

ESTUDOS DA TOXICIDADE DE ALGUNS CARRAPATOS
COMUMENTE ENCONTRADOS NO BRASIL
(ACARINA: IXODIDAE)

T E S E

Apresentada à Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro para obtenção do grau de
"Magister Scientiae"

DAISY WILWERTH DA CUNHA

= Janeiro de 1978 =

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. WILHELM O.D.M. NEITZ, Titular da Área de Parasitologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela orientação e incansável apoio durante a realização deste trabalho.

Aos Professores CARLOS LUIZ MASSARD e ANA MARGARIDA L. DE REZENDE pelo valioso auxílio na revisão dos manuscritos.

Aos Professores HUGO EDISON BARBOZA DE REZENDE, RUBENS PINTO DE MELLO, JOSÉ LUIZ DE BARROS ARAUJO, pelo contínuo apoio e estímulo à pesquisa biológica.

Aos senhores WALDIR JACINTHO DA SILVA e WALTER FLAUSINO, pelo auxílio nos trabalhos de laboratório.

Aos doutores JÜRGEN DOBEREINER, CARLOS TOKARNIA e JEROME LANGENEGGER (EMBRAPA) e Professor VICENTE DE PAULA GRAÇA (UFRRJ) pelas facilidades proporcionadas na aquisição dos coelhos.

Ao Dr. GONZALO E. MOYA BORJA pela realização das fotografias.

A senhora J.M. VORSTER, Pretora, África do Sul e DIVA MONTEIRO DA SILVA, UFRRJ, Rio de Janeiro, pelo trabalho datilográfico.

E a todos que de alguma forma contribuíram na realização deste trabalho.

B I O G R A F I A

DAISY WILWERTH DA CUNHA, filha de Léon Monteiro Wilwerth e Marília Dourado Wilwerth, nasceu em Niterói, Estado do Rio de Janeiro, em 12 de julho de 1935.

Realizou o curso primário e secundário no Colégio Nossa Senhora das Mercês, em Niterói. Iniciou o curso científico no Colégio Brasil, em Niterói e o último ano no Colégio Marconi, em Belo Horizonte, Minas Gerais.

Em 1968, ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, onde diplomou-se como Médica Veterinária em 1971.

De 1972 a 1976, foi bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Atualmente, exerce a função de Auxiliar de Ensino na Área de Parasitologia do Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Aos meus pais,
esposo
e filhos,
pela compreensão, apoio
e carinho necessários ao
desenvolvimento deste trabalho.

Í N D I C E

I.	INTRODUÇÃO	1
II.	REVISÃO DA LITERATURA	7
	A. Tick Paralysis (Paralisia por carrapato)	10
	B. Sweating Sickness (Dehidrose tropical)	14
	C. Toxicose por <i>Rhipicephalus appendiculatus</i>	17
	D. Toxicose por <i>Amblyomma cajennense</i>	19
III.	MATERIAL E MÉTODOS	23
	1. Origem dos Carrapatos	23
	1.A. <i>Boophilus microplus</i> - Carrapato Monoxeno	23
	1.B. <i>Haemaphysalis leporis-palustris</i>	23
	1.C. <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	24
	1.D. <i>Amblyomma cajennense</i>	24
	2. Criação dos Carrapatos	24
IV.	OBSERVAÇÕES EXPERIMENTAIS E RESULTADOS	31
	A. <i>Boophilus microplus</i>	33
	B. <i>Haemaphysalis leporis-palustris</i>	44
	B.1. Coelhos infestados com larvas	44

B.2.	Coelhos infestados com ninfas	45
B.3.	Coelhos infestados com adultos	45
B.4.	Reinfestação com ninfas e adultos	45
C.	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	48
C.1.	Coelhos infestados com larvas e ninfas	48
C.2.	Coelhos reinfestados com diferentes estádios	49
C.3.	Coelho infestado com adultos	50
D.	<i>Amblyomma cajennense</i>	55
D.1.	Coelhos infestados com larvas	55
D.2.	Coelhos infestados com ninfas	55
D.3.	Coelhos infestados com adultos	56
D.4.	Coelhos infestados e reinfestados por larvas e ninfas	56
D.5.	Coelho infestado e reinfestado com larvas	57
D.6.	Coelho infestado e reinfestado com ninfas e adultos	57
V.	DISCUSSÃO	67
VI.	CONCLUSÕES	73
VII.	RESUMO	77
VIII.	ABSTRACT	79
IX.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81

I. INTRODUÇÃO

Desde 1895, na Austrália, o arseniato de sódio tem sido utilizado no controle de carrapatos. Este acaricida foi subsequenteiramente empregado em muitos países onde a indústria pastoreira estava sendo prejudicada por uma grande variedade de doenças causadas por carrapatos. Contudo, desde 1937, tornou-se evidente na Austrália, Sul da África e América do Sul que *Boophilus* spp., que atua como vetor das babesioses e anaplasmoses de bovinos, desenvolvera resistência ao arseniato de sódio. Novos inseticidas, tais como BHC e DDT, que no início foram usados particularmente no controle de mosquitos e de infestações por piolhos no homem, mostraram-se efetivos acaricidas para o controle das espécies de *Boophilus* já resistentes ao arsênico. Alguns anos depois, foi constatado que sua ação específica tinha diminuído e que os carrapatos tinham-se tornado resistentes a esses dois compostos. Assim, criou a necessidade de se sintetizarem novos acaricidas. A eficiência destes novos produtos também diminuiu gradualmente e, por sua vez, foram eles substituídos por outros agen-

tes químicos.

Considerações detalhadas sobre o desenvolvimento de resistência das espécies de *Boophilus* foram feitas por Bekker (1959) para as condições da África e Austrália e, recentemente, por Gonzalez (1974), com base em observações feitas no Brasil. Além dessa resistência, tem sido evidenciado que linhagens do carrapato dioxeno *Rhipicephalus evertsi* Neum. (Whitehead & Baker, 1961) e do carrapato trioxeno *Rhipicephalus appendiculatus* Neum. na África (Baker & Shaw, 1965) adquiriram ainda a característica de favorecer o ataque de muitos protozoários, protófitas e vírus patogênicos aos animais domésticos.

É sem dúvida compreensível que cientistas tenham sentido a urgente necessidade da intensificação de seus estudos sobre o comportamento biológico do hospedeiro vertebrado e do significado dos estádios de vida livre e parasitária dos carrapatos. Graybill (1912) descreveu que durante o período de 1906 a 1912, pastoreio rotativo do gado baseado no "life-span" (sobrevivência) dos ovos e larvas, únicas fases da vida livre do *Boophilus annulatus* (Say), conduziu ao extermínio desta espécie em certas regiões dos Estados Unidos da América. Esta forma de combate ao carrapato não pode ser aplicada contra *Boophilus microplus* (Canestr.) no seu extenso habitat, onde vários animais selvagens servem como hospedeiros adicionais. Não obstante, controle químico e pastoreio rotativo são utilizados para manter as infestações em baixo nível. Além disso, tem sido dada atenção à resistência adquirida pelo gado, especialmente

das raças de zebu, após repetidas exposições ao *B. microplus*.

Trager (1939a,b) observou que uma simples infestação de cobaios com larvas de *Dermacentor variabilis* (Say) induz uma imunidade que impede efetivamente o ingurgitamento de subseqüentes infestações por larvas. Em cobaios, a imunidade desenvolve-se plenamente dentro de duas semanas após o início da primeira infestação e dura, no mínimo, três meses. É particularmente interessante o fato de que cobaios primeiramente infestados com *D. variabilis* ou *Dermacentor andersoni* Stiles mostram ter adquirido imunidade cruzada, ao serem atacados por larvas de outras espécies. Da mesma forma, coelhos primeiramente infestados com *D. variabilis* ou *Haemaphysalis leporis-palustris* Packard, mostram também imunidade cruzada com larvas das outras espécies.

Roberts (1968a) assinalou que "a resistência pode ser devida a um mecanismo fisiológico natural, tal como uma secreção sebácea repelente, característica da pele ou dos pêlos, que seria imprópria para a fixação, ou substratos impróprios para as enzimas dos carrapatos. Por outro lado, ou além disso, a resistência pode ser uma forma de manifestação de imunidade adquirida".

Têm sido publicados numerosos trabalhos sobre o desenvolvimento de resistência por animais domésticos e de laboratório, após infestação experimental ou natural com carrapatos. Da resposta dos bovinos à exposição ao *B. microplus*, Roberts (1968b) concluiu que, "inicialmente, cerca de 5% das larvas amadurecem

na maioria dos animais sem prévio contacto com carrapatos. Após 8 dias é adquirida resistência e, mais tarde, cada animal tem um número relativamente constante de carrapatos de resistência. Então, de acordo com o grau de resistência adquirido, há de 0% até 30% de larvas infestantes eventualmente maduras. Em contraste, animais com prévia exposição a carrapatos manifestam imediatamente seus níveis individuais de resistência. Foi concluído que os graus de resistência exibidos pelos bovinos são o resultado de uma resposta imunológica dada pelo hospedeiro. A duração do ciclo biológico do parasito em *Bos taurus* L. (21,3 ± 1,6 dias) não é influenciada pela resposta imune".

Convincente argumento a favor da instalação nos bovinos da resposta imune seguindo à exposição a *B. microplus* foi dada por Brossard (1976), o qual mostrou que "o gado se torna resistente a carrapatos após várias infestações pesadas. Durante o desenvolvimento das infestações, foram detectados anticorpos contra as glândulas salivares de *B. microplus* com o uso das técnicas: imunofluorescência indireta e imunoeletroforese. Há uma correlação causal positiva entre o título do anticorpo e desenvolvimento de resistência. Bezerros de um dia de idade, tratados com o antígeno de *B. microplus* por injeção das glândulas salivares e repetidas infestações com pequeno número de larvas, desenvolveram pronunciada resistência às subseqüentes infestações usuais pelos carrapatos da mesma espécie. Foram encontrados anticorpos específicos antes da primeira infestação usual. Isto sugere que estes anticorpos podem ser responsá-

veis pela resistência".

Roberts (1968a) relatou que "a obtenção de uma vacina de sucesso contra *B. microplus* parece não ser provável pois cada animal desenvolve somente aquele grau de resistência para o qual ele tem a capacidade inata, enquanto que, para a obtenção de uma vacina útil seria necessária uma forte resistência".

