

**BIBLIOTECA DIGITAL DE TESES E DISSERTAÇÕES  
UNESP**

RESSALVA

Alertamos para ausência de algumas figuras, não incluídas pelo autor no arquivo original.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS  
UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**RELAÇÃO CARRAPATO X TAMANDUÁ-BANDEIRA  
*MYRMECOPHAGA TRIDACTYLA* (LINNAEUS 1758) DE  
VIDA LIVRE: CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E  
ULTRA-ESTRUTURAIS DA LESÃO CUTÂNEA**

**Maria Fernanda de Lima e Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Gervásio Henrique Bechara**

Dissertação de Mestrado apresentado à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Animal).

JABOTICABAL - SÃO PAULO - BRASIL  
Fevereiro de 2004

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.2 Os carrapatos	03
2.3 Relação parasita-hospedeiro	04
2.3.1 Parasita x Animais silvestres	06
2.4 Espécies envolvidas	08
2.4.1 O ectoparasita	08
2.4.2 O hospedeiro silvestre	09
2.5 Mecanismos de resistência a carrapatos	12
2.6 Características da lesão produzida pelo carrapato	15
2.7 Principais células inflamatórias na reação a carrapatos	19
2.7.1 Basófilos	19
2.7.2 Mastócitos	19
2.7.3 Eosinófilos	20
2.7.4 Neutrófilos	20
2.7.5 Linfócitos e Macrófagos	21
3.OBJETIVOS	22
3.1 Gerais	22
3.2 Específicos	22
4. MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Local de captura dos animais na natureza	23
4.2 Captura dos animais na natureza e colheita de material	24
4.3 Identificação dos carrapatos	25
4.4 Histotecnologia dos fragmentos de pele	25
4.5.1 Análises histopatológicas	25
4.5.2 Estudo das alterações microscópicas	25
4.5.3 Contagem de células inflamatórias na pele controle e parasitada	26
4.5.4 Morfometria da pele controle e parasitada	27
4.5.5 Microscopia Eletrônica de Transmissão	27
4.5 Análise Estatística	30
5. RESULTADOS	31
5.1 Captura dos animais na natureza e identificação dos carrapatos	31
5.2 Características da pele controle	32

5.3.1 Alterações histopatológicas	32
5.3.2 Contagem de células inflamatórias na pele controle e parasitada	36
5.3.3 Morfometria da pele controle e parasitada	39
5.3.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão	42
6. DISCUSSÃO	46
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
8. CONCLUSÕES	53
9. REFERÊNCIAS	54
10. ANEXOS	72

**RELAÇÃO CARRAPATO X TAMANDUÁ-BANDEIRA *MYRMECOPHAGA TRIDÁCTYLA* (LINNAEUS 1758) DE VIDA LIVRE: CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E ULTRAESTRUTURAIS DA LESÃO CUTÂNEA**

**RESUMO** - Carrapatos são ectoparasitas responsáveis por danos diretos aos hospedeiros e pela transmissão de patógenos causadores de doenças de importância em Sanidade Animal e em Saúde Pública, tais como a babesiose, erliquiose, doença de Lyme (borreliose) e febre maculosa. O efeito deletério se dá, principalmente, no ponto de fixação no hospedeiro. A lesão produzida pelo carrapato no hospedeiro doméstico é caracterizada por hiperplasia da epiderme, formação de cone de cemento e cavidade alimentar, reação inflamatória na derme, com variações na intensidade e composição celular em função das espécies de carrapatos e hospedeiros envolvidas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar, dos pontos de vista microscópico, morfométrico e ultraestrutural a lesão produzida por carrapatos ixodídeos na pele do tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*). Para tanto, foram utilizadas peles não parasitadas e parasitadas de tamanduás-bandeira (n=7), capturados no Pantanal da Nhecolândia e Parque Nacional de Emas, fixadas e processadas segundo técnicas de histologia, para microscopia de luz e morfometria por meio de sistema de análise de imagens computadorizado, e técnicas de microscopia de transmissão para análise ultraestrutural. A reação inflamatória foi de moderada intensidade, caracterizada por discreta exsudação de fluidos e células. Na epiderme, observou-se hiperplasia no ponto de fixação do carrapato e na derme um infiltrado de células inflamatórias, predominantemente do tipo mononuclear (macrófagos e linfócitos) e polimorfonuclear (eosinófilos e neutrófilos).

**Palavras-Chave:** *Amblyomma* spp, edentata, histopatologia, morfometria, ultra-estrutura

**RELATIONSHIP BETWEEN TICK AND FREE-LIVING GIANT ANTEATER  
*MYRMECOPHAGA TRYDACTYLA* (LINNAEUS 1758): HISTOLOGICALS AND  
ULTRASTRUCTURAL S CHARACTERISTICS OF THE CUTANEOUS LESION**

**ABSTRACT** – Ticks are ectoparasites that damage host's skin and that transmit pathogens for a variety of diseases of Public and Animal Health, importance such as Lyme disease, Spotted fever, Babesiosis, and Erliquiosis. Tick feeding location in the skin is the main site of damage and pathogen transmission. The tick-bite lesion in domestic hosts is characterized by epidermal hyperplasia, presence of cement cone and feeding cavity. Inflammatory reaction develops in the dermis with differences in intensity and cellular component depending on the tick and host species involved in the tick-host relationship. The goal of this study was to characterize the microscopic, morphometric and ultrastructural features of the tick-bite lesion in the giant anteater's (*Myrmecophaga tridactyla*) skin. Parasitized and non parasitized skins were collected from giant anteaters (n=7), captured at the Emas National Park and Pantanal region, Brazil. Animals were anesthetised and biopsies were taken with a 6mm diameter punch. Skin samples were processed according to histological techniques for light microscopy and morphometric studies, and according to transmission microscopy techniques for ultrastructural studies. The tick-induced inflammatory reaction was of moderate intensity, being characterized by fluid and cellular exudation. Presence of hyperplasia was seen at the tick-feeding site in the epidermis and an inflammatory cell infiltration, composed by mononuclear cells (macrophages and lymphocytes) and polymorphonuclear cells (eosinophils and neutrophils), was present in the dermis.

**Keywords** – *Amblyomma* spp, edentata, histopathology, morphometry, ultrastructure

## INTRODUÇÃO

O tamanduá-bandeira é espécie nativa da fauna brasileira, todavia pode ser encontrado desde Belize ao Sul da Guatemala até o nordeste da Argentina (EISENBERG e REDFORD, 1999). Porém, com os riscos de extinção em toda a América Latina, sua população tem diminuído progressivamente, passando a ser encontrado somente em grupos isolados.

Estudos de natureza diversa, nutricionais, anatômicos, comportamentais, reprodutivos e paleoparasitológicos, têm sido realizados sobre os tamanduás-bandeira, por des possuírem anatomia e hábitos comportamentais diferentes da maioria dos mamíferos (SATAKE, 2002).

Vivendo livres na natureza, os animais silvestres interagem com milhares de espécies parasitas sem interferência humana no que diz respeito à suplementação alimentar e medidas preventivas ou terapêuticas. Convivendo em total equilíbrio com o ecossistema, participam dos processo de evolução e adaptação a que estão sujeitos todos os seres vivos em busca da sobrevivência.

As inter-relações contemporâneas entre artrópodes parasitas e seus hospedeiros naturais são manifestações de interações de um longo período evolucionário, e tendem a favorecer relações estáveis parasita-hospedeiro com uma forte força regulatória contra influências desestabilizadoras (HOLMES et al., 1977).

A proximidade da agropecuária crescente no Brasil aos nichos naturais associada à atual utilização de animais silvestres para produção de proteína animal, favoreceu a expansão de algumas espécies de carrapatos. Como consequência, os animais domésticos sofrem forte impacto com parasitismo para o qual não foram selecionados, e as populações de animais silvestres podem sofrer situações de superparasitismo, por mudanças comportamentais e ambientais sofridas no cativeiro. O mesmo pode se pensar em relação a microorganismos veiculados por estes carrapatos e sua patogenicidade.

Uma das preocupações com a identificação e o registro de algumas espécies de carrapatos em animais silvestres está relacionada aos riscos potenciais que estes artrópodes apresentam na transmissão de patógenos a outros animais silvestres e domésticos, bem como a humanos (MARTINS et al., 2003). A transmissão de patógenos por estes ácaros pode ser transestadial e transovariana (AESCHLIMANN, 1991), o que lhes permite permanecerem infectivos durante toda sua vida e também por muitas gerações após uma infecção primária.

Segundo BECHARA et al. (2000, 2002) e CAMPOS PEREIRA et al. (2000), oito espécies de carrapatos ixodídeos adultos foram identificadas em uma variedade de animais silvestres do Pantanal Mato-grossense e do Parque Nacional de Emas. Algumas destas espécies de hospedeiro são parasitadas por mais de uma espécie de carrapato, simultaneamente ou não, demonstrando que os animais silvestres são afetados por estes ectoparasitas, convivendo com eles sem qualquer medida curativa ou preventiva que amenize o parasitismo. Além de representar importante elo da cadeia epidemiológica de doenças transmitidas pelos carrapatos aos animais domésticos e ao próprio homem da região.

Sabe-se que vertebrados silvestres são reservatórios de vários microorganismos patogênicos [*Rickettsia rickettsii*, *Borrelia burgdorferi*, *Paracoccidioides brasiliensis* (SILVA-VERGARA et al., 2000) *Coccidioides immitis* (EULALIO et al., 2001), *Sporothrichum schenckii* (WENKER et al., 1998), *Trypanosoma cruzi* (PAIGE et al., 2002), *Mycobacterium leprae* (MEYERS et al., 1992) e *Mycobacterium lepraemurium* (ROJAS-ESPINOSA et al., 2001), entre outros], mas as informações sobre o envolvimento destes hospedeiros na epidemiologia destas afecções são incompletas.



## REVISÃO DE LITERATURA

### OS CARRAPATOS

Os carrapatos são artrópodes que se originaram como parasitas obrigatórios no final da era Paleozóica ou início da era Mesozóica, há 200 milhões de anos (HOOGSTRAAL, 1976). Desde os primórdios da história tem sido um flagelo para o homem e para animais de companhia. Mesmo as civilizações mais primitivas conheciam o perigo representado pelos carrapatos. A existência de ácaros no Egito foi mencionada em um papiro do tempo da rainha Hatshepsut e faraó Thutmosis III (circa de 1550 A..C.) por meio do registro de um carrapato parasitando a orelha de animal semelhante à hiena (ZAHER, 2004). E, como observado pelo escritor romano Plínio, o Velho: “Os carrapatos são as criaturas mais nefastas e mais nojentas que existem” (ABUDE, 2003).

Os vários gêneros de carrapato tem sua distribuição regida por diferenças de temperatura e umidade. Compreendem duas famílias: *Argasidae*, com os gêneros *Argas*, *Ornithodoros* e *Otobius*, e *Ixodidae*, com os gêneros *Amblyomma*, *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Boophilus*, *Haemaphysalis* e *Dermacentor*, dentre outros (HORAK, 2002).

São ectoparasitas de relevância por causarem traumatismo direto na pele de seus hospedeiros e ação espoliativa quando do seu repasto sanguíneo. Representam importância extrema relacionada com o parasitismo nas regiões tropicais e subtropicais, por possuírem uma ampla distribuição e grande relevância econômica e sanitária na produção animal e saúde pública.

Os problemas originados por estes parasitas variam de acordo com as regiões e dependem de diversos fatores, entre os quais se destacam as espécies de carrapatos existentes, os patógenos veiculados por estes e a população de hospedeiros envolvidos que, com base em suas interações e a elementos externos como o controle sanitário e os de índole sócio econômica, geram o problema em cada região (VÁSQUEZ et al., 1995).

Na área clínica e na saúde pública, os carrapatos também possuem grande importância. Como estes ácaros são todos parasitos, e devido a total dependência dos fluidos (sangue e tecidos) de seus hospedeiros, os carrapatos podem abrigar patógenos (protozoários, vírus, bactérias e riquetsias) e transmiti-los para os homens e animais (GENCHI, 1992).

Dentre as principais doenças transmitidas por carrapatos pode-se citar a febre maculosa, doença de Lyme, leishmaniose, babesiose, anaplasnose, leptospirose, erliquiose, encefalites e “East Coast Fever” (FRASER e MAYS, 1986).

No que concerne à pecuária, as perdas econômicas resultantes do parasitismo por carrapatos são imensas e não estão apenas relacionadas às doenças por eles veiculadas. O simples fato de se fixarem e sugarem o hospedeiro pode ocasionar outros problemas, tais como paralisia, lesões mecânicas no couro de bovinos, anemia, caquexia e algumas vezes até mesmo a morte. O resultado do parasitismo é incalculável, levando-se em conta que ainda prejudica a produção de carne, lã, leite, ovos, e couro (BROWN & ASKENASE, 1984). É interessante lembrar que os carrapatos só perdem para os mosquitos como vetores de agentes infecciosos para o homem (HOSKINS & CUPP, 1988).

## RELAÇÃO PARASITA-HOSPEDEIRO

A existência simultânea de diversos seres vivos dividindo o mesmo espaço físico na natureza, resultou em complexas inter-relações que foram sendo moldadas seguindo o binômio adaptação-seleção (VAN DER HEIJDEN, 2000). O relacionamento hospedeiro-parasita está sujeito aos mecanismos de evolução, que atuam a partir da associação íntima entre espécie parasitada e seu hospedeiro. Nestes casos, a sobrevivência da espécie parasita é altamente dependente de sua persistência e tolerância pelo hospedeiro (DINEEN, 1963). Se considerarmos uma escala temporal evolutiva, a associação parasita-hospedeiro é uma relação muito dinâmica entre participantes envolvidos, e seu curso de duração muda continuamente. É importante ressaltar que os efeitos negativos do

parasitismo tendem a ser reduzidos nas interações entre seres vivos que tiveram uma história evolutiva comum dentro de um ecossistema estável.

A resistência ineficaz de galinhas d'Angola e a resistência extremamente sutil observada em tartarugas às larvas de *Amblyomma marmoreum* demonstradas num estudo de FIELDEN et al. (1992), são fenômenos associados às adaptações evolucionárias do parasita ao hospedeiro sugeridas por RIBEIRO (1989).

O aspecto central das associações parasitárias é a transferência de nutrientes e troca de energia (WAKELIN, 1976). Os artrópodes parasitas, enquanto se fixam e se alimentam, levam nutrientes e introduzem suas próprias secreções salivares no hospedeiro. A introdução destas substâncias emite um sinal da presença do parasita e desencadeia reações no hospedeiro. Tais respostas, por sua vez, fornecem novos estímulos informativos para o parasita desencadear suas contramedidas. Este diálogo de respostas e contra-respostas continua pela história dessas associações, e tal processo resulta nas induções de adaptações no comportamento, função, desenvolvimento e até na estrutura, tanto do parasita como do hospedeiro (WHITFIELD, 1979; apud KIM, 1985).

