

EFEITO DA IMERSÃO DE LARVAS E NINFAS INGURGITADAS DE *Amblyomma dubitatum* NEUMANN, 1899 (ACARI: IXODIDAE) EM ÁGUA DESTILADA*

PAULO HENRIQUE D. CANÇADO¹; SAMUEL C. CHACÓN¹; ELIANE M. PIRANDA¹;
ADRIANA DA R. PAULA³; JOÃO LUIZ H. FACCINI⁴

ABSTRACT:- CANÇADO, P.H.D; CHACÓN, S.C.; PIRANDA, E.M.; PAULA, A. DA R.; FACCINI, J.L.H. [The effect of immersion in distilled water on the engorged larvae and nymphs of *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899 (Acari: Ixodidae)]. Efeito da imersão de larvas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899 (Acari: Ixodidae) em água destilada. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 1, p. 17-22, 2006. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000, Brazil. Email: cancadophd@ufrj.br

To evaluate the effect of the immersion of engorged larvae and nymphs of *Amblyomma dubitatum* experimentally fed on rabbits, the ticks were collected and formed control groups, without immersion, and groups which were immersed by 24, 48, 72, 96 hours and, for engorged larvae, by eight weeks, in test tubes containing distilled water. During all experiment ticks were kept at $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ RU and scotophase. The parameters evaluated were: pre-ecdysis, ecdysis and moulting periods; and ecdysis and mortality percentages. When compared with the control group, the effect ($p < 0,05$) of immersion varied intra and inter stages. Apparently, immersion was less deleterious to *A. dubitatum* in comparison with *A. cajennense* and *R. sanguineus* from neotropical region, thus reflecting a long host relations with the capybara, its primary host.

KEY WORDS: *Amblyomma dubitatum*, immersion, non parasitic phase, experimental.

RESUMO

Com o objetivo de avaliar o efeito da imersão de larvas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum*, esses estágios foram alimentados experimentalmente em coelhos e após a coleta, formados grupos controles, sem imersão, e grupos para imersão por 24, 48, 72 e 96 horas e para larvas, também durante oito semanas, em tubos de ensaio contendo água destilada. Durante todo o experimento os carrapatos foram mantidos a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ UR e escotofase. Os parâmetros analisados foram: período de pré-ecdise, ecdise e muda; percentual de ecdise e mortalidade. Quando comparado com o grupo controle ($p < 0,05$), o efeito da imersão variou entre os estágios e tratamentos. Aparentemente a imersão foi menos deletéria para

A. dubitatum em comparação com *A. cajennense* e *R. sanguineus* da região neotropical, refletindo longa relação parasito-hospedeiro com seu hospedeiro primário, a capivara.

PALAVRAS-CHAVE: *Amblyomma dubitatum*, imersão, fase não parasitária, experimental.

INTRODUÇÃO

Amblyomma dubitatum Neumann (= *A. cooperi*) (GUGLIELMONE et al., 2003) é uma espécie de carrapato de três hospedeiros comumente encontrado parasitando capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (ARAGÃO, 1936). *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa, pode ser transmitida pelo carrapato de três hospedeiros *Amblyomma cajennense*, no Brasil (TRAVASSOS; VALLEJO-FREIRE, 1944). Lemos et al. (1996a) isolaram esta riquetsia de uma população de *A. dubitatum*, determinando a importância de animais silvestres próximos a assentamentos humanos. No prosseguimento deste projeto, foi verificado que capivaras, parasitadas por estas duas espécies do gênero *Amblyomma* Koch, apresentaram anticorpos para esta riquetsia (LEMOs et al. 1996b), sendo possível que *A.*

*Sob auspícios do CNPq.

¹ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000. Email: cancadophd@ufrj.br

² Veterinário autônomo, Panamá.

³ Veterinária autônoma, Rio de Janeiro, RJ.

