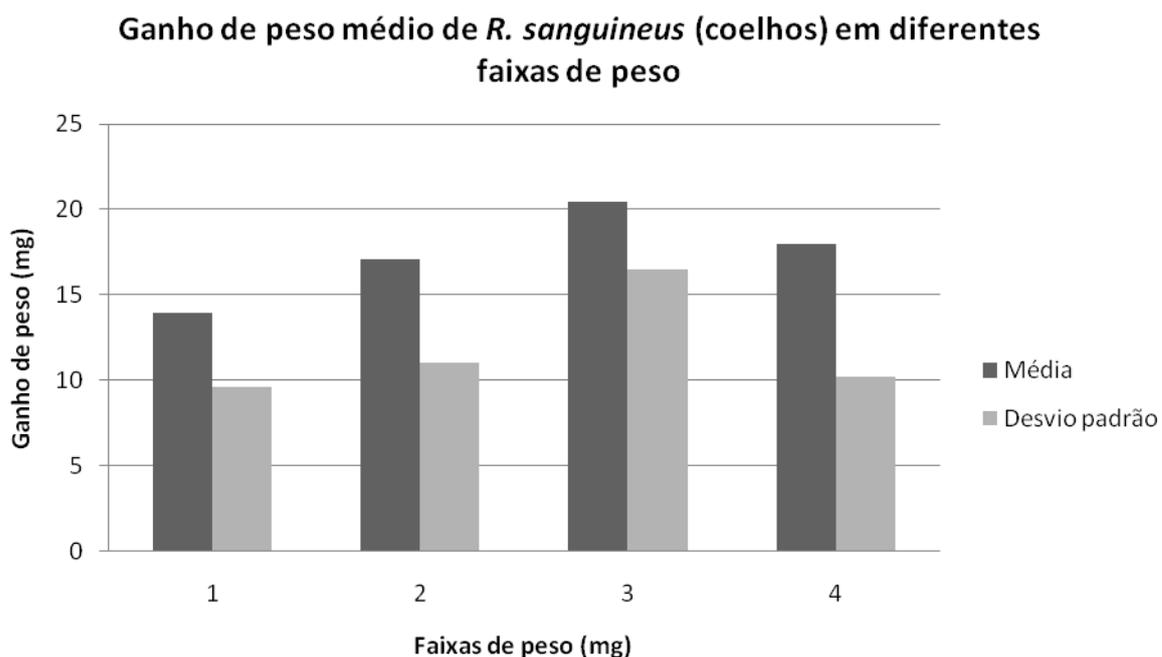


Figura 4. Ganho de peso médio de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* (em diferentes faixas de peso) obtidas de infestação experimental em coelhos (Faixa 1 > 20-35; faixa 2 > 35-50; faixa 3 >50-65; faixa 4 >65-80mg).

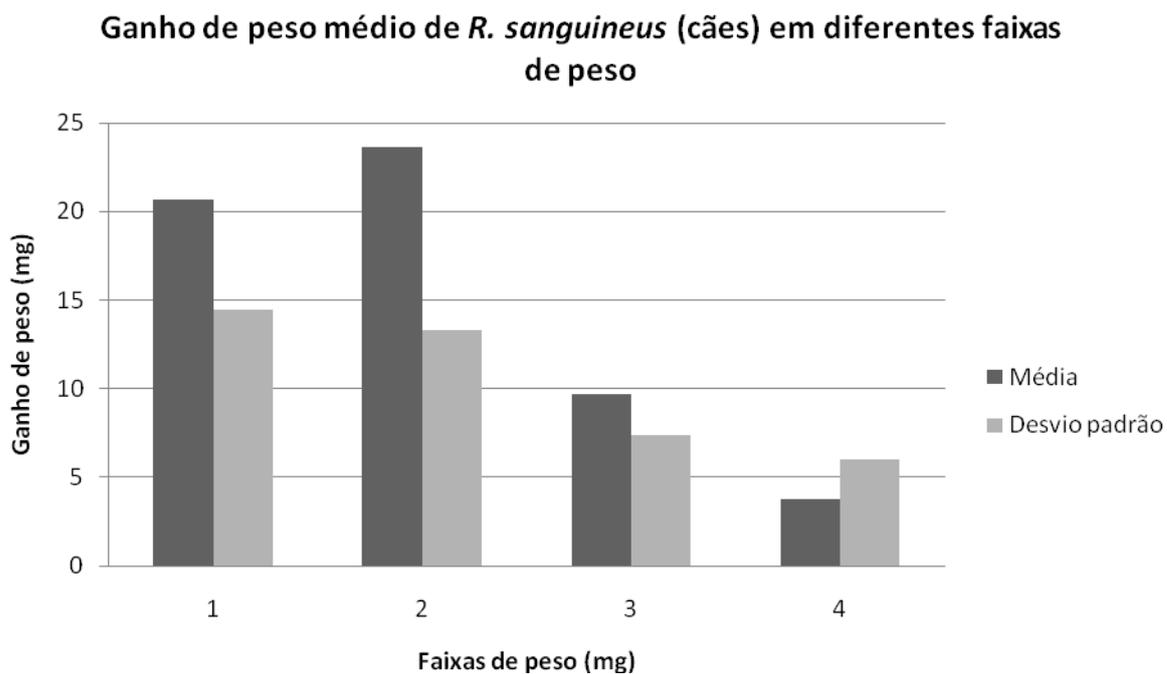


Figura 5. Ganho de peso médio de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* (em diferentes faixas de peso) obtidas de infestação natural em cães (Faixa 1 > 20-35; faixa 2 > 35-50; faixa 3 >50-65; faixa 4 >65-80mg).

4.2 Alimentação Artificial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Experimental em Coelho e de Infestação Natural em Cães, nos Períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 Horas

Na Tabela 3 encontram-se os valores médios, desvios padrão e limites mínimos e máximos de pesos das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos antes e depois da alimentação artificial, bem como o ganho de peso das fêmeas nos períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 horas.

Não houve diferenças significativas no ganho médio de peso das fêmeas dos grupos alimentados por 36 e 42 horas. No entanto, o ganho médio de peso das fêmeas do grupo de 36 horas diferiu significativamente do grupo de 6 horas, enquanto que as fêmeas do grupo de 42 horas diferiram significativamente no ganho médio de peso das fêmeas dos grupos de 6, 12 e 24 horas. Os grupos alimentados artificialmente por 36 e 42 h não diferiram significativamente entre si, mas foram os que apresentaram melhores ganhos de peso.

Para as fêmeas do grupo alimentado por 42 horas, foi observado que o peso médio inicial (em mg) das fêmeas antes da alimentação foi de 55,21 e após alimentação artificial foi de 90,33. Estas fêmeas apresentaram maior peso médio final e alcançaram 63,29% do peso médio do grupo controle, sendo as que mais se aproximaram deste grupo.

Tabela 3. Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos antes e depois da alimentação artificial, ganho médio de peso após alimentação artificial por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e porcentagem de ganho de peso.

Tempos de alimentação	Peso das fêmeas			Porcentagem de ganho de peso (%)*
	Média ± desvio padrão (Limite mínimo-Limite máximo)			
	Antes (n=10)	Depois	Ganho médio de peso	
6 horas	55,05 ±13,18	61,32±15,93	6,27±7,13 ^a	42,96
	(35,90-80,0)	(34,60-81,30)	(-1,30-18,50)	
12 horas	55,14±13,03	69,73 ±15,14	14,59±9,93 ^{a,c}	48,85
	(36,70-79,0)	(50,70-91,90)	(0,70-32,50)	
24 horas	55,19±12,84	70,80±19,66	15,61±12,16 ^{a,c}	49,60
	(36,70-78,20)	(44,90-95,0)	(-2,20-35,20)	
36 horas	55,07±12,82	81,88±12,45	26,81±14,54 ^{b,c}	57,37
	(37,10-76,40)	(62,10-99,10)	(10,20-50,70)	
42 horas	55,21±12,28	90,33 ±20,06	35,12±22,70 ^b	63,29
	(36,90-72,20)	(61,90-125,20)	(10,0-73,30)	

Nas colunas, médias com pelo menos uma letra minúscula comum são equivalentes ($p < 0,05$).