Uma vez estabelecido o contato entre um hospedeiro e um parasita, o êxito na sobrevivência da espécie parasita é dependente da eficiência de seus mecanismos de alimentação. Estes, inicialmente são expostos às defesas não específicas, inatas, do hospedeiro, e posteriormente, aos mecanismos de resistência adquirida, um fenômeno imunológico (MITCHELL, 1979). Entende-se por mecanismos inatos de resistência, todas as características pertencentes aos hospedeiros que exercem controle de forma inespecífica sobre o parasita e são a primeira linha de defesa. Por exemplo, os pêlos curtos, pele espessa, alta densidade de glândulas sebáceas e folículos pilosos superficiais são características dos bovinos que conferem uma resistência inata contra carrapatos (BROWN, 1988). Outros fatores como estado nutricional, sexo, idade, gestação e lactação também afetam a resistência de bovinos a carrapatos (RECHAV, 1992). Dentre os mecanismos relacionados com fatores ambientais e comportamentais,

estão a lambedura, hábitos nômades, exposição ao sol, banhos de lama, entre outros (TATCHELL, 1987).

A participação da resposta imune do hospedeiro na reação ao carrapato foi sugerida inicialmente pelo trabalho pioneiro de TRAGER (1939). Este fenômeno vem sendo intensamente estudado a ponto de permitir o desenvolvimento de vacinas anti-carrapato (WILLADSEN e KEMP, 1999). Em função de sua importância na produção animal e saúde pública, estes ectoparasitos, bem como as reações dos hospedeiros à sua fixação, passaram a ser estudados com maior interesse pela comunidade científica na tentativa de estabelecer formas alternativas de controle de carrapatos e minimizar os prejuízos por eles causados (VAN DER HEIJDEN, 2000).

### **Parasita X Animais silvestres**

O crescimento demográfico humano gradativamente aproxima o homem de reservas naturais e populações silvestres, resultando em ocorrências nem sempre desejáveis. Dessa forma, a domesticação de animais para obtenção de seus produtos, como meio de transporte ou como animais de companhia, criou condições favoráveis para a proliferação de aproximadamente 10% de cerca de 825 espécies de carrapatos conhecidas (HOOGSTRAAL, 1985).

O crescente relato de novas doenças está relacionado não só ao reconhecimento da doença, mas também ao aumento da densidade de carrapatos (WHITED et al., 1991).

Um dado importante refere-se ao aumento na densidade de veados da cauda branca (*Odocoileus virginianus*) nos Estados Unidos, um importante hospedeiro de carrapatos adultos da espécie *Ixodes scapularis* (SPIELMAN et al., 1993), vetor causador da doença de Lyme na costa leste dos Estados Unidos. Algumas espécies de borrelias foram isoladas de mamíferos silvestres, mas pouco se sabe a respeito de sua competência como reservatório. O veado da cauda branca, por exemplo, não é um reservatório competente da doença de Lyme, pois, ele só é capaz de transmitir espiroquetas para carrapatos adultos (TELFORD,

1988); larvas e ninfas não são contaminadas com espiroquetas dos veados. O camundongo da pata-branca (*Peromyscus leucopus*) é apontado como o mais importante reservatório no nordeste dos Estados Unidos (DONOHUE et al., 1987).

Além dos animais silvestres serem reservatórios para diversos agentes patogênicos conhecidos [(SILVA-VERGARA et al., 2000), (EULALIO et al., 2001), (WENKER et al., 1998), (PAIGE et al., 2002), (MEYERS et al., 1992), ROJAS-ESPINOSA et al., 2001), entre outros], existe ainda a possibilidade do surgimento de novas enfermidades infecciosas no homem e animais domésticos pela presença de agentes potencialmente patogênicos em inúmeras espécies de animais silvestres, ainda desconhecidos.

Novos microorganismos, restritos a determinados nichos ecológicos, podem ser veiculados pelos carrapatos e, conforme as condições, tornarem-se patogênicos. Por exemplo, LEMOS et al. (1996a), isolou três carrapatos fêmeas, da espécie *Amblyomma dubitatum*, coletadas de uma capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) capturada no município de Pedreira-SP. Esta espécie de carrapato, menos comum em animais domésticos e que parece ser específica de capivaras (SINKOC et al., 1997), pode também atuar como vetor de riquetsias responsáveis pelos casos de Febre Maculosa (LEMOS et al., 1996b), endêmicos na região. As riquetsias se multiplicam nos tecidos dos carrapatos, podendo ocorrer transmissão transovariana e transestadial. Portanto, além de vetores, os carrapatos são verdadeiros reservatórios da riquetsia na natureza (LEMOS et al., 1996b). As capivaras também apresentam o papel de reservatórios ou depositórios transitórios, infectando os carrapatos na fase de bacteremia (transmissão horizontal). Com isso, existe a possibilidade de circulação da riquetsia entre carrapatos e mamíferos silvestres, em um ecossistema independente do homem (VAN DER HEIJDEN, 2000).

A crescente proximidade de populações de animais silvestres com o homem envolve riscos, pela possibilidade destes animais servirem de reservatório de zoonoses e por possibilitar o desenvolvimento de estados de parasitismo intensos. Em ambas as circunstâncias, os carrapatos podem desempenhar

importante papel tanto pela veiculação de patógenos como pela espoliação associada ao parasitismo.

## AS ESPÉCIES ENVOLVIDAS

### **O ectoparasita**

Os carrapatos ixodídeos estão amplamente distribuídos pelo mundo. Diferentes espécies apresentam área de dispersão geográfica específica, correspondente à de seus hospedeiros em potencial e às condições ambientais.

O gênero *Amblyomma* possui espécies nativas no próprio território brasileiro, vivendo nas matas parasitando várias espécies de animais silvestres, dentre elas mamíferos e aves, que são seus hospedeiros naturais. Os carrapatos pertencentes a este gênero vivem no interior das matas e, quando prontos para mais uma alimentação, podem ficar pacientemente sobre um ramo de mato ou arbusto, esperando que um hospedeiro apropriado passe por ali. Este hábito condiciona o tamanho da população, a qual vai estar diretamente relacionada à densidade populacional de hospedeiros em uma área. No ambiente silvestre, as densidades populacionais de animais são geralmente baixas, contribuindo para manter as populações de carrapatos naturalmente controladas (LABRUNA et al., 2001).

Em setembro de 1998, espécimes de carrapatos foram colhidos de um tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), de vida livre, proveniente do município de Botucatu, SP. Foram colhidos 15 carrapatos adultos machos e 10 ninfas. Todos os adultos foram identificados como *Amblyomma calcaratum* e as ninfas como *Amblyomma* sp. (CUTOLO et al., 2000). Registros de *A. calcaratum* foram feitos em vários países das Américas do Sul e Central. Sua forma adulta parasita principalmente tamanduás, sendo os estádios de ninfas encontrados em várias espécies de aves silvestres (JONES et al., 1972).

Registrou-se a ocorrência de carrapatos em tamanduás na região do Pantanal Mato-grossense entre os meses de março a novembro de 2001 (MARTINS et al., 2003). As espécies foram identificadas como *Amblyomma*

*cajennense*, *Amblyomma. parvum* e *Amblyomma nodosum*. O *A. cajennense* foi encontrado na maioria dos animais, seguido pelo *A. parvum* e o *A. nodosum* de um total de 20 tamanduás examinados no período. *A.cajennense* foi a espécie também encontrada em maior número em todas as colheitas realizadas. Os resultados evidenciam a especificidade desta espécie e a capacidade do potencial de sobrevivência e alternativa de hospedeiros para esta espécie. *A. nodosum* tem sido encontrado exclusivamente em tamanduás, enquanto que o *A. parvum* é encontrado em várias espécies de hospedeiros, inclusive humanos (MARTINS et al., 2003).

A especificidade do *Amblyomma cajennense* por hospedeiros pode predispor a maiores riscos de disseminação de patógenos transmitidos por estes artrópodes com o envolvimento humano.

### **O hospedeiro silvestre**

Os tamanduás pertencem à Ordem Xenarthra (Edentata) e à família Myrmecophagidae. São assim designados por possuírem uma articulação adicional entre as vértebras lombares (BERESCA e CASSARO, 2001). Fazem parte desta ordem ainda tatus e preguiças. São também conhecidos como tamanduá-açu, iurumi, jurunu ou urso-formigueiro gigante (ENCICLOPÉDIA CONHECER, 1968). Segundo estudos, eles devem ser considerados como membros da primeira invasão de mamíferos sul-americanos, pertencendo ao grupo restrito dos animais que penetraram o paraíso proibido antes de este se separar do resto do mundo. Ao abrigo da selva úmida e protetora e do isolamento geográfico, eles puderam evoluir e diferenciar-se (REVISTA GLOBO, 1991).

Esta espécie encontra-se listada no apêndice II do “Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora-CITES” (FONSECA et al., 1994) e é considerada ameaçada de extinção pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis- IBAMA devido à destruição de seu habitat. O crescimento populacional, bem como a extensão da pecuária e a caça ilegal estão contribuindo para a redução de seu espaço natural e extermínio da espécie. As queimadas criminosas também são fatais, pois seu

pêlo é altamente inflamável (EISENBERG e REDFORD, 1999). A preservação de seu habitat natural é fundamental para sua sobrevivência. A ameaça de extinção que paira sobre estes arcaicos predadores de insetos é um prejuízo para a agricultura. O tamanduá é um animal bastante útil já que suas presas – formigas, cupins, larvas – são verdadeiras pragas para as plantações (REVISTA GLOBO, 1991).

Os tamanduás dificilmente atingem alta longevidade em cativeiro, já que não há insetos suficientes para satisfazê-los. Na natureza, podem viver mais de 25 anos, enquanto no cativeiro podem viver até 16 anos (BICKEL, MURDOCK e SMITH 1976; BYRNE 1962; CRESPO 1982; HARDIN 1976; MERRET 1983; SHAW, MACHADO-NETO e CARTER 1987; SMIELOWSKI, STANISLAWSKI e TAWORSKI 1981).

Os tamanduás-bandeira medem aproximadamente 110 a 200 cm, e possuem cauda de aproximadamente 70 cm de comprimento. Pesam cerca de 22 a 39 Kg e apresentam pelagem de coloração castanho-acinzentada com uma faixa negra que nasce no pescoço e peito, e estende-se pelos flancos subindo até a altura do final das costelas. Contornando esta mancha existe uma fina faixa branca (EISENBERG e REDFORD, 1999). Sua cauda peluda ajuda a aquecer nas noites frias, e é por manterem-na sempre ereta enquanto correm, que ganharam o nome de tamanduá-bandeira (CALDAS NOVAS, 2003).

Seu focinho cilíndrico abriga uma língua fina e pegajosa de 60 cm de comprimento, que move-se com uma velocidade espantosa: o tamanduá pode introduzi-la em um formigueiro até cento e vinte vezes por minuto. O olfato é o sentido mais desenvolvido desse animal. Sua acuidade olfativa é quarenta vezes superior à humana e isso se deve à especialização evolutiva da região nasal (ossos nasais e maxilares) para alimentação mirmecófaga. Em contrapartida, seus olhos e ouvidos são bastante reduzidos (ENCICLOPÉDIA CONHECER, 1968). Suas longas garras dianteiras impedem-no de caminhar com os dedos voltados para frente, por isso andam sobre os pulsos. Alimentam-se de formigas e cupins que encontra em ninhos terrestres, porém larvas de besouros e frutas caídas também são consumidas. Para buscar suas presas escavam a terra, alcançando

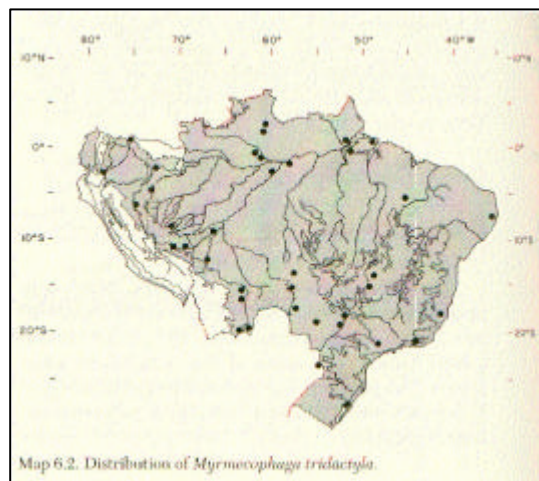


com a língua, o interior de formigueiros e cupinzeiros (EISENBERG e REDFORD, 1999). Um tamanduá-bandeira chega a ingerir 30 mil insetos por dia. Segundo pesquisadores, este hábito pode ajudar a contribuir para a manutenção da biodiversidade no local onde vive (CALDAS NOVAS, 2003).

Além da baixa temperatura corporal (32 a 34°C), que varia com a temperatura ambiente, possuem dupla veia cava posterior e uma *rete mirabile* em cada extremidade, as quais funcionam como mecanismo de contra-corrente para troca de calor (GILLESPIE, 1993), minimizando sua perda para os membros e diminuindo, desta forma, o gasto metabólico necessário à manutenção da temperatura corpórea (WITHERS, 1992).

A reprodução ocorre durante o ano todo, sendo o período de gestação de aproximadamente 190 dias, quando a fêmea têm um único filhote por cria, pesando cerca de 1,1 a 1,6Kg. Seus olhos abrem após aproximadamente seis dias, e o período de lactação varia de seis a oito semanas ou mais. A maturidade sexual é alcançada entre 30 e 48 meses (EISENBERG e REDFORD, 1999).

Os tamanduás-bandeira são encontrados em uma variedade de habitats, e parecem ser mais numerosos em regiões com vegetação aberta em abundância de formigas e cupins (EISENBERG e REDFORD, 1999), como cerrados e campos. Trata-se de um animal de biologia noturna e diurna, dependendo da temperatura e das chuvas, solitário e terrestre. A distribuição geográfica ocorre nas Américas do Sul e Central, até norte da Argentina (RODRIGUES e AURICCHIO, 1994). Outrora bem distribuído no território brasileiro, agora o tamanduá-bandeira limita-se a lugares distantes ou protegidos, como o Parque Nacional da Serra da Canastra em Minas Gerais (REVISTA GLOBO, 1991), conforme mostra o mapa abaixo.



Distribuição geográfica do Tamanduá-bandeira *Myrmecophaga tridactyla* (Linnaeus 1758) no Brasil (EISENBERG e REDFORD, 1999).

A previsão de R. Von Thering, famoso zoólogo alemão, poderá estar mais próxima do que imaginamos. “Não tardará o dia em que apenas nos jardins zoológicos se poderá admirar esse tipo curioso, genuíno representante da fauna autóctone da América do Sul” (REVISTA GLOBO, 1991).

