
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

LÍVIA ELISA SASSERON DA COSTA

**COMPARAÇÃO MORFO-FISIOLÓGICA DOS
TIPOS CELULARES ENCONTRADOS NA
HEMOLINFA DE CARRAPATOS
Rhipicephalus sanguineus (Ixodidae) e
Ornithodoros rostratus (Argasidae)**

LÍVIA ELISA SASSERON DA COSTA

COMPARAÇÃO MORFO-FISIOLÓGICA DOS TIPOS CELULARES
ENCONTRADOS NA HEMOLINFA DE CARRAPATOS *Rhipicephalus*
sanguineus (Ixodidae) e *Ornithodoros rostratus* (Argasidae)

Orientador: Maria Izabel Camargo Mathias

Co-orientador: Pablo Henrique Nunes

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Biociências da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” -
Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau
de Licenciada em Ciências Biológicas.

Rio Claro
2013

595.42 Costa, Livia Elisa Sasseron da
C837c Comparação morfo-fisiológica dos tipos celulares encontrados na hemolinfa de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae) e *Ornithodoros rostratus* (Argasidae) / Livia Elisa Sasseron da Costa. - Rio Claro, 2013
42 f. : il., fots.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Maria Izabel Souza Camargo
Coorientador: Pablo Henrique Nunes

1. Ácaro. 2. Morfologia celular. 3. Hemócitos. 4. Estrutura. I. Título.

Dedico este meu trabalho aos meus
pais, Rubens e Élina, aos meus
irmãos, Ruben e Rafael, às minhas
cunhadas, Milena e Renata, ao meu
sobrinho, Gabriel, e ao meu namorado,
Gabriel.

Agradecimentos

Em primeiro lugar, agradeço aos meus pais, Rubens e Élina, meus exemplos de força, trabalho e honestidade, sempre me ensinando que estas qualidades são imprescindíveis para conseguir o que se almeja. Agradeço também o apoio emocional nesta caminhada, desde o momento da escolha do curso até os momentos de desespero com provas, trabalhos. Além disso, não posso deixar de agradecer o aporte financeiro, o qual me proporcionou estabilidade e conforto, sendo possível focar-me completamente em minha graduação, sem outras preocupações.

Agradeço aos meus irmãos, Ruben e Rafael, e minhas cunhadas, Milena e Renata, por estarem sempre presentes nos momentos de alegria e tristeza durante não só o período de minha graduação, mas também por toda minha vida. Agradeço também a cumplicidade e os conselhos nos momentos de angústia e indecisão, transformando a experiência e maturidade de vocês em calma e segurança para mim.

Também quero agradecer ao meu namorado, Gabriel, que por algum tempo vivenciou o meu dia-a-dia na graduação, vendo de perto minhas conquistas e meus tropeços, comemorando os bons acontecimentos em alguns dias ou me ouvindo reclamar em outros. Agradecer as nossas madrugadas de estudos, nas quais eu sempre abandonava o barco e pegava no sono, mas, com certeza, elas foram essenciais para que eu conseguisse concluir algumas disciplinas.

Uma pessoa especial, meu sobrinho Gabriel, chegou agora no final da minha graduação, mas já é muito importante na minha vida e merece todo o meu agradecimento. Ele é uma das pessoas mais fortes que eu conheço e que conhecerei em toda minha vida e essa sua força me fez encarar a vida de uma outra forma, dando menos valor aos pequenos problemas.

Meus amigos foram, cada um com o seu jeito particular de ser, fundamentais para que eu construísse essa formação. Agradeço em especial às minhas amigas Fernanda Navarro Song e Gabriela de Lima Fregonezi, as quais dividi não só uma casa, mas também alegrias, tristezas, problemas e soluções. Agradecer pelo fato delas terem me aguentado por vários anos em qualquer circunstância, pois elas estavam ali, do meu lado e eram as primeiras pessoas com quem eu podia

desabafar e compartilhar meus problemas ou minhas vitórias. Agradeço à minha amiga, Luiza Helena Bueno da Silva, com a qual dividi esforços para que esse trabalho fosse desenvolvido e concluído. Sem sua ajuda, com certeza, este trabalho não seria o mesmo.

Todos os meus professores foram fundamentais nesta minha jornada, cada um transmitindo sua especificidade sobre o conhecimento biológico. Agradeço em especial à minha orientadora, a Profa. Dra. Maria Izabel Camargo Mathias, que me ensinou muito sobre Biologia Celular e sobre trabalhos acadêmicos e sem os seus ensinamentos este presente trabalho não teria acontecido. Agradeço também ao meu co-orientador, Pablo Henrique Nunes, que compartilhou comigo muitos dos seus conhecimentos sobre Biologia Celular, práticas laboratoriais e histológicas e, sem tais aprendizados, este trabalho não teria saído do papel.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	07
2. OBJETIVOS.....	13
2.1. Objetivos Gerais.....	13
2.2. Objetivos Específicos.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. Coleta da Hemolinfa.....	14
3.2. Microscopia de Luz.....	14
3.3. Coloração de Giemsa segundo Kiernan (2008).....	15
3.4. Microscopia Confocal de Varredura a Laser.....	15
4. RESULTADOS.....	16
4.1. Microscopia de Luz.....	16
4.1.1. <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	16
4.1.2. <i>Ornithodoros rostratus</i>	22
4.2. Microscopia Confocal de Varredura a Laser.....	26
5. DISCUSSÃO.....	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

Resumo

Os carrapatos são ectoparasitas hematófagos que apresentam grande importância econômica e médico-veterinária por transmitirem patógenos para os diversos hospedeiros, bem como por causarem redução na qualidade da carne, couro e leite devido à sua ação espoliativa. A espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae), conhecida popularmente como “carrapato do cão” tem ampla distribuição geográfica e é a principal responsável pela transmissão de patógenos aos cães domésticos, além de ser potencial transmissora destes para a espécie humana. A espécie *Ornithodoros rostratus* (Argasidae) conhecida como “carrapato do chão” é encontrada principalmente na região centro-oeste do Brasil e tem causado problemas, tais como grandes hematomas na pele do hospedeiro, principalmente dos suínos e dos animais silvestres, além de humanos, devido a sua fixação. O tecido fluído desses animais é a hemolinfa, a qual é composta por plasma linfático e por diversos tipos de células, ainda pouco estudadas. A hemolinfa é responsável pelo transporte de diversas substâncias importantes para a sobrevivência do animal, tais como enzimas, hormônios e resíduos a serem excretados pelo organismo. O objetivo deste trabalho foi o de realizar uma descrição comparativa e detalhada das células encontradas na hemolinfa das duas espécies de carrapatos citadas.

Palavras chave: Ixodidae, carrapatos, hemolinfa, *Rhipicephalus sanguineus*, Argasidae, *Ornithodoros rostratus*.

1. Introdução

Os carrapatos, artrópodes pertencentes à Classe Arachnida e Subclasse Acari, estão divididos em três famílias, sendo estas: Ixodidae (692 espécies), Argasidae (186 espécies) e Nuttalliellidae (1 espécie) (NAVA et al., 2009).

Esses animais são ectoparasitas, hematófagos, podendo também se alimentar de linfa e de restos tissulares (LABRUNA, 2004). O parasitismo é a principal característica que os classifica como importantes vetores de diversos agentes patogênicos, como vírus, riquetsias, bactérias, espiroquetas e protozoários (FLECHTMANN, 1985). Como exemplo pode-se citar a espécie *Rhipicephalus sanguineus* que é considerada uma possível vetora de *Rickettsia rickettsii* para animais, incluindo o homem, já que estudos relataram a sua presença em humanos no Estado do Pará (SERRA-FREIRE, 2010). Esta bactéria tem sido encontrada em células do intestino, dos ovários, dos túbulos de Malpighi, das glândulas salivares e da hemolinfa dessa espécie, sendo também o microorganismo responsável pela transmissão da febre maculosa (COSTA et al., 2011). A contaminação primária causada pela *R. rickettsii* pode ocorrer em carrapatos: ou via intestino quando há ingestão de sangue com bactérias livres ou via co-alimentação, quando os carrapatos alimentam-se ao lado de outros em um mesmo hospedeiro. O sangue que é ingerido flui para o interior do carrapato através de um canal formado pela quelícera e pelo hipostômio, daí segue para a cavidade faríngea e pelo curto esôfago chegando finalmente ao intestino médio e aos divertículos. Após atravessar a barreira do trato digestório, a bactéria penetra na cavidade corporal onde sobrevive e se multiplica. Após sair do intestino médio, a *R. rickettsii* invade os hemócitos, porção celular da hemolinfa, tendo, deste modo, acesso a praticamente todos os tecidos do carrapato causando assim a contaminação generalizada. Aparentemente, a *R. rickettsii* desativa os mecanismos de defesa dos hemócitos (células sanguíneas), o que permite sua sobrevivência nos tecidos do ixodídeo e sua transmissão aos vertebrados (SOCOLOVSKI et al., 2009). Outros prejuízos podem ser causados pelo fato dos carrapatos se alimentarem do sangue de seus hospedeiros. Como exemplo pode-se citar a anemia, anorexia além do enfraquecimento do sistema imunológico, o que possibilita a aquisição de outras patologias (LABRUNA, 2004).

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* pertence à família Ixodidae e acredita-se ser originária da África, estando, contudo, presente em todos os cinco continentes (SERRA-FREIRE, 2010). Essa ampla distribuição provavelmente tenha ocorrido devido a migrações de pessoas que levaram consigo cães domésticos (hospedeiro primário) parasitados por *R. sanguineus* (LABRUNA, 2004).

No ciclo de vida do *R. sanguineus*, o parasitismo é realizado em apenas um hospedeiro e dele saem apenas quando estão ingurgitados para realizarem a ecdise (no caso dos imaturos), ou no caso das fêmeas adultas, estas, depois de completamente ingurgitadas, deixarão o hospedeiro para, no solo, realizar a postura de um grande número de ovos (4 a 5 mil) (FLECHTMANN, 1985).

A espécie *Ornithodoros rostratus* pertence à família Argasidae e pode ser encontrada parasitando animais silvestres e domésticos, geralmente em grutas frequentadas por animais hospedeiros, habitações humanas e em chiqueiros. Sua picada é muito dolorosa e causa lesões graves, bem como infecções bacterianas secundárias (FLECHTMANN, 1985).