* Grupo Controle igual a 100%

Na Tabela 4 encontram-se os valores médios, desvios padrão e limites mínimos e máximos de pesos das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães antes e

depois da alimentação artificial, bem como o ganho de peso dessas fêmeas nos períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 horas.

Não houve diferenças significativas no ganho médio de peso das fêmeas dos grupos alimentados por 36 e 42 horas quando comparados entre si, mas estas fêmeas foram as que tiveram o maior ganho médio final de peso. Aquelas do grupo de 36 horas tiveram um ganho médio de peso significativamente superior quando comparadas às do grupo de 6 horas e 12 horas, enquanto que as fêmeas do grupo de 42 horas diferiram significativamente das fêmeas dos grupos de 6, 12 e 24 horas no ganho médio de peso.

O grupo de fêmeas alimentadas por 42 horas obtidas de infestação em cães tiveram peso médio inicial (em mg) antes da alimentação de 33,87, e após a alimentação artificial foi de 69,17. O peso médio destas fêmeas foi o que mais se aproximou do grupo controle, alcançando 65,66% do peso médio deste grupo.

Tabela 4. Pesos (mg) das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães, antes e depois da alimentação artificial, ganho médio de peso após alimentação artificial por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e porcentagem de ganho de peso.

Tempos de alimentação	Peso das fêmeas			Porcentagem de ganho de peso (%)*
	Média ± desvio padrão (Limite mínimo-Limite máximo)			
	Antes (n=12)	Depois	Ganho médio de peso	
6 horas	33,81±7,95	44,26±9,98	10,45±8,91 ^a	42,01
	(21,30-48,50)	(22,70-59,30)	(-1,70-23,0)	
12 horas	33,93±8,11	45,81±10,04	11,88±10,80 ^a	43,48
	(23,70-49,40)	(23,90-59,70)	(0,20-27,60)	
24 horas	33,91±8,11	52,32±12,28	18,41±12,04 ^{a,c}	49,66
	(22,50-46,20)	(31,80-76,80)	(-2,0-39,30)	
36 horas	33,82±8,40	59,16±10,88	25,34±10,16 ^{b,c}	56,15
	(21,30-48,90)	(39,50-75,10)	(2,90-41,90)	
42 horas	33,87±8,07	69,17±17,41	35,30±14,96 ^b	65,66
	(21,0-47,40)	(42,10-99,60)	(10,90-61,40)	

Nas colunas, médias com pelo menos uma letra minúscula comum são equivalentes ($p < 0,05$).

* Grupo Controle igual a 100%.

Comparando os ganhos médios (em mg) de pesos das fêmeas previamente selecionadas, pré-alimentadas experimentalmente em coelhos e naturalmente em cães, após alimentação artificial por 6 horas (6,27 e 10,45, respectivamente) e por 42 horas (35,12 e 35,30, respectivamente), observou-se que houve um ganho de peso médio crescente (Figura 6). Apesar das diferenças dos pesos médios iniciais das fêmeas pré-alimentadas em ambos os hospedeiros (as alimentadas em cães tiveram peso médio inicial menor do que as alimentadas em coelhos), houve uma progressão semelhante em relação aos pesos médios finais das

fêmeas alimentadas em tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, oriundas de coelhos e cães.

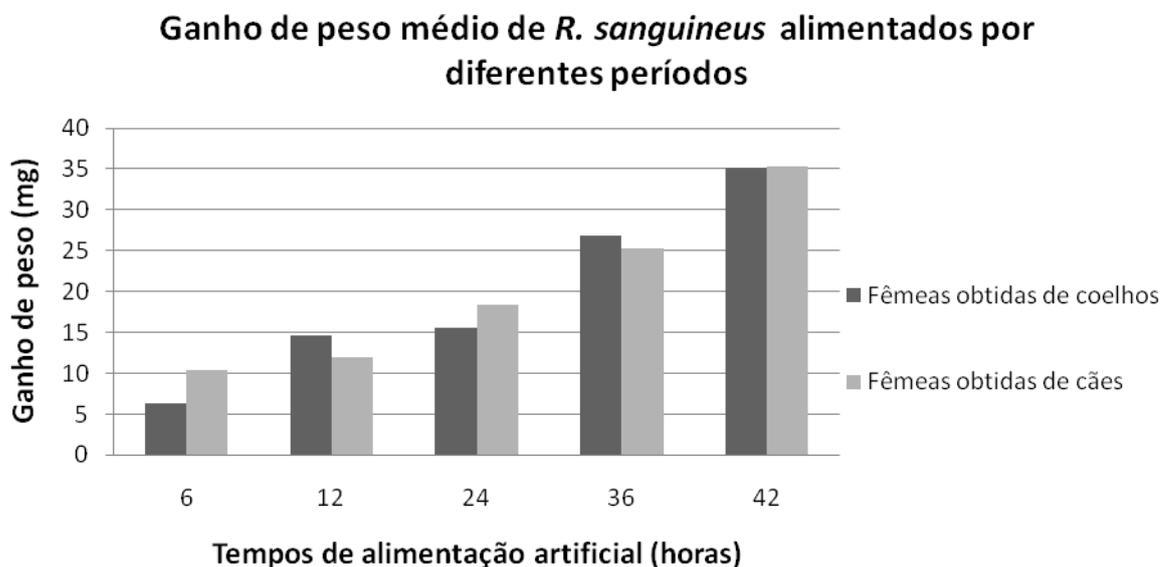


Figura 6. Ganho de peso médio de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos e natural em cães, alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas.

4.3 Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos e Alimentadas Artificialmente

Na Tabela 5 encontram-se os aspectos biológicos da fase não parasitária das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos e alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e das fêmeas do grupo controle.

Os pesos médios utilizados na alimentação artificial nos períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram baseados nos resultados de ganho de peso entre as diferentes faixas (Tabela 1). Desta forma, foi possível trabalhar com grupos homogêneos de fêmeas que apresentaram os melhores ganhos de pesos.

4.3.1 Pesos (em mg) das fêmeas ingurgitadas, períodos médios de pré-postura e postura dos ovos, pesos médios das posturas e das quenóginas, e Índices Médios de Produção de Ovos (IPO) e de Eficiência Nutricional (IEN)

Os pesos médios das fêmeas (em mg) obtidas de infestação experimental em coelhos e alimentadas artificialmente foram de 61,32; 69,73; 70,80; 81,88; 90,33 quando alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, respectivamente. O peso médio das fêmeas do grupo controle foi de 142,73. Os resultados encontrados para os grupos de fêmeas alimentadas artificialmente, quando comparados ao grupo controle, apresentaram diferença estatística significativa o que já era esperado.

Os períodos médios de pré-posturas das fêmeas alimentadas artificialmente foram de 3,80; 4,0; 4,10; 3,20; 3,20 dias quando alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, respectivamente. O período médio de pré-postura do grupo controle foi de 4,30 dias e apresentou diferença estatística significativa entre os grupos alimentados por 36 e 42 horas.