#### MECANISMO DE RESISTÊNCIA A CARRAPATOS

Os mecanismos de reação a carrapato são pouco conhecidos e se restringem a dados obtidos de animais de laboratório e domésticos, o que, se considerando a evolução de parasitas e hospedeiros, é uma situação artificial ou estabelecida recentemente. A resistência observada parece ser a expressão de uma série de mecanismos fisiológicos interagindo no local de fixação do carrapato, criando um ambiente impróprio para a alimentação do ácaro ou lesando-o diretamente, podendo ainda interferir no processo de transmissão de patógenos por esses agentes (VAN DER HEIJDEN, 2000). Em alguns casos, não se observa o desenvolvimento de resistência em certas espécies de hospedeiros a determinadas espécies de carrapatos, como é o caso do cão doméstico e cachorro-do-mato frente ao carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (FERREIRA, 1994, CHABAUD, 1950; SZABÓ et al., 1995a; BECHARA et al. 1994). No entanto,

as cobaias desenvolvem forte resistência após uma única infestação (SZABÓ et al., 1995a). Já o carrapato *Boophilus microplus* induz uma resistência de graus variados nos bovinos (RIEK, 1962; ROBERTS, 1968; WAGLAND, 1975, 1978).

Usualmente, a associação entre animais de laboratório e carrapatos é caracterizada por uma expressão mais intensa de resistência adquirida do que a associação que ocorre naturalmente entre carrapatos e animais (RIBEIRO, 1989).

O conhecimento dos mecanismos de indução de resistência a carrapatos poderia levar a uma implementação de estratégias de controle do parasita, empregando-se a imunomodulação e/ou o uso de medicamentos. Este mecanismo envolve duas facetas, a do carrapato e a do hospedeiro. A do carrapato se relaciona com a fixação e inoculação de substâncias que viriam a facilitar o parasitismo, ora inibindo, ora ativando determinadas reações do animal parasitado. Prostaglandina E2 derivada da saliva destes parasitos causa vasodilatação, inibe a coagulação do sangue, a agregação de neutrófilos e a degranulação de mastócitos (RIBEIRO et al., 1985; CHAMPAGNE, 1994). Estes fatores podem otimizar a alimentação do carrapato e suprimir a resposta inflamatória do hospedeiro. A modulação da resposta imune no hospedeiro pelo carrapato atua contra defesas inatas e adquiridas, fornecendo um ambiente propício para o repasto sangüíneo e transmissão de patógenos (WIKEL et al. 1994; WIKEL et al., 1996c). Há várias evidências que demonstram imunossupressão causada por ação direta de componentes presentes na saliva ou nas glândulas salivares do carrapato, agindo diretamente no sistema imune ou via citocinas, levando a uma ausência de resistência do hospedeiro (WILLADSEN e JONGEJAN, 1999).

Por sua vez, a faceta do hospedeiro compreende a distribuição, reconhecimento e processamento dos antígenos introduzidos pelo carrapato, com conseqüente liberação de mediadores químicos e síntese de anticorpos específicos, ou ativação de células, que poderiam vir a interferir de forma a prejudicar o parasitismo (FERREIRA, 1994). Além das respostas imunes humoral e celular, outras respostas fisiológicas, como a inflamatória, possuem papel bastante importante no controle de parasitas (MORRISON, 1987). Hospedeiros

podem rejeitar carrapatos por confrontá-los com um grande número de mediadores liberados por células presentes no local, como mastócitos, e por outras quimiotaticamente recrutadas para o local, como basófilos e eosinófilos, responsáveis pela imunidade inata do hospedeiro e atuando como primeira linha de defesa. Há muitos anos foi sugerido que eosinófilos e basófilos possuem efeitos significantes na resposta inflamatória (WILLADSEN, 1980) e que a histamina pode ser um mediador eficaz no mecanismo de resistência adquirida pelo hospedeiro ao carrapato (WIKEL, 1996a; WILLADSEN, 1980).

Porém, especula-se que na resposta imune podem estar presentes os principais elementos responsáveis pela resistência adquirida. Dentre eles, células apresentadoras de antígenos (macrófagos, células de Langerhans e células dendríticas) e linfócitos T e B antígenos específicos. Macrófagos e células ligadas a macrófagos tem um papel central na defesa inata, na regulação de anticorpos específicos e na resposta imune mediada por células (WIKEL, 1996a). Um fato de grande importância na análise das bases imunológicas de resistência adquirida, foi a descoberta da participação de linfócitos Th1 nas reações de hipersensibilidade tardia (WIKEL, 1996b), manifestadas por uma reação de hipersensibilidade basofílica cutânea (CBH), característica de animais resistentes a carrapatos. Porém, outros autores sugerem que os basófilos produzem citocinas derivadas de linfócitos Th2, e que estas podem ser liberadas sem um estímulo imunológico específico (FALCONE et al., 2001).

Os mecanismos usados pelos patógenos para escapar das defesas do hospedeiro, incluem interferência com o processamento de antígenos e a expressão do complexo principal de histocompatibilidade, redução de citocinas pró-inflamatórias, tais como inter-leucina 1 (IL-1) e fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ). Conseqüentemente, altera a proporção de células Th1 e Th2 e suas respectivas citocinas, modificando a resposta imune local e bloqueando a ativação de complemento (MARRACK e KAPLER, 1994; KOTWAL, 1996).

Pouco se sabe sobre os efeitos da imunidade, seja através de vacinas ou por imunidade adquirida, sobre a habilidade dos carrapatos na transmissão de patógenos (BROSSARD e WIKEL, 1997).

A importância das relações entre carrapatos e hospedeiros silvestres revela os mecanismos primários de resistência ao parasita, e eventualmente servirá de subsídios para o estabelecimento de mecanismos de defesa.

#### CARACTERÍSTICAS DA LESÃO PRODUZIDA PELO CARRAPATO

Quanto à histopatologia do sítio de fixação de carrapatos na pele de hospedeiros domésticos pôde-se notar a mesma variabilidade em relação às espécies afetadas. Segundo um trabalho descrito por SZABÓ et al. (1995a) e SZABÓ E BECHARA (1999), cães apresentam poucas alterações na pele infestada por carrapatos *Rhipicephalus sanguineus*, mostrando apenas um edema discreto e infiltrado celular nos casos de infestação maciça. Hamsters mostram uma reação cutânea moderada aos carrapatos durante a infestação, caracterizada por edema e discreta exsudação, além de infiltrado celular rico em eosinófilos. Cobaias, por outro lado, desenvolvem reação cutânea severa com eritema, edema, infiltração celular, exsudação serosa e, em alguns casos, necrose.

Ainda segundo aqueles autores, algumas características microscópicas foram observadas em vários cortes, independentemente do hospedeiro, infestação ou intervalo de tempo. Entre elas, a presença de um cone de cemento coberto por uma pequena área de epiderme de 0,82mm de espessura média próximo ao parasita. O cemento estava confinado à superfície da epiderme, estendendo-se por debaixo do extrato córneo. Nos locais de fixação do carrapato a epiderme estava usualmente espessada devido à hiperplasia, espongirose e edema intracelular.

Além disso, as lesões na derme incluíram diferentes níveis de infiltrado inflamatório, edema, microabscessos e, ocasionalmente, hemorragia e necrose. Todas as alterações descritas acima estavam relacionadas às zonas que circundavam o local de fixação dos carrapatos. O infiltrado celular era difuso e restrito à derme superficial abaixo do cemento. Um infiltrado celular mais intenso foi observado 24h e 48h após infestação, localizado abaixo do cone de cemento, porém, atingindo as camadas profundas da derme.

Ao mesmo tempo, uma profunda dermatite perivascular, separada da superfície dermal, foi vista na borda derme-hipoderme. As mudanças mais significativas foram observadas após 96h quando o infiltrado celular das regiões superficiais e profundas da derme confluíram, originando uma reação inflamatória difusa e proliferativa. Os cães reagem apresentando neutrófilos, especialmente no final do período de alimentação, e também com células mononucleares e mastócitos. Os concentrados de neutrófilos próximos aos locais de fixação e células mononucleares foram vistos mais periféricamente e a contagem de cada tipo celular variou de acordo com a infestação e o intervalo de tempo. Muitos mastócitos foram observados próximos a vasos sangüíneos, mas longe da área de contagem. As cobaias, por outro lado, reagiram com uma variedade de células mononucleares, basófilos e eosinófilos.

Segundo CASTRO E PEREIRA (1946), os coelhos parasitados por *Alveonasmus lahorensis* apresentaram uma solução de continuidade na camada epidérmica da pele seguida de necrose das camadas granulosa e espinhosa, como conseqüência dos traumatismos infligidos pelo aparelho bucal dos carrapatos, combinados com exsudação plasmática devido à ação tóxica da secreção salivar dos parasitas. Seguiu-se, então, congestão vascular local e afluência de leucócitos, começando por heterófilos os quais foram mais tarde substituídos por células mononucleares, concomitantemente com necrose da derme. O mesmo foi observado por SHATROV (1979), o qual descreveu predominância de linfócitos e macrófagos, presença de hemorragia, crosta e necrose da derme.

Em taurinos infestados por *Boophilus microplus*, HOEPPLI E FENG (1931) observaram destruição total da epiderme e parte da camada papilar, seguida de uma zona apresentando material necrótico e debris celulares. Ao redor deste processo ocorreu infiltrado inflamatório predominantemente mononuclear, com pequeno número de células polimorfonucleares (neutrófilos), hiperemia e infiltrado inflamatório perivascular. Segundo MORAES (1988), o número de mastócitos dérmicos em zebuínos foi duas vezes superior àquele encontrado em taurinos.

Vários relatos com animais silvestres mostram reações locais no sítio de fixação do carrapato semelhantes às aquelas encontradas em animais domésticos, variando com a espécie de carrapato, a espécie do hospedeiro e a idade da lesão. Como demonstrado por GRIGORYEVA (2001 e 2002), nas aves passeriformes parasitadas por *Ixodes persulcatus* e *Ixodes lividus* e em répteis (*Lacerta agilis*) parasitados por *Ixodes pacificus* e *Ixodes ricinus* a reação no local de fixação do carrapato é análoga à dos mamíferos, apresentando cavidade alimentar e infiltrado inflamatório predominantemente heterofílico e eosinofílico, porém com ausência do cone de cimento, talvez associado à espécie de carrapato envolvida parasitando as aves e os répteis.

BECHARA E SZABÓ\* constataram que animais silvestres mostraram variação da reação local no sítio de fixação de carrapatos na pele em função da espécie do hospedeiro, da espécie do carrapato e da idade da lesão. No geral, o exame apresentou um padrão típico de reação inflamatória local, caracterizada por hiperplasia da epiderme local, presença de cone de cimento produzido pelo ácaro, edema subcutâneo, hiperemia de vasos da microcirculação local, dilatação de vasos linfáticos e infiltrado celular inflamatório.

Aqueles autores sugerem, ainda, alguns padrões peculiares de reação nas diversas espécies de hospedeiros capturados, principalmente relacionados ao padrão celular inflamatório. Foi merecedor de destaque o grande número de mastócitos presentes na pele parasitada do tamanduá-bandeira. A ausência de dados na literatura consultada sobre o número destas células na pele normal do tamanduá dificultou uma melhor discussão desses resultados. Essa célula aparece também em grande número na reação de quatis ao carrapato.

BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.(Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP – Câmpus de Jaboticabal). Comunicação pessoal, 2002.

BECHARA E SZABÓ\* também constataram que a capivara reagiu ao ácaro principalmente com um infiltrado celular rico em eosinófilos e/ou heterófilos.

Basófilos, células muito raras no sangue circulante da maioria das espécies animais, e de difícil demonstração, foram vistos no sítio de reação em capivaras e no cateto. Já os cervídeos reagiram aos carrapatos com um infiltrado celular com predominância de neutrófilos e eosinófilos.

Ainda segundo aqueles autores, análises ultra-estruturais no tecido subcutâneo de veado campeiro revelaram alterações na camada córnea da região, caracterizadas pela presença de queratinócitos apresentando queratina intracitoplasmática disposta em grumos. Presença de microvesículas, edema e infiltração mononuclear também foram observadas. A região da epiderme próxima à ancoragem do carrapato também mostrou-se modificada. A camada basal mostrou um certo distanciamento entre suas células com as da camada espinhosa, provavelmente devido ao edema. Observou-se ainda a presença de células de Langerhans, habitualmente encontradas não na camada córnea, mas sim entre as camadas granulosa e espinhosa (ou de Malpighi). Mastócitos, geralmente degranulados, foram vistos na derme superficial, logo abaixo da camada basal da epiderme. A pele de animais controle não apresentou alterações dignas de relato, não tendo sido registrada a presença nem mesmo de mastócitos próximos à camada basal.

De acordo com VAN DER HEIJDEN (2000), as capivaras apresentaram, no local de fixação do carrapato, a presença de cone de cemento como uma massa eosinofílica e homogênea de formato tubular na derme parasitada. Esta massa se iniciava a partir de uma solução de continuidade da epiderme e penetrava na pele perpendicularmente à superfície, atingindo regiões mais profundas da derme. As alterações epidérmicas incluíram hiperplasia, edema intracelular e necrose das células epiteliais. Imediatamente abaixo do cone de cemento, observou-se, com relativa frequência, a cavidade alimentar do carrapato constituída por áreas de necrose e dissolução do tecido. Quanto aos tipos celulares observou-se a presença maciça de heterófilos/eosinófilos nos animais infestados. Nas áreas afastadas predominaram células mononucleares mas observou-se também basófilos e, na derme superficial, mastócitos.



## PRINCIPAIS CÉLULAS INFLAMATÓRIAS NA REAÇÃO A CARRAPATOS

Ao longo dos anos têm sido comprovada a participação, na reação a carrapatos, de diversos tipos de células inflamatórias, variando de acordo com a espécie parasita e a espécie hospedeira.

### **Basófilos**

Carrapatos parecem ser os mais potentes indutores de basofilia cutânea (BROWN, 1988). A demora na caracterização deste tipo celular no local de fixação dos carrapatos se deve pela dificuldade em se demonstrar tais células com técnicas de coloração rotineiras (ALLEN et al., 1977; GALLI; DVORAK, 1979).

Esta célula, normalmente rara, tem sido encontrada em grande número na reação cutânea de cobaias a carrapatos (ALLEN, 1973). Sua atividade parece estar relacionada com a resistência a estes ectoparasitas (BROWN et al., 1982).

Basófilos são granulócitos circulantes que aparecem nos tecidos de forma transiente durante determinadas reações imunológicas (DVORAK et al., 1983). Aparentemente, participam na inflamação, principalmente na manutenção da permeabilidade vascular aumentada, e também estão presentes de forma marcante nas reações parasitárias (HUNTLEY, 1992).

O papel exato dos basófilos na rejeição a carrapatos não é conhecido, mas acredita-se que participem de reações anafiláticas locais, liberando mediadores e prejudicando a salivação e alimentação do carrapato (KEMP; BOURNE, 1980; PAINE et al., 1983).

### **Mastócitos**

Especula-se que os mastócitos participem da reatividade tegumentar a estímulos lesivos, incluindo carrapatos, por possuírem características semelhantes aos basófilos, como a presença de grânulos intracitoplasmáticos e por estarem normalmente presentes nos tecidos cutâneos. SCHLEGER e colaboradores (1976) observaram degranulação maior destas células no local de fixação de

carrapatos *Boophilus microplus*, em bovinos previamente infestados em relação àqueles sofrendo primeira infestação.