⁴ Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000.

dubitatum desempenhe importante papel na epidemiologia da Febre Maculosa para os mamíferos em questão. Este fato, associado ao grande interesse pela criação dos roedores hospedeiros para comercialização da sua carne, atualmente no Brasil, torna *A. dubitatum* um possível transmissor desta riquetsiose para seres humanos, uma vez que estes também podem ser parasitados pelos estágios imaturos desta espécie de carrapato (GUIMARÃES et al. 2001). Em pesquisa epidemiológica em uma região endêmica para Febre Maculosa no Estado de São Paulo, Lemos et al. (1997) capturaram várias espécies de ixodídeos e, embora *A. cajennense* tenha sido a mais abundante, os autores também capturaram exemplares *A. dubitatum* em capivaras. Este achado, segundo eles, não reduz a importância destas espécies em uma área endêmica para esta riquetsiose, pois elas podem perpetuar a atividade deste microorganismo em animais incluindo seres humanos, que também podem ser utilizados por elas como hospedeiros. Baseado no fato de que as capivaras habitam regiões como charcos e beiras de rios, passando parte de suas vidas parcialmente submersas, este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da imersão da fase não parasitária de larvas e ninfas ingurgitadas de *A. dubitatum*, em condições de laboratório.

MATERIALE MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Ixodologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz (EPPWON), do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), situada no Município de Seropédica (Lat.: 22° 45' Sul; Long.: 43° 41' Oeste; Alt.: 33m).

Fêmeas ingurgitadas de *A. dubitatum* com peso médio de $926,3 \pm 242,7$ mg foram recuperadas de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) infestadas artificialmente, no Município de Jundiá (Lat.: 23° 11' 20" Sul; Long.: 46° 53' 01" Oeste; Alt.: 762m), Estado do São Paulo, Brasil. Estas foram transportadas ao laboratório, limpas, pesadas, identificadas, acondicionadas em placas de Petri e mantidas sob condições controladas em estufa tipo BOD, regulada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ de umidade relativa e escotofase, para a realização da postura (PRATA, 1998) e estabelecimento da colônia.

Um grupo de 12 coelhos foi infestado através da técnica do saco de pano aderido à base das orelhas (NEITZ et al., 1971). Cada coelho recebeu uma dose infestante, com aproximadamente 1845 larvas com 20 a 30 dias de idade. Foi feita a coleta diária das larvas ingurgitadas que se desprenderam após a fase parasitária.

Larvas ingurgitadas desprendidas no dia modal foram levadas ao laboratório, lavadas e secas em papel absorvente. Após esta etapa, estas foram distribuídas em tubos de ensaio com 20 ml de capacidade, na razão de 10 larvas ingurgitadas por tubo, sendo formados seis grupos: o grupo controle, com 20 tubos de ensaio, os grupos para imersão por 24, 48, 72 e

96h, com 10 tubos cada e um grupo para imersão durante oito semanas, também com 10 tubos de ensaio. Após a distribuição dos exemplares, todos os tubos foram identificados e fechados com tecido de organza e elástico de borracha. O grupo controle permaneceu seco, enquanto os demais grupos receberam água destilada até a sua borda, com auxílio de uma seringa plástica não agulhada, sendo acondicionados, ainda, em recipientes plásticos repletos com água destilada, para evitar a evaporação da mesma ou a formação de bolhas de ar, segundo técnica de Paula et al. (2000). Todos os tubos foram mantidos em condições controladas em estufa tipo BOD, regulada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ de UR e escotofase. Decorridos os prazos de 24, 48, 72 e 96h, os respectivos tubos foram retirados da estufa para que a água em seu interior pudesse ser escoada, sendo então retornados para as condições anteriormente citadas.

As ninfas ingurgitadas foram obtidas através da infestação de cinco coelhos com aproximadamente 800 ninfas por animal, utilizando a mesma técnica descrita para as larvas. As ninfas ingurgitadas desprendidas no dia modal foram tratadas em laboratório da mesma forma que as larvas, sendo distribuídas em tubos de ensaio de 20ml de capacidade na razão de 10 ninfas ingurgitadas por tubo. Os tubos foram divididos em quatro grupos para imersão (24, 48, 72 e 96 horas) e um controle a seco com dez repetições cada, totalizando 500 ninfas ingurgitadas. Em função do baixo número de ninfas ingurgitadas coletadas o grupo imerso por oito semanas foi excluído desta etapa experimental.