Tabela 5. Aspectos biológicos referentes à postura de ovos e eclosão de larvas a partir de fêmeas de *R. sanguineus* parcialmente ingurgitadas (n=10), obtidas de infestação experimental em coelhos e alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36, 42 horas e de fêmeas do grupo controle, mantidas a 27±1°C, umidade superior a 80%.

Aspectos biológicos	Alimentação artificial por meio de tubos capilares e grupo controle mantidos em coelhos					
	6 horas	12 horas	24 horas	36 horas	42 horas	Controle
Peso das fêmeas (mg)	61,32±15,93 ^a (34,60-81,30)	69,73 ±15,14 ^{a,b} (50,70-91,90)	70,80±19,66 ^{a,b} (44,90-95,0)	81,88±12,45 ^{a,b} (62,10-99,10)	90,33 ±20,06 ^b (61,90-125,20)	142,73±36,80 ^c (83,50-206,70)
Período de pré-postura (dias)	3,80±0,42 ^{a,b} (3,0-4,0)	4,0±0 ^a (4,0)	4,10±0,32 ^a (4,0-5,0)	3,20±0,42 ^b (3,0-4,0)	3,20±0,42 ^b (3,0-4,0)	4,30±0,48 ^a (4,0-5,0)
Período de postura (dias)	12,70±1,34 ^a (11,0-15,0)	14,0±2,58 ^{a,b} (10,0-19,0)	12,80±1,62 ^a (12,0-17,0)	14,90±1,85 ^{a,b} (11,0-17,0)	14,70±2,0 ^{a,b} (13,0-19,0)	16,50±2,22 ^b (13,0-20,0)
Peso da postura (mg)	34,88±12,32 ^a (13,80-56,0)	38,81±10,16 ^a (24,60-52,80)	37,68±12,52 ^a (21,30-56,80)	44,43±10,30 ^a (31,60-57,90)	49,74±14,83 ^a (29,70-71,10)	99,96±30,22 ^b (51,80-146,90)
Peso da quenógina (mg)	20,14±4,27 ^a (12,40-26,70)	21,64±3,83 ^{a,c} (15,10-27,40)	23,58±6,44 ^{a,b,c} (14,0-36,20)	26,49±5,82 ^{a,b,c} (20,30-35,20)	28,15±6,04 ^{b,c} (20,90-39,30)	30,16±7,74 ^b (17,50-42,80)
Índice de produção de ovos (%)	55,68±7,84 ^a (39,88-68,88)	55,17±3,83 ^a (47,40-60,68)	52,55±4,51 ^a (47,35-59,79)	53,83±5,85 ^a (42,27-62,02)	54,42±7,27 ^a (44,86-64,68)	69,31±6,17 ^b (62,04-85,0)
Índice de eficiência nutricional (%)	83,90±9,23 ^a (62,16-97,27)	80,45±3,69 ^a (74,16-85,60)	79,39±6,15 ^a (68,93-85,29)	79,80±8,11 ^a (60,49-90,33)	79,71±6,23 ^a (69,95-88,02)	87,99±8,40 ^a (78,81-109,72)
Período de incubação (dias)	22,33±2,55 ^a (20,0-26,0)	21,22±2,28 ^a (20,0-27,0)	22,11±2,32 ^a (20,0-26,0)	21,60±1,96 ^a (20,0-27,0)	22,44±2,19 ^a (21,0-26,0)	21,20±0,63 ^a (20,0-22,0)
Percentual de eclosão (%)	51,0±41,75 ^a (0-90,0)	65,0±40,35 ^a (0-90,0)	62,0±39,38 ^a (0-90,0)	75,0±31,71 ^a (10,0-90,0)	57,0±42,70 ^a (0-90,0)	81,0±25,14 ^a (10,0-90,0)

Nas linhas, médias com pelo menos uma letra minúscula comum são equivalentes ($p < 0,05$)

As fêmeas alimentadas artificialmente tiveram períodos médios de posturas de 12,70; 14,0; 12,80; 14,90; 14,70 dias quando alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, respectivamente. O período médio de postura das fêmeas do grupo controle foi de 16,50 dias, diferindo significativamente daquele observado para as fêmeas alimentadas por 6 e 24 horas.

Na Figura 7 encontram-se os ritmos de posturas diárias das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação experimental em coelhos e alimentadas artificialmente, bem como, os ritmos de posturas das fêmeas do grupo controle.

Os maiores picos de postura foram observados no segundo e terceiro dias de oviposição.

Os pesos médios das posturas (em mg) das fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram de 34,88; 38,81; 37,68; 44,43; 49,74, respectivamente. As fêmeas do grupo controle apresentaram peso médio da postura de 99,96, evidenciando diferença estatística significativa quando comparado aos pesos das posturas daquelas alimentadas artificialmente. Todas as fêmeas alimentadas artificialmente por diferentes períodos de tempos e as do grupo controle realizaram posturas. Em relação à viabilidade dos ovos, uma fêmea de cada grupo (6, 12, 24 e 42 horas) apresentou postura inviável.

Os pesos médios das quenóginas (em mg) alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram, respectivamente, de 20,14; 21,64; 23,58; 26,49; 28,15. O peso médio da quenóquina do grupo controle foi de 30,16 diferindo significativamente dos pesos médios daquelas alimentadas artificialmente por 6 e 12 horas.

Os IPOs foram de 55,68; 55,17; 52,55; 53,83; 54,42% quando as fêmeas foram alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, respectivamente. O grupo controle apresentou IPO de 69,31%, evidenciando diferença estatística significativa em relação a todos os grupos alimentados artificialmente.

As fêmeas alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas tiveram IENs de 83,90; 80,45; 79,39; 79,80; 79,71%, respectivamente. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos alimentados artificialmente e o grupo controle, cujo IEN foi de 87,99%.

4.3.2 Períodos de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão

Os períodos médios de incubação dos ovos obtidos das posturas das fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram de 22,33; 21,22; 22,11; 21,60; 22,44 dias, respectivamente. O grupo controle apresentou período médio de incubação de 21,20 dias. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos alimentados artificialmente e o grupo controle.

As porcentagens médias de eclosão das larvas obtidas das fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram, respectivamente, de 51,0; 65,0; 62,0; 75,0; 57,0%. Estes valores não diferiram significativamente da porcentagem média de eclosão das larvas provenientes das fêmeas do grupo controle que foi de 81,0%.

4.4 Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Natural em Cães e Alimentadas Artificialmente

Na Tabela 6 encontram-se os aspectos biológicos da fase não parasitária das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, bem como das fêmeas do grupo controle.

Ritmo de postura diária (obtidas de coelhos)