Alguns estudos indicam que a ativação de mastócitos é essencial para o aumento da permeabilidade vascular, edema tecidual, deposição de fibrina e infiltração leucocitária observada na resposta anafilática cutânea para larvas de carrapatos *Haemophysalis longicornis* (GORDON et al., 1990).

### **Eosinófilos**

Os eosinófilos estão presentes nas reações alérgicas, nas parasitoses e na inflamação crônica e são característicos de reação imune mediada por IgE. Seus grânulos contém proteínas básicas principais (MBP), altamente tóxicas aos parasitas, mas que também podem causar lise nas células epiteliais de mamíferos (VAN DER HEIJDEN, 2000).

Especialmente na inflamação associada com desordens alérgicas, os eosinófilos constituem a maior linha efetora em virtude da capacidade de gerar e liberar uma grande quantidade de mediadores químicos. Ainda, sua função pró-inflamatória em desordens alérgicas tem sido aparente com o reconhecimento e compreensão da reação alérgica tardia (late phase reaction), que são caracterizadas pelo reaparecimento de uma reação inflamatória várias horas após exposição ao antígeno (MORELLI JR., 2000).

Os eosinófilos podem cooperar com outros elementos do sistema imune na proteção contra insultos poderosos (SPRY, 1993).

### **Neutrófilos**

Os neutrófilos representam 55-60% das células hematopoiéticas na matriz óssea (BAINTON, 1992) e são as primeiras células que migram para o local de fixação do carrapato. Esta célula está relacionada com reação inflamatória aguda a um estímulo inespecífico, e não apresenta nenhuma relação com resistência. O citoplasma abundante destas células é carregado de grânulos específicos que variam de tamanho e em suas propriedades tintoriais entre mamíferos. Devido a estas variações, estes granulócitos também são chamados de heterófilos em

alguns mamíferos como, por exemplo, coelhos e capivaras, dentre outros (VAN DER HEIJDEN, 2000).

De forma geral, uma primeira participação mais intensa destas células foi notada em hospedeiros sofrendo primeira infestação, principalmente nos três primeiros dias de parasitismo (revisado por BROWN, 1988 e KAUFMAN, 1989) quando chegam a representar 40-60% das células infiltrantes. Esta reação representa a clássica reação inflamatória aguda e não imune a um estímulo lesivo inespecífico. Entretanto, em uma relação hospedeiro-parasita natural, a reatividade tecidual cutânea ao parasitismo parece se dar, em qualquer infestação e a qualquer tempo de fixação do ácaro, quase que exclusivamente pela infiltração de neutrófilos (THEIS; BUDWISER, 1974; SZABÓ; BECHARA, 1995b).

### **Linfócitos e Macrófagos**

O macrófago é uma figura central na inflamação crônica devido ao grande número de substâncias que a célula ativada produz, algumas tóxicas para células ou matriz celular, outras causam influxo de outros tipos celulares. Esse arsenal notável de mediadores torna os macrófagos poderosos aliados na defesa do organismo contra invasores indesejáveis (COTRAN et al., 2000).

Linfócitos e macrófagos são exemplos de células apresentadoras de antígenos, as quais estão diretamente relacionadas com a resposta imune adquirida. Os linfócitos T participam da resposta de hipersensibilidade tardia, caracterizada por acúmulo de macrófagos, os quais isolam e ajudam a destruir imunógenos (WIKEL, 1996a).

A participação de linfócitos na gênese de uma resistência eficaz ao ácaro ainda é desconhecida. Algumas observações isoladas, entretanto, apontam para a participação de linfócitos T e B na expressão de imunidade (SZABÓ, 1995). Ensaio demonstraram a participação de linfócitos T e B na resistência ao carrapato incluindo o uso de drogas supressoras destas células (WIKEL; ALLEN, 1976), testes de blastogênese (WIKEL et al., 1978) e testes cutâneos de hipersensibilidade (WIKEL et al., 1978; WALKER; FLETCHER, 1990).

## **OBJETIVOS**

### **Gerais:**

Caracterizar a lesão produzida na pele de tamanduás-bandeira de vida livre, parasitada por carrapatos ixodídeos em condições naturais.

### **Específicos:**

1. analisar e comparar a epiderme e derme de tamanduás-bandeira parasitada em relação à pele controle, não parasitada, por meio de microscopia de luz;
2. realizar a contagem global e diferencial ou específica de células inflamatórias na derme infestada ou não por meio de microscopia de luz;
3. analisar morfometricamente a lesão produzida na pele parasitada em comparação com a pele controle por meio de sistema de análise de imagens computadorizado à microscopia de luz.
4. analisar ultra-estruturalmente a pele parasitada por meio de microscopia eletrônica de transmissão.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. Local de captura dos animais na natureza

Fazenda Alegria – A Fazenda Alegria localiza-se no Pantanal da Nhecolândia, a cerca de 120 km a leste de Corumbá-MS, e possui uma área aproximada de 21.000 hectares. De acordo com Alho et al. (1987), a vegetação da Fazenda Nhumirim, pertencente à Embrapa, e vizinha a Fazenda Alegria, representa o remanescente de uma típica floresta semidecidual (“cordilheiras”), podendo ser encontrados, na área, alguns indicadores de “cerradão”, de acordo com os altos níveis minerais que ocorrem no solo das “cordilheiras” do Pantanal.

Em um estudo realizado por ALHO et al. (1987), o Pantanal da Nhecolândia (17% da área total do Pantanal) é uma região de média inundação, variando a profundidade da água de uns poucos centímetros até 3 metros e a estação cheia pode durar de 4 a 6 meses. O clima é tropical semi-úmido; a estação chuvosa tem início em outubro e termina em março, com uma precipitação pluviométrica anual de cerca de 1000mm. A inundação é o fenômeno ecológico mais importante, dando ao Pantanal a característica de um bioma bem peculiar. A vegetação do ecossistema é conhecida por “complexo do Pantanal”, uma combinação de tipos de vegetação méstica e xeromórfica, com manchas de cerrado (“cordilheiras”) entrecortadas por áreas inundadas, pantanosas, com vegetação aquática.

A fauna da região é rica em aves, répteis e mamíferos. Dentre estes últimos, destacam-se quatis (*Nasua nasua*), cervídeos veados campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*), cervos-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) e veados catingueiro (*Mazama guazoubira*), tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), tamanduás-mirim (*Tamandua tetradactyla*), tatus-galinha (*Dasytus novencinctus*), tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*), capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), catetos (*Tayassu tajacu tajacu*) e porcos-monteiro (*Sus scrofa*).

Parque Nacional de Emas e circunvizinhanças – O Parque Nacional de Emas, com seus 131868 ha, está localizado no extremo sudoeste do Estado de Goiás, e é assim chamado pelo grande número de emas que possui em seus

limites. A região é tipicamente do tipo cerrado, com riqueza em vegetação arbustiva, e cortada pelo rio Formoso, que nasce em Bonito-MS. Sua fauna silvestre é constituída, além das emas, por exemplares de tamanduá-bandeira, tatu-peba, lobo-guará, veado campeiro, siriema, gavião, arara, onça-pintada dentre outros.

*2. Captura dos animais na natureza e colheita do material* – Inicialmente os tamanduás-bandeira foram capturados manualmente pela cauda, e contidos fisicamente usando-se puçás de rede para posterior anestesia com Ketamina (15mg/kg) e Xilasina (1mg/kg) e/ou Cloridrato de Tiletamina (2,5mg/kg). Para maior segurança a sedação foi monitorada por duas pessoas para os seguintes parâmetros: temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória.

Os animais foram submetidos a tricotomia de pele para realização de biópsias em sacabocados na pele não parasitada (n= 7) e parasitada (n= 7), com o auxílio de um *punch* de 6 mm de diâmetro (Reichter) por meio de movimentos rotatórios sobre a pele esticada, tesoura e pinça de dissecação. As peles não parasitadas foram coletadas paralelamente àquelas parasitadas, localizadas na mesma região anatômica, para evitar diferenças histológicas. Na coleta das peles parasitadas, os carrapatos aderidos foram preservados e serviram como referência para a microtomia do material no centro da lesão.

O local da biópsia era então tratado com antisséptico e o material colhido fixado em Formol tamponado para microscopia de luz e Glutaraldeído 2% para microscopia eletrônica de transmissão.

Os diversos instares de carrapatos foram colhidos de seus hospedeiros com o auxílio de uma pinça de dissecação. Os carrapatos adultos foram fixados em álcool 70%, e as ninfas colocadas em tubos plásticos ventilados que permitissem seu desenvolvimento para posterior identificação das espécies no Laboratório de Patologia Veterinária - Unesp-Jaboticabal.

O grau de infestação foi avaliado subjetivamente por três observadores, de acordo com os seguintes escores: (+) 1-10 parasitas/animal, (++) 11-50

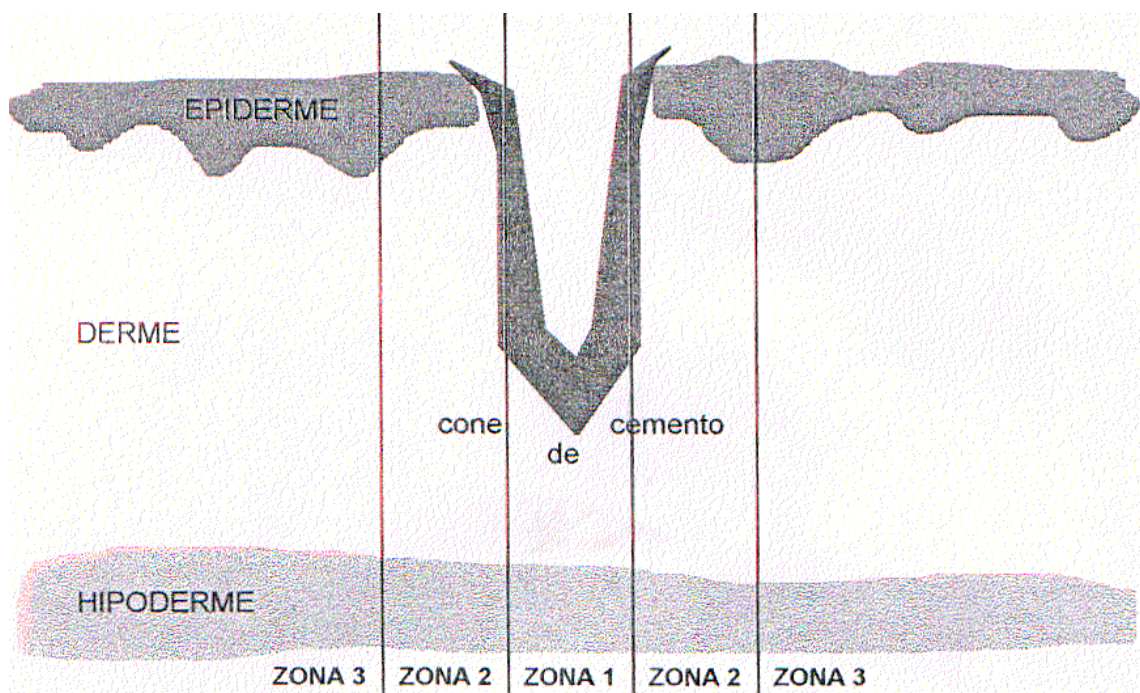
parasitas/animal, (+++) 50-100 parasitas/animal e (+++++) acima de 100 parasitas/animal.

3. *Identificação dos carrapatos* – Os carrapatos foram identificados seguindo a chave de classificação descrita por ARAGÃO e FONSECA (1952) e JONES et al. (1972), e a nomenclatura utilizada foi baseada no trabalho descrito por HORAK et al. (2002). As espécie provenientes do Pantanal mato-grossense estão identificadas no trabalho descrito por CAMPOS PEREIRA et al. (2000).

4. *Histotecnologia dos fragmentos de pele* – Foi realizado o processamento histológico do material colhido, seguindo os procedimentos rotineiros de fixação em formalina tamponada, embebição em parafina, microtomia para cortes seriados de 6µm de espessura e coloração com Hematoxilina-eosina para a análise das alterações gerais na epiderme e derme e morfometria da epiderme, e May Grünwald-Giemsa para contagem global e diferencial de células inflamatórias na derme.

#### 5. *Análises histopatológicas*

5.1 - *Estudo das alterações microscópicas* – Foi utilizado o esquema descrito por VAN DER HEIJDEN (2000) para observações microscópicas e análise de células inflamatórias na Zona 1, e na ausência dessa na Zona 2, que incluem o centro da lesão causada pelo carrapato, de acordo com esquema a seguir. Segundo esses autores, os cortes são categorizados em três zonas de acordo com a distância do local de fixação do parasita. Para análise sob microscopia de luz, apenas os cortes contendo as Zonas 1 e 2 são utilizados, uma vez que estas zonas contém o centro da lesão. Os achados histopatológicos de sete tamanduás-bandeira foram avaliados utilizando-se a coloração de Hematoxilina-eosina.



Esquema mostrando pele parasitada apresentando zonas 1 e 2 (VAN DER HEIJDEN, 2000).

5.2 - *Contagem de células inflamatórias na pele controle e parasitada* - As células migradas para o foco inflamado das peles controle e parasitada, foram avaliadas por meio de contagens global e diferencial. Foram utilizadas sete amostras de pele parasitada e sete de pele não parasitada de tamanduá-bandeira. Para padronização da análise, a interface carrapato-hospedeiro observada nos cortes seriados foi dividida em zonas 1 e 2. As contagens celulares foram restritas às seções que exibiam as áreas 1 e 2. Na ausência destas zonas, as seções não foram consideradas e as lâminas descartadas. Para a contagem de células na pele controle, foi escolhida uma área qualquer para análise.

A contagem global e diferencial de células foi realizada em lâminas coradas pela Hematoxilina-eosina e May Grünwald-Giemsa, empregando-se uma ocular integradora Reichert - Áustria PK 6,3x mm e objetiva 40x, respectivamente, nas zonas 1 e 2 ao redor do cone de cemento. A área delimitada pela ocular integradora foi determinada em  $0,0052 \text{ mm}^2$  através de um micrômetro. Para as



contagens selecionou-se a secção mais indicada dos cortes seriados de cada bloco. Nesta secção contaram-se quatro áreas ( $4 \times 0,0052\text{mm}^2$ ) ao redor do cone de cimento.

*5.3 - Morfometria da pele controle e parasitada* – Realizou-se morfometria da pele controle e parasitada para análise e comparação da hiperplasia epidérmica no local de fixação do carrapato. A análise foi feita nas secções que exibiam as áreas 1 e 2 como descrito anteriormente. A camada córnea não foi considerada por haver desprendimento da epiderme, revelando uma hiperplasia irreal.

A espessura medida foi expressa em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), utilizando-se objetiva com ampliação de 4x. A espessura foi calculada pela distância média entre duas linhas, as quais mediam aproximadamente 1000 a 1100 $\mu\text{m}$  de comprimento, traçadas a partir da borda queratina-epiderme e epiderme-derme, vista nas Figuras 01 e 02. Para análise morfométrica das peles parasitada e controle foi utilizado o sistema de imagens computadorizado Image-Pro<sup>®</sup> Plus versão 3.0 para Windows (Media Cybernetics L.P) no laboratório de Patologia Veterinária - Unesp – Jaboticabal.