O ciclo de vida desses animais difere daquele dos ixodídeos, uma vez que se alimentam durante horas ou alguns dias e logo em seguida abandonam o hospedeiro. Isso se repete por várias vezes e quando adultas, as fêmeas realizam, ao contrário dos ixodídeos, diversas posturas, entre um repasto e outro, o que resulta, diferentemente dos ixodídeos, num número de ovos relativamente pequeno (150) (FLECHTMANN, 1985). Além disso, os argasídeos possuem mais de um estágio de ninfa (2-8) (KOPÁČEK et al., 2010). Como os ixodídeos alimentam-se por mais tempo, sua dispersão é potencialmente maior em relação a dos argasídeos (ESTRADA-PEÑA et al., 2010).

A taxonomia da família Argasidae é controversa, devido a dois principais fatores: carência de diretrizes adequadas baseadas em características morfológicas e grande biodiversidade presente em tal família (ESTRADA-PEÑA et al., 2010). Segundo a classificação de Pospelova-Shtrom (1969), Argasidae contém duas subfamílias: a Ornithodorinae e a Argasinae. A primeira abriga duas tribos, Otobiini e Ornithodorini. O gênero *Ornithodoros* está incluído na tribo Onithodorini.

De acordo com Hoogstraal e Aeschlimann (1982), os Ixodidae estão compostos por quatro subfamílias, Amblyomminae, Haemaphysalinae, Hyalomminae e Rhipicephalinae. Esta última abriga o gênero *Rhipicephalus*. Filippova propôs uma classificação alternativa com duas subfamílias: Amblyomminae e Ixodinae (NAVA et al., 2009).

A espécie *O. rostratus* ocorre em grande parte da região do Brasil Central (FLECHTMANN, 1985). Devido à degradação ambiental, a ocupação humana e ao desenvolvimento da pecuária no Pantanal Brasileiro, a população de bovinos, de humanos e de animais domésticos aumentou. A mudança na densidade populacional de tais espécies desequilibrou as relações parasito-hospedeiros, tornando esta região um foco para o surgimento de doenças parasitárias emergentes e re-emergentes (CANÇADO, 2008).

Os Arthropoda em geral têm como veículo de circulação interna a hemolinfa, que é um tecido fluído composto por plasma linfático (porção líquida) e hemócitos (porção celular), representando de 15 a 75% do volume total do corpo do animal. Sua função é a de transportar diversas substâncias essenciais para o organismo, tais como: hormônios, enzimas, resíduos oriundos do metabolismo em direção aos órgãos excretores e substâncias nutritivas do aparelho digestório para outros tecidos. Além disso, a hemolinfa teria funções de lubrificação, armazenamento e proteção. Em insetos, especificamente, a hemolinfa atuaria também na regulação da pressão corporal, na ventilação do sistema traqueal, na eclosão, na ecdise e na expansão das asas durante a muda (ARAÚJO, 2007). Os hemócitos teriam papel no sistema ativo de defesa do animal, fagocitando microorganismos invasores ou encapsulando os parasitas quando grandes demais para serem fagocitados (ALBERTI E COONS, 1999).

A circulação da hemolinfa dos carrapatos, assim como em todos os artrópodes, é do tipo aberta, característica evolutiva resultante da desintegração das paredes celômicas presentes nos ancestrais anelídeos (OBENCHAIN e OLIVER, 1976). O sistema circulatório destes animais é constituído por um coração, uma aorta e vasos arteriais curtos (SONENSHINE, 1991).

Nos carrapatos, a hemolinfa além de circular pelo corpo via vasos, preenche a cavidade corporal banhando assim órgãos e tecidos. Resumidamente, em carrapatos, a circulação da hemolinfa ocorre da seguinte forma: o fluido, vindo dos órgãos, entra na cavidade pericardial e posteriormente no coração, através dos óstios. Logo após, deixa o coração via aorta dorsal e segue em direção à cavidade periganglionar e, a partir desta é distribuído por meio das artérias pedais (SONENSHINE, 1991).

No caso das células (hemócitos) presentes na hemolinfa dos carrapatos, vários autores sugeriram a existência de sistemas de classificação para os mesmos. Douglas (1943) classificou os hemócitos de *Dermacentor andersoni* como amebócitos. Teravsky (1957) descreveu três tipos celulares: proleucócitos, eosinófilos e basófilos. Tsvileneva (1959, 1961) descreveu dois tipos: fagócitos e trofócitos. Dolp (1970), usando o método Giemsa de coloração, diferenciou os hemócitos de *Hyalomma anatolicum excavatum*, *H. dromedarii*, *Argas persicus* e *A. arboreus*: em prohemócitos, plasmócitos e esferulócitos. Binnington e Obenchain (1982) descreveram cinco tipos diferentes: prohemócitos, plasmócitos tipo I e II, granulócitos, esferulócitos e oenocitóides (ALBERTI E COONS, 1999). Segundo Carneiro e Daemon (1997), anteriormente foi descrito na hemolinfa de *R. sanguineus*, sete tipos celulares, a saber:

- Prohemócitos (PR) – dois tipos, PR I e PR II, sendo os PR I pequenos, arredondados ou ovóides, com núcleo grande, preenchendo quase todo citoplasma. Os PR II, seriam derivados dos PR I, apresentando citoplasma eosinofílico.
- Plasmócitos (PL) – com citoplasma basofílico, podendo apresentar vacúolos e/ou grânulos. O núcleo (um ou dois) é arredondado ou oval e excêntrico.
- Granulócitos (GR) – arredondados ou ovais com granulações citoplasmáticas, mascarando um núcleo eosinofílico, de tamanho variável, central ou excêntrico. Foram divididos em: GR I (medindo até 16 μ) e GR II (superior a 16 μ).
- Esferulócitos (ES) – divididos em: ES I e ES II, tendo ES I tamanho variável e forma arredondada ou oval, com núcleo arredondado ou alongado e excêntrico e citoplasma contendo esférulas basofílicas e eosinofílicas. ES II foi subdividido em três grupos, utilizando-se os critérios de quantidade de esférulas e a forma celular: ES IIa, arredondados, ovais ou piriformes com esférulas de cor variando

de negra a marrom-acinzentada, núcleo eosinofílico, granular ou compacto e excêntrico. ES IIb variam de esféricos a fusiformes com as esférulas menores que as dos ES IIa, ocorrendo em menores quantidades, conferindo aspecto vacuolizado ao citoplasma. O núcleo é pequeno e excêntrico. ES IIc, intermediário aos tipos anteriores e semelhantes ao ES IIa em relação a quantidade e compactação das esférulas e ao ES IIb em relação à forma (fusiforme) e por apresentarem prolongamentos citoplasmáticos. O núcleo é excêntrico.

- Adipohemócitos (AD) – arredondados com tamanho variável e gotas refringentes no citoplasma. O núcleo é excêntrico.
- Oenocitóides (OE) – grandes, arredondados, com citoplasma homogêneo ou apresentando pequenas granulações refráteis. O núcleo é pequeno e excêntrico.
- Células não definidas (ND) – encontradas em baixa frequência e não se enquandram em nenhum dos tipos anteriores. Podem ser hialinas ou estarem em processo de lise. Foram encontrados elementos não-hemócitos na hemolinfa de adultos de *R. sanguineus* (fungos, bactérias, além de estruturas não definidas).

Nas espécies *Amblyomma cajennense* e *Haemaphysalis* sp, foram descritos apenas três tipos celulares: prohemócito I, plasmócito e esferulócito, sendo que o plasmócito foi o único tipo já descrito nas famílias Ixodidae e Argasidae (AMOSOVA, 1983; BRINTON e BURGDORFER, 1971; CARNEIRO e DAEMON, 1996, 1997; DOLP, 1970; DOUGLAS, 1943; EL SHOURA, 1986; KUHN e HAUG, 1994; NORDENSKIÖLD, 1905; TSILENEVA, 1959), (CARNEIRO e DAEMON, 2001).

Em relação às células do sistema imune do carrapato, os plasmócitos e os granulócitos tipo I são responsáveis pela fagocitose. Já o granulócito tipo II não realiza fagocitose. No processo hemocítico denominado de encapsulação, os tipos celulares envolvidos são os granulócitos I e II e os plasmócitos. Essas células se multiplicam e formam uma cápsula ao redor do organismo invasor (KOPÁČEK et al., 2010).

Uma vez que a classificação dos hemócitos tem se mostrado divergente entre os diversos estudiosos, no presente trabalho fez-se uma revisão detalhada sobre o assunto para melhor caracterizar essas células da hemolinfa dos carrapatos, assim

como esclarecer e/ou definir suas funções dentro da fisiologia geral destes ectoparasitas, no sentido de contribuir trazendo informações importantes até mesmo para os estudos de controle desses animais.

2. Objetivos

2.1 Objetivos gerais

A partir das informações expostas anteriormente, este trabalho teve como objetivo geral realizar um estudo comparativo da morfo-fisiologia dos tipos celulares presentes na hemolinfa de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodideo) e comparar os resultados obtidos aos da hemolinfa de carrapatos da espécie *Ornithodoros rostratus* (Argasideo).

2.2 Objetivos específicos

- Analisar morfologicamente as células da hemolinfa de *R. sanguineus* e de *O. rostratus* utilizando técnicas de microscopia de luz.
- Identificar a presença dos componentes do citoesqueleto destas células.
- Comparar os resultados obtidos no estudo da hemolinfa das duas espécies (pertencentes a duas famílias diferentes), uma vez que estas apresentam hábitos, ciclo de vida e fisiologia diferentes, na tentativa de se correlacionar a forma e a estrutura das células da hemolinfa com a função que cada uma desempenha nas diferentes espécies.
- Comparar os tipos celulares encontrados com outros resultados obtidos a partir de outros estudos com a hemolinfa de artrópodes.