Estudos sobre imunidade adquirida pelos bovinos expostos a infestação por carrapatos no Brasil estão baseados em extensas observações de campo as quais têm conformado que raças de Zebu (*Bos indicus* L.) adquirem resistência *B. microplus* mais rapidamente e à nível mais alto do que raças européias de bovinos (*B. taurus*). Esta manifestação não surpreende, pois gado Zebu tem sido exposto a *B. microplus* na região leste da Ásia, e a *B. annulatus* na região do Mediterrâneo no norte da África, desde tempos imemoriais, em contraste com as raças de *B. taurus* das regiões mais altas do oeste da Europa onde nenhuma das duas espécies do parasito ocorre.

O termo toxina é usado de acordo com a descrição dada por Pavlovsky & Alfeeva (1941), que estabeleceram que carrapatos parasitando bovinos, não somente transmitem agentes infecciosos como também inoculam sua saliva tóxica, a qual, por meio de reações cutâneas, pode causar uma intoxicação geral que determina decréscimo na produção de leite e perda de peso nos animais afetados. Da mesma forma, pode ser mencionado que a neurotoxina responsável por paralisia no homem e em animais selvagens e domésticos causada por *Ixodes holocyclus* (Neum.) e

muitos outros carrapatos de extensas regiões do velho e do novo mundo (Gregson, 1973), a toxina epiteliotrópica que causa o eczema úmido e inflamação difteróide do epitélio do trato alimentar em bovinos, particularmente em bezerros durante a infestação com certas linhagens de *Hyalomma truncatum* Koch, no sul do Sahara, na África (Neitz, 1954, 1955) e a toxina leucocitotrópica transferida aos bovinos por *R. appendiculatus*, causando uma disfunção do sistema retículo-endotelial seguida de recaídas por protozoários e protófitas patogênicos abrigados pelos hospedeiros infestados (Thomas & Neitz, 1958) na África do Sul, são doenças que não somente têm causado alta morbidez mas também elevada taxa de mortalidade.

O objetivo da presente investigação foi determinar a natureza da resposta do tecido cutâneo da orelha de coelhos quando expostos à infestação com os estágios imaturos e adultos de quatro espécies de carrapatos comumente encontrados no Brasil. Resultados de observações feitas durante um período de três anos sobre toxicoses induzidas por carrapatos são apresentados com a esperança de que venham a ser de valor no planejamento de investigações semelhantes em outros animais domésticos.

II. REVISÃO DA LITERATURA

Em sua monumental "Bibliography of Ticks and Tickborne Diseases", Hoogstraal (1969-1975) relaciona as referências bibliográficas desde Homer (cerca de 800 A.C.) até hoje. Poderia parecer que criadores de animais domésticos assim como caçadores estavam bem informados sobre a presença de ectoparasitos hematófagos que atacavam não somente animais mas também o homem em zonas tropicais e temperadas. É interessante notar que no início do século XIX, em certas regiões infestadas por carrapato, o homem começou a distinguir o chamado "tick-worry" de certas doenças específicas que tinham freqüentemente término fatal em animais domésticos e menor severidade no homem.

A primeira referência a uma doença específica, referida como "paralisia por carrapato", é devida a Hovell (1824), que descreveu "a ocorrência, na Austrália, de um "scrub tick" que se enterrava na carne e destruía o homem ou o animal se não fosse removido a tempo". Backhouse (1843) registrou a

presença de "wattle tick", o qual se insinuava sob a pele e atacava não somente carneiros mas algumas vezes potros e bezertos. Surgiram outras descrições e Cleland (1913) atribuiu a paralisia por carrapato às fêmeas adultas de *I. holocyclus*.

A história relata que, em 1837, fazendeiros na região leste da Província do Cabo, na República da África do Sul, suspeitaram que uma doença altamente fatal (infecção por *Cowdria ruminantium* Cowdry, 1925) se desenvolvesse no gado após infestação com o carrapato *Amblyomma hebraeum* Koch. Esta suspeita foi confirmada experimentalmente, sete décadas após, por Lounsbury (1900, 1904b).

Nos Estados Unidos da América, durante a última metade do século passado, criadores de gado acreditavam que a febre do Texas ocorria quando o gado era infestado com *B. annulatus*. Esta opinião foi confirmada por Smith & Kilborne (1893), os quais não somente descreveram um novo parasito do sangue (*Babesia bigemina*) mas também estabeleceram pela primeira vez que um artrópode é capaz de servir de vetor de um protozoário do sangue. As formas associadas semelhantes a "cocos", que também foram vistas em esfregaços de sangue de bovinos, foram mais tarde reconhecidas como um agente patogênico distinto por Kolle (1898), na África do Sul e, posteriormente, chamado *Anaplasma marginale* por Theiler (1910). Este agente patogênico é o primeiro membro conhecido da ordem *Rickettsiales* do filo *Protozoa*.

Estimulados pela descoberta de Smith e Kilborne (1893),

numerosos pesquisadores interessaram-se em determinar os carrapatos vetores de outros agentes patogênicos responsáveis por doenças que ocorriam endêmica ou enzooticamente no homem e nos animais, em extensas regiões, em várias partes do mundo. As investigações durante as últimas nove décadas tem revelado que carrapatos ixodídeos e argasídeos são responsáveis pela transmissão de um número extremamente grande de agentes patogênicos tal como foi revisto por Neitz, 1976* para *Protozoa* por Breed, Murray & Smith (1957) para os protófitas e por Hoogstraal (1973) para os arbovirus.

Durante o curso dessas investigações, foi mostrado que alguns dos vetores testados para um ou dois agentes patogênicos, falharam no preenchimento das funções que lhes foram admitidas. Isto permitiu descobrir que nem todas as linhagens de

- a) *R. sanguineus* eram capazes de transmitir *Babesia canis* (Piana e Galli-Valerio, 1895) (Neitz, 1976*)
- b) *Boophilus decoloratus* (Koch) eram capazes de transmitir *B. bigemina* e *A. marginale* (Neitz, 1976*);
- c) *B. annulatus* eram capazes de transmitir *A. marginale* (Sergent, Donatien, Parrot & Lestoquard, 1945);
- d) vários vetores nativos dos Estados Unidos da América, *Dermacentor albipictus* Packard, *Dermacentor occidentalis* Marx., *D. andersoni* e *D. variabilis*

* Comunicação pessoal.

eram capazes de transmitir *A. marginale* (Stiles, 1942, 1946);

e) *R. appendiculatus* eram capazes de transmitir o arbovirus de "Nairobi sheep disease"*(Lewis, 1934).

As razões para estas manifestações são obscuras.

O progresso feito com estudos de toxicoses por carrapato tem sido muito mais lento do que aqueles referentes aos agentes patogênicos transmitidos por carrapatos. Antes de dar uma breve referência sobre a incidência e distribuição de quatro diferentes formas de toxicoses por carrapatos, selecionadas entre outras que ainda necessitam de uma decisão adicional, foi considerado necessário, para fins de esclarecimento, discutir cada forma sob uma concisa definição.

A. TICK PARALYSIS (PARALISIA POR CARRAPATO)

Observações feitas por numerosos investigadores por um período de dezessete décadas permitiram a seguinte definição:

Paralisia por carrapato é uma doença aguda ou subaguda de certos mamíferos e aves. É causada por uma toxina neurotrópica liberada durante a alimentação de pelo menos 22 membros da família Ixodidae Banks e quatro espécies da família Argasidae Canestr. É caracterizada por uma paralisia flácida ascendente, que progride rapidamente das extremidades, atingindo as estruturas medular e cerebral, causando incoordenação,

* Comunicação pessoal

alterações sensoriais e freqüentemente progredindo até a morte devido à parada respiratória. No homem e em cães tem sido observada paralisia regional confinada aos braços ou às pernas. Quando o vetor é removido da vítima antes de aparecerem sinais de paralisia bulbar, ocorre comumente uma rápida recuperação. *Neitz (1976) mostrou que, em casos fatais induzidos em cabras, por *Ixodes rubicundus* Neum., e em carneiro e cães, por *R. evertsi* as autópsias revelaram hiperemia do cérebro, edema e hiperemia dos pulmões, hidrotórax e hidropericárdio moderados, hiperemia do fígado e atrofia do baço.

Observações de campo têm mostrado que pequenos ruminantes que se recuperam de paralisia por carrapato não são imunes quando reinfestados com a mesma espécie de carrapato, em certas regiões enzoóticas. Isto foi determinado em Karco, Sul da África, região infestada por *I. rubicundus*, em carneiros, 14 a 28 dias após o ataque primário (Borthwick, 1905; Van Rensburg, 1928); em regiões da Bulgária infestadas por *Haemaphysalis inermis* (Pavlov, 1940) e em regiões enzoóticas da Jugoslávia infestadas por *H. punctata* Canestr. e Faz., em carneiros e cabras, após o primeiro ataque (Pavlov & Miljowski, 1942). Hughes & Philip (1958), nos Estados Unidos da América, verificaram que três hamsters que se tinham recuperado de paralisia induzida por *D. andersoni* estavam completamente susceptíveis quando sua imunidade foi testada após 28, 45 e 67 dias com carrapatos da mesma espécie.

*Comunicação pessoal.

Na Austrália, Ross (1935), Oxe & Ricardo (1942) e Oxe (1948) tiveram êxito hiperimunizando cães contra a toxina neurotrópica produzida por fêmeas adultas de *I. holocyclus*. Cães foram reinfestados com intervalos de uma semana com um número crescente de carrapatos, por um período de seis semanas. Eles sofreram então uma pequena sangria após ter sido destacado o último carrapato e um soro imune foi preparado com as usuais precauções assépticas. Na Austrália, foi verificado que a maioria dos Queensland marsupiais (=bandicoots), *Isodon macrourus* (Gould) (Derrick, 1942) e o "long-nosed bandicoots", *Peramelas nasutu* Geoffroy (Oxe & Ricardo, 1942) eram imunes quando testados com fêmeas toxicóforas de *I. holocyclus*. Considerando-se a produção de imunidade à toxina neurotrópica em cães, acima descrita, é permitido concluir que os "bandicoots" adquirem imunidade à partir de repetidas infestações por carrapatos toxicóforos em seu habitat.