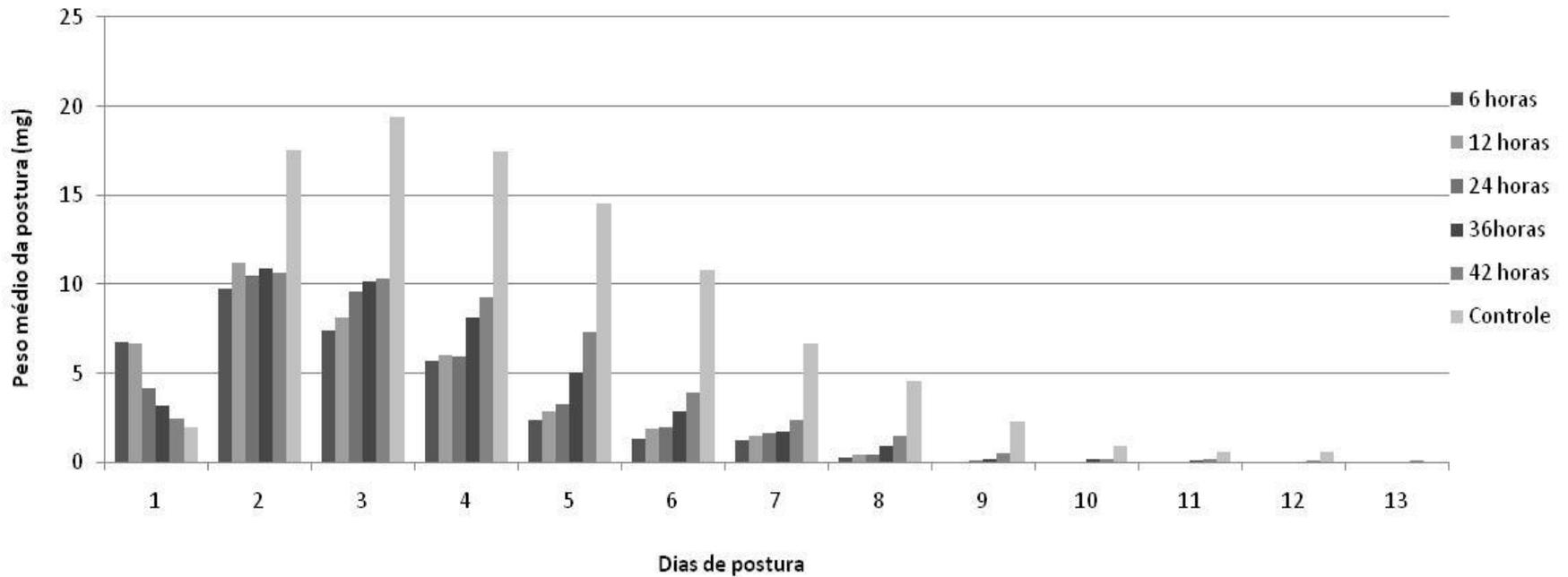


Figura 7. Ritmo médio de postura diária de fêmeas de *R. sanguineus* alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas e de fêmeas do grupo controle provenientes de infestação experimental em coelhos.

Tabela 6. Aspectos biológicos referentes à postura de ovos e eclosão de larvas a partir de fêmeas de *R. sanguineus* parcialmente ingurgitadas (n=12), obtidas de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36, 42 horas, e das fêmeas do grupo controle, mantidas a 27±1°C, umidade superior a 80%.

Aspectos biológicos	Alimentação artificial por meio de tubos capilares e grupo controle mantidos em cães					
	6 horas	12 horas	24 horas	36 horas	42 horas	Controle
Peso das fêmeas (mg)	44,26±9,98 ^a (22,70-59,30)	45,81±10,04 ^a (23,90-59,70)	52,32±12,28 ^a (31,80-76,80)	59,16±10,88 ^{a,b} (39,50-75,10)	69,17±17,41 ^b (42,10-99,60)	105,35±18,41 ^c (85,10-136,80)
Período de pré-postura (dias)	5,17±0,39 ^a (5,0-6,0)	5,25±0,45 ^a (5,0-6,0)	4,50±0,52 ^{a,b} (4,0-5,0)	4,82±1,25 ^{a,b} (4,0-8,0)	3,75±0,97 ^b (3,0-6,0)	4,75±0,62 ^{a,b} (4,0-6,0)
Período de postura (dias)	11,92±2,35 ^a (5,0-14,0)	11,25±3,39 ^a (2,0-15,0)	13,58±1,73 ^{a,c} (11,0-16,0)	13,0±3,03 ^{a,c} (5,0-16,0)	15,42±3,50 ^{b,c} (6,0-19,0)	17,25±1,76 ^b (14,0-20,0)
Peso da postura (mg)	21,93±7,09 ^a (8,20-37,10)	21,58±8,54 ^a (7,50-36,60)	27,58±7,88 ^{a,b} (12,40-38,0)	28,73±10,24 ^{a,b} (6,70-43,20)	36,63±14,05 ^b (13,70-64,40)	69,74±14,70 ^c (51,20-93,90)
Peso da quenógina (mg)	15,05±4,36 ^a (9,30-25,80)	16,38±8,53 ^{a,b} (9,10-42,20)	17,69±3,13 ^{a,b} (13,20-23,30)	20,69±5,39 ^{a,b} (14,30-33,20)	22,30±7,88 ^b (7,90-39,40)	22,04±3,84 ^{a,b} (18,20-29,40)
Índice de produção de ovos (%)	48,79±7,57 ^a (35,25-62,88)	46,48±12,92 ^a (13,49-61,31)	52,15±6,34 ^a (38,99-59,40)	48,74±12,65 ^a (11,78-57,52)	51,72±10,64 ^a (28,36-64,66)	65,87±3,60 ^b (60,16-73,77)
Índice de eficiência nutricional (%)	74,38±5,39 ^{a,b} (61,19-81,39)	71,02±8,93 ^a (52,70-83,18)	79,23±6,95 ^{a,b} (66,67-86,24)	74,46±15,96 ^{a,b} (28,27-85,0)	76,58±9,40 ^{a,b} (52,69-87,86)	83,39±3,40 ^b (78,65-89,97)
Período de incubação (dias)	21,25±0,87 ^a (20,0-22,0)	21,33±1,15 ^a (20,0-24,0)	20,92±0,90 ^a (20,0-22,0)	21,55±1,04 ^a (20,0-24,0)	21,58±1,62 ^a (19,0-26,0)	21,17±0,58 ^a (20,0-22,0)
Percentual de eclosão (%)	85,0±11,68 ^a (50,0-90,0)	82,50±23,01 ^a (10,0-90,0)	90,0±0 ^a (90,0)	82,73±24,12 ^a (10,0-90,0)	76,67±31,14 ^a (10,0-90,0)	83,33±17,23 ^a (30,0-90,0)

Nas linhas, médias com pelo menos uma letra minúscula comum são equivalentes ($p < 0,05$)

4.4.1 Pesos (em mg) das fêmeas ingurgitadas, períodos médios de pré-postura e postura dos ovos, pesos médios das posturas e das quenóginas, e Índices Médios de Produção de Ovos (IPO) e de Eficiência Nutricional (IEN)

As fêmeas obtidas de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas tiveram pesos médios (em mg) de 44,26; 45,81; 52,32; 59,16; 69,17, respectivamente. O peso médio das fêmeas do grupo controle foi de 105,35. Os resultados obtidos dos grupos alimentados artificialmente quando comparados ao grupo controle apresentaram diferença estatística significativa.

Os períodos médios de pré-postura das fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram, respectivamente, de 5,17; 5,25; 4,50; 4,82; 3,75 dias. O período médio de pré-postura das fêmeas do grupo controle foi de 4,75 dias, e não apresentou diferença estatística significativa em relação aos períodos observados para as fêmeas alimentadas artificialmente; porém houve tendência de diminuição no período de pré-postura à medida que o tempo de alimentação artificial foi aumentado.

As fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas tiveram períodos médios de postura de 11,92; 11,25; 13,58; 13,0; 15,42 dias, respectivamente. O período médio de postura das fêmeas do grupo controle foi de 17,25 dias, não diferindo estatisticamente daqueles observados para as fêmeas do grupo alimentado por 42 horas, mas houve diferença estatística significativa em relação aos períodos médios de postura das fêmeas alimentadas por 6, 12, 24 e 36 horas.

Na Figura 8 encontram-se os ritmos de posturas diárias das fêmeas de *R. sanguineus* obtidas de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente, bem como das fêmeas do grupo controle.

Os grupos alimentados artificialmente por 6, 12, 24 e 36 apresentaram maiores picos de postura no segundo e terceiro dias de oviposição. As fêmeas do grupo alimentado por 42 horas, bem como aquelas do grupo controle apresentaram maiores picos de postura no terceiro e quarto dias de oviposição.

As fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas tiveram pesos médios (em mg) de posturas, respectivamente, de 21,93; 21,58; 27,58; 28,73; 36,63. O peso médio de postura observado para as fêmeas do grupo controle foi de 69,74, evidenciando diferença estatística significativa em relação a todos os grupos alimentados artificialmente. Todas as fêmeas alimentadas artificialmente por diferentes períodos de tempos e as do grupo controle realizaram posturas viáveis, exceto uma fêmea do grupo de 36 horas (que morreu antes da oviposição).

Os pesos médios (em mg) das quenóginas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas foram de 15,05; 16,38; 17,69; 20,69; 22,30, respectivamente. O grupo controle apresentou peso médio da quenóquina de 22,04. Não houve diferença estatística significativa entre o controle e os grupos alimentados artificialmente.

As fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas apresentaram, respectivamente, IPOs de 48,79; 46,48; 52,15; 48,74; 51,72%. O IPO observado para as fêmeas do grupo controle foi de 65,87%, diferindo estatisticamente daqueles obtidos dos grupos alimentados artificialmente.

Os IENs foram de 74,38; 71,02; 79,23; 74,46; 76,58% para as fêmeas alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, respectivamente. O IEN do grupo controle foi de 83,39% e apresentou diferença estatística significativa quando comparado aos observados para as fêmeas do grupo alimentado artificialmente por 12 horas.

Ritmo de Postura diária (obtidas de cães)

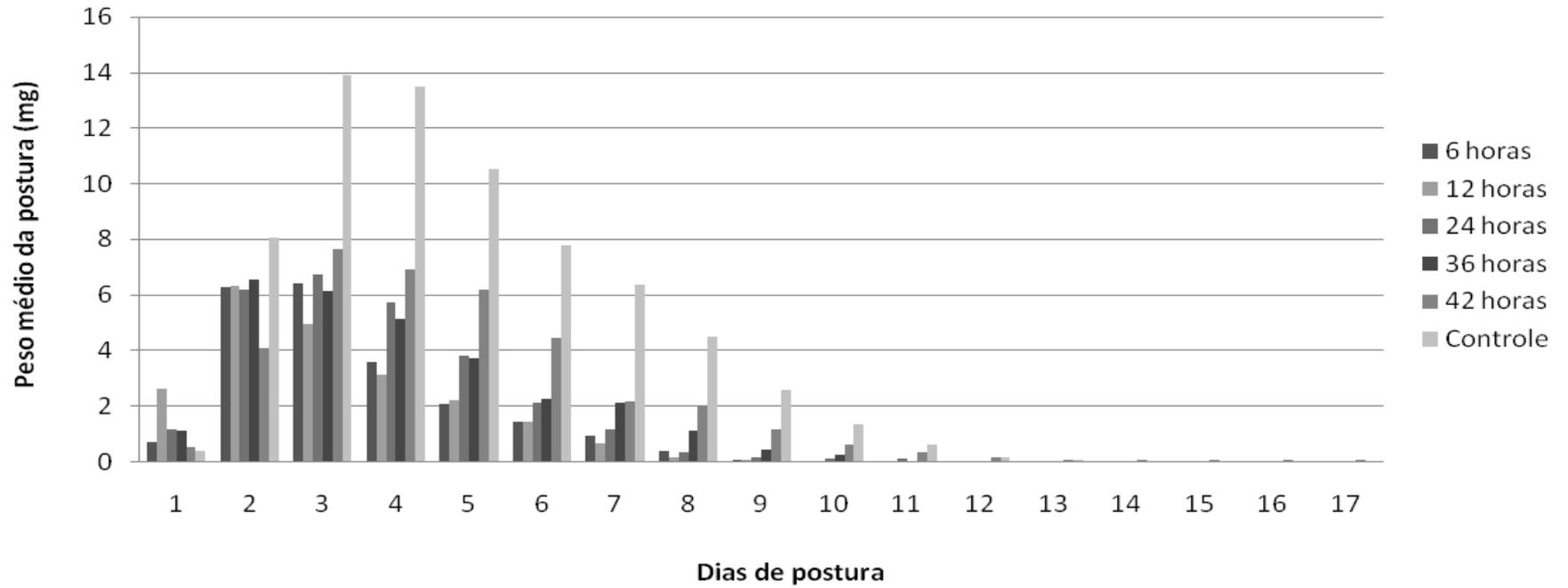


Figura 8. Ritmo médio de postura diária de fêmeas de *R. sanguineus* provenientes de infestação natural em cães e alimentadas artificialmente por meio de tubos capilares por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, e de fêmeas do grupo controle.

4.4.2 Períodos de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão

As fêmeas alimentadas artificialmente por 6, 12, 24, 36 e 42 horas apresentaram períodos médios de incubação dos ovos de 21,25; 21,33; 20,92; 21,55; 21,58 dias, respectivamente, enquanto que para as fêmeas do grupo controle o período médio foi de 21,17 dias, não diferindo significativamente daqueles observados para as fêmeas dos grupos alimentados artificialmente.

As porcentagens médias de eclosão das larvas obtidas de fêmeas alimentadas artificialmente foram de 85,0; 82,50; 90,0; 82,73; 76,67% quando alimentadas por 6, 12, 24, 36 e 42 horas, respectivamente. O grupo controle apresentou porcentagem média de eclosão das larvas de 83,33%. Não houve diferença estatística significativa entre os grupos alimentados artificialmente e o grupo controle.

5 DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do Peso Inicial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas Sobre o Ganho de Peso de *R. sanguineus* Alimentadas Artificialmente por Meio de Tubos Capilares

A pesagem das fêmeas antes e após a alimentação artificial mostrou ser um método simples e fácil para avaliar a ingestão de sangue. Este método já havia sido previamente testado por De la Vega et al. (2000); Abel (2004), Rangel (2008) e Rangel et al. (2008). Outras metodologias podem também ser empregadas para avaliar o ganho de peso. Purnell e Joyner (1967) utilizaram tubos capilares com uma especificação padrão para que o volume ingerido pelo carrapato pudesse ser avaliado através da medição do comprimento da coluna no tubo. Kocan et al. (2005) trabalharam com microesferas fluorescentes para observar a ingestão de sangue.

Em estudos experimentais, Burgdorfer (1957) observou que a alimentação artificial de carrapatos ocorreu rapidamente quando foram oferecidas suspensões frescas. Levando isto em consideração, no presente estudo, os tubos capilares foram trocados constantemente durante a alimentação artificial, assim os carrapatos receberam sangue fresco frequentemente. Também se observou o ressecamento na parte final do tubo em contato com o aparelho bucal do espécime. Segundo Purnell e Joyner (1967) este fato se deve ao cimento produzido pelo carrapato.

Ao trabalhar com a alimentação artificial de carrapatos é importante determinar o ganho de peso em relação ao peso inicial das fêmeas. Somente assim foi possível avaliar quais pesos iniciais alcançaram melhores resultados quando as fêmeas foram alimentadas artificialmente. Rangel et al. (2008) utilizaram duas faixas de peso de *D. nitens*. Esses autores observaram que os grupos de carrapatos com peso de 61 a 100mg, apresentaram maior ganho de peso em relação aos grupos que pesavam entre 40 a 60 mg, quando alimentados artificialmente. No presente estudo, as diferentes faixas de peso de fêmeas oriundas de infestação em coelhos ao serem analisadas, mostraram que não houve diferença estatística significativa em relação ao ganho de peso após a alimentação artificial por 24 horas, mas foram constatados os melhores ganhos de peso a partir da faixa 2. Por outro lado, as fêmeas oriundas de cães, após a alimentação artificial por 24 horas, tiveram os melhores ganhos de peso nas faixas 1 e 2.