Todo o material foi observado diariamente pela manhã para verificação dos parâmetros relativos à fase não parasitária das larvas e ninfas ingurgitadas. Os parâmetros biológicos analisados foram: períodos de pré-ecdise e ecdise, cujas definições encontram-se em Chacón et al. (2003); período total de muda e percentual de ecdise, cujas definições encontram-se em Bellato e Daemon (1997). O percentual de ninfas e adultos mortos foi observado 30 dias após o início da ecdise de cada grupo. Os resultados foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) e o teste Tukey-Kramer ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Imersão de larvas ingurgitadas

A análise estatística da ecdise ninfal foi realizada somente entre os grupos controle, 24 e 48h, já que nos grupos 72 e 96h somente três tubos (30%) apresentaram ecdise. Nos três primeiros grupos, 100, 100 e 90% dos tubos apresentaram ecdise, respectivamente. Nenhuma das larvas ingurgitadas imersas por oito semanas sobreviveu às condições de imersão. Estes dados indicam um efeito deletério significativo nos grupos imersos a partir de 72 horas.

Os parâmetros analisados e o ritmo de muda das larvas ingurgitadas podem ser observados na Tabela 1 e Figura 1, respectivamente. O período de pré-ecdise ninfal sofreu altera-

Tabela 1. Parâmetros biológicos da ecdise de ninfas provenientes de larvas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum* imersas em água destilada por diferentes períodos em estufa tipo BOD a $27\pm1^{\circ}\text{C}$, $80\pm10\%\text{UR}$ e escotofase e percentual de mortalidade. Na vertical: média; limites e o "n".

Parâmetros	Períodos de imersão				
	controle	24 h	48 h	72 h	96 h
Período de	17,0 \pm 1,9 ^b	17,4 \pm 1,4 ^{ab}	19,1 \pm 2,3 ^a	18,7 \pm 1,2	22,7 \pm 4,5
pré-ecdise (dias)	13 – 21 20	16 – 20 10	17 – 23 9	18 – 20 3	18 – 27 3
Período de ecdise (dias)	7,0 \pm 2,5 ^a 4 – 12 20	4,7 \pm 2,1 ^{ab} 1 – 8 10	3,4 \pm 3,0 ^b 1 – 10 9	4,7 \pm 4,0 1 – 9 3	3,0 \pm 2,6 1 – 6 3
Percentual de ecdise	57,0 \pm 13,4 ^a 30 – 90 20	39,0 \pm 17,9 ^{ab} 10 – 60 10	23,0 \pm 16,7 ^b 10 – 60 10	10,0 \pm 32,1 10 – 70 10	11,0 \pm 37,9 10 – 80 10
Período Total de Muda (dias)	21,1 \pm 2,7 ^a 16 – 28 121	19,0 \pm 1,8 ^b 16 – 23 39	20,5 \pm 2,6 ^a 17 – 27 23	21,2 \pm 2,3 18 – 26 10	21,3 \pm 2,9 18 – 27 11
Percentual de mortalidade	7,8 \pm 13,0 ^a 0-33,2 10	11,7 \pm 19,3 ^a 0-50 10	15,7 \pm 32,9 ^a 0-100 9	83,3 \pm 28,9 50-100 3	95,8 \pm 7,2 87,5 3

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si, ao nível de 5%.

Somente os grupos controle, 24 e 48 h foram analisados estatisticamente.

ção em consequência da imersão ($p<0,05$) no grupo de 48h, quando comparado com a média do grupo controle para este mesmo período. Este resultado é parcialmente semelhante ao obtido por Paula et al. (2005) que, ao trabalhar com imersão de larvas ingurgitadas de *A. cajennense*, utilizando a mesma metodologia, relataram que este parâmetro foi significativamente maior a partir de 24h de imersão. Isto indica o possível efeito deletério da imersão, visto que larvas ingurgitadas cujo período de pré-ecdise se torna mais longo, ficam mais tempo expostas a variações do ambiente, principalmente temperatura e umidade relativa e mesmo a inimigos naturais. Os resultados diferem dos observados por Penna (1999) que ao utilizar metodologia semelhante com *R. sanguineus* verificou que o período de pré-ecdise de ninfas desta espécie não sofreu alteração após a imersão.

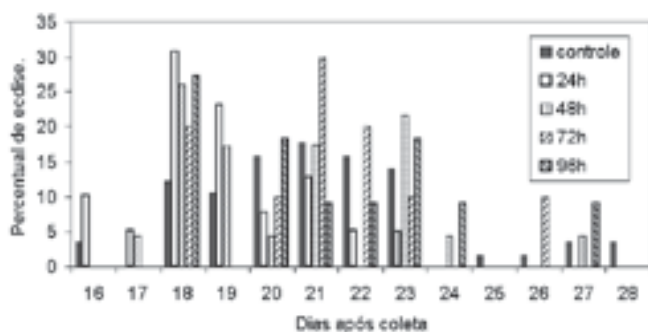


Figura 1. Ritmo de muda de larvas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum* do grupo controle e imersas em água destilada por diferentes períodos em estufa tipo BOD a $27\pm1^{\circ}\text{C}$, $80\pm10\%\text{UR}$ e escotofase.