*6. Microscopia Eletrônica de Transmissão* - Os fragmentos de tecidos destinados a microscopia eletrônica de transmissão foram fixados em Glutaraldeído 2%, Paraformaldeído 2% em tampão cacodilato de sódio a 0,1 M, pH 7,4, com 0,05% de cloreto de cálcio. A pós-fixação foi feita em tetróxido de ósmio a 1% em tampão "Sym-Collidine", 0,1M, pH 7,4, por duas horas à temperatura ambiente. Em seguida, o material foi banhado em etanol nas seguintes concentrações: 50%, 70%, 90%, 95% e 100%. Após o último banho os tecidos foram imersos em óxido de propileno.

Os tecidos foram então imersos em uma mistura de resina:óxido de propileno (1:1) por 2 horas e por uma noite em uma solução de epon-óxido de propileno (1:1). Após, os tecidos foram imersos em epon e mantidos em estufa a 60°C até a completa polimerização. Na seqüência, os blocos foram aparados e seccionados com navalha de vidro em ultramicrótomo, Leica Ultracut UCT –

Laboratório de Microscopia Eletrônica de Transmissão – Unesp – Jaboticabal, a 300 nm de espessura e corados com Azul de Toluidina 1% para análise dos cortes. A área selecionada foi seccionada com navalha de diamante a 70nm de espessura e colocada em grades de cobre apropriadas.

Para análise ultra-estrutural os cortes ultrafinos foram contrastados em solução aquosa de acetato de uranila 2% por 45 minutos e em citrato de chumbo 0,4% por 10 minutos, observados e eletromicrografados em microscópio eletrônico de transmissão modelo Philips CM 100 - Laboratório de Microscopia Eletrônica – Unesp – Rio Claro.

*7. Análise Estatística* – Os valores determinados nas contagens celulares e na morfometria da pele controle e parasitada foram comparados estatisticamente, utilizando-se o programa SAS (Statistical Analyses of System). A análise de variância foi feita através do teste Fisher e a comparação das médias ( $p < 0,05$  ou  $p < 0,01$ ) através do teste T de Student.

## RESULTADOS

### Captura dos animais na natureza e identificação dos carrapatos

Representantes (n=3) e (n=4) de tamanduás-bandeira foram capturados na região do Pantanal Mato-grossense em setembro de 1996 e 1997 e na região do Parque Nacional de Emas-GO em novembro de 1999 e setembro de 2003, respectivamente, para fins de estudo junto a este projeto de pesquisa.

As espécies de carrapatos, parasitando os animais capturados, foram identificadas como *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma nodosum*, *Amblyomma sculpturatum* e *Amblyomma pseudoconcolor* e, em muitos casos, mais de uma espécie parasitando um mesmo hospedeiro, além de várias ninfas do gênero *Amblyomma* sp. A identificação dos carrapatos está demonstrada na Tabela 01, a seguir, dividida de acordo com o local de captura dos animais.

**Tabela 01.** Fauna ixodológica encontrada em tamanduás-bandeira na região do Pantanal Mato-grossense e Parque Nacional de Emas, 2003.

Amostra	Local de captura	Carrapatos identificados
N=3	Nhecolândia-Pantanal-MS	<i>Amblyomma</i> sp. <i>Amblyomma sculpturatum</i>
N=1	Parque Nacional de Emas-GO	<i>Amblyomma pseudoconcolor</i>
N=3	Costa Rica-Parque Nacional de Emas-GO	<i>Amblyomma cajennense</i> <i>Amblyomma nodosum</i>

Porém, não foi possível identificar as espécies localizadas no local das biópsias, devido à perda de detalhes do hipostômio importantes para a diferenciação de espécies, mas o escudo ornamentado dos carrapatos e o tipo de cemento produzido indicou serem todos do grupo *Amblyomma*.

No local de fixação do carrapato, observou-se leve hiperemia na pele, sendo que alguns carrapatos desprendiam-se facilmente. O grau de infestação nos animais variou de discreto(+) a leve(++).

### **Características da pele controle**

A pele não parasitada (figura 03) foi utilizada como controle negativo, e mostrou epiderme delgada, com espessura média menor em comparação com a pele parasitada, derme superficial apresentando pequenos vasos sanguíneos e linfáticos em quantidade moderada, presença de fibroblastos, mastócitos e apêndices cutâneos como glândulas sebáceas e sudoríparas e folículos pilosos. Ademais, alguns animais apresentaram infiltrado inflamatório eosinofílico e mononuclear discretos, associados possivelmente a contatos prévios com ectoparasitas ou lesões de outra origem (mecânica p.e.).

### **Alterações histopatológicas**

Os achados histopatológicos foram semelhantes em todas as amostras, com algumas variações individuais no que diz respeito à intensidade do infiltrado celular inflamatório. Ressalte-se que não foi possível determinar o tempo de fixação dos carrapatos (idade da lesão) na pele dos hospedeiros, por se tratar de animais silvestres de vida livre. De todo modo, observaram-se diferenças quanto ao tamanho e disposição do cone de cemento. Isso se deve, provavelmente, às diferentes espécies de carrapatos parasitando os hospedeiros silvestres.

Conforme demonstrado na Tabela 02, os achados histopatológicos foram avaliados quanto à intensidade de lesão e número de células infiltradas na pele de tamanduás-bandeira, parasitada por *Amblyomma sp.* De destaque, a presença de hiperplasia epidermal e edema inflamatório acentuados, moderada hemorragia e vasodilatação ausente em muito casos, acentuada infiltração de neutrófilos e linfócitos, moderado infiltrado eosinofílico e ausência de basófilos.

**Tabela 02.** Avaliação semi-quantitativa das alterações epidermais e dermais da pele de Tamanduás -bandeira parasitadas por *Amblyomma sp.*

Achados Histopatológicos	Animal						
	01	02	03	04	05	06	07
<u>Epiderme</u>							
Espongiose	+	++	+	+	++++	++	++
Edema	-	+++	++	+++	++++	+++	++
Hiperplasia	+	+++	++	++++	++++	++	+++
<u>Derme</u>							
Edema	++++	++++	+++	++	++++	++++	++++
Vasodilatação	+++	-	-	+++	+	-	-
Hemorragia	+	++	+	+++	+++	+++	+++
<u>Infiltrado celular</u>							
Linfócito	++++	++++	++++	+++	+	+	+
Plasmócito	+++	+	+	-	-	-	-
Macrófago	++	++	+	++	++	++	+
Neutrófilo	+	+	+++	++++	++++	++++	++++
Eosinófilo	+++	+++	++	+++	+++	+++	++
Mastócito	+++	+++	++	+	++	+	+
Basófilo	-	-	-	-	+	-	+

Intensidade dos achados histopatológicos: - ausente, + discreto, ++ leve, +++ moderado, ++++ acentuado.

Todas as secções analisadas de animais infestados, apresentaram cone de cimento sob a camada córnea e, na maioria deles, estendendo-se até a camada granulosa da epiderme. Em alguns casos pôde-se observar uma cavidade alimentar abaixo do ponto de fixação do carrapato, mostrando debris celulares e células inflamatórias do tipo neutrófilo (Figura 04). Imediatamente abaixo do cone de cimento havia a presença de uma solução de continuidade na epiderme, a qual mostrou-se hiperplásica próxima ao ponto de fixação do carrapato (Figura 05). A derme superficial apresentou acentuado edema, hemorragia e vasodilatação de forma moderada a discreta. Observou-se infiltrado inflamatório

predominantemente neutrofílico e mononuclear, e em menor número eosinófilos, com marginação de leucócitos no interior dos vasos.

A reação inflamatória estava presente na derme superficial e estendia-se até a derme profunda, onde a distribuição do infiltrado era perivascular, na maioria dos casos (Figura 6a).

Observou-se também edema intersticial, associado com a presença de dissociação de fibras colágenas na derme superficial na zona 1, como observado na Figura 6b. Os mastócitos foram melhor visualizados pela coloração de May-Grünwald-Giemsa e apareceram de forma moderada, tanto na pele controle como na parasitada, e discretamente degranulados. Muitos mastócitos foram observados próximos a vasos sanguíneos, mas distantes da área de contagem, como apresentados na Figura 7a. Quanto à pesquisa de basófilos, notou-se a perda do efeito corante pela coloração de May Grünwald-Giemsa nos materiais mais antigos resultando em diagnósticos falso-negativos, sendo necessário uma nova coloração para a possível visualização dessas células. Os basófilos mostraram-se presentes em pequena quantidade nos tamanduás-bandeira na coloração de May-Grünwald-Giemsa (Figura 7b).

### **Contagem de células inflamatórias na pele controle e parasitada**

Além da análise das alterações teciduais, realizaram-se contagens global e diferencial das células inflamatórias presentes na derme do hospedeiro no ponto de fixação do carrapato e na derme não parasitada. Os valores referentes às contagens globais e diferenciais divididos em grupos controle e parasitado, estão presentes na Tabela 03. Os resultados são expressos em número de células/mm<sup>2</sup> com valores individuais e média  $\pm$  desvio padrão.

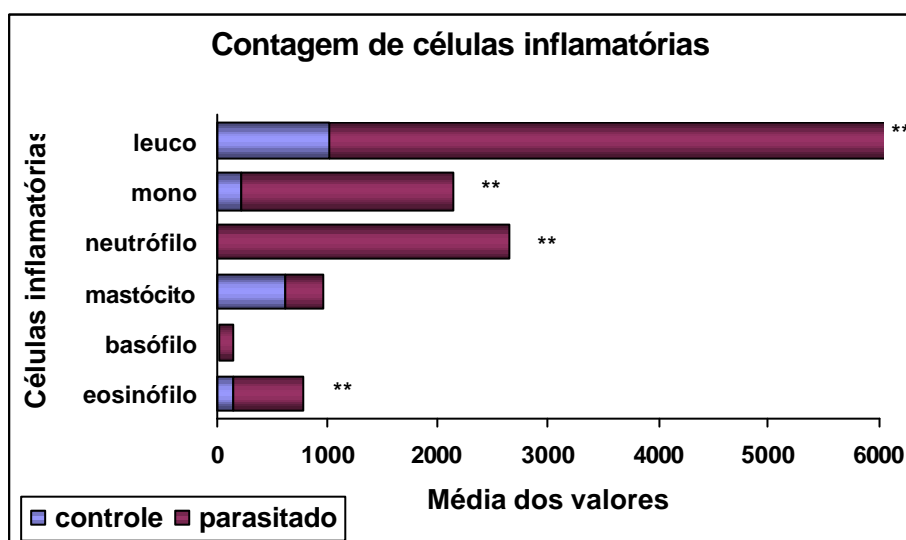
**Tabela 03.** Média e desvio padrão das contagens global e diferencial de células inflamatórias na pele de tamanduá-bandeira, controle ou parasitada por *Amblyomma* sp. Os valores são expressos em valor absoluto e relativo por mm<sup>2</sup>.

Grupos	N° total		Basófilo		Eosinófilo		Neutrófilo		Mastócito		Célula Mononuclear	
	Absoluto	Relativo	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%
<b>Parasitado</b>												
1	5576,92	0	0	948,08	17	613,46	11	836,54	15	3178,84	57	
2	3317,31	0	0	530,77	16	630,29	19	66,35	2	2089,90	63	
3	5817,30	0	0	988,94	17	1745,19	30	581,73	10	2501,44	43	
4	5000	0	0	500	10	3150	63	0	0	1350	27	
5	8894,23	622,60	7	711,54	8	5514,42	62	177,88	2	1867,79	21	
6	5721,15	00	0	343,27	6	3833,17	67	400,48	7	1144,23	20	
7	5384,61	376,92	7	430,77	8	2961,54	55	269,23	5	1346,15	25	
Média±DP	5673,07**	142,79	2 ± 3,41	636,20**	11,71 ±	2635,44**	43,90 ±	333,17	5,90 ± 5,30	1925,48**	36,60 ±	
	± 1658,01	± 253,96		± 253,33	4,80	± 1779,32	23,30	± 297,24		± 731,46	17,80	
<b>Controle</b>												
1	2403,84	0	0	0	0	0	0	2403,84	100	0	0	
2	1682,69	0	0	523,48	31,11	0	0	710,43	42,22	448,77	26,67	
3	384,62	0	0	83,62	21,74	0	0	192,31	50	108,69	28,26	
4	1009,61	67,24	6,66	134,58	13,33	0	0	403,84	40	403,84	40	
5	336,53	0	0	67,31	20	0	0	235,57	70	33,65	10	
6	384,61	0	0	0	0	0	0	192,31	50	192,31	50	
7	913,46	0	0	240,42	26,32	48,04	5,26	240,42	26,32	384,57	42,1	
Média±DP	1016,48	9,61	0,95 ±	149,92	16,10 ±	6,86	0,75 ± 2	625,53	54,10 ±	224,55	28,14 ±	
	± 778,9	± 25,41	2,52	± 184,46	12,30	± 18,16		± 805,65	24,20	± 186,8	18	

\*\* As médias diferem significativamente entre si p<0,01.

A contagem global e diferencial de células inflamatórias mostrou-se significativa a 1% de probabilidade nos animais parasitados, conforme mostra a Figura 08. As células predominantes foram do tipo neutrófilo, mononuclear (linfócito e macrófago) e eosinófilo (Figuras 9a, 9b e 9c). Porém, basófilos e mastócitos não se apresentaram em quantidade significativa na pele parasitada.

\*\* Médias diferem significativamente entre si ( $p < 0,01$ ).



**Figura 08.** Comparação da contagem global e diferencial de células inflamatórias nos grupos controle e parasitado. Os valores da contagem global são expressos pela média de células/animal para  $\text{mm}^2$  em cada grupo, e na contagem diferencial pela média de células/total.

### Morfometria da pele controle e parasitada

A análise morfométrica está expressa em micrômetros na pele controle e parasitada para a média dos valores individuais e média  $\pm$  desvio padrão apresentados na Tabela 04. Hiperplasia epidermal significativa ( $p < 0,05$ ) foi observada na região de fixação do carrapato em Tamanduás-bandeira (Figura 10).