5.2 Alimentação Artificial de Fêmeas Parcialmente Ingurgitadas de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos e de Infestação Natural em Cães, nos Períodos de 6, 12, 24, 36 e 42 Horas

Ao verificar os diferentes períodos de alimentação foi observado ganho de peso crescente à medida que se aumentou o tempo de alimentação artificial tanto para fêmeas oriundas de coelhos e de cães, corroborando os dados apresentados por Cunha et al. (2008), Rangel (2008) e Rangel (2008) et al. Contrariamente, Abel (2004) observou ganho de peso médio maior nos grupos alimentados por 2 e 6 horas e menor ganho de peso no grupo alimentado por 12 horas para fêmeas parcialmente ingurgitadas de *A. cajennense*.

Os ganhos médios de pesos observados por Cunha et al. (2008) ao alimentarem artificialmente *R. sanguineus*, foram inferiores àqueles obtidos no presente estudo, possivelmente porque esses autores não definiram uma faixa adequada de peso inicial das fêmeas, além de utilizarem espécimes com grandes variações de peso.

A partir de 36 horas de alimentação artificial de *R. sanguineus* foi observada diferença significativa entre os grupos, em relação ao ganho de peso, tanto para as fêmeas oriundas de coelhos quanto de cães. No entanto, a ingestão significativa de sangue pode variar conforme a espécie de carrapato. Rangel (2008) e Rangel et al. (2008) ao trabalharem com alimentação artificial de *R. microplus* e *D. nitens*, respectivamente, observaram ingestão significativa de sangue a partir de 24 horas. Porém, Abel (2004) observou que o período de alimentação necessário para uma ingestão significativa de sangue foi bem menor para a espécie *A. cajennense* que necessitou apenas 2 horas de alimentação artificial.

No presente estudo foi observado que ocorre inserção dos palpos de *R. sanguineus* nos tubos capilares durante a alimentação artificial. Entretanto, isto não impediu a ingestão de volume significativo de sangue, corroborando as verificações de Purnell e Joyner (1967) para a espécie *R. appendiculatus*. Esses autores ao alimentarem artificialmente as fêmeas por meio de tubos capilares, inseriram o capítulo inteiro dentro do tubo e a alimentação ocorreu de maneira normal. Por outro lado, espécies de outros gêneros parecem reagir de maneira diferente. Broadwater et al. (2002) observaram que ninfas de *I. scapularis* ao serem alimentadas artificialmente, ingeriram pequenas quantidades do meio de cultura, provavelmente devido a artificialidade do método e a inserção dos palpos no interior dos capilares. Segundo esses autores o volume ingerido do meio de cultura pode ter sido prejudicado porque, em condições naturais de alimentação, os palpos desta espécie permanecem fora do hospedeiro.

Foi verificado que a técnica de alimentação por meio de tubos capilares não causou o ingurgitamento total de *R. sanguineus*, no entanto, isso já era esperado por ser uma situação artificial. Mesmo não tendo completado o ingurgitamento total, houve sucesso da técnica da alimentação artificial. Isto pode ser constatado pela redução dos conteúdos dos tubos capilares, assim como a excreção de guanina, sendo provavelmente indicativos da ingestão de sangue, conforme observado também por Purnell e Joyner (1967); Abel (2004) e Rangel (2008). Portanto, a alimentação artificial por meio de tubos capilares para *R. sanguineus* provou ser uma técnica viável e importante para o estudo da interação entre patógenos e vetores.

5.3 Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Experimental em Coelhos

Devido a escassez de trabalhos com alimentação artificial de *R. sanguineus* e os aspectos biológicos das fêmeas, somente um trabalho serviu de referência (CUNHA et al., 2008). As demais contribuições são referentes aos aspectos biológicos de carrapatos alimentados nos hospedeiros experimentais e a discussão a seguir está baseada nos grupos controles desses artigos.

Os pesos médios das fêmeas alimentadas artificialmente por diferentes períodos de tempo foram menores do que aqueles obtidos para o grupo controle, e também menores aos observados por Coelho (1993), Bellato e Daemon (1997), Bastos (1997), Amorim (1998), Penna (1999), Pinto (2000), Szabó et al. (2005) e Melo (2007), pois ainda não houve nenhum relato de ingurgitamento total de ixodídeos. O peso médio final da fêmea após alimentação artificial encontrado por Cunha et al. (2008) foram próximos àqueles obtidos no presente estudo.

Os valores do período de pré-postura foram menores para os grupos alimentados artificialmente quando comparados ao grupo controle e aos observados por Amorim (1998) e Penna (1999). Szabó et al. (2005) e Melo (2007) observaram valores médios menores em relação aos obtidos no presente estudo. Por outro lado, Coelho (1993) e Pinto (2000)

observaram período médio de pré-postura semelhante ao das fêmeas do grupo alimentado artificialmente por 6 horas no presente estudo. Bastos (1997) verificou um período médio de 4,13 dias que está próximo daquele observado para os grupos alimentados por 12 e 24 horas. Os períodos médios de pré-postura verificados para os grupos alimentados por 36 e 42 horas estão de acordo com aqueles obtidos por Bellato e Daemon (1997). Os grupos alimentados artificialmente foram próximos aos observados por Cunha et al. (2008). Não houve, portanto, grandes influências da alimentação artificial neste aspecto.

Em relação ao período de postura, os grupos alimentados artificialmente apresentaram valores inferiores ao grupo controle. Coelho (1993), Bastos (1997), Penna (1999) e Melo (2007) apresentaram valores inferiores aos grupos alimentados artificialmente. Pinto (2000) verificou período médio de postura de 12,75 dias para fêmeas obtidas de coelhos da raça Califórnia, estando próximo aos valores registrados para os grupos alimentados artificialmente por 6 e 24 horas. O grupo alimentado por 12 horas apresentou resultados semelhantes aos encontrados por Pinto (2000) que observou período médio de postura de 14,07 dias para fêmeas obtidas de coelhos mestiços. Amorim (1998) e Piranda et al. (2008) verificaram resultados próximos àqueles observados para os grupos alimentados por 36 e 42 horas. Cunha et al. (2008) observaram valores inferiores em relação aos obtidos no presente estudo. A alimentação artificial não causou grandes influências no período médio de oviposição.

Com relação ao ritmo de oviposição, os maiores índices de postura foram obtidos no segundo e terceiro dias, corroborando os valores encontrados por Coelho (1993). Resultados similares foram observados por Penna (1999) e Pinto (2000) ao analisarem o ritmo de postura de fêmeas de *R. sanguineus* a cada três dias, com os maiores índices de posturas nos três primeiros dias após o início da oviposição. Assim, é possível inferir que o ritmo de oviposição desta espécie não sofreu influência do processo de alimentação artificial por capilar.

O peso médio da postura de todos os grupos alimentados artificialmente foram menores que o grupo controle e aos observados por Bellato e Daemon (1997), Bastos (1997), Amorim (1998), Szabó et al. (2005) e Melo (2007), provavelmente devido ao fato das fêmeas não terem completado o ingurgitamento total. Cunha et al. (2008) obtiveram valores superiores de peso da postura, em relação aos verificados no presente estudo, no entanto, estes autores utilizaram fêmeas com grande peso inicial.

O peso médio da quenógina foi crescente à medida que houve aumento do tempo de alimentação artificial. Todas as fêmeas dos grupos alimentados artificialmente apresentaram pesos médios menores em relação ao grupo controle e aos observados por Coelho (1993), Bellato e Daemon (1997), Bastos (1997) e Amorim (1998), provavelmente por não terem atingido o ingurgitamento total.