O período de ecdise ninfal sofreu alteração significativa após 48h de imersão, sendo esse resultado, diferente do obtido por Paula et al. (2005) e Penna (1999), para larvas ingurgitadas de *A. cajennense* e *R. sanguineus*, respectivamente. Nestas publicações, os autores informaram não ter ocorrido efeito deletério da imersão sobre este parâmetro. Na Figura 1, observa-se que o grupo controle apresentou 15,8 % das ecdises até o 18º dia após a recuperação, enquanto os grupos tratados com imersão em água destilada apresentaram de 20 a 46,2% das ecdises até este mesmo dia, verificando-se a redução do período de ecdise. Este fato pode ser explicado em função da redução do número de carrapatos nos grupos imersos devido à mortalidade das larvas ingurgitadas.

O percentual de ecdise ninfal diminuiu em relação inversa ao tempo de imersão, sendo a diferença significativa somente entre os grupos controle e 48 horas ($p<0,05$). Smith (1973), que utilizou metodologia distinta, analisou os efeitos da imersão sobre *Amblyomma variegatum* e *Rhipicephalus appendiculatus* e verificou que larvas ingurgitadas destas espécies sobreviveram a três e cinco dias de imersão, respectivamente, para que houvesse 50% de muda. A sobrevivência de larvas ingurgitadas de *Amblyomma americanum* à imersão foi estudada por Koch (1986) que observou redução na mesma após seis dias de imersão, sendo os valores dos períodos precedentes próximos a 100%. Penna (1999) não apresentou percentual de ecdise em seu estudo com *R. sanguineus*, mas observou a mortalidade das larvas ingurgitadas, cujo percentual aumentou com relação direta ao tempo de imersão, principalmente após 48h. Paula et al. (2005) obtiveram percentual de ecdise menor nos grupos imersos por mais de 72 h, obser-

Tabela 2. Parâmetros biológicos da ecdise de adultos provenientes de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum* imersos em água destilada por diferentes períodos em estufa tipo BOD a $27\pm 1^\circ\text{C}$, $80\pm 10\%$ UR e escotofase e percentual de mortalidade. Na vertical: média; limites e o "n".

Parâmetros	Períodos de imersão			
	controle	24 h	48 h	72 h
Período de Pré-ecdise (dias)	16,44 \pm 0,53 ^c 16-17 9	18,3 \pm 0,95 ^{bc} 17-20 10	21,00 \pm 1,83 ^{ab} 19-24 10	23,13 \pm 1,36 ^a 22-26 8
Período de Ecdise (dias)	3,80 \pm 0,92 ^{ab} 2-5 10	4,90 \pm 2,18 ^{ab} 2-10 10	6,5 \pm 2,59 ^a 3-11 10	3,00 \pm 2,50 ^b 1-8 8
Percentual de Ecdise	97,77 \pm 4,41 ^a 90-100 9	65,00 \pm 15,09 ^{ab} 50-90 10	49,00 \pm 15,24 ^{bc} 30-70 10	14,00 \pm 9,66 ^c 0-30 10
Período total de muda (dias)	18,29 \pm 1,80 ^c 16-29 90	20,38 \pm 1,87 ^b 17-27 65	23,77 \pm 2,90 ^a 19-32 49	24,84 \pm 2,92 ^a 22-31 14
Percentual de mortalidade	9,22 \pm 10,84 ^b 0-30 9	14,86 \pm 13,15 ^{ab} 0-40 10	31,24 \pm 23,94 ^a 0-75 10	27,07 \pm 39,77 ^{ab} 0-100 8

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si, ao nível de 5%.

vando a morte das larvas ingurgitadas ou das ninfas ainda presas a exúvia.

O período de muda sofreu o efeito da imersão, sendo menor no grupo de 24h em relação aos grupos controle e 48h. Este fato se deve, provavelmente, à diminuição do período de ecdise no grupo de 24h, porém sem aumento do período de pré-ecdise neste mesmo grupo, enquanto no grupo de 48h, houve um aumento do período de pré-ecdise devido à imersão.