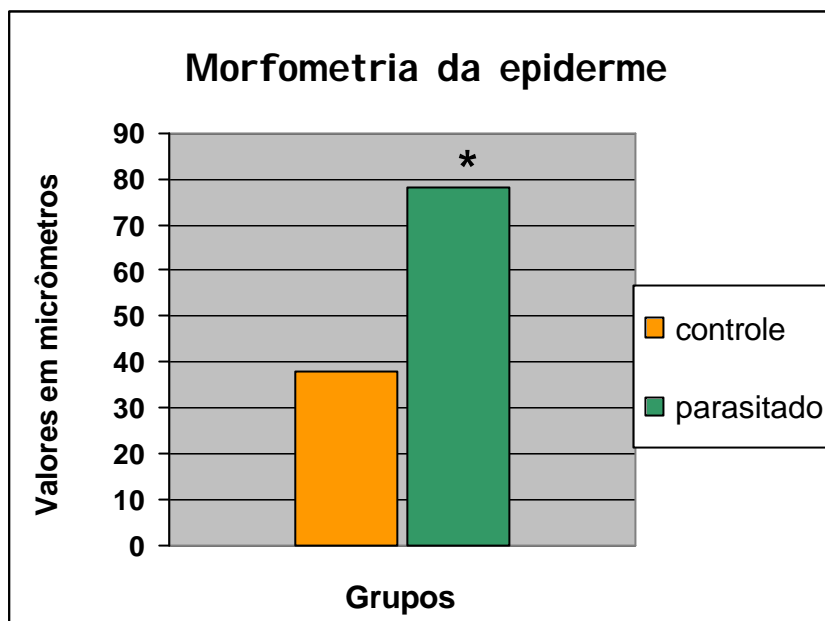


**Tabela 04.** Morfometria do epitélio da pele controle e parasitada de Tamanduá-bandeira .

<b>Grupos</b>	<b>Espessura (mm)</b>
<b>Controle</b>	
1	15,42
2	28,36
3	28,44
4	50,66
5	46,10
6	60,97
7	36,80
Média ± Desvio padrão	38 ± 15,54
<b>Parasitado</b>	
1	76,39
2	10,75
3	74,61
4	71,45
5	131,82
6	92,35
7	86,94
Média ± Desvio padrão	78* ± 35,97

\*As médias diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).

\*Médias diferem significativamente entre si ( $p < 0,05$ ).



**Figura 10.** Comparação entre a análise morfométrica dos grupos controle e parasitado. Os valores são expressos pelas suas médias.

### Microscopia Eletrônica de Transmissão

A análise ultra-estrutural de uma determinada amostra região da pele parasitada de tamanduá-bandeira, mostrou a presença predominante de células inflamatórias apresentando grânulos no interior do seu citoplasma. Tais células mostraram características diferentes no aspecto granular e nuclear. A Figura 11 mostra núcleo com cromatina condensada e citoplasma com número considerável de grânulos, limitados por uma membrana. As organelas citoplasmáticas são escassas e o citoplasma é rico em grânulos de glicogênio, caracterizando um neutrófilo. Na Figura 12, observa-se citoplasma com grânulos grandes e ovóides, cada um deles contendo um cristalóide relativamente elétron-lucente, alongado ou discóide, sugerindo um eosinófilo.

Células agranulares também estavam presentes na derme parasitada, porém em quantidade relativamente menor. Estas células apresentaram identificação do aspecto do núcleo adjacente ao centro da célula, presença de nucléolo evidente, algumas mitocôndrias e pseudópodos se estendendo a partir da célula,

caracterizando um macrófago (Figuras 13). Todas as células estavam localizadas na derme, próximas a fibroblastos e fibras colágenas, os quais apareceram de forma marcante.

**Figura 11.** Eletronmicrografia de pele de Tamanduá-bandeira parasitada por carrapatos ixodídeos. Note um neutrófilo apresentando cromatina nuclear condensada, citoplasma com grânulos grandes e inúmeros grânulos de glicogênio (5400x).

**Figura 12.** Eletronmicrografia de pele de Tamanduá-bandeira parasitada por carrapatos ixodídeos. Observe um eosinófilo apresentando citoplasma com grânulos grandes e ovóides, cada um contendo um cristalóide elétron-lucente de forma e tamanho variados (4200x).

**Figura 13.** Eletronmicrografia de pele de Tamanduá-bandeira parasitada por carrapatos ixodídeos. Observe um macrófago com núcleo indentado, presença de nucléolo evidente e pseudópodos se estendendo a partir da célula (4200x).

## DISCUSSÃO

O presente trabalho forneceu informação morfológica sobre o local de fixação do carrapato, em relações naturais de parasitismo, em uma espécie de hospedeiro silvestre capturado na natureza, apontando para as diferenças na reação histológica do hospedeiro ao parasita. Estes animais foram expostos a estímulos ambientais e, associados a isto, a repetidas infestações por carrapatos.

A análise microscópica das alterações histológicas na pele dos hospedeiros parasitados pelo carrapato, forneceu dados sobre os mecanismos de reação na imunidade contra estes parasitos.

O reconhecimento das células inflamatórias envolvidas indicou algumas características desta interface parasita-hospedeiro. A identificação e o reconhecimento das células inflamatórias polimorfonucleares e mononucleares são relevantes para a determinação dos mecanismos de resistência do hospedeiro contra o parasita. A diferença na resistência entre cães e cobaias ao *R. sanguineus* é acompanhada pelas diferenças na infiltração celular no sítio de fixação do carrapato (SZABÓ E BECHARA, 1999).

A reação inflamatória dos tamanduás-bandeira aos carrapatos foi de moderada intensidade, caracterizada por discreta exsudação de fluidos (edema) e células. A liberação pronunciada de mediadores tais como a histamina, aumenta a permeabilidade vascular causando edema. O edema é bastante evidente no local de fixação do carrapato em animais resistentes (TATCHELL, 1969; WIKEL & ALLEN, 1982). A liberação de histamina e outros mediadores, com conseqüente vasodilatação dos capilares locais, altera o microambiente da pele, tornando-o inadequado para o carrapato (OBEREM, 1984).

A epiderme mostrou hiperplasia no ponto de fixação do carrapato e a derme apresentou infiltrado de células inflamatórias. Estas alterações foram decorrentes da ação mecânica causada pelo carrapato, da atuação de sua saliva e da reação do hospedeiro. O trauma mecânico das espécies de *Amblyomma* é considerável,

já que suas peças bucais penetram fundo na derme, ao contrário do *R. sanguineus*. Porém, estes achados não são indicativos de resistência ao parasita.

As alterações gerais no local de fixação do carrapato, como o edema, hiperplasia da epiderme, hemorragia e infiltração celular são decorrentes de estímulos nocivos e de caráter não específico (SZABÓ E BECHARA, 1999).

A contagem celular foi restrita à derme superficial, abaixo do cone de cemento, por ser o lugar de maior concentração de mediadores químicos causados pelo estímulo lesivo do carrapato, e caracterizando melhor a população celular. A inflamação estendeu-se até a derme profunda e ao redor de vasos sangüíneos. Evidenciou-se a presença de neutrófilos, linfócitos e macrófagos, seguidos de eosinófilos, em número estatisticamente significativo na pele parasitada. Estas diferenças, provavelmente, devem-se ao fato de que animais de vida livre estão expostos a repetidas infestações por carrapatos, caracterizando inflamações agudas e/ou crônicas.

A microscopia eletrônica de transmissão mostrou características celulares que podem sugerir a presença de neutrófilos, eosinófilos e macrófagos na derme dos animais parasitados. Segundo AMOSOVA (1994), ratos brancos apresentaram infiltrado neutrofílico após 2 dias da fixação do carrapato *Ixodes ricinus*, comprovado pela microscopia eletrônica, além da presença de fibroblastos e eritrócitos. Uma das características visualizadas nos neutrófilos foi a presença marcante de grânulos de glicogênio e a pobreza de mitocôndrias, refletindo a importância do modo anaeróbico do metabolismo destas células (HEATH e YOUNG, 2000). A presença de pseudópodos nos macrófagos caracterizou a capacidade fagocitária e o movimento amebóide destas células (HEATH e YOUNG, 2000).

Neutrófilos são consideradas células primariamente fagocitárias, mas que possuem capacidade limitada de secreção de elementos imunomoduladores (LLOYD; OPPENHEIM, 1992; CASSATELLA, 1995). Neutrófilos são capazes de lesar tecidos por meio de liberação de enzimas líticas de seus grânulos (WEISS, 1989). A lesão macroscópica no local de fixação dos carrapatos foi caracterizada por leve hiperemia. O mesmo pôde ser visto em cães parasitados por carrapatos

*Rhipicephalus sanguineus* (SZABÓ E BECHARA, 1999), hospedeiros que não desenvolvem resistência contra estes ectoparasitas. Esta observação sugere que os neutrófilos não estão exercendo seu potencial lesivo. Pode-se supor que esta característica esteja relacionada com os mecanismos de modulação do carrapato contra os mecanismos de defesa do seu hospedeiro. A atuação da saliva nesta relação parasita-hospedeiro é desconhecida. Sabe-se, entretanto, que a saliva de outras espécies de carrapatos possui atividade imunossupressiva e antiinflamatória. RIBEIRO e colaboradores (1990) observaram que a saliva do carrapato *Ixodes dammini* é capaz de inibir a agregação, secreção de enzimas e a fagocitose de neutrófilos de rato.

Face ao exposto, poder-se-ia sugerir que os tamanduás-bandeira reagem ao carrapato de forma semelhante ao cão, envolvendo, no processo inflamatório, a participação de neutrófilos em sua maioria. Sugerindo, também, resposta imune ineficaz neste hospedeiro contra espécies de *Amblyomma* sp..

Por outro lado, o grande percentual verificado de linfócitos é sugestivo de uma resposta imune. STREILEIN (1978) desenvolveu o conceito da presença de tecidos linfóides associados à pele (SALT). As células que compõe o SALT interagem no desenvolvimento e expressão da imunidade cutânea. As funções atribuídas ao SALT são o desenvolvimento de resposta imune primária e expressão de resposta imune secundária a contatos prévios com patógenos (STREILEIN, 1990).

Porém, nem toda resposta imune é característica de resistência eficaz. A presença de determinado tipo de célula inflamatória pode, muitas vezes, estar associada à ação moduladora dos carrapatos contra as barreiras imunológicas de seu hospedeiro. Carrapatos podem agir diretamente no sistema imune, levando a ausência de resistência do hospedeiro (WILLADSEN e JONGEJAN, 1999). A função dos linfócitos Th2 está relacionada com reação de hipersensibilidade imediata, e especula-se que a saliva de carrapatos induza a uma resposta envolvendo estas células (SZABÓ et al., 1995c), já que ela está relacionada com resistência ineficaz contra estes parasitos.



Os mecanismos pelos quais eosinófilos afetam carrapatos também não são conhecidos. De qualquer forma, eosinófilos parecem atuar em conjunto com basófilos e mastócitos, na expressão da resistência de cobaias a carrapatos (BROWN et al., 1982).

TATCHELL & MOORHOUSE (1968) encontraram infiltrados eosinofílicos na pele de *Bos taurus* e *Bos indicus* parasitada por *B. microplus*. Esta resposta de eosinófilos desenvolveu-se mais acentuadamente nos hospedeiros europeus que nos zebuínos mestiços e foi caracterizada como resposta de hipersensibilidade imediata. Este fenômeno ocorreu particularmente nos animais menos resistentes e, segundo os autores, resultaria em maior disponibilidade de fluidos e restos teciduais para alimentação da larva.

A presença de mastócitos e basófilos, ainda que em quantidade moderada, indica que estas células participam da reação inflamatória como em outras doenças parasitárias (ABBAS et al., 2000). Vale lembrar que os basófilos, células associadas com resistência a carrapatos (SZABÓ et al., 1999 & BROWN, 1988), foram vistos em reduzida quantidade nas amostras. Segundo SATAKE (2002), tamanduás-bandeira possuem níveis reduzidos de basófilos no sangue (15,63/ $\mu$ L) quando comparados com neutrófilos (7853,93/ $\mu$ L) e linfócitos (856,56/ $\mu$ L). Os cães também possuem níveis sanguíneos de neutrófilos/mononucleares altos e uma tendência elevada para envolver tais células inflamatórias em uma resposta hematológica a uma variedade de estímulos.

Deve-se sempre levar em consideração que o estresse provocado pelo manejo, restrição física e utilização de drogas anestésicas podem promover diferentes graus de alteração no quadro hematológico, dependendo da resposta fisiológica de cada espécie a estes estímulos. Principalmente quando se trata de animais silvestres de vida livre, não condicionados a intervenções humanas (SATAKE, 2002). O aumento significativo no número de neutrófilos segmentados nos tamanduás-bandeira de vida livre em relação aos tamanduás mantidos em cativeiro evidenciou a ocorrência de neutrofilia, devido à liberação de corticóides endógenos em tamanduás-bandeira submetidos a estresse de captura. Os tamanduás-bandeira do grupo de vida livre apresentaram contagem global de

leucócitos circulantes superior a apresentada pelos animais do grupo mantido em cativeiro, porém esta diferença não foi significativa (SATAKE, 2002).

THEIS & BUDWISER (1974) mostraram que a resposta cutânea de cães expostos sucessivamente a carrapatos não é uma resposta de hipersensibilidade basofílica, como ocorre com a reação cutânea ao ácaro desenvolvida pela maioria dos hospedeiros (BROWN & ASKENASE, 1981b). O mesmo pôde ser observado nas reações cutâneas de tamanduá-bandeira às espécies de *Amblyomma sp.*

De acordo com FALCONE et al. (2001) existe a possibilidade dos basófilos estarem associados com resposta imunológica inespecífica pela ação de suas citocinas. Segundo FERREIRA E SILVA (1999), estas mesmas citocinas possuem efeitos anti-inflamatórios, o que beneficia a ação de carrapatos numa relação de parasitismo, já que o processo inflamatório no local de fixação prejudicaria a alimentação no hospedeiro.

A presença de mastócitos em maior quantidade na pele não parasitada, pode estar relacionada com a possível degranulação de mastócitos na pele parasitada associada as relações de parasitismo, atuando no processo inflamatório com liberação de substâncias quimiotáticas e imunomodulatórias. Mastócitos e basófilos degranulados foram vistos no local de fixação do carrapato (BROSSARD E FIVAZ, 1982). Muitos mastócitos foram observados próximos a vasos sangüíneos, mas distantes da área de contagem. BROWN (1988) comenta que mastócitos podem carrear anticorpos de superfície e sugere que estes ajam como a primeira linha de defesa contra carrapatos, induzindo vasodilatação ao liberar fatores vasoativos. De acordo com um trabalho realizado por SZABÓ et al. (1995b), os mastócitos podem ser vistos em números significativos na pele de cães parasitados por *Rhipicephalus sanguineus*. Essas células possuem IgE ou IgG de superfície, que são liberadas quando expostos aos antígenos do parasita.

Embora ainda seja especulativo, pode-se inferir que a pequena quantidade de basófilos indique falta de resistência eficaz a carrapatos nesses hospedeiros. Sob essas condições, a transmissão de patógenos pelos carrapatos é facilitada, associando-se essa relação de parasitismo com a transmissão de doenças.

Assim, pode-se supor que as reações inflamatórias observadas possivelmente envolvem uma resposta imune. Ao mesmo tempo, embora tamanduás sejam hospedeiros naturais de uma variedade de espécies de *Amblyomma sp.*, o significado dos achados descritos é ainda obscuro, por não haver informação sobre a resistência desses animais a carrapatos causando as lesões encontradas. A idade das lesões é também um fator indeterminado, por não haver informação sobre o período de parasitismo para cada biópsia, por se tratar de animais de vida livre. A falta dessas informações seria sanada com a realização de pesquisas de infestação experimental e controlada de tamanduás-bandeira por carrapatos do gênero *Amblyomma*.