Com relação aos valores médios de IPOs dos grupos alimentados por 6 e 12 horas, estes foram superiores aos encontrados por Penna (1999). Todos os grupos alimentados artificialmente apresentaram valores médios inferiores de IPOs quando comparados ao grupo controle e aos observados por Coelho (1993), Bellato e Daemon (1997), Bastos (1997), Amorim (1998), Pinto (2000), Szabó et al. (2005), Melo (2007) e Piranda et al. (2008), o que já era esperado. Os valores encontrados por Cunha et al. (2008) foram próximos aos observados neste estudo.

Os IENs dos grupos alimentados artificialmente por 12, 24, 36 e 42 horas apresentaram valores próximos aos encontrados por Coelho (1993), Bellato e Daemon (1997) e Bastos (1997), este último autor utilizou fêmeas com idade de 45 dias. Já para as fêmeas do grupo alimentado artificialmente por 6 horas, os IENs foram semelhantes aos observados por Bastos (1997) que utilizaram fêmeas com idade de 30 dias e Pinto (2000). Amorim (1998) e

Penna (1999) apresentaram valores inferiores aos grupos alimentados artificialmente, enquanto que o grupo controle apresentou resultados superiores. Cunha et al. (2008) observaram valores superiores aos do presente estudo. Os IENs dos grupos alimentados artificialmente não sofreram influências da alimentação artificial.

O período médio de incubação dos ovos obtidos de fêmeas alimentadas artificialmente e do grupo controle mostrou-se superior aos encontrados por Coelho (1993), Bellato e Daemon (1997) e Szabó et al. (2005), e foram próximos aos obtidos por Amorim (1998), Penna (1999) e Pinto (2000). Entretanto, Bastos (1997) ao utilizar fêmeas com idade de 30 e 45 dias e Melo (2007) observaram valores superiores de períodos médios de incubação em relação aos grupos alimentados artificialmente e o grupo controle. Apesar disso, o período de incubação dos ovos não foi prejudicado pela alimentação artificial.

A porcentagem média de eclosão das larvas obtidas de fêmeas alimentadas artificialmente, no presente estudo, foi inferior ao grupo controle e aos observados por Coelho (1993), Bellato e Daemon (1997), Bastos (1997), Amorim (1998), Penna (1999), Pinto (2000) e Melo (2007). Por outro lado, o grupo alimentado artificialmente por 36 horas apresentou porcentagem média de eclosão das larvas superior àquele relatado por Piranda et al. (2008). O percentual de eclosão das larvas também não sofreu influências da alimentação artificial.

5.4 Aspectos Biológicos da Fase Não Parasitária de *R. sanguineus* Obtidas de Infestação Natural em Cães

Ainda não foi realizado nenhum trabalho com a alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* oriundas de infestação natural em cães, devido a esta escassez de trabalhos com alimentação artificial, a discussão dos aspectos biológicos se referem aos poucos trabalhos que foram realizados no Brasil evidenciando os aspectos biológicos de fêmeas alimentadas naturalmente e experimentalmente em cães, assim como para os períodos de incubação dos ovos e porcentagens de eclosão.

O peso médio das fêmeas alimentadas artificialmente foi inferior ao do grupo controle e aos observados por Coelho (1993), Bechara et al. (1995) e Szabó et al. (2005), o que já era esperado, pois ainda não houve nenhum relato de ingurgitamento total de ixodídeos.

O período médio de pré-postura dos grupos alimentados artificialmente e do grupo controle foram inferiores ao observado por Coelho (1993). Os grupos alimentados artificialmente por 6, 12, 24 e 36 horas e o controle apresentaram períodos médios de pré-postura superiores aos observados por Bechara et al. (1995) e Szabó et al. (2005).

Com relação ao período médio de postura dos grupos alimentados artificialmente, este foi próximo ao observado por Coelho (1993); o grupo controle apresentou período médio de postura superior aos grupos alimentados artificialmente. Constatou-se que a alimentação artificial não causou grandes influências no período médio de oviposição.

As fêmeas dos grupos alimentados artificialmente por 6, 12, 24 e 36 horas apresentaram maiores picos de postura no segundo e terceiro dias de oviposição, corroborando Coelho (1993) ao trabalhar com cães infestados experimentalmente. Porém, as fêmeas do grupo alimentado por 42 horas e as do grupo controle, apresentaram maiores picos de postura no terceiro e quarto dias de oviposição, também estando de acordo com as observações desse mesmo autor, ao trabalhar com cães naturalmente infestados.

O peso médio da postura de todos os grupos alimentados artificialmente foram inferiores ao grupo controle e aos observados por Bechara et al. (1995) e Szabó et al. (2005). Os baixos pesos verificados para a postura dos grupos alimentados artificialmente, são provavelmente devido ao fato das fêmeas não terem alcançado o ingurgitamento total.

O peso médio da quenógina foi crescente à medida que houve aumento do tempo de alimentação artificial. No grupo alimentado artificialmente por 36 horas o peso médio da quenógina foi próximo ao obtido por Coelho (1993) quando as fêmeas foram provenientes de infestação natural em cães. Todos os grupos alimentados artificialmente assim como, o grupo controle apresentaram pesos médios das quenóginas inferiores ao observado por este autor quando as fêmeas foram obtidas de infestação experimental em cães.

Os IPOs observados para os grupos alimentados artificialmente por 6, 12, 36 e 42 horas foram inferiores aos obtidos por Coelho (1993). O grupo alimentado por 24 horas apresentou resultado próximo aos encontrados por este autor. O grupo controle e Szabó et al. (2005) apresentaram valores superiores de IPO quando comparados aos grupos alimentados artificialmente, o que já era esperado.

Os IENs observados para os grupos alimentados artificialmente por 6, 36 e 42 horas foram próximos aos obtidos por Coelho (1993). O grupo alimentado por 12 horas apresentou resultados inferiores, e o grupo alimentado por 24 horas, assim como o grupo controle tiveram valores superiores aos encontrados por este autor. Não houve grandes diferenças dos IENs dos grupos alimentados artificialmente em relação ao grupo controle.

O período médio de incubação dos ovos provenientes das fêmeas alimentadas artificialmente e do grupo controle foram superiores ao observado por Coelho (1993) e Szabó et al. (2005), mas inferiores ao verificado por Bechara et al. (1995), indicando que o período médio de incubação não sofreu influências da alimentação artificial.

As porcentagens médias de eclosão das larvas provenientes dos grupos alimentados artificialmente por 6, 12, 24 e 36 horas, bem como aquelas do grupo controle apresentaram resultados superiores aos observados por Coelho (1993) quando obtidas de infestação experimental em cães, enquanto que o grupo de 42 horas apresentou resultados próximos. O grupo alimentado por 24 horas mostrou-se semelhante ao observado por Bechara et al. (1995). Porém, os resultados no presente estudo foram inferiores quando comparados aos observados por Coelho (1993) quando obtidas de infestação natural em cães e Szabó et al. (2005). No entanto, o percentual de eclosão das larvas não sofreu grandes influências da alimentação artificial.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

1) A alimentação artificial através de tubos capilares com sangue canino citratado foi adequada para alimentar fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* oriundas de coelhos e de cães

2) Fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* com peso inicial de 35 a 80 mg oriundas de coelhos e de 20 a 50 mg oriundas de cães, apresentaram tendência de melhores ganhos de peso quando alimentadas artificialmente

3) A partir de 36 horas de alimentação foi observada diferença significativa entre os grupos alimentados artificialmente, em relação ao ganho de peso tanto para as fêmeas oriundas de coelhos quanto de cães