Imersão de ninfas ingurgitadas

Os valores referentes ao grupo 96 h não constam da tabela, visto que em apenas uma das dez repetições ocorreu ecdise, evidenciando o efeito deletério da imersão neste grupo. A imersão por 96 horas resultou em apenas 3% de sucesso no processo de ecdise de adulto, desta forma a análise estatística referente ao processo de ecdise de adulto foi realizada apenas entre os grupos controle, 24, 48 e 72h. Os parâmetros analisados e o ritmo de muda das ninfas ingurgitadas estão expressos na Tabela 2 e Figura 2, respectivamente.

O período de pré-ecdise de adulto aumentou nos grupos com maior tempo de imersão, embora diferenças estatísticas tenham sido observadas somente entre os grupos controle e os grupos 48 e 72 horas, e entre o grupo 24 horas e 72 horas. Piranda et al. (2002) relataram diferença no período de pré-ecdise após 24 horas de imersão e não observaram diferenças no período de ecdise, quando estudaram a imersão de ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* em água destilada com solo em capacidade de campo. Já, Penna (1999), não observou diferenças nos períodos de pré-ecdise e de ecdise de adulto de *R. sanguineus*.

A pequena diferença observada neste trabalho no período

de ecdise de adulto entre os grupos 48 e 72 horas deve-se, provavelmente, ao baixo percentual de ecdise (14%) do grupo 72 horas, dificultando a análise dos resultados.

O percentual de ecdise de adulto diminuiu à medida que se aumentou o período de imersão, embora diferenças estatísticas tenham sido observadas somente entre os mesmos grupos no parâmetro período de pré-ecdise. O grupo controle obteve a média de 98 % e o grupo de 96h a média de apenas 3% de ecdise. O grupo submetido a 48 horas de imersão obteve média de 49% de ecdise, resultado semelhante com o obtido por Smith (1973) para *A. variegatum* (50%). O autor considerou que esta espécie é mais resistente a alagamentos que *R. appendiculatus*, que em apenas 24 horas de imersão teve o percentual de ecdise reduzido também a 50%. Os resultados obtidos por Piranda et al. (2002) referentes ao percentual de ecdise de *A. cajennense* (58% de ecdise após 24 horas de imersão) são semelhantes àqueles obtidos por Smith (1973) para *R. appendiculatus*. Penna (1999) não analisou o percentual de ecdise de adulto de *R. sanguineus*, no entanto encontrou elevada mortalidade (83%) nas ninfas ingurgitadas imersas por 48 horas.

Os resultados relativos ao período de muda de adulto de *A. dubitatum* obtidos para os cinco grupos confirmam os demais resultados de que a imersão possui efeito deletério sobre o processo de ecdise de adulto. No entanto, este foi o único parâmetro até aqui analisado que foi influenciado por 24 horas de imersão, pois os demais parâmetros sofreram influência a partir de 48 horas de imersão. Observando-se a Figura 2, evidencia-se a influência da imersão sobre a velocidade do processo de ecdise de adulto. O grupo controle teve o dia modal no 18º dia e o grupo 24 horas teve seu dia modal no 20º dia após o desprendimento do hospedeiro. Nos grupos imersos

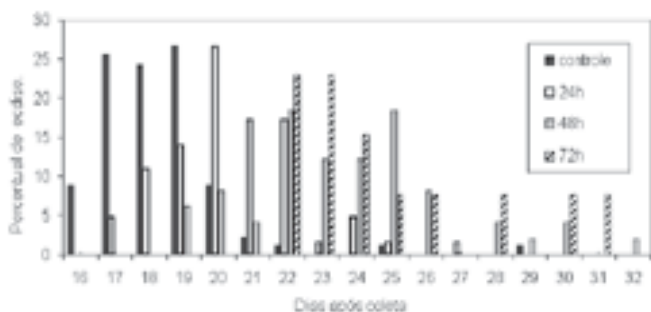


Figura 2. Ritmo de muda de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma dubitatum* do grupo controle e imersas em água destilada por diferentes períodos em estufa tipo BOD a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, $80\pm 10\%$ UR e escotofase.

por 48 e 72 horas, o retardo no processo é evidente. No 19º dia após o desprendimento do hospedeiro, enquanto o grupo controle já tinha atingido 85% de ecdise, o grupo imerso por 24 horas ainda não tinha 30% e o de 48 horas chegou a apenas 6 % de ecdise. O grupo imerso por 72 horas só iniciou o processo no 22º dia após o desprendimento.