Existem importantes variações na forma e no tipo de resposta imune predominante em diferentes hospedeiros reagindo a um mesmo parasita (HOEPPLI & FENG, 1931, TRAGER, 1940; CHABAUD, 1950). Pouco se sabe sobre a ocorrência de resistência a carrapatos em hospedeiros naturais (RANDOLPH, 1979), embora RIBEIRO (1989) tenha estabelecido que estas associações são caracterizadas por uma resistência ineficiente ou inexistente, e sugere que estas falhas estejam relacionadas com uma série de adaptações evolucionárias entre o parasita e seu hospedeiro.

Considerando que tanto o parasita quanto seu hospedeiro estão em estado de evolução, a qual se dá através de variação genética apropriada para a perpetuação das espécies, pode-se supor a extrema complexidade dos aspectos imunológicos envolvidos no parasitismo (MITCHELL, 1979).

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Um aspecto importante do projeto foi o dimensionamento das dificuldades na captura dos animais silvestres na natureza. Esta captura, bem como a coleta de material, exige um esforço coletivo grande, nem sempre bem sucedido. Não raro, optou-se pela coleta reduzida de material para preservar a integridade do animal e segurança dos pesquisadores e colaboradores. Dessa forma, deve-se valorizar ao máximo qualquer material colhido de animais silvestres de vida livre, pelos custos envolvidos.

São grandes as dificuldades enfrentadas pelo clínico e patologista de animais silvestres no que diz respeito a valores de referência para a maioria das espécies, devido principalmente ao pequeno número de animais disponíveis para a realização destes estudos e às dificuldades em se trabalhar com animais de vida livre. A escassez de literatura disponível impede a elucidação de dúvidas que, com frequência, surgem durante as pesquisas.

Entretanto, tais condições desfavoráveis tornam a pesquisa merecedora de destaque, pois seus resultados são raros e árduos, deixando inúmeras questões sem resposta precisa, a espera de um próximo pesquisador.

## CONCLUSÃO

A lesão cutânea no local de fixação do carrapato em Tamanduás-bandeira *Myrmecophaga tridactyla* (Linnaeus 1758) revelou reação inflamatória moderada predominantemente por neutrófilos e células mononucleares (linfócitos e macrófagos), e hiperplasia epidérmica significativa.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Cellular and molecular immunology. 4<sup>th</sup> ed., W.B. Saunders Company, 2000.

ABUDE, A.C. O carrapato deixando seu animal de cama. Disponível em: <<http://www.afinidades.com.br/clinivet/materias/carrapato.html>>. Acesso em: 29 out. 2003.

AESCHLIMANN, A. Ticks and disease: susceptible hosts, reservoir hosts and vectors. Chapter 8. In: TOFT, C.A.; AESCHLIMANN, A.; BOLIS, L. **Parasite-host Associations Coexistence or conflict?** Oxford University Press, Editors:, 1991, p.148-56.

ALHO, C.J.R.; CAMPOS, Z.M.S.; GONÇALVES, H.C. Ecologia de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*, Rodentia) do Pantanal: -I. Habitats, densidades e tamanho de grupo. **Revista Brasileira Biológica**, v.47, n.1/2, p.87-97, 1987.

ALLEN, J.R. Tick resistance: basophils in skin reactions of resistant guinea pigs. **International Journal of Parasitology**, v.3, p.195-200, 1973.

ALLEN, J.R.; DOUBE, B.M.; KEMP, D.H. Histology of bovine skin reactions to *Ixodes holocyclus* Neuman. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, v.41, p.26-35, 1977.

ARAGÃO, H.B.; FONSECA, F. Confirmação de *Ixodes aragaoi*, Fonseca, 1953, de *ixodes amarali*, Fonseca, 1935, e de lista de espécies do gênero *Ixodes* que ocorrem no Brasil (Acari, Ixodidae). **Memórias do instituto Oswaldo Cruz**, v.50, p.727-728, 1952.

BAINTON, D.F. Developmental biology of neutrophils and eosinophils. In: GALLIN, J.I.; GOLDSTEIN, I.M.; SNYDERMAN, R. **Inflammation: Basic principles and Clinical Correlates**. New York, Raven Press, 1992, p.303-324.

BECHARA, G.H. et al. Immunisation of dogs, hamsters and guinea pigs against *Rhipicephalus sanguineus* crude unfed adult ticks extract. **Veterinary Parasitology**, v.52, p.79-90, 1994.

BECHARA, G.H. et al. Ticks associated with wild animals in the Nhecolandia Pantanal, Brazil. **Annals of New York Academy of Science**, v.916, p.289-297, 2000.

BECHARA, G.H. et al. Ticks associated with armadillo (*Euphractus sexcinctus*) and anteater (*Myrmecophaga tridactyla*) of Emas National Park, State of Goias, Brazil. **Annals of New York Academy of Science**, v.969, p. 290-293, 2002.

BERESCA, A.M.; e CASSARO, K. Biology and captive management of armadillos and anteaters. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine and surgery of south american wild animals**. Ames: Iowa State University, 2001, p. 238-245.

BICKEL, C.L.; MURDOCK, G.K.; SMITH, M.L. Hand-feeding a giant anteater *Myrmecophaga tridactyla* at Denver Zoo. **International Zoo Yearb.** v.16, p.195-198, 1976.

BROSSARD, M.; FIVAZ, V. *Ixodes ricinus* L.: mast cells, basophils and eosinophils in the sequence of cellular events in the skin of infested and reinfested rabbits. **Parasitology**, v.85, p.583-592, 1982.

BROSSARD, M.; WIKEL, S.K. Immunology of interactions between ticks and hosts. **Medical Veterinary Entomology**, v.11, p.270-276, 1997.

BROWN, S.J. Highlights of contemporary research on host immune responses to ticks. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.28, p.321-334, 1988.

BROWN, S.J.; ASKENASE, P.W. Cutaneous basophil responses and immune resistance of guinea pigs to ticks: passive transfer with peritoneal exsudate cells or serum. **Journal of Immunology**, Baltimore, v.127, n.5, p.2163-2167, 1981.

BROWN, S.J. , ASKENASE, P.W. Analysis of host components mediating immune resistance to ticks. In: GRIFFITHS, D.A., BOWMAN, C.E. (Ed.) **Acarology VI**. New York: Ellis Horwood, v.2, p.1040-49, 1984.

BROWN, S.J.; GALLI, S.J.; GLEICH, G.J.; ASKENASE, P.W. Ablation of immunity to *Amblyomma americanum* by anti-basophil serum: cooperation between basophils and eosinophils in expression of immunity to ectoparasites (ticks) in guinea pigs. **Journal of Immunology**, Baltimore, v.129, n.2, p.790-796, 1982.

BYRNE, P.S. Giant ant-eaters born in zoo. **Jornal of British Guiana Museum Zoo Roy. Agriculture Commercial Society**, v.36, p.28-29, 1962.

CALDAS NOVAS. **Tamanduá-bandeira**. Disponível em: <[http://www.caldasnovas.gov.br/taman\\_ban\\_html](http://www.caldasnovas.gov.br/taman_ban_html)>. Acesso em: 29 out. 2003.

CAMPOS PEREIRA, M. et al. . Ticks (Acari:Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.37, n.6, p.979-983, 2000.

CASSATELLA, M.A. The production of cytokines by polymorphonuclear neutrophils. **Immunology Today**, v.16, n.1, p.21-26, 1995.



CASTRO, H.P.; PEREIRA, C. Alimentação das proteroninfas de *Boophilus* (*Uroboophilus*) *microplus* Can., 1888 (Ixodidae) com restos necróticos da reação tissular do hospedeiro. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.17, p.149-162, 1946.

CHABAUD, A.G. L'infestation par des ixodines provoque-t-elle une immunité chez l-hôte (2me note). **Annals of Parasitology**, v.25, n.5-6, p.474-479, 1950.

CHAMPAGNE, D.E. The role of salivary vasodilators in bloodfeeding and parasite transmission. **Parasitology Today**, v.10, n.11, p.430-433, 1994.

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; COLLINS, T. **Robbins pathologic basis of disease**, Philadelphia, 6ª edição, p.70-3, 2000.

CRESPO, J.A. Ecología de la comunidad de mamíferos del Parque Nacional Iguazú, Misiones. **Rev. Mus. Argent. Cienc. Nat. "Bernardino Rivadavia"**, Ecol. v.3, n.2, p.45-162, 1982.

CUTOLO, A.A.; LABRUNA, M.B.; TONIN, F.B.; SARTOR, I.F. *Amblyomma calcaratum* parasitando tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) em São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.52 n.2, 2000.

DINEEN, J.K. Immunological aspects of parasitism. **Nature**, v.17, p.268-69, 1963.

DONOHUE, J.G.; PIESMAN, J.; SPIELMAN, A. Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.36, p.92-96, 1987.

DVORAK, A.M.; GALLI, S.J.; SCHULMAN, E.S.; LICHTENSTEIN, L.M.; DVORAK, H.F. Basophils and mast cells degranulation: ultrastructural analysis of mechanisms of mediators release. **Federation Proceedings**, v.42, p.2510-2515. From the minisymposium Mechanism of mediator Release, 1983.

EISENBERG, J.F.; REDFORD, K.H. **Mammals of the tropics**. Chicago: The University of Chicago, 1999, p.609.

ENCICLOPÉDIA CONHECER, Ed. Abril, v.3, p.555, 625-627, 1968.

EULALIO, K.D.; DE MACEDO, R.L.; CAVALCANTI, M.A.; MARTINS, L.M.; LAZERA, M.S.; WANKE, B. *Coccidioides immitis* isolados de tatus (*Dasypus novemcinctus*) no estado do Piauí, Brasil. **Mycopathologia**, v.149, n.2, p.57-61, 2001.

FALCONE, F.H.; PRITCHARD, D.I. Do basophils play a role in immunity against parasites?. **Elsevier Science**, Amsterdam, 2001.

FERREIRA, B.R. Estudo comparativo do desenvolvimento da resistência a carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) em cachorro-do-mato *Cerdocyon chous* (Linneus) e no cão doméstico. 1994, f.4 Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1994.

FERREIRA, B.R; SILVA, J.S. Successive tick infestations selectively promote a T-helper 2 cytokine profile in mice. **Immunology**, v.96, p.434-439, 1999.

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

FONSECA, G.A.B. et al. **Livro vermelho dos animais brasileiros ameaçados de extinção**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1994, p.479.

FRASER, C.M., MAYS, A. (Ed) **The Merck veterinary manual**. 6 ed. New Jersey: Merck, 1986, p.815-819.

GALLI, S.J.; DVORAK, H.F. Basophils and mast cells: Structure function, and role in hypersensitivity. In: GUPTA, S.; GOOD, R.A., (eds.) **Cellular, molecular and clinical aspects of allergic disorders**. New York: Plenum Press, 1979, p.1.

GENCHI, C. Arthropoda as zoonoses and their implications. **Veterinary Parasitology**, v.44, p.21-33, 1992.

GILLESPIE, D.S. Edentata: diseases. In: FOWLER, M.E. **Zoo and wild animal medicine**. 3<sup>a</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993, p.304-309.

GORDON, J.R.; BURD, P.R.; GALLI, S.J., Mast cells as a source of multifunctional cytokines. **Immunology Today**, v.11, p.458-68, 1990.

GRIGORYEVA, L.A. [Histopathologic changes of bird skin in feeding places of ticks of the genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae)]. **Parazitologiya**, v.35, n.6, p.409-495, 2001.

GRIGORYEVA, L.A. [Histopathological changes in lizard skin (Reptilia: Lacertidae) in feeding places of ticks of the genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae)]. **Parazitologiya**, v.36, n.5, p.375-378, 2002.

HARDIN, C.J. Hand-rearing a giant anteater *Myrmecophaga tridactyla* at Toledo Zoo. **Internatinal Zoo Yearb**, v.15, p.199-200, 1976.

HEATH. J.W.; YOUNG, B. **Histologia funcional**, 4<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2000, p.50-56.

HOEPPLI, R.J.C., FENG, L.C. Histological reactions in the skin due to ectoparasites: *Dermacentor sinicus* from Hedgehod; *Haemaphysalis campanulata*

*hoepplian* from dog; *Cimex lecturalis* and *Pediculus vestimentia* from man. **National Medicine Journal of China**, New Delhi, v.17, p.541-556, 1931.

HOLMES, J.C.; HOBBS, R.P.; LEONG, T.S. Populations in perspective: community organization and regulation of parasite populations. In: ESCH, G.W., (ed.) **Regulation of parasite populations**, New York: Academic Press, 1997, p.209-45.

HOOGSTRAAL, H. Biology of ticks. In: WILDE, J.K.H. Tick-borne diseases and their vectors. In: INTERNATIONAL CONFERENCE OF ACAROLOGY: **Proceedings of the International Conference of Acarology**, Edinburgh, Scotland, 1976. p.3-14.

HOOGSTRAAL, H. Ticks. In: GAAFAR, S.M., HOWARD, W.E., MARSH, R.E. **Parasites, pests and predators**. Amsterdam: Elsevier, 1985. p.347-370.

HORAK, I.G.; CAMICAS, J.L.; KEIRANS, J.E. The argasidae, ixodidae and nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. **Experimental Applied Acarology**, v.28, n.1-4, p.27-54, 2002.

HOSKINS, J.D.; CUPP, E.W. Ticks of veterinary importance. Part 1. The ixodidae family: identification, behaviour and associated diseases. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.10, n.5, p.564-580, 1988.

HUNTLEY, J.F. Mast cells and basophils: a review of their heterogeneity and function. **Journal of Comparative Pathology**, v.107, p.349-372, 1992.

JONES, E.K.; CLIFFORD, C.M.; KEIRANS, J.E.; KOHLS, G.M. The ticks of Venezuela (Acarina :Ixodidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the

western hemisphere. **Biological Series Brigham Young University Science Bulletin**, v.17, p.1-40, 1972.

KAUFMAN, W.R. Tick-host interaction: a synthesis of current concepts. **Parasitology Today**, v.5, n.2, p.47-56, 1989.

KEMP, D.H.; BOURNE, A. *Boophilus microplus*: the effect of histamine on the attachment of cattle tick larvae – studies “in vivo” and “in vitro”. **Parasitology**, Cambridge, v.80, p.487-96, 1980.

KOTWAL, G.J. The grate escape: Immune evasion by pathogens. **Immunologist**, v.4, p.157-164, 1996.

LABRUNA, M.B.; PEREIRA, M.C. Carrapato em cães no Brasil. In: **Clínica Veterinária**, n.30, p.24-32, 2001.

LEMOS, E.R.S.; MACHADO, D.R.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A A.; FREIRE, N.M.S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in wild animals captured in the state of São Paulo, Brazil. A preliminary report. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.91, n.3, p.273-275, 1996a.