3. Material e Métodos

Para o desenvolvimento deste projeto, foram utilizados carrapatos adultos de ambos os sexos, representantes da família Argasidae e Ixodidae. Como representantes dos ixodídeos, utilizou-se carrapatos *R. sanguineus* oriundos de colônia mantida pelo grupo BCSTM (Brazilian Central of Studies on Ticks Morphology) na UNESP, Rio Claro-SP e como representantes dos argasídeos, foram utilizados carrapatos *O. rostratus* mantidos em colônia e gentilmente cedidos pelo Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade de São Paulo (USP).

3.1 Coleta da Hemolinfa

A hemolinfa foi coletada dos carrapatos a partir de um corte da parte distal do 1º par de pernas. Logo após a mesma foi processada segundo metodologia descrita abaixo:

3.2 Microscopia de Luz

Para realização da microscopia de luz, gotas da hemolinfa foram depositadas em uma lâmina de vidro que foi na sequência seca ao ar por 20 minutos. Posteriormente, procedeu-se a fixação com álcool metílico 99,8% por 8 minutos e lavagem em água destilada. Após, as lâminas foram novamente secas e coradas pelo método de Giemsa. O material foi analisado com base nas características morfológicas e estruturais, quando comparou-se as semelhanças e as diferenças entre as células da hemolinfa de *R. sanguineus* e de *O. rostratus*.

3.3 Coloração de Giemsa segundo Kiernan (2008)

O corante Giemsa foi preparado a partir da diluição de 10mL de solução mãe de Giemsa em 90mL de Tampão Fostato. As lâminas foram imersas nesta solução por 15 minutos, e posteriormente lavadas em água corrente.

3.4 Microscopia Confocal de Varredura a Laser

Para esta técnica coletou-se a hemolinfa diretamente em lamínulas circulares contendo uma gota de fixador (Paraformaldeído 4%). Depois procedeu-se a secagem ao ar do fixador. Após, foram realizadas duas lavagens com tampão fosfato-salino (PBS), cada uma com duração de 5 minutos. Na sequência, o material foi corado com faloidina-FITC (Sigma Aldrich) por 10 minutos e as preparações foram novamente lavadas em PBS, sendo três lavagens durante o mesmo tempo. O material foi montado entre lâmina e lamínula com Prolong Gold Antifade Reagent contendo DAPI. As imagens foram obtidas em Microscópio Confocal de Varredura a Laser Leica SP5II.

4. Resultados

No presente trabalho foram aplicadas metodologias que fizeram uso de Microscopia de Luz e Confocal de Varredura a Laser para análise dos hemócitos de duas espécies de carrapato, *Rhipicephalus sanguineus* e *Ornithodoros rostratus*.

4.1 Microscopia de Luz

4.1.1 *Rhipicephalus sanguineus*

Na hemolinfa de *R. sanguineus* são encontrados 8 tipos celulares, a saber:

Prohemócitos (PR)

Células pequenas, medindo cerca de 8 μm , arredondadas, apresentando grânulos citoplasmáticos e com um núcleo grande, ocupando quase todo o citoplasma (Fig. 1A).

Granulócitos (GR)

Células arredondadas ou ovais, e que possuem granulações eosinófilas no citoplasma, as quais, muitas vezes, dificultam a observação do núcleo. São divididos, segundo o seu tamanho, em dois tipos:

GR tipo I – Células que medem até 16 μm de diâmetro (Fig. 1B).

GR tipo II – Células com diâmetro superior a 16 μm (Fig 1C-D).

Plasmócitos (PL)

Células polimórficas, medindo cerca de 19 μ m. Podem apresentar vacúolos e/ou grânulos no seu citoplasma. O núcleo é arredondado ou oval e ligeiramente excêntrico (Fig. 2A-D). Este tipo celular foi observado também em processo de divisão (Fig. 1E).

Esferulócitos (ES)

Células divididas em dois grupos e medindo cerca de 20 μ m: esferulócitos tipo I (ES I) e tipo II (ES II).

ES I – Arredondado ou oval, com grandes vacúolos e/ou grânulos no citoplasma, estruturas que podem encobrir o núcleo, dificultando a observação do mesmo. Os grânulos e/ou vacúolos apresentam diferentes colorações. O núcleo é arredondado e excêntrico (Fig. 2E).

ES tipo II – Os ES II, por sua vez, são subdivididos em três grupos, considerando-se: tamanho celular, quantidade e densidade dos grânulos citoplasmáticos: Esferulócitos IIa (Fig. 2F e 3A), IIb (Fig. 3B-D) e IIc (Fig. 3E).

- **Esferulócito IIa**

Célula arredondada ou oval que possui grânulos, em sua maioria, roxo-escuros e outros em tonalidade púrpura, distribuídos por todo o citoplasma. O núcleo é arredondado, excêntrico e eosinofílico (Fig. 2F e 3A).

- **Esferulócito IIb**

Célula arredondada, oval ou fusiforme. Seus grânulos são menores do que os observados nos ES IIa e também são encontrados em menores quantidades, quando comparados aos observados em ES IIa. Essa morfologia confere um aspecto vacuolizado ao citoplasma. O núcleo é pequeno, em relação ao tamanho celular, eosinofílico e excêntrico (Fig. 3B-D).

- **Esferulócito IIc**

Tipo celular intermediário entre o ES IIa e ES IIb, uma vez que apresenta estruturas semelhantes encontradas em ambos os tipos. Assemelha-se ao ES IIa em relação a marcação e densidade dos grânulos e ao ES IIb em relação à forma celular (fusiforme). O núcleo, geralmente ocupa posição excêntrica, e eventualmente pode ser observado encoberto pelos grânulos (Fig. 3E).

Oenocitóide (OE)

Célula grande e arredondada com citoplasma apresentando grânulos pequenos, eosinofílicos e dispersos. O núcleo é pequeno em relação ao citoplasma, além de ser excêntrico (Fig. 3F).

Figura 1

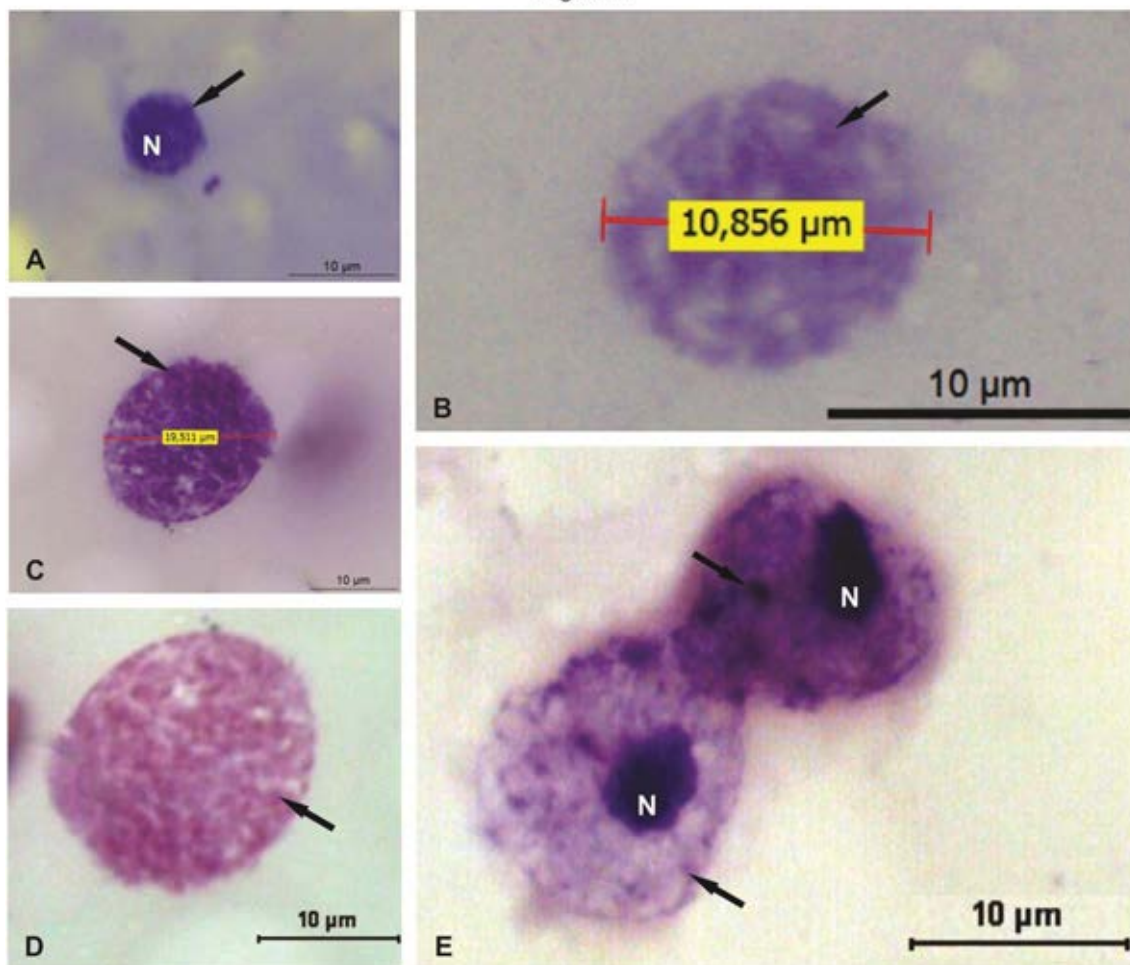


Figura 1: Células de hemolinfa de *Rhipicephalus sanguineus*. (A) Prohemócito (B) Granulócito I (C-D) Granulócito II (E) Plasmócito em divisão. N = núcleo; seta = grânulo.