O percentual de mortalidade dos adultos oriundos das ninfas ingurgitadas aumentou à medida que se elevou o período de imersão. A exceção foi o grupo imerso por 72 h no qual o percentual foi menor que o do imerso por 48 horas. Isto pode ter ocorrido em função do reduzido número de adultos que realizaram ecdise após 72 h de imersão.

Os resultados encontrados para ambos os processos, de ecdise ninfal e de adulto de *A. dubitatum*, demonstram que esta é uma espécie com grande resistência a imersão se comparada a outras espécies já estudadas, refletindo uma adaptação ao meio em que vive seu hospedeiro primário. Não se evidenciaram diferenças na susceptibilidade entre larvas e ninfas ingurgitadas de *A. dubitatum* como sugerido por outros autores (SMITH, 1973; PENNA, 1999; PAULA et al., 2005) para as demais espécies estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 31, n. 4, p. 759-845. 1936.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n.1, p. 21-27. 1997.
- CHACÓN, S.C.; CORREIA P.G.; BARBIERI, F.S.; DAEMON E.; FACCINI J.L.H. Efeito de três temperaturas constantes sobre a fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1878) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 13-20. 2003.
- GUGLIELMONE, A.A.; ESTRADA-PÉÑA, A.; KEIRANS, J.E.; ROBINS, R.G. *Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region*. 1ª ed. Atalanta, Houten: The Netherlands, 2003. 173 p.
- GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*. São Paulo: Plêidade Ltda. M. E./FAPESP, 2001. 218 p.
- KOCH, H.G. Survival of the lone star tick (Acari: Ixodidae) under flooding conditions: a laboratory evaluation. *Journal of Economic Entomology*, v. 79, n. 6, p. 1555-1557. 1986.
- LEMOES, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; SERRA-FREIRE, N. M. 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. 6, p. 701-702. 1996b.
- LEMOES, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; SERRA-FREIRE, N. M.; AMORIM, M.; GAZETA, G. S. Epidemiological aspects of the brazilian spotted fever: Seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 30, n. 3, p. 181-185. 1997.
- LEMOES, E. R. S.; MELLES, H. H. B.; COLOMBO, S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; SANSEVERINO, S. R.; MOURA, A. Primary isolation of spotted fever group rickettsiae from *Amblyomma dubitatum* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 91, n. 3, p. 273-275. 1996a.
- NEITZ, W. O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. Laboratory investigations on the life-cycle of the karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215-224. 1971.
- PAULA, A. R.; DAEMON, E.; CUNHA, D. W.; FACCINI, J.L.H.. Efeitos da imersão de fêmeas ingurgitadas e ovos de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) e *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em água destilada. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 22, n. 1, p. 30-36. 2000.
- PAULA, A. R.; PIRANDA, E. M.; FACCINI, J.L.H.; DAEMON, E. Efeito da imersão de larvas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em água destilada. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 2, p. 65-69, 2005.
- PENNA, A. P. *Efeito da imersão em água destilada sobre as fases de vida livre do ciclo evolutivo de Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). 1999. 38f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1999.
- PIRANDA, E. M.; PAULA, A. R.; FACCINI, J. L. H. ; DAEMON, E. Efeitos da imersão de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em água destilada com solo em capacidade de campo: III. ninfas ingurgitadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA,

- 12, 2002, Rio de Janeiro. *Anais ...*, Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD-ROM.
- PRATA, M. C. A. *Efeitos de diferentes temperaturas sobre os processos de postura, eclosão e mortalidade de larvas de Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae)*. 1998. 75p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998.
- SMITH, M. W. The effect of immersion in water on the stages of the Ixodid ticks - *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann 1901 and *Amblyomma variegatum* Fabricius 1794. *Annals of the Tropical Medical Parasitology*, v. 67, n. 4, p. 483-492. 1973.
- TRAVASSOS, J; VALLEJO-FREIRE, A Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa. *Memórias do Instituto Butantan*, v. 18, p. 145-235, 1944.

Recebido em 30 de agosto de 2005.

Aceito para publicação em 24 de janeiro de 2006.