4) A alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *R. sanguineus* oriundas de coelhos e de cães não apresentou efeitos deletérios sobre os aspectos biológicos da fase não parasitária

5) Ao comparar os aspectos biológicos de fêmeas oriundas de infestação em coelhos e cães e alimentadas artificialmente, não houve grandes diferenças

Considerações finais

O presente estudo abriu perspectivas para obtenção de isolamento de microrganismos que causam doenças emergentes. Neste sentido, os trabalhos de alimentação artificial de carrapatos por meio de tubos capilares contendo sangue de pacientes com SBY já se encontram em andamento. Atualmente a espécie *A. cajennense* está sendo testada, mas posteriormente as espécies *R. sanguineus*, *R. microplus* e *I. loricatus* serão igualmente estudadas como assunto da tese de doutorado.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABEL, I. **Alimentação artificial de fêmeas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) através de tubos capilares.** 2004. 56f. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- AMORIM, M. G. R. **Efeito de diferentes razões sexuais sobre as fases parasitária e não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e comportamento sexual de machos e fêmeas.** 1998. 63f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- BASTOS, K. M. S. **Ritmo de queda e potencial infestante de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório.** 1997. 49f. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.
- BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J; FERREIRA, B. R.; GARCIA, M. V. *Rhipicephalus sanguineus* tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 4, n. 2, p. 61-66, 1995.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Efeito de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, n. 1, p. 21-27, 1997.
- BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (ACARIDIDA: IXODIDAE): (I. Influence of tick size on egg production). **Acarology**, v. 16, n. 1, p. 52-61, 1974.
- BONOLDI, V. L. **Estudo laboratorial de agentes infecciosos transmitidos por carrapatos em pacientes com Doença de Lyme-simile (Síndrome Baggio-Yoshinari).** 2010. 114f. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP.
- BROADWATER, A. H.; SONENSHINE, D. E.; HYNES, W. L.; CERAUL, S.; DE SILVA, A. M. Glass capillary tube feeding: A method for infecting nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) with the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 2, p. 285-292, 2002.
- BURGDORFER, W. Artificial feeding of ixodid ticks for studies on the transmission of disease agents. **Journal of Infectious Diseases**, v.100, n. 3, p.212-214, 1957.
- CHABAUD, A. G. Sur la nutrition artificielle des tiques. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparee**, v. 25, n. 1-2, p. 42-47. 1950.
- COELHO, C. F. **Biologia da fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) sob condições de laboratório: aspectos da oviposição.** 1993. 52f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

COUTINHO, M. T. Z.; BUENO, L. L.; STERZIK, A.; FUJIWARA, R. T.; BOTELHO, J. R.; DE MARIA, M.; GENARO, O.; LINARDI, P. M. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 1-2, p.149–155, 2005.

CUNHA, N. C.; RANGEL, C. P.; PIRANDA, E. M.; REZENDE, J.; TEIXEIRA, R. C.; FONSECA, A. H. Assesment of weight gain and biological parameters of *Rhipicephalus sanguineus* females (Acari: Ixodidae) artificially fed through capillary tube. In: VI INTERNATIONAL CONFERENCE ON TICKS AND TICK-BORNE PATHOGENS, 2008, Buenos Aires. **Annals of the VI International Conference on Ticks and Tick-Borne Pathogens**. Buenos Aires, 2008. p.215.

CUNHA, N. C.; FONSECA, A. H.; REZENDE, J.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A. R. M.; BARREIRA, J. D.; MASSARD, C. L.; LEMOS, E. R. S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 105-108, 2009.

DE LA VEGA, R.; DIAZ, G.; FINLAY, L. Artificial feeding of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) through micropipettes. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, n. 1, p. 315-319, 2000.

KOCAN, K. M.; YOSHIOKA, J.; SONENSHINE, D. E.; DE LA FUENTE, J.; CERAUL, S. M.; BLOUIN, E. F.; ALMAZÁN, C. Capillary tube feeding system for studying tick–pathogen interactions of *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) and *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae). **Journal of Medical Entomology**, v. 42, n. 5, p. 864-874, 2005.

LÖSEL, P. M.; GUERIN, P. M.; DIEHL, P. A. Contrasting effects of sera from rabbits and cattle infested with ticks on the *in vitro* feeding performance of the tick *Rhipicephalus appendiculatus*. **Veterinary Parasitology**, v. 47, n. 1-4, p. 355-60, 1993.

MELO, R. M. P. S. **Morfologia e biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) submetido ao regulador de crescimento de artrópodes fluazuron**. 2007. 43f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

MIKLOSSY, J.; KASAS, S.; ZURN, A. D.; MCCALL, S.; YU, S.; MCGEER, P.L. Persisting atypical and cystic forms of *Borrelia burgdorferi* and local inflammation in Lyme neuroborreliosis. **Journal of Neuroinflammation**, v.5, n.40, 2008. Disponível em <<http://www.jneuroinflammation.com/content/pdf/1742-2094-5-40.pdf>> Acesso em: 20 jan. 2010.

NEITZ, W. O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. Laboratory investigations on the life-cycle of karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.38, n.3, p.215-224, 1971.

ONOFRIO, V. C.; VENZAL, J. M.; PINTER, A.; SZABÓ, M. P. J. Família Ixodidae: características gerais, comentários e chave para gêneros. 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**. Editora Vox/ ICTTD-3/Butantan, São Paulo, 2006, v.1, p.29-39.

PENNA, A. P. **Efeito da imersão em água destilada sobre as fases de vida livre do ciclo evolutivo de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)**. 1999. 37f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

PINTO, F. S. **Investigações preliminares sobre a sensibilidade parasitária de duas raças de coelhos à *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae)**. 2000. 20f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

PIRANDA, E. M.; CANÇADO, P. H. D.; RAIÁ, V. A.; ALMEIDA, T. K.; LABRUNA, M. B.; FACCINI, J. L. H. The effect of temperature and fasting period on the viability of free-living females of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. **Experimental and Applied Acarology**, v. 45, n.3-4, p. 211-217, 2008.

PURNELL, R. E.; JOYNER, L. P. Artificial feeding technique for *Rhipicephalus appendiculatus* and the transmission of *Theileria parva* from the salivary secretion. **Nature**, v. 216, n. 1, p. 484-485, 1967.

RANGEL, C. P. **Alimentação artificial de fêmeas parcialmente ingurgitadas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) por meio de tubos capilares**. 2008. 34f. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro.

RANGEL, C. P.; CUNHA, N. C.; REZENDE, J.; SILVA, F. J. M.; CORRÊA, F. N.; TEIXEIRA, R. C.; SILVA, J. B.; BAËTA, B. A. FONSECA, A. H. Alimentação artificial por meio de tubos capilares de fêmeas parcialmente ingurgitadas do carrapato *Dermacentor (Anocentor) nitens*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p. 35-39, 2008.

RAU, U.; HANNOUN, C. The use of a capillary-tube technique for artificially feeding *Argas reflexus reflexus* ticks. **Bull World Health Organ**, v.39, n.2, p.332-333, 1968.

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística Aplicada à Experimentação Animal**. 2.ed. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 256p.

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, n.1-2, p.131-140, 2005.

WILLADSEN, P.; KEMP, D. H.; MCKENNA, R. V. Bloodmeal ingestion and utilization as a component of host specificity in the tick, *Boophilus microplus*. **Journal Parasitology Research**, v.70, n.3, p. 415–420, 1984.

YUNKER, C. E.; TULLY, J. G.; CORY, J. Arthropod cell lines in the isolation and propagation of tickborne spiroplasmas. **Current Microbiology**, v.15, n.1, p. 45-50, 1987.