Informações sobre a distribuição, incidência e patogenicidade da paralisia por carrapato, estão reunidas nas revisões de Abbot (1943,a,b), Stanbury & Huyck (1945), Theiler (1949), Neitz (1962) e Gregson (1973). Neitz (1962) resumiu dados mundiais que incluem todos os carrapatos conhecidos até a época que tinham causado paralisia no homem, mamíferos e aves e, os países nos quais a doença foi descrita. Gregson (1973), além de dar uma concisa revisão histórica dos vetores e a lista adicional de animais selvagens sensíveis à doença, incluiu extensa e compreensível referência da experimentação avançada sobre o efeito fisiológico da paralisia por carrapato no hos-

pedreiro, mas concluiu que, apesar dos testes bem planejados e bem conduzidos por vários investigadores, a natureza da toxina é ainda desconhecida.

Desde sua primeira descrição na Austrália, em 1824 a paralisia por carrapato tem sido assinalada na Província do Cabo, na África do Sul; Mally, 1904; Borthwick, 1905. Coube a Theiler (1947, 1948, 1950) identificar o vetor como *I. rubicundus* e não como *Ixodes pilosus* Koeh. Um segundo carrapato, *R. evertsi*, que é responsável por surtos esporádicos, principalmente em carneiros, foi descrito por Lounsbury (1904a).

Nos Estados Unidos da América, a paralisia por carrapato foi primeiramente descrita em uma criança por Temple (1912) no Estado de Washington. Em British Colúmbia, Canadá, essa doença ocorreu em grande número de cães, bovinos e carneiros, quando os pioneiros começaram a desenvolver a indústria pastoril a partir de 1900. Hadwen (1913) encontrou convincentes evidências de que *D. andersoni* era o vetor. É importante notar que praticamente todas as fêmeas adultas de *D. andersoni* em British Colúmbia são capazes de causar a neurotoxicose em animais, enquanto que, nas regiões adjacentes dos Estados Unidos da América, a incidência de carrapatos toxicóforos desta espécie é muito mais baixa. Outros quatro carrapatos, *Amblyomma americanum* (L.), *Amblyomma maculatum* Koch, *Dermacentor occidentalis* Marx e *D. variabilis*, têm sido considerados como causa de vários surtos esporádicos de paralisia em bovinos, em cavalos e em cães, na região sul dos Estados Unidos da América.

A última dessas espécies também tem causado a doença no homem.

Na América do Sul, a paralisia foi observada em apenas três cães. De acordo com Vogelsang (1925), *A. maculatum* causou a doença em dois cães no Uruguai, enquanto *R. sanguineus* induziu a doença a um único cão na Venezuela (Viloria, 1954).

Na Europa, a paralisia por carrapato ocorreu em três pessoas após a exposição a *Ixodes hexagonous* Leach. Garin e Buyadoux (1923) observaram dois casos na França e Arthur (1947), um único caso, na Inglaterra. Gregson (1973) revisou a incidência da paralisia na Eurásia seguindo a infestação de cavalos, bovinos, carneiros e cabras por uma espécie de *Dermacentor*, por *H. inermis*, *H. punctata*, *Ixodes crenulatus* Koch, *Ixodes ricinus* ou *Ornithodoros lahorensis* Neum.

Neitz (1962) e Gregson (1973) relacionaram informações a respeito do papel dos carrapatos argasídeos como causadores de paralisia em mamíferos domésticos e aves.

B. SWEATING SICKNESS (DEHIDROSE TROPICAL)

Embora a dehidrose tropical, uma doença altamente fatal de bezerros, fosse conhecida pelos indígenas das regiões leste, centro e sul da África desde muitas décadas, a primeira notícia desta doença somente apareceu em uma publicação de Bevan (1920). A etiologia continuou obscura até Neitz (1953, 1955, 1959) estabelecer que a doença era transmitida por carrapatos adultos da espécie *Hyalomma truncatum* Koch e que a

causa era uma toxina (Neitz, 1956b). Sistemáticas observações de campo e investigações de laboratório desenvolvidas por um período de cinco décadas permitiram a seguinte definição:

Dehidrose tropical é uma doença hiperaguda, aguda, subaguda ou branda de bovinos, principalmente de bezerros, determinada por uma toxina epiteliotrópica proveniente de linhagens do carrapato *Hyalomma truncatum* durante o período alimentar das formas adultas. Ela é caracterizada por hiperemia e hiperestesia da pele e de membranas mucosas visíveis, pirexia, anorexia, salivação, lacrimejamento, rinite serosa ou cruposa, epistaxe, eczema úmido localizado ou difuso, diarréia e difterioide e estomatite, faringite, laringite, esofagite, vaginite ou postite. Os animais que se recuperam desenvolvem imunidade durável desde 21 até 48 meses. Bezerros filhos de fêmeas sabidamente imunes não desenvolvem imunidade passiva após receberem o colostro.

H. truncatum é um carrapato dioxeno. As larvas e as ninfas se alimentam em roedores, lebres e aves, enquanto os adultos se alimentam em animais domésticos e em grandes animais selvagens. Durante os estádios imaturos podem não desempenhar qualquer papel na produção da doença em artiodáctilos domésticos susceptíveis. A linhagem de carrapato produtora da dehidrose tropical foi mantida, alimentando-se os espécimens, durante os estádios imaturos, em coelhos, e após tornarem-se adultos, em bovinos, carneiros, cabras e porcos. Fazendo-se isso foi verificado que os últimos três hospedeiros menciona-

dos eram completamente susceptíveis, fenômeno não observado sob condições naturais. Cavalos e coelhos infestados com carrapatos adultos mostraram-se refratários. Experimentos seriados com alimentação de carrapato revelaram que a toxina passa hereditariamente de uma geração a outra. Além disso, foi observado que, quando a alimentação dos carrapatos em porcos era interrompida 72 ou 96 horas após a infestação, não apareciam sinais clínicos da doença mas quando os mesmos animais eram reinfestados aproximadamente três semanas mais tarde, mostravam estar fortemente imunizados. Considerando-se esta manifestação, pode-se concluir que o agente causal é uma toxina e não um vírus, o qual teria continuado a se multiplicar no hospedeiro para produzir a característica síndrome clínica.

Interessante observação feita na dehidrose tropical é que durante o período de reação a fibrina do plasma aumenta, depois diminui gradualmente no decorrer da recuperação (Malan, 1953).

Observações feitas para determinar a incidência de linhagens de *H. truncatum* que determinam dehidrose tropical em áreas enzoóticas da África do Sul, não tiveram sucesso. Durante o transcorrer de experimentos sobre alimentação de carrapatos com duas linhagens, foi verificado que bovinos e carneiros infestados com imagos desenvolveram pirexia, anorexia e apatia, terminando em todas as situações em recuperação após alguns dias. A análise química do sangue desses animais revelou que do terceiro ao sétimo dias de pirexia ocorreu nítido aumento seguido de gradual diminuição do conteúdo de fibrina do plasma.

Testes de imunidade nos animais recuperados, seis semanas mais tarde, com linhagens homólogas de *H. truncatum*, mostraram que os animais estavam inteiramente susceptíveis, pois as manifestações clínicas foram similares àquelas da reação primária e foram também acompanhadas por aumento no conteúdo de fibrina.

Considerando-se a ocorrência de aumento de fibrina em animais após a infestação com uma linhagem toxicófora para dehidrose tropical e também aumento semelhante na fibrina em animais das mesmas espécies após infestação com linhagens de *H. truncatum* livres da toxina epiteliotrópica, torna-se evidente que as duas linhagens de carrapato continham uma mesma toxina. A toxina fibrinogênica produz uma imunidade que persiste aproximadamente por seis semanas, em contraste com a toxina epiteliotrópica, a qual é responsável por uma imunidade que permanece por períodos variáveis de 21 a 48 meses.

C. TOXICOSE POR *Rhipicephalus appendiculatus*

Uma terceira forma de toxicose por carrapato, comumente referida como toxicose por carrapato marrom, tem sido observada em bovinos após sua exposição a infestações maciças por larvas, ninfas e adultos de *R. appendiculatus* nas regiões de "bushveld" do norte e leste do Transvaal, Natal e Transkei, no Sul da África. A taxa de mortalidade é igualmente alta tanto em bovinos não premunizados como em premunizados contra "tick borne diseases" as quais incluem babesioses, anaplasmoses e cowdriase. Nos dois grupos, o exame microscópico do sangue

e de esfregaços de tecido de animais doentes ou mortos tem revelado um ou mais dos agentes patogênicos virulentos *B. bigemina*, *Babesia bovis* (Babes, 1888), *A. marginale* e *C. ruminantium* e dos relativamente benignos *Theileria mutans* (Theiler, 1906) e *Borrelia theileri* (Laveran, 1903). Investigações feitas por Thomas e Neitz (1958) mostraram que não foram eficazes nem a quimioterapia da babesiose com derivados de acridina e quinolina; da anaplasmose, da cowdriase, da borreliose e dos esquistozonites de *T. mutans* com tetraciclina; nem o estágio eritrocítico do último parasito mencionado com o composto amino-8-quinolina. Ocorreu um desaparecimento temporário dos parasitos do sangue, mas seguiram-se recaídas, apesar de repetidas medicações. Essas observações levaram à conclusão de que a toxina transmitida pelo carrapato marrom causa uma disfunção do sistema retículo-endotelial. Perdas diretas em regiões infestadas por *R. appendiculatus* podem ser diminuídas por meio de premunização dos bovinos contra as virulentas "tick borne diseases" e por meio de um controle químico sistemático do carrapato após a entrada do gado na região enzoótica.

Considerações sobre a etiologia e suas seqüelas permitem a conclusão de que a toxicose por carrapato marrom resulta em uma complexa doença iniciada por uma disfunção do sistema retículo-endotelial e que progride por solapamento do equilíbrio imunológico entre o hospedeiro e seus parasitos.

Thomas e Neitz (1958) definem a toxicose por carrapato marrom como uma doença aguda ou subaguda de bovinos causada

por uma toxina leucocitotrópica que é transmitida ao hospedeiro por *R. appendiculatus* imaturos e adultos. A severidade da reação é dependente do grau de infestação pelo carrapato. Ela é caracterizada por uma prolongada pirexia, edema dos tecidos subcutâneos das orelhas, pálpebras, mandíbula, barbela, algumas vezes toda a cabeça, miíase secundária das orelhas, inchaço dos linfonodos palpáveis, anorexia, lacrimejamento, descarga serosa nasal, apatia, emaciação progressiva e fraqueza.