Figura 2

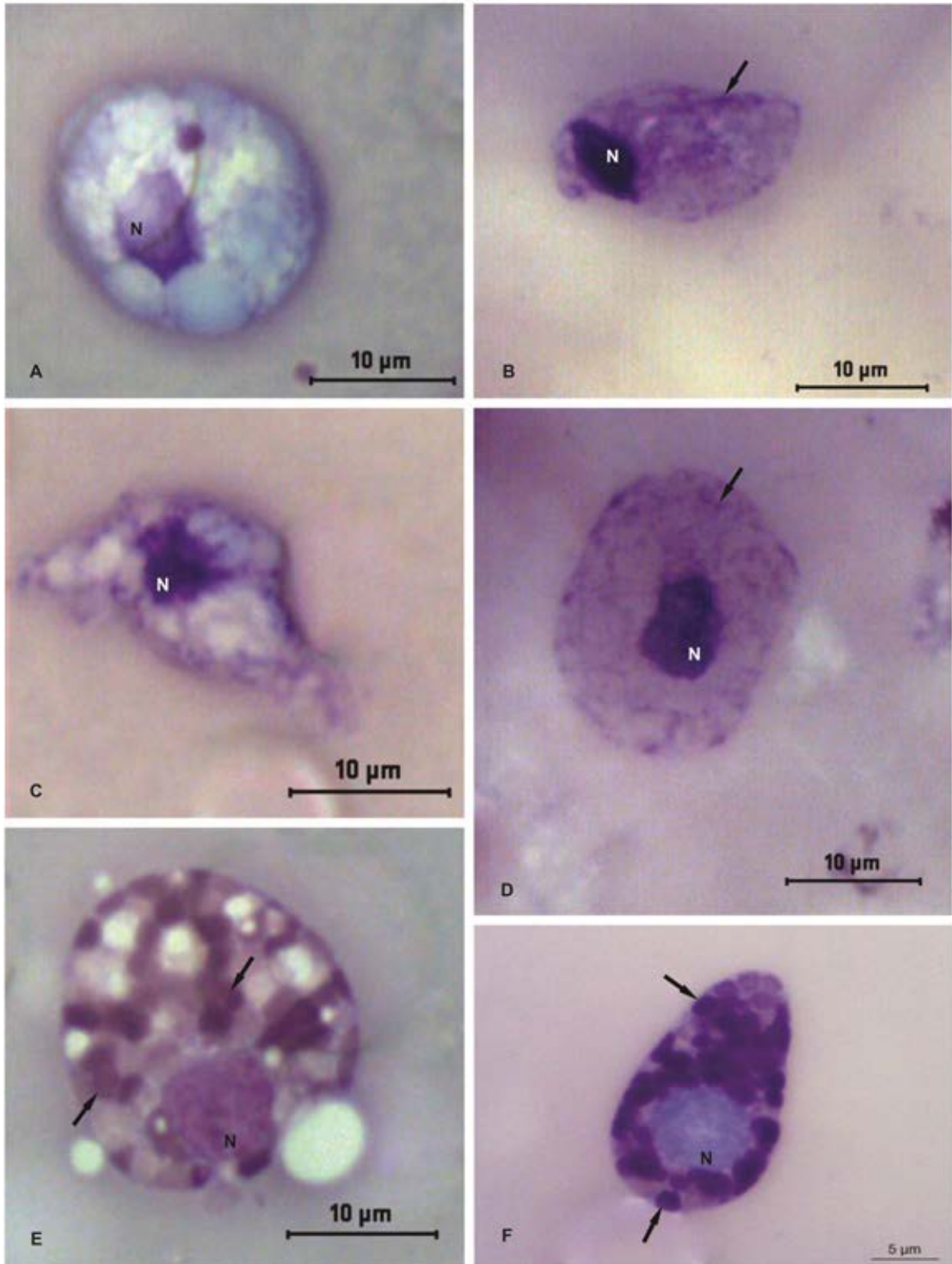


Figura 2: Células da hemolinfa de *Rhipicephalus sanguineus*. (A-D) Plasmócito (E) Esferulócito I (F) Esferulócito IIa. N = núcleo; seta = grânulos.

Figura 3

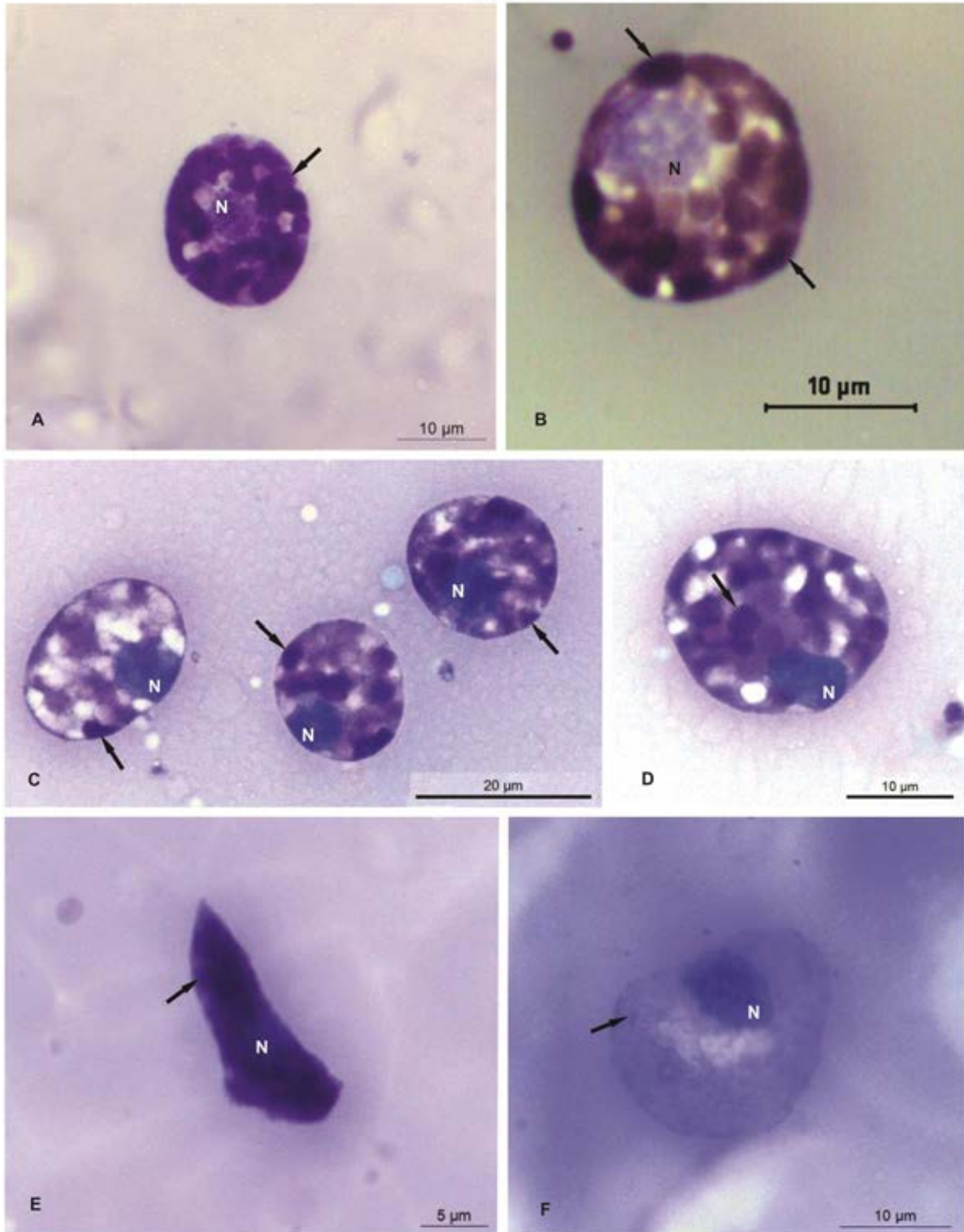


Figura 3: Células da hemolinfa de *Rhipicephalus sanguineus*. (A) Esferulócito IIa (B-D) Esferulócito IIb (E) Esferulócito IIc (F) Oenocitoide. N = núcleo; seta = grânulos.

4.1.2 *Ornithodoros rostratus*

A análise da hemolinfa do carrapato da espécie *O. rostratus*, revelou a presença dos seguintes tipos celulares:

Prohemócito (PR)

Células arredondadas com núcleo ocupando grande parte do citoplasma, restringindo este a região periférica. O citoplasma apresenta granulação intensa e homogênea (Fig. 4A).

Plasmócito (PL)

Células com tamanhos variáveis e citoplasma homogêneo. O núcleo é oval ou arredondado e excêntrico. Na região extracelular periférica da célula observa-se a presença de material com aspecto viscoso (Fig. 4B-C).

Granulócito (GR)

Células arredondadas ou ovais. Apresentam granulações no citoplasma que podem dificultar a visualização do núcleo, pois recobrem-no ligeiramente. Contudo, os grânulos não impedem a visualização do núcleo por completo. Assim como os granulócitos de *R. sanguineus*, os de *O. rostratus* também podem ser divididos em tipo I e II de acordo com seu diâmetro, sendo o tipo I com diâmetro até 16µm (Fig. 4D) e o tipo II com diâmetro maior que 16µm (Fig. 4E).

Esferulócito (ES)

Este tipo pode ser dividido em dois grupos: esferulócitos tipo I (ES I) e tipo II (ES II).

ES I – Células arredondadas ou ovais e que possuem grandes vacúolos e/ou granulações no citoplasma. O núcleo é de difícil visualização, pois geralmente está

encoberto pelos grânulos e/ou por vacúolos. Contudo, quando possível visualizá-lo, se apresenta arredondado e excêntrico (Fig. 4F).

ES tipo II – Os ES II se subdividem em três grupos, segundo o tamanho, quantidade e densidade dos grânulos citoplasmáticos: Esferulócitos IIa (Fig. 5A), IIb (Fig. 5B-C) e IIc (Fig. 5D-E).

- **Esferulócito IIa**

Células arredondadas ou ovais que possuem grânulos citoplasmáticos, corados entre as tonalidades de roxo-escuro e púrpura. O núcleo é arredondado e excêntrico (Fig. 5A).

- **Esferulócito IIb**

Células arredondadas, ovais ou fusiformes. Possuem menos grânulos, quando comparados aos observados em ES IIa, conferindo um aspecto vacuolizado ao citoplasma. O núcleo pode ser central, mas, na maioria das células, é encontrado excêntricamente (Fig. 5B-C).

- **Esferulócito IIc**

Tipo celular semelhante ao ES IIa em relação a coloração e quantidade de grânulos. Contudo, nos ES IIc, estes se encontram menos organizados no interior do citoplasma, do que nos ES IIa. O ES IIc se assemelham ao ES IIb na forma celular (fusiforme). O núcleo, central ou excêntrico, pode estar ligeiramente encoberto pelos grânulos (Fig. 5D-E).