LEMOS, E.R.S.; MELLES, H.H.B.; COLOMBO, S.; MACHADO, D.R.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A A.; SANSEVERINO, S.R.; MOURA, A. Primary isolation of spotted fever group Rickettsiae from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.91, n.3, p.273-275, 1996b.

LLOYD, A.R.; OPPENHEIM, J.J. Poly's lament: the neglected role of the polymorphonuclear neutrophil in the afferent limb of the immune response. **Immunology Today**, v.13, n.5, p.169-172, 1992.

MacDONALD, D. **The encyclopedia of mammals**. New York: Facts On File, 1985, p.770-785.

MARRACK, P.; KAPLER, J. Subversion of immune system by pathogens. **Cell**, v.76, p.323-332, 1994.

MARTINS, J.R.; MEIRE, I.M.; OLIVEIRA, C.M.B.; GUGLIELMONE, A.A. **Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Mato-grossense**. Disponível em <http://www.carrapatobovino.hpg.ig.com.br/ocorre1.pdf>, acesso em 29/10/2003.

MENDES, M.C. Testes “*in vitro*” da eficácia de carrapaticidas em amostras de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 23; 1994 Olinda. Anais da Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária, 1994, p.304.

MERRETT, P.K. Edentates. Zoological Trust of Guernsey, La Villiaze, Saint Andrew`s, Guernsey, 1983.

MEYERS, W.M., GORMUS, B.J., WALSER, G.P. Nonhuman sources of leprosy. In: **J. Lepr. Other Mycobact. Dis.**, v.60, n.3, p.477-480, 1992.

MITCHELL, G.F. Effector cells molecules and mechanisms in host-protective immunity to parasites. **Immunology**, v.38, p.209-23, 1979.

MORAES, F.R. **Avaliação comparativa e recíproca da relação parasito-hospedeiro em Taurinos e zebuinos naturalmente infestados por *Boophilus microplus* (Canestrini)**: Aspectos morfológicos e patológicos, 1988, f.43. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1988.

MORELLI JR., J. **Reação de hipersensibilidade cutânea em bovinos *Bos taurus* e *Bos indicus* ao carrapato *Boophilus microplus* (Acarina: Ixodidae)**, 2000, Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)– Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

MORRISON, W.I. Host effector mechanisms against parasites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 25, p. 163-176, 1987.

MURAKAMI, T.O.; SILVA, D.M. Estudos preliminares da sensibilidade “in vitro” de *Boophilus microplus* a carrapaticidas na região de Ribeirão Preto, SP. **Arq. Inst. Biol.**, v.64, p.34, 1997.

OBEREM, P.T. The immunological basis of host resistance to ticks – a review. **Journal of the South Africa Veterinary Association**, Pretoria, v.55, n.4, p.215-217, 1984.

OLIVEIRA, G.P.; FREITAS, A.R. Diagnóstico de situação de carrapato/resistente *Boophilus Microplus* Canestrini 1888 em fazendas da região de São Carlos, SP. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.65, p.74, 1998.

PAIGE, C.F., SCHOLL, D.T, TRUMAN, R.W. Prevalence and incidence density of *Mycobacterium leprae* and *Trypanosoma cruzi* infections within a population of wild nine-banded armadillos. **American Journal of Tropical Medicine Hygiene**, v.67, n.5, p.528-532, 2002.

PAINE, S.H.; KEMP, D.H.; ALLEN, J.R. In vitro feeding of *Dermacentor andersoni* (Stiles): effects of histamine and other mediators. **Parasitology**, Cambridge, v.86, p.419-428, 1983.

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

RECHAV, Y. Naturally acquired resistance to ticks- a global view. **Insect Sci. Appl.**, v.13, n.4, p.495-504, 1992.

REVISTA GLOBO RURAL, Ed. Globo, n.63, p.62-5, 1991.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in tick/host interactions. **Exp. Appl. Acarol**, v.7, p.15-20, 1989.

RIBEIRO, J.M.C.; MAKOUL, G.T.; LEVINE, J.; ROBINSON, D.R. and SPIELMAN, A. Antihemostatic, antiinflammatory and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes dammini*. **Journal of Experimental Medicine**, v.161, p.332-344, 1985.

RIEK, R.F. Studies on the reactions of animals to infestation with ticks. VI. **Aust. J. Agric. Res.**, v.13, n.3, p.532-50, 1962.

ROBERTS, J.A. Acquisition by the host of resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.54, p.657-662, 1968.

RODRIGUES, S.M., AURICCHIO, P. **Mamíferos do Brasil**. (Coleção Terra Brasilis, série Zoologia – Zoo V), 1994.

ROJAS-ESPINOSA, O.; LOVIK, M. *Mycobacterium leprae* and *Mycobacterium lepraemurium* infections in domestic and wild animals. **Rev Sci Tech**, v.20, n.1, p.219-251, 2001.



SATAKE, F. Hemograma e constituintes bioquímicos do sangue de tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) de vida livre e de cativeiro, 2002, f.1 Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

SHATROV, A.B. Histopathological changes in the skin of the rabbit fed on by preimaginal phases of the tick, *Alveonatus lahorensis* (Argasidae). **Parazitologiya**, v.13, n.3, p.212-7, 1979.

SHAW, J.H.; MACHADO-NETO, J.; CARTER, T.S. Behavior of free-living anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **Biotropica**, v.19, p. 255-259, 1987.

SILVA-VERGARA, M.L.; MARTINEZ, R.; CAMARGO, Z.P.; MALTA, M.H.; MAFFEI, C.M.; CHADU, J.B. Isolation of *Paracoccidioides brasiliensis* from armadillos (*Dasypus novemcinctus*) in an area where the fungus was recently isolated from soil. **Medical Mycology**, v.38, n.3, p.193-199, 2000.

SINKOC, A.L.; BRUM, J.G.W.; MÜLLER, G.; BEGROW, A.; PAULSEN, R.M.M. Ocorrência de *Ixodidae* parasitos de capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris* LINNEUS, 1766) na estação ecológica do Taim, Rio Grande – RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.27, n.1, p.119-122, 1997.

SMIELOWSKI, J., STANISLAWSKI, P. e TAWORSKI, T. Breeding the giant anteater. **International Zoo News**, v. 5, n.174, p. 1-6, 1981.

SPIELMAN, A.; TELFORD, S.R.; POLLACK, R.J. The origin and course of the present outbreak of Lyme disease. In: GINSBERG, H.S. **Ecology and Environmental Management of Lyme Disease**, Rutgers University Press, 1993, p.83-96.

SPRY, C.J.F. Eosinophils and their mediators. In: LACHMAN, P.J.; PETERS, K.; ROSEN, F.S.; WALPORT, M.J. **Clinical Aspects of immunology**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1993, p.523-48.

SRAN, H.S.; GREWAL, A.S.; KONDAL, J.K., Enhanced immunity to *Hyalomma anatolicum anatolicum* ticks in crossbred (*Bos indicus* x *Bos taurus*) calves using ascaris extract immunomodulator with the tick salivary gland extract antigens. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.51, p.333-43, 1996.

STREILEIN, J.W. Lymphocyte traffic, T cell malignancies and the skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v.71, p.167-171, 1978.

STREILEIN, J.W. Skin associated lymphoid tissues (SALT): the next generation. In: BOS, J.D. (ed.). **Skin immune system (SIS)**. Boca Raton: CRC Press, 1990, p.25-48.

SZABÓ, M.P.J. Aspectos imunopatológicos da resistência a carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) em cães e cobaias. Dissertação (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

SZABÓ, M.P.J., BECHARA, G.H. An insight into the histopathology caused by the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acarina: Ixodidae) in the skin of previously infected, vaccinated or tick-bite naive dogs, guinea pigs and hamsters. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.32, n.1, p.37-42, 1995a.

SZABÓ, M.P.J., BECHARA, G.H. Sequential histopathology at the *Rhipicephalus sanguineus* tick feeding site on dogs and guinea pig. **Exp. Appl. Acarol.**, 23: 915-928, 1999.

SZABÓ, M.P.J.; MORELLI, JR.; BECHARA, G.H. Cutaneous hypersensitivity in dogs and guinea-pigs by extracts of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), **Experimental and Applied Acarology**, v.19, p.732-730, 1995c.

SZABÓ, M.P.J., MUKAI, L.S., ROSA, P.C.S., BECHARA, G.H. Differences in the acquired resistance of dogs, hamsters, and guinea pigs to repeated infestations with adult ticks of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 32 (1): 43-50, 1995a.

TATCHELL, R.J. Host-parasite interactions and the feeding of blood-sucking arthropods. **Parasitology**, Cambridge, v.59, p.93-104, 1969.

TATCHELL, R.J. Interactions between ticks and their hosts. **International Journal of Parasitology**, Lawrence, v.17, p.597-606, 1987.

TATCHELL, R.J.; MOORHOUSE, D.E. The feeding process of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini). II. The sequence of host-tissue changes. **Parasitology**, Cambridge, v.58, p.441-559, 1968.

TELFORD, S.R.; MATHER, T.N.; MOORE, S.I.; WILSON, M.L.; SPIELMAN, A. Incompetence of deer as reservoirs of the Lyme disease spirochetes. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.39, p.105-109, 1988.

THEIS, J.H; BUDWISER, P.D. *Rhipicephalus sanguineus*: sequential histopathology at the host-arthropode interface. **Experimental Parasitology**, v.36, p.77-105, 1974.

TRAGER, W. Acquired immunity to ticks. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.25, p.57-81, 1939.

TRAGER, W. A note on the problem of acquired immunity to *Argasid* ticks. **Journal of Parasitology.**, Lawrence, v.26., p.71-74, 1940.

Van Der HEIJDEN, K.M. **Carrapatos em capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) mantidas em cativeiro: espécies envolvidas e reação celular elicitada no hospedeiro. [Ticks in captive capybaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*): involved species and cellular reaction in the host]**, 2000. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

VÁSQUEZ, C.C.; VÁSQUEZ, Z.G.; QUINTERO, M.T. Avances en la inmunización contra garrapatas del ganado bovino. **Vet Méx.**, v.26, n. 3, p.251-262, 1995.

WAGLAND, B.M. Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. I. Response of previously unexposed cattle to four infestations with 20000 larvae. **Aust. J. Agric. Res.**, v.26, p.1073-1080, 1975.

WAGLAND, B.M. Host resistance to cattle tick (*Boophilus microplus*) in Brahman (*Bos indicus*) cattle. II. The dynamics of resistance in previously unexposed and exposed cattle. **Aust. J. Agric. Res.**, v.29, p.395-400, 1978.

WAKELIN, D. **Ecological aspects of parasitology.** Amsterdam, North-Holland, 1976, chap.6, p.115-41.

WALKER, A.R.; FLETCHER, J.D. Skin test to detect resistance of cattle to *Rhipicephalus appendiculatus* fed on ticks. **Medical and Veterinary Entomology**, v.4, p.321-325, 1990.

WEISS, S.J. Tissue destruction by neutrophils. **New England Journal of Medicine**, v.320, n.6, p.365-76, 1989.

WENKER, C.J.; KAUFMAN, L.; BACCIARINI, L.N.; ROBERT, N. Sporotrichosis in a nine-banded armadillo (*Dasypus novemcinctus*). **Journal of the Zoological Wild Life Medicine**, v.29, n.4, p.474-478, 1998.

WHITED, J.; CHANG, H.G.; BENACH, J.L.; BOSLER, E.M.; MELDRUM, S.C.; MEANS, R.G.; DEBBIE, J.G.; BIRKHEAD, G.S.; MORSE, D.L.; The geographic spread and temporal increase of the Lyme disease epidemic. **Journal of the American Medical Association**, v.266, p.1230-1236, 1991),.

WHITEFIELD, P.J., 1979 apud KIM, K.C., p.55, 1985.

WIKEL, S.K. Histamine content of tick attachment sites and the effects of H1 and H2 histamine antagonists on the expressions of resistance. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**., v.76, n.2, p.172-85, 1982.

WIKEL, S.K. Immunology of the skin. In: ----- (Ed.) **The immunology of host-ectoparasites arthropod relationships**. Wallingford: Cab International, 1996a, p.1-29.

WIKEL, S.K. Immunology of the tick-host interface. In: ----- (Ed.) **The immunology of host-ectoparasites arthropod relationships**, Wallingford Cab International, 1996b, p.204-231.

WIKEL, S.K. Tick modulation of host cytokines. **Experimental Parasitology**, v.84, p.304-9, 1996c.

WIKEL, S.K.; ALLEN, J.R. Acquired resistance to ticks. II. Effects of cyclophosphamide on resistance. **Immunology**, v.30, p.479-484, 1976.

WIKEL, S.K.; ALLEN, J.R. Immunological basis of host resistance to ticks. In: OBENCHAIN, F.D., GALUN, R. (Ed.) **Physiology of ticks**. Oxford: Pergamon Press, 1982, p.169-196.

WIKEL, S.K.; GRAHAM, J.E.; ALLEN, J.R. Acquired resistance to ticks. IV. Skin reactivity and in vitro lymphocyte responsiveness to salivary gland antigen. **Immunology**, v.34, p.257-263, 1978.

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

WIKEL, S.K.; RAMACHANDRA, R.N.; BERGMAN, D.K. Arthropod modulation of host immune response. In: Wikel, S.K. (Ed.) **The Immunology of Host-Ectoparasites Arthropod Relationships**. Wallingford Cab International, , p.107-130.

WILLADSEN, P. Immunity to ticks. **Qdv. Parasitol.**, v.18, p.293-313., 1980

WILLADSEN, P. Novel vaccines for ectoparasites. **Vet Immunol.**, v.71, p.209-22, 1997.

WILLADSEN, P.; KEMP, D. Past, **Present and Future of Vaccination Against Ticks. Control de La Resistencia en Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria y Enfermedades que transmiten**. In: IV SEMINARIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 1999, Puerto Vallarta, p.131-140.

WILLADSEN, P.; JONGEJAN, F. Immunology of the tick-host interaction and the control of ticks and tick-borne diseases. **Parasitology Today**, v.15, p.258-262, 1999.

WITHERS, P.C. Temperature. In: **Comparative animal physiology**. Fort Worth: Saunders College, 1992, p.122-191.

ZAHER, M.A. History of Acarology in Egypt. *In: 3<sup>rd</sup> African Acarology Symposium*, Cairo, Egito, Program and Abstracts, p.1, 2004.

## ANEXOS

### A) Soluções fixadoras

#### 1) Formalina Tamponada 10%

Formaldeído 40%.....	500ml
Difisfato de Sódio.....	32,5g
Monofosfato de Sódio.....	20g
Água destilada.....	4,500ml

#### 2) Glutaraldeído 4%

Glutaraldeído 25%.....	16ml
CaCl 1%.....	0,8ml
PBS.....	83,2ml

#### 3) PBS 0,01M 7,2 pH

Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .....	1,48g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,43g

### B) Soluções corantes

#### 1) Acetato de Uranila 2%

Acetato de uranila.....	1g
Etanol 50%.....	50ml

#### 2) Solução de Citrato de Chumbo

Nitrato de Chumbo.....	1,35g
Citrato de Sódio.....	1,46g
Água Destilada fervida.....	30ml