As primeiras manifestações são seguidas por recaídas de babesiose, theileriose, anaplasnose, borreliose e cowdriose. Os sinais clínicos e lesões produzidas pelo protozoário e prótoto transmitidos pelo carrapato mascaram os da toxicose pelo carrapato. A mortalidade é extremamente alta e o período de convalescença muito longo. Os animais recuperados ganham novamente seu estado de premunição aos parasitos e desenvolvem imunidade contra a toxina leucocitotrópica, a qual é mantida por periódicas reinfestações com carrapatos marrons.

D. TOXICOSE POR *Amblyomma cajennense*

Uma quarta forma de toxicose por carrapato é produzida pelo trioxeno *A. cajennense* Fabricius, que se distribui largamente desde o sul do Estado do Texas, nos Estados Unidos da América, estendendo-se através do México, América Central, Ilhas do Caribe, para a América do Sul ao longo da região leste até a Argentina. No México, Colômbia e Brasil ele

é conhecido como o vetor de *Rickettsia rickettsii* (Wolbach, 1919) e, na Jamaica, como um vetor do arbovírus "Wad Medani" do grupo Kemerovo de vírus de bovino.

Embora relativamente pouca informação tenha sido publicada sobre a toxidez deste carrapato, veterinários e fazendeiros o consideram como um voraz ectoparasito, pois ele ataca o homem, animais domésticos, selvagens e aves, em todos os estádios de seu desenvolvimento. O efeito das picadas é claramente discernível em porcos brancos. A pele, ao redor do ponto de fixação, fica distintamente hiperêmica, seguindo-se um edema subcutâneo, endurecimento e desenvolvimento de abscessos devido à invasão bacteriana secundária.

Aitken, Omardeen & Gilkes (1958) reportaram-se a invasão do *A. cajennense* em Mayaro, na costa sudeste de Trinidad. Trabalhadores se recusaram continuar no trabalho, em áreas infestadas, devido à severidade das picadas e ataques de febre. Trabalhadores de uma propriedade mostraram efeitos consequentes a exposição aos carrapatos e destes a maioria eram mulheres que tinham sido empregadas para recolher e amontoar os frutos a serem transportados para as fábricas. Estas se recusaram a continuar nesta atividade devido a grande quantidade de carrapatos que tornava o trabalho penoso e desanimador. Esta espécie foi, também, encontrada em grande número de animais, incluindo cavalos, bovinos, ovinos, caprinos e cães, os quais servindo como hospedeiros favoreciam sua multiplicação e propagação.

As picadas do *A. cajennense* são muito profundas devido às suas longas peças bucais e freqüentemente se desenvolvem em úlceras de lenta cicatrização. Um dos pesquisadores acima mencionados, recebeu grande número de picadas de larvas nos braços e ao redor da cintura. A coceira foi intensa e as lesões produzidas permaneceram por semanas. Mesmo dois meses após, a pele mostrava despigmentação em consequência das picadas recebidas.

A bibliografia consultada não revelou se as vítimas destas infestações desenvolveram ou não imunidade à toxina.

O reconhecimento de várias toxinas que causam doenças específicas transmitidas por uma grande variedade de espécies de carrapatos a animais e ao homem, foi seguido de estudos que incluíam a incidência de carrapatos toxicóforos, as afinidades tissulares das toxinas, assim como a resposta imunogênica dos hospedeiros previamente expostos quando reinfestados com a mesma linhagem de carrapato toxicóforo. Considerações de investigações de campo e de laboratório têm tornado evidente:

a) que nem todas as linhagens dos carrapatos testados, ixodídeos e argasídeos, são capazes de transmitir a neurotoxina responsável pela paralisia por carrapato. Mesmo quando uma resposta imunológica se desenvolve em animais domésticos, ela não é durável. Veterinários australianos (citados por Bagnall & Doube, 1975) observaram que cobaias infestadas com larvas (Bagnall, 1975) e bovinos infestados com adultos de *I. holocyclus* (Kemp, 1975), desenvolveram alto grau de imunidade para

as subseqüentes reinfestações com larvas e fêmeas deste carrapato. Esta resistência adquirida pode indicar o caminho para a proteção dos bovinos à paralisia;

b) que nem todas as linhagens de *H. truncatum* parecem abrigar uma toxina fibrinogênica mas somente poucas dentre elas possuem, em adição, a toxina epiteliotrópica; a síndrome clínica da dehidrose tropical é, então, causada por duas toxinas distintas, a imunidade para a primeira é de curta duração, em contraste com a da última, que produz imunidade durável. Embora nenhum estudo crítico tenha sido concluído para determinar o grau e duração da resistência após exposição de coelhos a estágio imaturo, e bovinos e carneiros, a estágio adulto, foi entretanto, observando que muitos carrapatos não conseguiram alimentar-se até a repleção quando foram conduzidas reinfestações após um intervalo de dois meses;

c) que é ainda preciso ser determinado se todas as linhagens de *R. appendiculatus* abrigam ou não a toxina leucocitotrópica; sua patogenicidade torna-se evidente em bovinos após maciça infestação com todos os estádios de desenvolvimento e resulta em uma disfunção do sistema retículo-endotelial, seguida de recaídas em relação aos protozoários e protófitos patogênicos contidos pela vítima; animais recuperados não somente desenvolvem imunidade a esta toxina, mas também mostram diferentes resistências às formas adultas e imaturas de *R. appendiculatus*;

d) que os estádios imaturo e adulto de *A. cajennense*

contém uma toxina que, quando transmitida ao homem e aos animais, causa inflamação cutânea e irritação, edema e endurecimento do tecido subcutâneo; investigações sistemáticas precisam ser conduzidas para se estabelecer a afinidade tissular e a resposta que os animais domésticos, sem prévia exposição ao carrapato, dão à toxina quando infestados com essa espécie de carrapato.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. ORIGEM DOS CARRAPATOS

A. *Boophilus microplus* Canestr. - Carrapato Monoxeno

Fêmeas adultas ingurgitadas foram obtidas de:

a) bezerros mantidos na área da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro;

b) vacas da Fazenda C.V., nas vizinhanças da cidade de Barbacena, Estado de Minas Gerais;

c) vacas de uma fazenda na vizinhança de Mirasol, Estado de Mato Grosso.

B. *Haemaphysalis leporis-palustris* Packard

Fêmeas parcialmente ingurgitadas foram coletadas de

um coelho selvagem (*Sylvilagus brasiliensis* L.) capturado no campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, (UFRRJ) Itaguaí, R.J.

C. *Rhipicephalus sanguineus* Latr.

Fêmeas parcialmente ingurgitadas foram obtidas de vários cães recebidos no Hospital de Veterinária da UFRRJ para tratamento.

D. *Amblyomma cajennense* Fabricius

Ninfas ingurgitadas foram obtidas de perus mantidos no campus da UFRRJ.

2. CRIAÇÃO DOS CARRAPATOS

O método empregado para criação dos carrapatos mono e trioxenos foi baseado na descrição de Neitz, Boughton & Walters (1971). Uma única fêmea ingurgitada, 60 larvas e apenas 15 ninfas ingurgitadas foram colocadas no interior de pequenos tubos de vidro (20x10 mm) com rolha de algodão. Quatro desses tubos, contendo o mesmo estágio de desenvolvimento, foram acondicionados em um tubo de ensaio maior (150x20 mm) o qual foi também fechado com rolha de algodão. Os tubos de ensaio foram colocados em grandes frascos de vidro (Fig.1) e mantidos no laboratório onde a temperatura e a umidade relativa

do ar foram medidas diariamente durante todo o período experimental, desde julho de 1973 até junho de 1976.

Somente coelhos brancos foram empregados para a alimentação dos carrapatos, pois, como foi antecipado, as lesões poderiam ser facilmente detectadas no tecido cutâneo auricular não pigmentado, local de escolha para as infestações experimentais por carrapato. Um total de 57 coelhos isentos de infestação auricular por sarna foi empregado para estes testes. Sacos de pano providos de larga aba na extremidade da abertura e com capacidade para conter, além da orelha do coelho, um a quatro pequenos tubos contendo carrapatos, eram presos ao redor da base das orelhas dos coelhos (Fig. 2), vedando-se o interstício com a pasta Unna's aquecida até a fusão; esta pasta era preparada misturando-se óxido de zinco (30g), gelatina de boa qualidade (40g), água destilada (60 ml) e glicerina (30g) e aquecendo-se a mistura em banho-maria. Após a solidificação da pasta, reforçava-se a vedação com esparadrapo e os carrapatos eram libertados removendo-se a rolha dos tubos. No dia seguinte era feita uma abertura na extremidade superior do saco aplicado à orelha do coelho, para remoção dos tubos e da rolha de algodão e para determinação do grau de infestação. A abertura era, após recosturada para ser reaberta nos dias subsequentes para a coleta dos carrapatos já destacados, os quais eram colocados dentro de um tubo de ensaio através de funil apropriado de plástico (Fig. 3). As infestações e coletas eram grandemente facilitadas imobilizando-se os coelhos com um lar-

go colete de couro (Fig.4).

Não houve qualquer dificuldade na colocação das fêmeas adultas ingurgitadas em tubos de vidro separados. Entretanto, os exemplares imaturos, altamente ativos, eram separados com grande dificuldade. Esta dificuldade foi superada resfriando-se os tubos de coleta sobre gelo, transferindo-se, após, um pequeno número de carrapatos imobilizados para uma ampla placa de Petri também mantida sobre gelo, da qual o número anteriormente recomendado de carrapatos era removido, por meio de um fino pincel, para o interior dos pequenos tubos.

O outro método para a separação dos exemplares imaturos é mantê-los nos tubos de coleta até que a ocorrência da metamorfose se torne evidente. Nesta época eles não são ativos e sua separação pode ser feita com segurança.

Os procedimentos acima mencionados permitem obter medidas precisas dos períodos de pré-oviposição, oviposição e eclosão, pré-alimentação, alimentação e pré-muda de cada uma das sucessivas fases de desenvolvimento.



Fig. 1. Manutenção dos carrapatos em tubos de ensaio contidos em frascos de vidro.



Fig. 2. Saco de pano fixado ao redor da base das orelhas dos coelhos com pasta Unna's e esparadrapo para contenção dos carrapatos.



Fig. 3. Método de coleta dos carrapatos utilizando-se funil inserido em tubo preso a um suporte transparente.



Fig. 4. Coelho imobilizado por colete de couro.