Oenocitóide (OE)

Célula arredondada ou oval com citoplasma homogêneo e com muitos grânulos de tamanhos variados. O núcleo é pequeno em relação ao citoplasma (Fig. 5F).

Figura 4

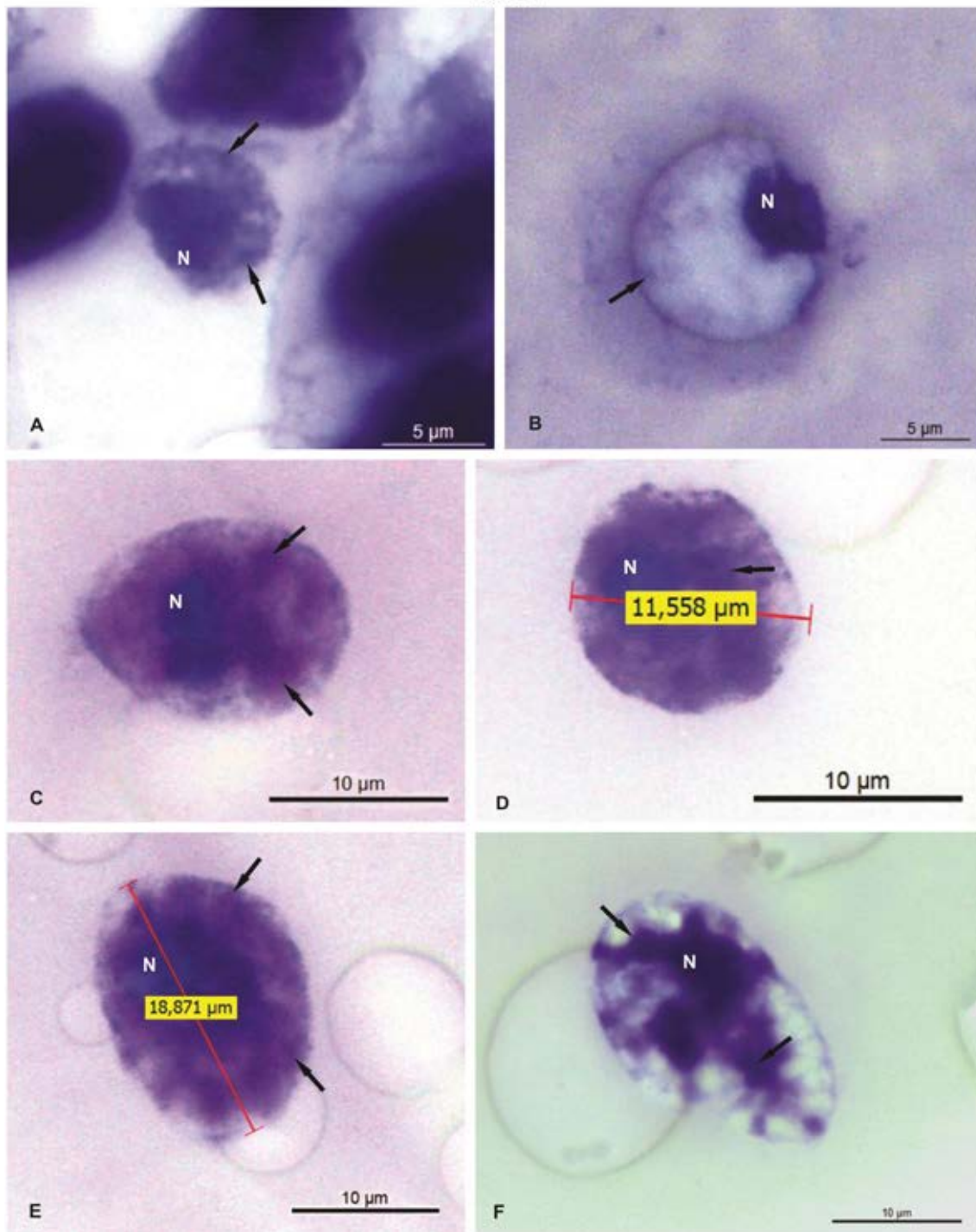


Figura 4: Células da hemolinfa de *Ornithodoros rostratus*. (A) Prohemócito (B-C) Plasmócito (D) Granulócito I (E) Granulócito II (F) Esferulócito I. N = núcleo; seta = grânulos.

Figura 5

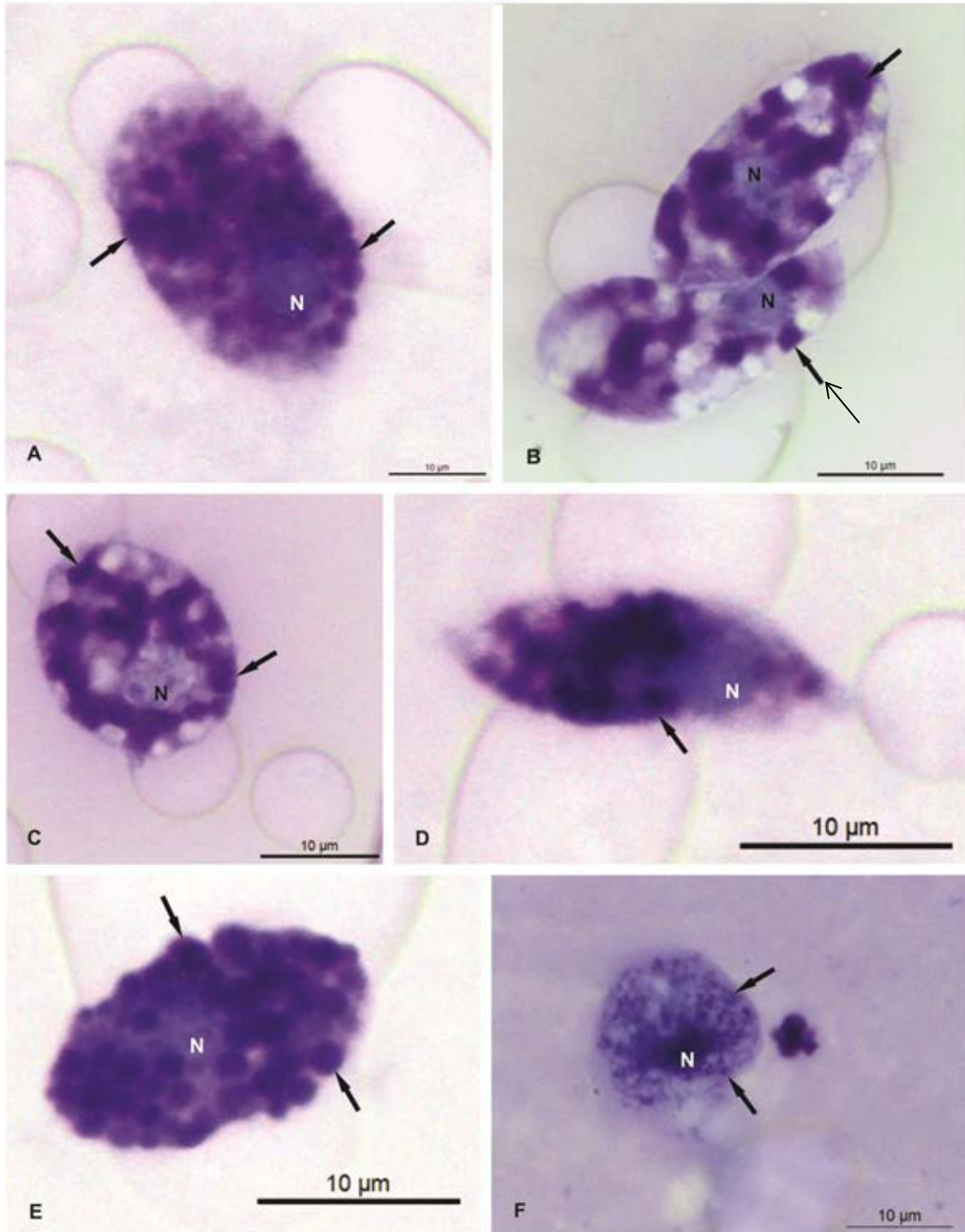


Figura 5: Células da hemolinfa de *Ornithodoros rostratus*. (A) Esferulócito IIa (B-C) Esferulócito IIb (D-E) Esferulócito IIc (F) Oenocitoide. N = núcleo; seta = grânulos.

4.2 Microscopia Confocal de Varredura a Laser

Utilizou-se a faloidina-FITC para evidenciar a presença de filamentos de actina no citoplasma das células e o DAPI para demonstrar a morfologia do núcleo.

Em *R. sanguineus*, a actina se concentra na periferia dos hemócitos (Fig. 6A-F) e não é encontrada em todos os tipos celulares. Observou-se células apenas com o núcleo marcado (Fig. 6A-B).