IV. OBSERVAÇÕES EXPERIMENTAIS E RESULTADOS

Os valores médio, mínimo e máximo obtidos para a temperatura e níveis de umidade relativa do ar durante as quatro estações anuais por um período de três anos (Tabela 1) mostram que, embora tenham ocorrido flutuações especialmente quanto à umidade relativa mínima, não há indicação de que isso possa ter prejudicado o comportamento dos estádios imaturos ou adultos das quatro espécies de carrapato. A duração das sucessivas fases de desenvolvimento variou dentro dos limites normais.

TABELA 1. Observações de laboratório sobre temperatura e umidade relativa estimados desde 01.07.73 até 30.06.76.

Estações do Ano	Temperatura			Umidade relativa (%)		
	Média	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima
Primavera	24,6	20,4	31,9	75,2	48,0	97,0
Verão	27,3	20,8	32,8	77,7	57,0	95,0
Outono	24,1	19,7	30,6	81,1	45,0	95,0
Inverno	23,5	18,2	30,1	73,6	41,0	92,0

O objetivo primário destes experimentos foi determinar o grau de toxidez causado pelos estádios imaturos e adultos e comparar a natureza das lesões cutâneas auriculares em coelhos, causadas por quatro diferentes espécies de carrapatos comumente encontradas no Brasil. Foi escolhido o carrapato monoxeno *B. microplus* pois foi antecipado que o total de toxina liberado durante o contínuo período de alimentação dos estádios imaturos e adultos poderia causar lesões mais severas do que aquelas que resultariam dos períodos relativamente mais curtos de larva, ninfa e imago dos carrapatos trioxenos *H. leporis-palustris*, *R. sanguineus* e *A. cajennense*. Foi também dada atenção à possibilidade de adquirirem os coelhos imunidade após prévia exposição, o que seria evidenciado por meio de teste subsequente com qualquer estágio de desenvolvimento do mesmo carrapato trioxeno.

As observações experimentais e os resultados obtidos aparecem nas Tabelas 2 a 5. As durações do período de pré-alimentação, com exceção da de um conjunto de ninfas de *H. leporis-palustris* usado para a infestação do coelho 25 (210 dias, Tabela 3), foram muito mais curtas do que as dos períodos de sobrevivência máxima. Com exceção dos coelhos 11 e 25, que foram primeiramente infestados com *H. leporis-palustris* (Tabela 3) e, subsequentemente, com *A. cajennense* (Tabela 5), todos os coelhos foram infestados e reinfestados com somente uma espécie de carrapato.

As fêmeas de *A. cajennense* que se alimentaram em coe-

lhos ficaram menores do que aquelas comumente obtidas de bovinos após uma infestação natural. Este resultado é atribuído à forte reação inflamatória ao redor do local de fixação, o que impediria os carrapatos de se alimentarem até a repleção. Toda a progênie de uma única fêmea de cada uma das quatro espécies, estimada em aproximadamente 2.000 larvas, foi usada para a infestação de um coelho. As ninfas e imagos obtidos representam o número usado para as infestações.

A natureza das lesões nos tecidos cutâneos auriculares é representada, tabelas, por símbolos, enquanto sua duração é dada em dias após a infestação. Os intervalos entre reinfestações com diferentes estádios de desenvolvimento dos carrapatos trioxenos variaram bastante e dependeram da ocasião em que os carrapatos e os coelhos poderiam ser utilizados.

A. *B. microplus*

As observações sobre a alimentação dos estádios imaturo e adulto e a resposta do tecido auricular cutâneo dos 7 coelhos, quando cada um foi infestado com a progênie de uma única fêmea de *B. microplus* proveniente dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Mato Grosso são apresentadas na Tabela 2.

As larvas fixaram-se bem nas faces lateral e medial das orelhas e em algumas áreas havia forte superinfestação. No

segundo dia apareceram numerosos e diminutos focos vermelhos nos pontos de fixação, tendo eles permanecido estacionários até ocorrer a troca de pele larvar do quinto ao sétimo dia. Este era um período crítico para a sobrevivência da ninfa, e muitas delas se destacaram e não se fixaram novamente nos tecidos inflamados, como era evidenciado pelo aparecimento, durante três dias, de muitas ninfas mortas dentro dos sacos de pano. Os focos vermelhos ampliaram-se e tornaram-se coalescentes. O segundo período crítico ocorreu do 10° ao 13° dia, quando a ninfa troca de pele. Muitos adultos se destacaram dos superpopulosos pontos de alimentação e não mais se fixaram. Do 11° ao 14° dia ocorreu hiperemia generalizada, acompanhada por edema em grau variável, o qual persistiu por 19 dias no coelho 10 (Fig. 6), 22 dias no coelho 10 (Fig. 7) e 24 dias no coelho 10 (Fig. 8). Esta última figura também mostra uma fêmea completamente ingurgitada em associação com um macho. Durante este período foi constatado que a intensidade das lesões regrediu e que diminuiu o número de carrapatos em ativa alimentação. Muitas fêmeas adultas morreram porque a reação inflamatória tinha interferido no normal fornecimento de sangue aos tecidos (coelho 17 (Fig. 10 e 11) 27° dia). Dos sobreviventes, somente poucos se alimentaram até a repleção (coelho 10 (Fig.8) 24° dia) e as fêmeas restantes destacaram-se ainda muito fracamente ingurgitadas.

Foi interessante observar como a hiperemia e o edema rapidamente regrediram após o desprendimento dos carrapa-

tos que se tinham ingurgitado ativamente. Em todos os coelhos isto se seguiu por um eczema seco que persistiu por períodos que variaram de 3 a 10 dias (Tabela 2). A natureza do eczema seco é ilustrada por fotografias tiradas do coelho 5 no 39° dia (Fig. 5) e do coelho 10 no 41° dia (Fig. 9) após a infestação larval.

Considerando-se a natureza das lesões cutâneas, tornou-se claro que houve um progressivo aumento na severidade das reações através do completo período de alimentação, o qual terminou dos 20 aos 38 dias. Durante o período larvar ocorreu apenas reação inflamatória localizada, a qual sofreu intensificação durante o período de ninfa, enquanto que, durante o período de alimentação do imago, toda a pele auricular se tornou envolvida. Não pôde ser estabelecida a extensão pela qual a invasão bacteriana secundária aumentou o grau das lesões. Contudo, é razoável concluir-se que estas manifestações resultaram do contínuo aumento da quantidade de toxina liberada pelos sucessivos estádios de desenvolvimento. A alta mortalidade de carrapatos imaturos e adultos foi atribuída principalmente ao superpovoamento, o qual conduziu a uma alta taxa de destacamento de ninfas e imagos durante o período da ecdise enquanto que as fortes alterações patológicas tornaram a pele pouco atrativa para uma refixação. É possível que uma imunidade adquirida pelos hospedeiros possa prevenir efetivamente as ninfas e imagos do ingurgitamento (Roberts, 1968a; Brossard, 1976).

TABELA 2. Lesões cutâneas auriculares produzidas por sucessivos estádios de desenvolvimento do carrapato monoxeno *B. microplus*.

Grupo	Nº do coelho	Data da infecção	Período pré-alimentar (dias)	Estádio de alimentação.	Período de alimentação (dias)	Nº de fêmeas colhidas		Período de observação (dias)	Resposta da pele auricular durante sucessivos dias de alimentação pelos estádios inaturos e adultos. HF hiperemia focal no ponto de fixação da larva, com até 1,0 mm, HFA hiperemia focal ampliada para até 3,0 mm, no ponto de fixação da ninfa, HG hiperemia generalizada, E edema causado pelo imago, ES eczema seco precedendo a recuperação.
						Total	Parcialmente ingurgitadas		
(a)	5	11.09.73	85	1 - L	1 - 6			40	HF, 2 - 6
				2 - N	7 - 11				HFA, 7 - 11
(RJ)				3 - I	12 - 32	7	30		HG & E, 12 - 33; ES, 34 - 39 (Fig. 5, 39º dia)
	6	14.09.73	88	1 - L	1 - 6			45	HF, 2 - 6
				2 - N	7 - 13				HFA, 7 - 13
				3 - I	14 - 38	2	10		HG & E, 14 - 38; ES, 39 - 45
	8	26.09.73	44	1 - L	1 - 6			30	HF, 2 - 6
				2 - N	7 - 10				HFA, 7 - 11
				3 - I	10 - 26	2	7		HG & E, 11 - 26; ES, 27 - 30
	9	05.10.73	34	1 - L	1 - 6			28	HF, 2 - 6
				2 - N	7 - 11				HFA, 7 - 11
				3 - I	12 - 23	5	34		HG & E, 12 - 23; ES, 24 - 28
	10	05.10.73	34	1 - L	1 - 5			45	HF, 2 - 5
				2 - N	6 - 10				HFA, 6 - 10
				3 - I	11 - 24	10	61		HG & E, 11 - 24 (Fig. 6, 19º dia; Fig. 7, 22º dia; Fig. 8, 24º dia); ES, 25 - 45 (Fig. 9, 41º dia).
(b)	17	15.02.74	18	1 - L	1 - 7			36	HF, 2 - 7
				2 - N	8 - 12				HFA, 8 - 12
(MG)				3 - I	13 - 20	0	13		HG & E, 13 - 30 (Figs. 10 & 11, 27º dia); ES, 31 - 36
(c)	33	12.09.74	33	1 - L	1 - 5			30	HF, 2 - 5
				2 - N	6 - 9				HFA, 6 - 9
(MT)				3 - I	10 - 22	3	41		HG, 11 - 22, ES, 23 - 30

L = larva, N = ninfa, I = imago.

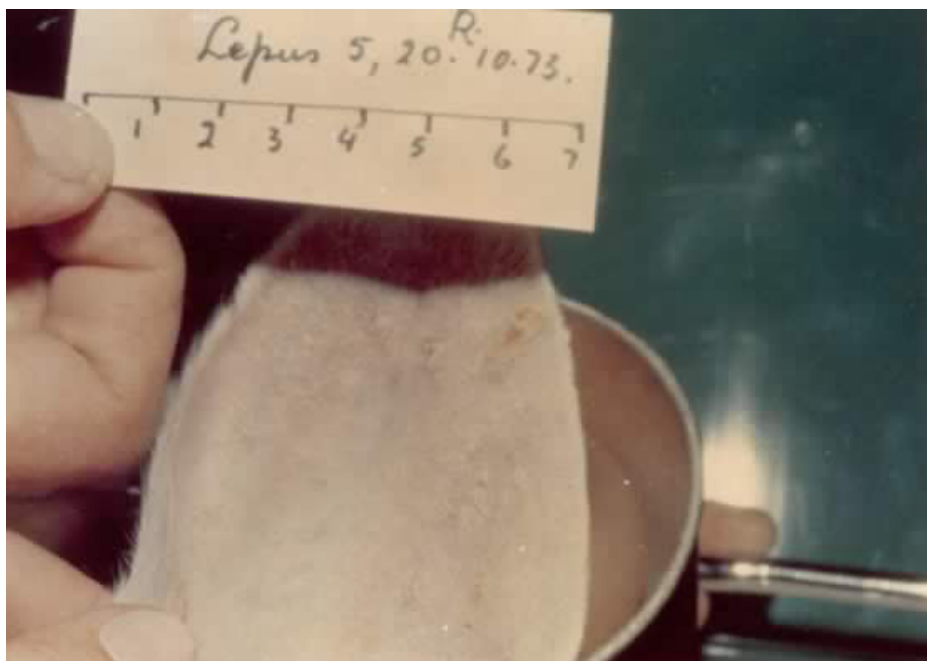


Fig. 5. Eczema seco da pele auricular no 39º dia após a fixação da larva de *B. microplus* (coelho 5).



Fig. 6. Imagos fixados e edema da pele auricular 19° dia após a infestação larval por *B. microplus* (coelho 10).



Fig. 7. Imagos fixados, edema e hiperemia da pele auricular no 22º dia após a infestação larval por *B. microplus* (coelho 10).

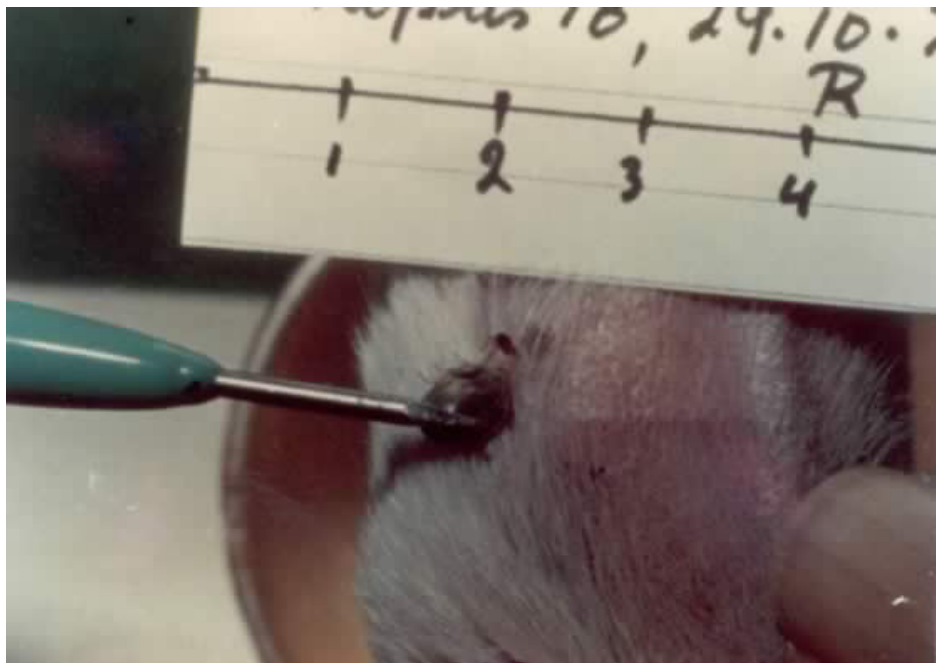


Fig. 8. Um macho e uma fêmea ingurgitada, hiperemia e edema da pele auricular, no 24 ° dia após infestação larval por *B. microplus* (coelho 10).



Fig. 9. Eczema seco no 41º dia após infestação larval por *B. microplus* (coelho 10).



Fig. 10. Imago fixado, edema e hiperemia da pele auricular no 27 ° dia após infestação larval por *B. microplus* (coelho 17).



Fig. 11. Imago fixado, edema e hiperemia da pele auricular no 27 ° dia após infestação larval por *B. microplus* (coelho 17).

B. *H. leporis* - *palustris*

As observações sobre a alimentação dos estádios imaturo e adulto e a resposta do tecido auricular cutâneo de 10 coelhos infestados com uma linhagem de *H. leporis-palustris* proveniente do Estado do Rio de Janeiro são apresentadas na Tabela 3. Quatro coelhos foram infestados cada um, com as larvas constituintes da progênie de uma única fêmea, dois coelhos foram infestados com ninfas, dois com imagos e dois com ninfas e imagos.

B.1. Coelhos infestados com larvas de *H. leporis-palustris*.

Grupo (a). Os coelhos 1, 23 e 25 foram infestados uma vez com larvas e os números de larvas ingurgitadas coletadas foram 442, 1.534 e 503, respectivamente. A produção relativamente mais baixa nos coelhos 1 e 25 é atribuída ao fato de ter sido mais longo o período pré-alimentar (109 e 129 dias), quando a necessidade de alimentos das larvas diminui.

O coelho 43, reinfestado duas vezes com larvas, com intervalos de 16 e 11 dias, apresentou produções após a primeira e segunda reinfestações, de 961 e 638 larvas ingurgitadas respectivamente, enquanto o período de pré-alimentação variou entre 42 e 50 dias. Não pode ser dada nenhuma explicação satisfatória ao fato da produção larval após a primeira infestação do coelho 43 ter sido consideravelmente mais baixa do que aque-

la do coelho 23. Além disso, as duas produções subseqüentes não mostraram evidência de que tivesse sido adquirida imunidade após a infestação primária. Nenhuma lesão auricular macroscopicamente visível foi observada nos quatro coelhos.

B.2. Coelhos infestados com ninfas de *H. leporis-palustris*

Grupo (b). Em dois coelhos infestados uma vez com ninfas nenhuma lesão visível apareceu nos pontos de fixação.

B.3. Coelhos infestados com adultos de *H. leporis-palustris*

Grupo (c). Um coelho infestado uma vez e outro infestado após um intervalo de 20 dias, com adultos, não desenvolveram lesões cutâneas visíveis.

B.4. Reinfestação com ninfas e adultos de *H. leporis-palustris*

Grupo (d). O coelho 26, reinfestado com ninfas após 12 dias e duas vezes com imagos após 22 e 32 dias, nenhuma lesão macroscopicamente visível foi observada após as sucessivas infestações com ninfas. Entretanto, cada uma das alimentações de imagos foi seguida pelo aparecimento de lesões distintas. As lesões após a segunda exposição foram mais pronunciadas, ainda que o número de carrapatos colhidos tenha sido menor do que aquele coletado após a prévia infestação com adultos.

O coelho 30, reinfestado com ninfas após 11 dias e, subseqüentemente, com imagos, após 11 dias, nenhuma lesão foi evidenciada durante os dois períodos de alimentação ninfal mas apresentou uma reação distinta durante o período de fixação do imago. Estas lesões foram mais pronunciadas do que aquelas vistas no coelho 26 após a segunda exposição a adultos. Isto é atribuído ao número extremamente grande de adultos (90 fêmeas e 20 machos) que foram colhidos do coelho 30.

Considerando-se as observações feitas nos experimentos de alimentação, vê-se que nenhuma lesão apareceu em coelhos após uma única reexposição a larvas, ninfas ou imagos. Contudo, em dois coelhos, reinfestados, uma vez com ninfas e, depois, uma ou duas vezes com imagos, apareceram lesões distintas, as quais incluíam hiperemia focal no ponto de fixação, seguida por seu alargamento, causando hiperemia generalizada e eczema úmido e terminando em eczema seco e completa recuperação logo após o desprendimento das fêmeas adultas. A conclusão que se tirou foi a de que, sucedendo-se duas infestações ninfais, a sensibilidade dos coelhos à toxina do carrapato se tornou evidente quando uma dose adicional de toxina foi fornecida pelos carrapatos adultos de *H. leporis-palustris*. Manifestação similar foi descrita por Feldman-Muhsam (1964) em ratos reinfestados uma vez com larvas de *R. sanguineus*. Ela concluiu que a primeira exposição parece aumentar a susceptibilidade do hospedeiro à segunda infestação.

Não houve evidência de que coelhos adquiram imunidade

TABELA 3. Observações sobre a resposta do tecido auricular cutâneo quando infestado com os estádios imaturo e adulto do carrapato trioxeno *H. leporis-palustris*.

Grupo	Nº de coelho	Data da infestação	Período pré-alimentar (dias)	Número de Infestações e estádios	Intervalo entre infestações (dias)	Período alimentar (dias)	Número de carrapatos coletados e estádios	Período de observação (dias)	Resposta da pele auricular durante sucessivos dias de alimentação pelos estádios imaturos e adulto	
									HF	HFA
(a)	1	28.08.73	109	1 - L	.	6 - 11	442 L	11	AL	
	23	06.05.74	49	1 - L	.	5 - 10	1534 L	12	AL	
	25	24.07.76	129	1 - L	.	6 - 10	503 L	9	AL	
	43	31.03.75	44	1 - L	.	7 - 15	865 L	15	AL	
		15.04.75	42	2 - L	16	6 - 12	961 L	12	AL	
		26.05.75	50	3 - L	11	8 - 15	638 L	15	AL	
(b)	11	29.10.73	37 - 42	1 - N	.	5 - 11	151 N	11	AL	
	55	10.02.76	210	1 - N	.	11	19 N	11	AL	
(c)	16	28.01.74	70	1 - I	.	11 - 16	31* 18**	16	AL	
	36	26.01.75	131	1 - I	.	16 - 20	9* 6**	20	AL	
		15.02.75	109	2 - I	20	11 - 19	14* 12**	19	AL	
(d)	26	24.07.74	55	1 - N	.	6 - 10	340 N	10	AL	
		05.08.74	67	2 - N	12	7 - 10	64 N	10	AL	
		27.09.74	41	3 - I	22	13 - 16	18* 9**	18	HF, 4 - 10; HFA, 11 - 16; ES, 17-18	
		29.10.74	43	4 - I	32	15 - 21	10* 6**	18	HF, 7 - 12; HG, 13 - 16; ES, 17 - 18	
	30	05.09.74	23 - 26	1 - N	.	6 - 12	149 N	12	AL	
		16.09.74	31 - 38	2 - N	11	8 - 10	40 N	10	AL	
		27.09.74	50	3 - I	11	11 - 14	90* 20**	20	HF, 1 - 3; HFA, 4 - 6; HG & EU, 7 - 9; ES, 10 - 20	

L = larva, N = ninfa, I = imago, * = fêmeas, ** = machos.

após a exposição primária a larvas e ninfas do carrapato *H. leporis-palustris*. Ao contrário, houve evidência de que as ninfas foram responsáveis pela produção de uma alergia, como foi mostrado por severas lesões cutâneas desenvolvidas nos hospedeiros após reexposição aos carrapatos adultos.