Figura 6:

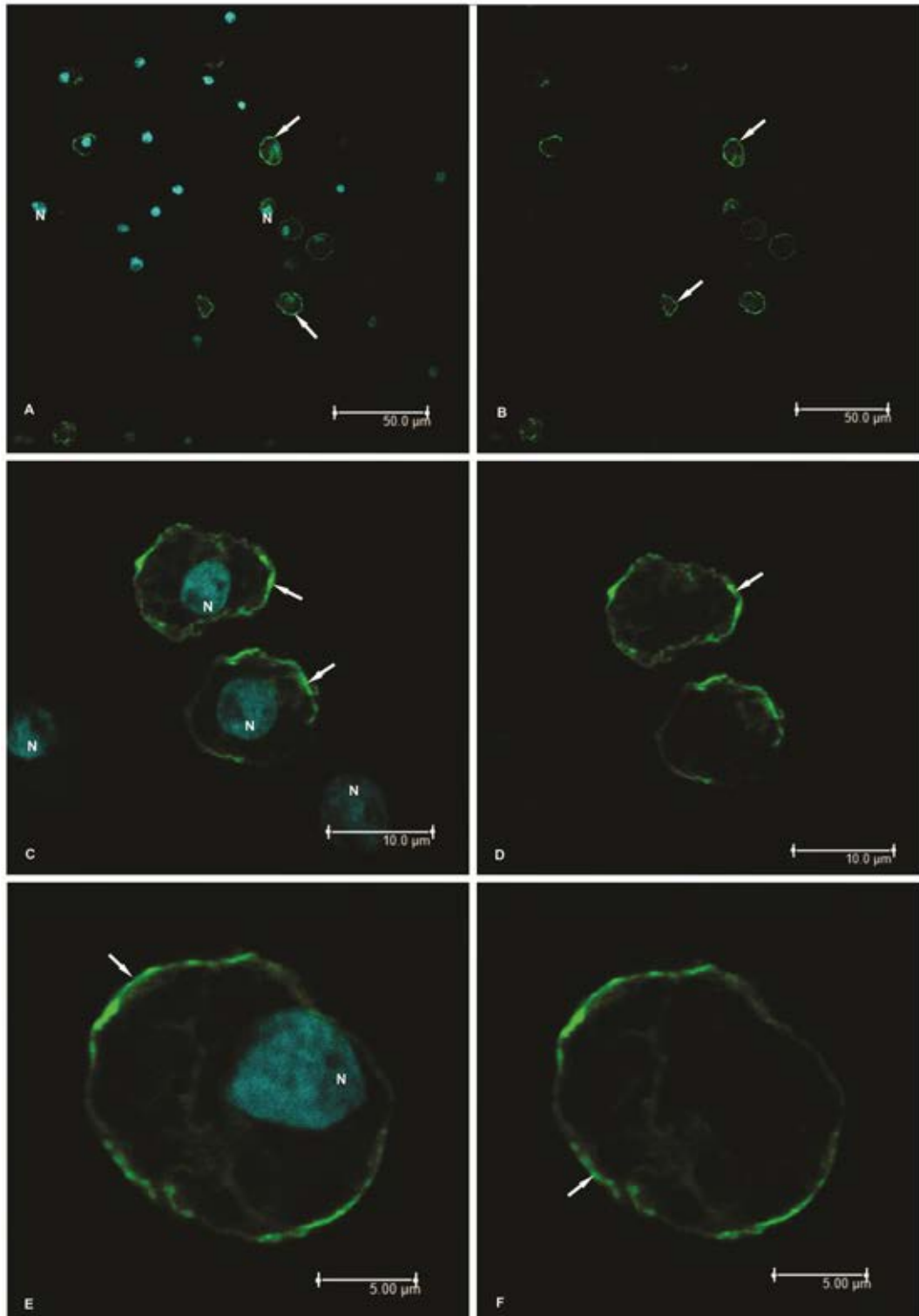


Figura 6: Células da hemolinfa de *Rhipicephalus sanguineus* coradas com faloidina- FITC e DAPI. N = núcleo; seta = filamentos de actina.

Em *O. rostratus*, ao contrário do que é observado em *R. sanguineus*, a deposição de actina não se concentra na periferia celular, mas está distribuída de maneira uniforme por todo o citoplasma (Fig. 7E-F). A actina forma estruturas semelhantes a prolongamentos (Fig. 7C-D), intracelulares. Por meio da microscopia de luz, não foi encontrado nenhum tipo celular com prolongamentos citoplasmáticos externos.

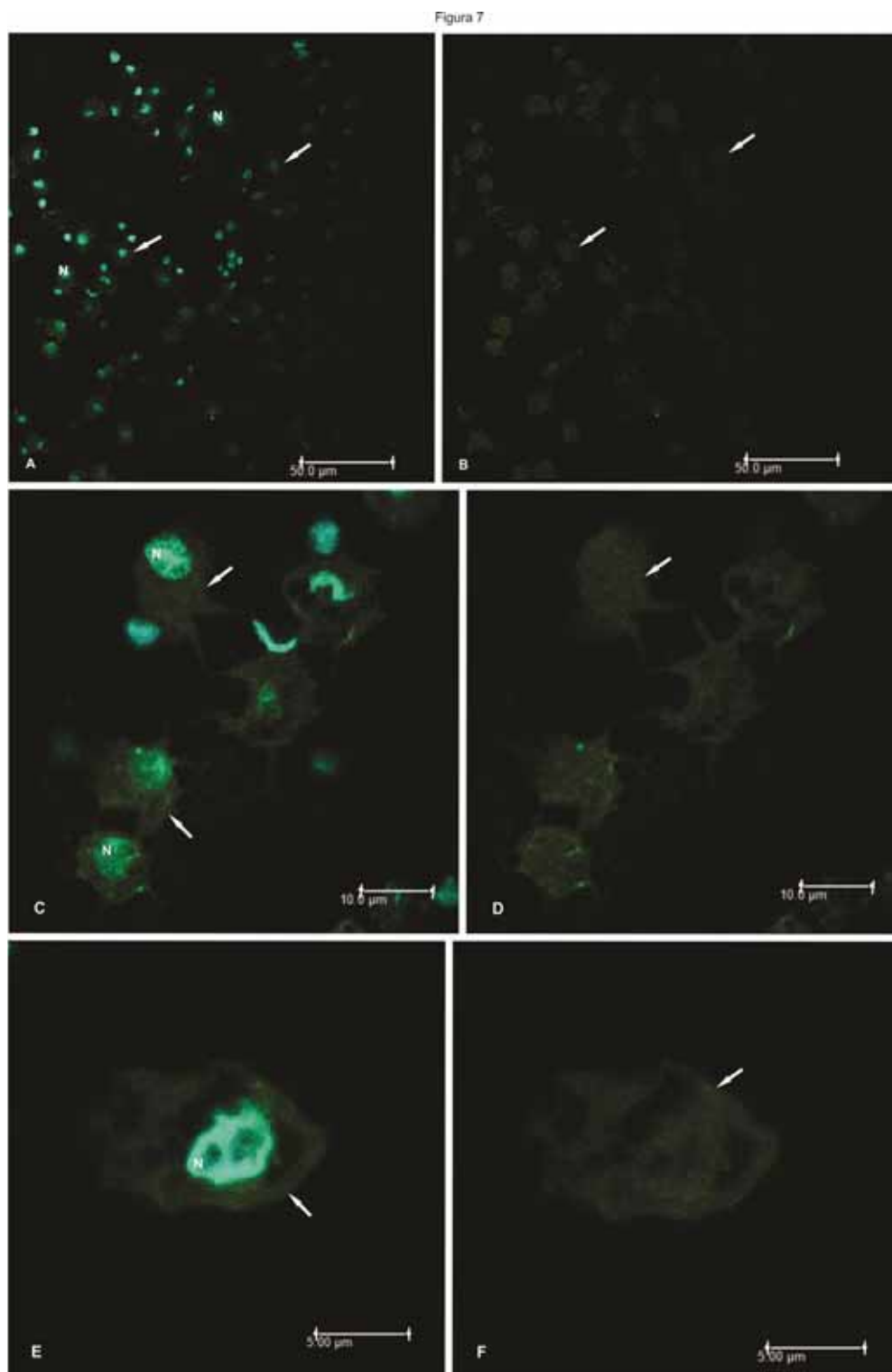


Figura 7: Células da hemolinfa de *Ornithodoros rostratus* coradas com faloidina-FITC e DAPI. N = núcleo; seta = filamentos de actina.

5. Discussão

Os hemócitos constituem a parte celular da hemolinfa dos carrapatos. Estes apresentam diversas funções, tais como: defesa do organismo e transporte de substâncias consideradas fundamentais para a sobrevivência dos animais, como hormônios, enzimas e materiais a serem excretados (ARAÚJO, 2007). As duas espécies aqui estudadas, *R. sanguineus* e *O. rostratus*, pertencem a famílias diferentes, Ixodidae e Argasidae, respectivamente. Consequentemente tais espécies possuem biologia e hábitos comportamentais distintos.

Os carrapatos da espécie *R. sanguineus* parasitam o hospedeiro e o deixam somente quando estão ingurgitados para, posteriormente realizarem a ecdise, no caso de animais imaturos, ou realizarem a postura, no caso das fêmeas adultas. Estas fêmeas fazem a postura de grande quantidade de ovos (4 a 5 mil em média) (FLECHTMANN, 1985).

Em contrapartida, os carrapatos da espécie *O. rostratus* parasitam o hospedeiro durante horas ou dias e, em seguida, o abandonam para realizar a ecdise. Esse ciclo é repetido várias vezes e as fêmeas adultas não realizam apenas uma, mas, diversas posturas, as quais ocorrem entre um repasto e outro. Elas fazem a postura de um número menor de ovos do que as fêmeas de ixodídeos (150 em média) (FLECHTMANN, 1985).

No presente trabalho foram descritas e caracterizadas as células da hemolinfa destas duas espécies de carrapatos. Na espécie *R. sanguineus*, foram observados os seguintes tipos celulares: prohemócitos, granulócitos, plasmócitos, esferulócitos e oenocitóides, muito embora o trabalho de Carneiro e Daemon (1996) já tivesse descrito estes tipos celulares em *R. sanguineus*. Em *O. rostratus*, observou-se os mesmos tipos celulares presentes na hemolinfa de *R. sanguineus*.

O estudo dos hemócitos de *O. rostratus* não havia sido anteriormente realizado. Porém, alguns pesquisadores analisaram e descreveram os tipos celulares encontrados na hemolinfa de outras espécies. Entre os ixodídeos, para as espécies, *Dermacentor andersoni* foram descritos quatro tipos celulares: prohemócitos, esferulócitos tipo I, II, III

e IV, plasmócitos e oenocitóides (BRINTON e BURGDORFER, 1971) e para *Ixodes ricinus* (KUHNS e HALG, 1994) três tipos: plasmócitos tipo I e II e granulócitos. Entre os argasídeos, a hemolinfa das espécies *Hyalomma anatolicum excavatum*, *H. dromedarii*, *Argas persicus* e *A. arboreus* (DOLP, 1970) havia sido anteriormente estudada, e encontrou-se três tipos celulares: prohemócitos, plasmócitos e esferulócitos. Estudos anteriores também encontraram granulócitos, plasmócitos e prohemócitos em *O. moubata* (INOUE et al., 2001). Contudo, apenas este último estudo, além do trabalho de Carneiro e Daemon (1996), fizeram uso de técnicas histológicas voltadas para o estudo da caracterização e da morfologia celular.