C. *R. sanguineus*

As observações sobre a alimentação dos estádios imaturo e adulto e a resposta do tecido auricular cutâneo de 4 coelhos infestados com a progênie de fêmeas do carrapato trioxeno *R. sanguineus* provenientes do Estado do Rio de Janeiro, são apresentadas na Tabela 4.

C.1. Coelhos infestados com larvas e ninfas de *R. sanguineus*

Grupo (a). O coelho 20, infestado quatro vezes com intervalos de 4, 6 e 6 dias, com larvas que se fixaram bem, produziu à primeira exposição, 1.328 larvas e, à segunda, 1.123. A coleta após a terceira infestação caiu para 95, enquanto que, na quarta exposição o período de alimentação foi de somente dois dias, quando todas as larvas morreram. Nenhuma lesão cutânea foi visível nas orelhas após as quatro infestações sucessivas. Após um intervalo de 2 dias e outra vez após 3 dias, o coelho foi infestado com ninfas que se alimentaram bem como é mostrado pelo total de 540 carrapatos ingurgitados colhidos. Este hospedeiro desenvolveu pequenos focos hiperêmicos.

cos nos pontos de infestação ninfal.

A taxa de mortalidade extremamente alta das larvas após a terceira exposição e a taxa de mortalidade de larvas de 100% após a quarta exposição mostraram que o hospedeiro tinha adquirido uma substancial imunidade durante as duas primeiras infestações larvais. A imunidade não tinha influência sobre as ninfas, as quais se alimentaram até a repleção.

C.2. Coelhos reinfestados com diferentes estágios de *R. sanguineus*.

Grupo (b). O coelho 27, infestado duas vezes com larvas, duas com imago e novamente com larvas por quatro vezes, após a primeira exposição todas as larvas morreram dentro de 24 horas. A reinfestação larval efetuada um dia depois, resultou em alta produção de larvas, com o total de 2.430, mas nenhuma lesão visível apareceu durante o período de alimentação.

A terceira e quarta exposições a adultos, após 9 e 79 dias, resultaram em boa alimentação, como é mostrado pela coleta de 98 fêmeas e 58 machos e 5 fêmeas e 13 machos, respectivamente. Lesões cutâneas moderadamente severas apareceram após cada exposição.

Subseqüentes infestações com larvas, feitas com intervalos de 12, 6, 40 e 8 dias dias, revelaram um progressivo declínio no número de carrapatos que chegaram à repleção. A coleta, de 473 larvas para a primeira infestação, decresceu pa-

ra 76 larvas após a quarta infestação. A imunidade adquirida após uma exposição a larvas e duas exposições a imagos persistiu por 100 dias mas foi aumentada por quatro infestações larvais sucessivas, como é revelado pela produção muito baixa na coleta final. Foi interessante notar que a sensibilidade do hospedeiro tinha aumentado, como é mostrado pelas distintas reações cutâneas que se seguiram a cada uma das últimas quatro infestações sucessivas e como é revelado pela produção muito baixa na coleta final. No coelho 20 Grupo (a) as larvas não produziram reações cutâneas.

Grupo (c). No coelho 40, infestado uma vez com ninfas e, 15 dias após, com imagos, a alimentação das ninfas resultou em desenvolvimento de focos vermelhos e, após isso, na forma de pequenos abscessos ao redor dos pontos de fixação. A exposição a adultos causou lesões mais pronunciadas que incluíram focos vermelhos e sua ampliação até uma hiperemia generalizada da pele, a qual regrediu rapidamente após o desprendimento. A reação terminou em eczema seco por poucos dias antes da completa recuperação.

C.3. Coelho infestado com adultos de *R. sanguineus*

Grupo (d). O coelho 28, infestado com um número extremamente grande de adultos (119 fêmeas e 116 machos) os quais se alimentaram até a repleção. O coelho desenvolveu lesões distintas que incluíram focos vermelhos, suas ampliações (Fig.

12, 7° dia; Fig. 13, 8° dia), eczema úmido e a formação de pequenos abscessos ao redor dos pontos de fixação. A infestação larval feita 101 dias mais tarde mostrou uma coleta relativamente pequena (695 larvas), o que foi atribuído à imunidade que o hospedeiro tinha adquirido da prévia exposição a adultos. As larvas também produziram reação cutânea moderada mas distinta. Após um período de 60 dias, as ninfas usadas para a terceira infestação alimentaram-se até a repleção e também causaram reação cutânea moderada mas distinta. A reinfestação com ninfas 7 dias mais tarde foi seguida por uma fixação por dois dias, quando todas elas morreram.

As sucessivas infestações mostraram que o hospedeiro tinha adquirido, dos adultos, uma imunidade, como foi subsequentemente revelado pela baixa produção de larvas. Contudo, essa imunidade não interferiu com o ingurgitamento das ninfas mas parece ter aumentado o grau de resistência, como foi evidenciado pela morte de todas as ninfas usadas na última exposição.

Considerando-se os resultados obtidos nesta série de testes torna-se evidente que as repetidas infestações com larvas de *R. sanguineus* foram seguidas por uma imunidade adquirida não acompanhada por lesões cutâneas. Quando a alimentação de larvas foi precedida por infestações com adultos, apareceram regularmente lesões cutâneas, porém elas foram menos severas do que aquelas que sempre se seguiram às exposições a ninfas e imagos. A conclusão que se tira é que as infestações

TABELA 4. Observações sobre a resposta do tecido auricular catâneo quando infestado pelos estádios imaturo e adulto do carrapato trioxeno *R. sanguineus*.

Grupo	Nº de coelho	Data da infestação	Período pré-alimentar (dias)	Número de infestações e estádios	Intervalo entre infestações (dias)	Período alimentar (dias)	Número de carrapatos coletados e estádios	Período de observação (dias)	Resposta da pele auricular durante sucessivos dias de alimentação pelos estádios imaturos e adultos	
									HF	HFA
(a)	20	08.04.74	23	1 - L	.	6	1328	L	6	AL
		12.04.74	32	2 - L	4	5	1173	L	5	AL
		18.04.74	34	3 - L	6	6	95	L	6	AL
		24.04.74	40	4 - L	6	2	0	L	2	AL
		26.04.74	7	5 - N	2	4 - 6	260	N	8	HF, 1 - 6
		29.04.74	31 - 35	6 - N	3	4 - 8	380	N	10	HF, 1 - 8
(b)	27	02.08.74	59	1 - L	.	1	0		1	AL
		03.06.74	60	2 - L	1	6	2430	L	6	AL
		12.08.74	83 - 91	3 - I	9	8 - 11	94 * 58 **		14	HG, 1 - 5; EU, 6 - 8; ES, 9 - 14
		09.11.74	157 - 165	4 - I	79	8 - 12	5 * 13 **		18	HF, 1 - 3; HFA, 4 - 6; EU & A, 7 - 12; EU, 13 - 18
		21.11.74	90 - 92	5 - L	12	5	473	L	18	HG, 1 - 3; HG & ES, 4 - 5; EU, 6 - 18
		27.11.74	30	6 - L	6	4 - 7	463	L	7	HG, 1 - 7;
		06.01.75	41	7 - L	40	4 - 6	239	L	6	HG, 1 - 4
		14.01.75	45	8 - L	8	4 - 6	76	L	6	HG, 2 - 6
(c)	40	29.01.75	56	1 - N	.	4 - 8	78	N	16	HF, 1 - 6; A, 7 - 8; ES, 9 - 16
		13.02.75	42	2 - I	15	7 - 19	20 * 7 **		25	HF, 1 - 3; HFA, 4 - 10; HG, 11 - 20; ES, 21 - 25
(d)	28	31.07.74	73 - 81	1 - I	.	5 - 12	119 * 116 **		20	HF, 1 - 4; HFA, 5 - 8 (Fig.12, 79 dia, Fig.13, 89 dia); EU & A, 9 - 12; ES, 13 - 20
		09.11.74	80	2 - L	101	5	695	L	10	HF, 1 - 2; HG, 3 - 5; ES, 6 - 10
		20.12.74	30	3 - N	60	4 - 7	60	N	14	HF, 1 - 7; A, 8 - 10; ES, 11 - 14
		27.12.74	33	4 - N	7	1 - 2	0		2	AL, todas as 40 ninfas morreram.

L = larva, N = ninfa, I = imago. * = fêmeas, ** = machos

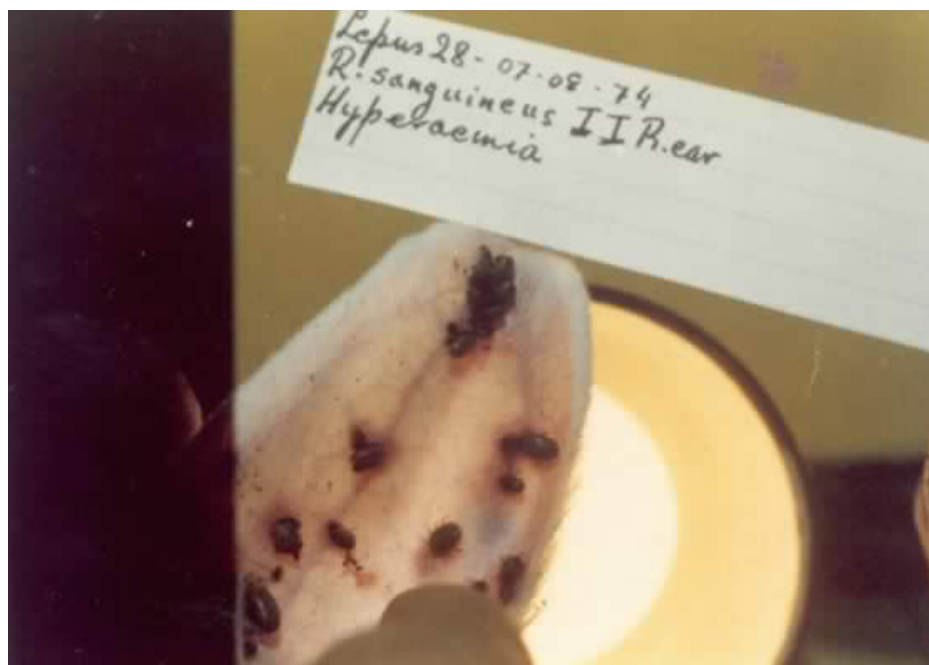


Fig. 12. Amplos focos hiperêmicos nos pontos de fixação da pele auricular, no 7 ° dia após infestação com imagos de *R. sanguineus* (coelho 28).