Nos trabalhos que descreveram os hemócitos de outros artrópodes, também encontrou-se correspondência nos tipos celulares observados em *R. sanguineus* e em *O. rostratus*.

Prohemócitos foram descritos em carrapatos das espécies *R. sanguineus* (CARNEIRO e DAEMON, 1996), *D. andersoni* (BRINTON e BURGDORFER, 1971), *H. anatolicum excavatum*, *H. dromedarii*, *A. persicus* e *A. arboreus* (DOLP, 1970). Comparando os resultados obtidos a partir das análises histológicas de Carneiro e Daemon (1996) e Dolp (1970) levantamos algumas características em comum. Ambos descreveram os prohemócitos como células pequenas, arredondadas e com núcleo grande em relação ao citoplasma. Todas essas características corroboraram os resultados encontrados em nosso trabalho para as espécies *R. sanguineus* e *O. rostratus*. Contudo, algumas informações são ainda controversas. Dolp (1970) afirmou que os prohemócitos de *H. anatolicum excavatum*, *H. dromedarii*, *A. persicus* e *A. arboreus* possuiriam citoplasma basófilo e núcleo central ou excêntrico. Carneiro e Daemon (1996) concluíram que os prohemócitos de *R. sanguineus* apresentariam citoplasma eosinófilo e núcleo central. A partir dos resultados deste trabalho concluiu-se que o prohemócito, tanto de *R. sanguineus* como de *O. rostratus*, são células que possuem citoplasma basófilo abrigando um núcleo que pode estar central ou excêntricamente localizado. Inoue et al. (2001) verificaram atividade fagocítica em alguns hemócitos de *O. moubata*, porém tal função não foi observada em prohemócitos.

Prohemócitos também foram descritos para outras espécies de artrópodes. *Dermatobia hominis* (DE LELLO et al., 1987), *Atta laevigata* (GIANNOTTI e CAETANO, 1985), Myriapoda (XYLANDER, 2009), espécies que apresentam prohemócitos pequenos, arredondados e com núcleo grande, ocupando grande parte do citoplasma, assim como em *R. sanguineus* e *O. rostratus*. Embora em abelhas *Melipona quadrifasciata* não se tenha descrição deste tipo celular, é provável que estas correspondam às células em divisão encontradas em larvas e adultos jovens (STAURENGO-CUNHA e CRUZ-LANDIM, 1972). Este tipo celular desaparece gradualmente com o avanço da idade, mas enquanto presente, se multiplica por mitose (KOSTECKI, 1965).

Granulócitos foram encontrados em *R. sanguineus* (CARNEIRO e DAEMON, 1996), em *I. ricinus* (KUHNS e HALG, 1994) e em *O. moubata*, sendo identificada atividade fagocítica para este tipo celular nesta espécie (INOUE et al., 2001), porém os granulócitos não foram caracterizados morfológicamente por estes autores. Segundo Carneiro e Daemon (1996) os granulócitos de *R. sanguineus* seriam células arredondadas ou ovais que apresentariam granulações eosinófilas que, muitas vezes, mascarariam a presença do núcleo. Teriam grande variedade de tamanho, e por isso, tais autores dividiram esse tipo celular em dois grupos. Denominou-se granulócito tipo I células com diâmetro até 16 µm e tipo II diâmetros maiores que 16 µm. As características morfológicas seriam as mesmas observadas em *R. sanguineus* no presente trabalho. Na hemolinfa de *O. rostratus*, foram encontrados granulócitos, semelhantes aos de *R. sanguineus* em relação a sua forma, podendo ser arredondados ou ovais, e a sua classificação seria de acordo com o tamanho da célula. Contudo, os granulócitos de *O. rostratus* apresentaram granulação menos densa, possibilitando melhor visualização do núcleo.

Granulócitos foram também descritos e caracterizados em *Polistes versicolor* e diferenciados em dois tipos: células granulares típicas, semelhantes aos plasmatócitos, com citoplasma granular e células granulares intermediárias, esféricas, sem núcleo visível, granulações distribuídas por toda célula, porém menos densa que a primeira (STAURENGO-CUNHA et al., 1976). Comparando-se com os resultados obtidos para *R. sanguineus* e *O. rostratus*, o granulócito de ambas as espécies teriam mais

características em comum com as células granulares intermediárias de *P. versicolor*. Este tipo celular não foi subdividido como sugerido para os hemócitos de *A. laevigata* (GIANNOTTI e CAETANO, 1985) e de *M. quadrifasciata* (STAURENGO-CUNHA e CRUZ-LANDIM, 1972). Nos granulócitos de *A. laevigata*, foram observadas projeções citoplasmáticas que não foram observadas, neste trabalho, nos granulócitos de *R. sanguineus* e *O. rostratus*.

Plasmatócitos foram observados na hemolinfa das espécies de carrapatos *H. anaticum excavatum*, *H. dromedarii*, *A. persicus* e *A. arboreus* (DOLP, 1970), *R. sanguineus* (CARNEIRO e DAEMON, 1997), *D. Andersoni* (BRINTON e BURGDORFER, 1971) e *O. moubata* (INOUE et al., 2001), também verificando-se atividade fagocítica neste tipo celular. Os autores descreveram este tipo celular de forma semelhante: células polimórficas, podendo: ser fusiforme; ter núcleo arredondado ou oval e excêntrico; ter citoplasma com granulações e/ou vacúolos e ter projeções citoplasmáticas, encontrando assim, correspondência com a descrição deste tipo em *R. sanguineus* e *O. rostratus*.

A caracterização de plasmatócitos em *A. mellifera* (CRUZ-LANDIM, 2009) foi semelhante àquela observada neste trabalho. No entanto, Cruz-Landim (2009) observou células com citoplasma agranular em *A. mellifera*. Em *A. laevigata* (GIANNOTTI e CAETANO, 1985) o núcleo foi encontrado na região central. Em nenhuma descrição notou-se a presença de material com aspecto viscoso na periferia extracelular da célula, o que, neste trabalho, foi observado nos plasmatócitos de *O. rostratus*.

Plasmócitos e granulócitos são células ativas na resposta de defesa celular e estão envolvidas no reconhecimento de corpos estranhos e na fagocitose destes. Estudos ultraestruturais demonstraram que os granulócitos apresentam atividade de protease e seus compartimentos lisossomais contêm fosfatase ácida, ao passo que há lisozima presente nas cisternas do retículo endoplasmático e nos lisossomos primários (SOCOLOVSKI et al., 2009). De acordo com Kopáček et al. (2010) a atividade fagocítica seria atribuída, principalmente, aos plasmatócitos e aos granulócitos I, enquanto os granulócitos II seriam células não fagocíticas.

A encapsulação de microrganismos ou estruturas estranhas é uma das reações de defesa mais comum em artrópodes. No caso dos insetos, várias camadas de granulócitos envolvem esse material estranho, inativando-o (CRUZ-LANDIM, 2009). Segundo Kopáček et al. (2010), tal processo, em carrapatos, envolveria a participação de granulócitos e plasmócitos.

A descrição dos esferulócitos de *R. sanguineus* por Carneiro e Daemon (1996) corroborou a encontrada neste trabalho tanto para *R. sanguineus* quanto para *O. rostratus*, assim como a subdivisão em ES I, ES IIa, ES IIb e ES IIc, tendo todos estes tipos a presença de esférulas com número e conteúdo variado no citoplasma. No trabalho de Brinton e Burgdorfer (1971) o esferulócito seria dividido em quatro grupos: tipo I, células arredondadas ou ovais, com núcleo excêntrico, citoplasma repleto de grânulos, correspondendo ao ES I deste trabalho, tipo II, células ovais ou fusiformes, núcleo com formato irregular e excêntrico, com menor número de grânulos em relação ao tipo I, tipo III, células ovais ou fusiformes, citoplasma com grânulos com diâmetro entre 1.3 a 4.9 μ . E por fim, tipo IV, células pequenas comparadas aos outros tipos.

Em formigas *A. laevigata*, os esferulócitos não são subdivididos (GIANNOTTI e CAETANO, 1985) e são descritos como possuindo citoplasma repleto de vacúolos e poucos grânulos; núcleo pequeno e excêntrico. Já em abelhas *A. mellifera* (CRUZ-LANDIM, 2009) os esferulócitos não apresentariam subdivisão, e sua descrição seria semelhante a de formigas *A. laevigata*. Segundo a autora, a morfologia de esferulócitos de insetos sofreria variação, podendo ser encontrada na literatura a descrição deste tipo celular como granulócitos.

Segundo Brinton e Burgdorfer (1971), embora o significado da secreção das esférulas contidas nos esferulócitos seja ainda pouco compreendido, a ativa síntese de vesículas pelo Golgi e a posterior liberação de inclusões para o ambiente extra celular seria um tipo de resposta às necessidades de desenvolvimento funcional do carrapato. Para os diferentes autores, se estes hemócitos tivessem função secretora, como sugerido, a hemolinfa poderia ser considerada, em parte, como uma glândula endócrina, sendo os produtos de síntese transportados por meio de fluido.

Os oenocitóides foram descritos em *R. sanguineus* por Carneiro e Daemon (1996) como células grandes, arredondadas, com pequenas granulações num citoplasma eosinofílico e com núcleo pequeno e eosinofílico em relação ao volume do citoplasma. Neste trabalho foram observados oenocitóides de *R. sanguineus* com essas mesmas características morfológicas. Contudo, o uso de coloração mostrou que o núcleo e o citoplasma teriam características basofílicas. Em *O. rostratus*, os oenocitóides mostrara maior marcação dos grânulos e também núcleo e citoplasma basófilos.

Em formigas *A. laevigata*, assim como em carrapatos *R. sanguineus* e *O. Rostratus*, os oenocitóides são células acidófilas, grandes e arredondadas, não apresentando granulações. (GIANNOTTI e CAETANO, 1985). Estas células não foram observadas em Myriapoda (XYLANDER, 2009), mas o autor as relacionou com o processo de muda, de modo que por um curto período, estes encontrar-se-iam livres na circulação do animal. Segundo Staurengo-Cunha et al. (1976), o citoplasma dos oenocitóides de *P. versicolor* seria agranular, podendo apresentar pseudópodos, diferentemente do observado neste trabalho. Em *D. hominis* observaram-se expansões no citoplasma semelhantes a “bolhas” de diversos tamanhos e densidades (DE LELLO et al., 1987), o que também não foi observado nos oenocitóides das duas espécies aqui estudadas.

A estrutura morfológica dos oenocitóides sugeriu que eles atuariam principalmente na secreção de material proteico. Se os carrapatos são capazes de uma resposta imune, os oenocitóides poderiam ser responsáveis pela formação de anticorpos e a formação de bolhas amorfas em sua superfície poderiam representar a liberação de tal material (BRINTON e BURGDORFER, 1971).

O desenvolvimento deste trabalho, portanto, mostrou que os tipos celulares encontrados nas espécies aqui estudadas, pelo menos em parte, correspondem entre si e com os hemócitos já descritos para outras espécies de carrapatos e para outros artrópodes.

A microscopia confocal de varredura à laser mostrou que as células coradas com faloidina-FITC (Sigma Aldrich) para se verificar a presença e a forma de deposição de

actina foram marcadas em verde. A coloração com DAPI, por sua vez, permitiu visualizar a morfologia nuclear. Não foi possível a diferenciação dos tipos celulares apenas fazendo destas técnicas.

As células da hemolinfa de *R. sanguineus* e de *O. rostratus* apresentaram diferenças em relação à localização da actina. Em *R. sanguineus*, este componente foi encontrado distribuído pelo citoplasma, mas também concentrado na região periférica da célula, podendo-se inferir a importância deste componente para a forma e a movimentação celular. Em *O. rostratus*, essa localização periférica não foi observada. Os filamentos de actina estão presentes no citoplasma das células e formam estruturas similares a prolongamentos. Entretanto, tais prolongamentos não refletem na forma celular, como pode ser observado através das micrografias óticas.

Apesar de não ter sido possível diferenciar os tipos celulares a partir da técnica utilizada para a microscopia confocal, tal metodologia foi essencial para identificar as diferenças existentes entre as células da hemolinfa de *R. sanguineus* e *O. rostratus*, mesmo ambas apresentando tipos celulares iguais e com características muito semelhantes.

6. Referências bibliográficas

ALBERTI, G.; COONS, L. B. Acari: mites. **Microscopic anatomy of invertebrates**, v. 8, p. 515-1265, 1999.

AMOSOVA, L. I. Ultrastructural characters of hemocytes of the ixodid tick *Hyalomma asiaticum* (Ixodidae). **Parazitologiya**, S.I, v. 17, n. 2, p. 126-133, 1983.

ARAÚJO, H. R. C. **Ultra-estrutura dos hemócitos de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae)**. 2009. 86 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Recife, 2007.

BINNINGTON, K. C.; OBENCHAIN, F. D. Circulatory, nervous, and neuroendocrine systems of ticks. **Physiology of ticks**, New York, p. 351-398, 1982.

BRINTON, L.P.; BURGDORFER, W. Fine structure of normal hemocytes in *Dermacentor andersoni* Stiles (Acari: Ixodidae). **Journal of Parasitology**, Montana, v. 57, n. 5, p. 1110-1127, 1971.

CANÇADO, P. H. D. **Carrapatos de animais silvestres e domésticos no Pantanal Sul Mato-grossense (Sub-região da Nhecolândia)**: Espécies, hospedeiros e infestações em áreas com manejos diferentes. 2008. 65 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

CARNEIRO, M. E.; DAEMON, E. Caracterização dos tipos celulares presentes na hemolinfa de larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Ixodoidea, Ixodidae) em diferentes estados nutricionais. **Revista Brasileira de Zoologia**, S.I., v. 13, n. 3, p. 609-620, 1996.

CARNEIRO, M. E.; DAEMON, E. Caracterização dos tipos celulares presentes na hemolinfa de adultos de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodoidea: Ixodidae) em diferentes estados nutricionais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, S.I., v. 6, n. 1, p. 1-9, 1997.

CARNEIRO, M. E.; DAEMON, E. Caracterização dos tipos celulares presentes na hemolinfa de adultos de *Amblyomma cajennense* (Fabricius) Koch, 1844 e de *Haemaphysalis* sp. **Revista Brasileira Zociências**, Juiz de Fora, v. 3, n. 2, p. 139-145, 2001.

COSTA, L. F.; NUNES, P. H.; SOARES, J. F.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Distribution of *Rickettsia rickettsii* in ovary cells of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806) (Acari: Ixodidae). **Parasite & Vectors**, S.I, v. 4, 2011.

CRUZ-LANDIM, C. **Abelhas, morfologia e função de sistemas**. São Paulo: Editora UNESP, 2009. 408p.

DE LELLO, E.; TOLEDO, L. A.; GREGÓRIO, E. A. Elementos figurados da hemolinfa de *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae): caracterização ao nível de microscopia óptica, em larvas do 2º e 3º ínstares. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, S.I., v. 82, n. 3, p. 351-358, 1987.

DOLP, R. M. Biochemical and physiological studies of certain ticks (Ixodoidea). Qualitative and quantitative studies of hemocytes. **Journal of Medical Entomology**, S.I., v. 7, n. 3, p. 277-288, 1970.

DOUGLAS. J. R. The internal anatomy of *Dermacentor andersoni* Stiles. **University of California Publications in Entomology**, S.I., v. 7, p. 207-272, 1943.

EL SHOURA, S. M. Fine structure of the hemocytes and nephrocytes of *Argas (Persicargas) arboreus* (Ixodoidea: Argasidae). **Journal of Morphology**, S.I., v. 189, n. 1, p. 17-24, 1986.

ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A. J.; NAVA, S; VENZAL, J. M.; LABRUNA, M.; GUGLIELMONE, A. A. A review of the systematics of the tick family Argasidae (Ixodida). **Acarologia**, S.I., v. 50, n.3, p. 317-333, 2010.

FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de Importância Médico-Veterinária**. São Paulo: Nobel, 1985. 190p.

GIANNOTTI, E.; CAETANO, F. H. A comparative study of the hemocytes of *Atta laevigata* adults (Formicidae: Myrmicinae). **Revista Brasileira de Genética**, S.I., v. 8, n. 1, p. 37-45, 1985.

HOOGSTRAAL, H.; AESCHLIMANN, A. Tick-host specificity. **Bulletin de la Société Entomologique Suisse**, S.I., v. 55, p. 5-32, 1982.

INOUE, N.; HANADA, K.; TSUJI, N.; IGARASHI, I.; NAGASAWA, H.; MIKAMI, T.; FUJISAKI, K. Characterization of Phagocytic Hemocytes in *Ornithodoros moubata* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, S.I., v. 38, n. 4, p. 514-519, 2001.

KIERNAN, J. A. **Histological and Histochemical Methods**. Oxford: Scion Publishing Ltd, 2008. 606 p.

KOPÁČEK, P.; HAJDUŠEK, O.; BUREŠOVÁ, V.; DAFFRE, S. Tick innate immunity. **Invertebrate Immunity**, S.I., v. 708, p. 137-162, 2010.

KOSTECKI, R. Investigation on the hemocytes and hemolymph of honeybees. **Journal of Apicultural Research**, S.I, v.4, p.49-54, 1965.

KUHN, K. H.; HAUG, T. Ultrastructural, cytochemical, and immunocytochemical characterization of haemocytes of the hard tick *Ixodes ricinus* (Acari; Chelicerata). **Cell and Tissue Research**, S.I., v. 277, n. 3, p. 493-504, 1994.

LABRUNA, M. B. Biologia-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13, p. 123-124, 2004.

LABRUNA, M. B. Carta Acarológica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 13, p. 199-202, 2004.

NAVA, S.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. An overview of systematic and evolutions of ticks. **Frontiers in Bioscience**, S.I., v. 14, p. 2857-2877, 2009.

NORDENSKIÖLD, E. Zur anatomie und histology von *Ixodes reduvius*. **Zoologischer Anzeiger**, S.I., v. 28, p. 478-485, 1905.

OBENCHAIN, F. D.; OLIVER, Jr. J. H. The heart and arterial circulatory system of ticks (Acari: Ixodidae). **The Journal of Arachnology**, S.I., v. 3, p. 57-74, 1976.

POSPELOVA-SHTROM, M. V. On the Argasidae system (with description of two new subfamilies, three new tribes and one new genus). **Med. Parazitol. Parazitarn Bolezni**, S.I., v. 15, p. 47-58, 1969.

SERRA-FREIRE, N. M. Occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on human hosts, in three municipalities in State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, S.I., v.19, n. 3, 2010.

SOCOLOVSCHI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and Ixodid ticks. **Veterinary Research**, S.I., v. 40, 2009.

SONENSHINE, D.E. **Biology of Ticks**. New York: Oxford University Press, 1991, 447p.

STAURENGO-CUNHA, M. A.; CRUZ-LANDIM, C. Observações histológicas e histoquímicas sobre hemócitos de operária adulta de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. (Hym., Meliponinae). **Ciência e Cultura**, S.I., v. 24, p. 327-42, 1972.

STAURENGO-CUNHA, M. A.; CUNHA, R. A.; CRUZ-LANDIM, C. Hemócitos presentes na hemolinfa de *Polystes versicolor* (Hymenoptera: Vespidae). **Revista Peruana de Entomologia**, S.I., v. 1, p. 39-42, 1976.

TERAVSKY, I. K. On the formed elements of the hemolymph of ticks of the family Argasidae. **Zoologicheskii Zhurnal**, S.I., v. 36, p. 1448-1454, 1957.

TSVILINEVA, V. A. Formed elements of the hemolymph in ixodid ticks. **Doklady Akademii Nauk Tadzhik**, S.I., v .2, p. 45-51, 1959.

TSVILINEVA, V. A. Comparative histology of the blood and connective tissue. Formed elements of hemolymph in ixodid ticks. **Arkhiv anatomii, gistologii i émbriologii**, S.I., v. 40, p. 91-100, 1961.

XYLANDER, W.E.R. Hemocytes in Myriapoda (Arthropoda): a review. **Invertebrate Survival Journal**, S.I., v. 6, p. 114-124, 2009.