Fig. 13. Amplos focos hiperêmicos nos pontos de fixação da pele auricular, no 8º dia após infestação com imagos de *R. sanguineus* (coelho 28).

com adultos aumentam a sensibilidade do hospedeiro à toxina transmitida pelas larvas.

D. *A. cajennense*

As observações sobre a alimentação dos estádios imaturos e adulto e a resposta do tecido auricular cutâneo de 21 coelhos infestados com as progênies das fêmeas do carrapato trioxeno *A. cajennense* proveniente do Estado do Rio de Janeiro são apresentadas na Tabela 5.

D.1. Coelhos infestados com larvas.

Grupo (a). Três coelhos, infestados com larvas que se fixaram bem, a alimentação até a repleção foi interrompida, nos superpopulosos pontos de fixação, por reações inflamatórias cutâneas. Estas reações incluíram focos vermelhos que se estenderam até se transformarem em hiperemia generalizada, com aparecimento de edema (coelho 31 e desenvolvimento de pequenos abscessos nos pontos de fixação (coelho 19, Fig. 14, 8° dia). A recuperação começou logo após o desprendimento da larva. Durante o período alimentar, a reação inflamatória causou o desprendimento de muitos carrapatos, os quais não se fixaram novamente, conduzindo isto a baixas coletas nos coelhos 19 e 31, em comparação com a mais alta produção no coelho 18.

D.2. Coelhos infestados com ninfas de *A. cajennense*.

Grupo (b). Sete coelhos infestados com número variável de ninfas, as reações cutâneas produzidas por 15 ninfas (coelhos 3 e 7) foram menos severas do que aquelas causadas por um grande número de larvas em coelhos do Grupo (a) e por um número relativamente maior de ninfas em outros coelhos do Grupo (b). O padrão de reação comum a todos os coelhos deste grupo foi acompanhado por abscessos no coelho 37 e por edema e eczema úmido nos coelhos 50 e 53. A causa da morte do coelho 21 ficou obscura.

D.3. Coelhos infestados com adultos de *A. cajennense*.

Grupo (c). Seis coelhos infestados com número variável de adultos, as reações cutâneas que se seguiram persistiram por um período mais longo e foram mais severas do que aquelas causadas tanto por larvas em coelhos do Grupo (a) como por ninfas em coelhos do Grupo (b). Isto foi atribuído a serem mais longos os períodos de alimentação dos adultos, durante os quais maior quantidade de toxina foi transferida para os coelhos. O padrão das lesões foi acompanhado por eczema úmido nos seis coelhos e edema e abscessos, em cinco coelhos. A alimentação de duas fêmeas adultas de *A. cajennense* no coelho 11 é mostrada na Fig. 15. A autópsia não pôde confirmar se o coelho 29 morreu de toxicose ou não.

D.4. Coelhos infestados e reinfestados por larvas e ninfas de *A. cajennense*.

Grupo (d). No coelho 39, infestado e reinfestado 15 dias mais tarde com larvas, a primeira produção continha 1.070 larvas e a segunda infestação foi seguida por alta mortalidade, coletando-se somente 302 indivíduos. A produção muito baixa foi atribuída a uma imunidade adquirida pelo hospedeiro após a prévia exposição. Todas as ninfas da terceira infestação alimentaram-se até a repleção. Reações cutâneas apareceram após cada exposição mas a resposta à infestação por ninfas foi mais severa do que à causada por infestação larval.

D.5. Coelho infestado e reinfestado com larvas de *A. cajennense*

Grupo (e). No coelho 46, infestado e, 21 dias após, reinfestado com larvas, a primeira infestação deu uma coleta de 1.823 larvas e a segunda infestação resultou em alta mortalidade, produzindo somente 183 larvas. Este marcado declínio foi atribuído a uma imunidade adquirida pelo hospedeiro da prévia exposição. Todos os adultos da terceira infestação alimentaram-se até a repleção. Após cada exposição apareceram reações cutâneas, mas a resposta à infestação por adultos foi mais severa do que a causada por infestação com larvas.

D.6. Coelho infestado e reinfestado com ninfas e adultos de *A. cajennense*.

(Grupo f). No coelho 41, infestado duas vezes com ninfas, com um intervalo de 16 dias e, uma vez com adultos,

após um intervalo de 54 dias, todos os carrapatos se alimentaram até a repleção. As reações cutâneas foram distintas e mais pronunciadas durante o período de alimentação de adultos.

No coelho 42, infestado quatro vezes com ninfas, com intervalos de 19 a 37 dias, e uma vez com imagos, após 21 dias, todos os carrapatos alimentaram-se até a repleção. As reações cutâneas que se seguiram após cada uma das cinco exposições eram de igual severidade. Entretanto, não houve indicação de que o hospedeiro tinha ou não, adquirido imunidade.

Grupo (g). O coelho 25, foi infestado uma vez com imagos e, então reinfestado três vezes com larvas, com intervalos de 56, 10 e 22 dias. A infestação com adultos foi seguida de severas lesões que incluíram o aparecimento de focos vermelhos ao redor dos pontos de fixação, hiperemia generalizada, edema e eczema úmido após 4 a 7 dias (Fig. 16, 7° dia) e ainda abscessos e necrose (Fig. 17, 10° dia). O desenvolvimento de eczema seco iniciou-se no 13° dia, quando a maioria das fêmeas já se tinha destacado e persistiu até o 30° dia. Durante este período, a epiderme necrótica foi descamada (Fig. 18, 17° dia).

A primeira infestação larval deu produção de 335 larvas, enquanto que, na segunda e na terceira exposições, a produção aumentou para 642 e 961 larvas, respectivamente. Foi observado que as reações cutâneas que se seguiram a cada uma das infestações não somente eram mais brandas do que aquelas experimentadas pelos coelhos do Grupo (a), mas também que a

severidade das reações no coelho 25 mostrou progressiva diminuição na intensidade, tornando-se brandas após a segunda exposição e, finalmente, muito brandas após a terceira exposição. As razões do progressivo aumento nas coletas de larvas e da progressiva diminuição na severidade das lesões a cada uma das três sucessivas exposições larvais não foram esclarecidas.

Considerando-se as respostas do tecido auricular cutâneo em todos os grupos, com exceção das observações feitas após as três exposições larvais do coelho 25 do Grupo (f), torna-se evidente que todos os estádios de desenvolvimento de *A. cajennense* são altamente tóxicos e que a severidade das lesões macroscopicamente visíveis é dependente do número de carapatos usados para as infestações e também da duração do período de alimentação. Esta dedução está baseada em observações feitas nos coelhos do Grupo (a), expostos a mais de 500 larvas, do Grupo (b), infestados com mais de 15 ninfas, e do Grupo (c), submetidos a mais de 15 imagos.

As observações sobre a resposta imunológica revelaram que os coelhos dos Grupos (d) e (e) adquiriram um grau de imunidade verdadeiramente alto durante a primeira exposição larval, como foi evidenciado pela marcada diminuição no número de larvas coletadas após reinfestações com 15 ou 21 dias de intervalo. A alimentação das ninfas ou imagos usados para subsequentes exposições após intervalos de 71 ou 14 dias, respectivamente, não foi influenciada pela imunidade adquirida, já que

todos eles se alimentaram até a repleção.

TABELA 5. Observações sobre a resposta do tecido auricular cutâneo quando infestada com os estádios imaturos e adulto do carrapato trioxeno *A. cajennense*.

Grupo	Nº do coelho	Data da infestação	Período pré-alimentar (dias)	Número de infestações e estádios ^a	Intorvale entre infestações (dias)	Período alimren-tar (dias)	Número de carrapatos coletados e estádios	Período de observação (dias)	Resposta da pele auricular durante sucessivos dias de alimentação pelos estádios imaturos e adulto	
									HF Hiperemia focal no ponto de fixação, com até 1,0 mm, HFA Hiperemia focal ampliada para 3,0 mm, HG Hiperemia generalizada, E Edema, EU Eczema úmido, A Abscessos, N Necrose, ES Eczema seco precedendo a recuperação	
(a)	18	08.02.74	38	1 - L	.	4 - 14	1411	L	14	HF, 1 - 4; HFA, 5 - 7; HG, 8 - 10; ES, 11 - 14
	19	12.03.74	44	1 - L	.	4 - 7	979	L	17	HF, 1 - 2; HFA, 3 - 4; HG & A, 5 - 10 (Fig.14,89 dia); ES, 11 - 17
	31	20.11.74	37	1 - L	.	5 - 9	694	L	14	HF, 1; HFA, 2 - 3; HG & E, 4 - 9; ES, 10 - 14
(b)	3	26.07.73	20	1 - N	.	2 - 4	15	N	7	HF, 2 - 3; HFA, 4 - 6
	7	18.09.73	20	1 - N	.	2 - 5	15	N	7	HF, 2 - 3; HFA, 4 - 6
	21	19.04.74	23 - 24	1 - N	.	4	61	N	4	HF, 1 - 4; Morreu no 4º dia, sendo desconhecida a causa da morte.
	22	29.04.74	33	1 - N	.	4 - 10	202	N	13	HF, 1 - 4; HG & E, 5 - 10; ES, 10 - 12
	37	03.01.75	80	1 - N	.	5 - 8	97	N	15	HF, 1; HG & A, 2 - 8; ES, 9 - 14
	50	05.01.76	45	1 - N	.	6 - 10	75	N	13	HF, 1; HFA, 2 - 3; HG, E & EU, 4 - 9; ES, 10 - 12
	53	27.01.76	45	1 - N	.	3 - 8	60	N	16	HF, 1; HFA, 2 - 3; HG, E, EU & A, 4 - 9; ES, 10 - 15
(c)	11	09.11.73	30	1 - I	.	8 - 21	10*	8**	31	HF, 1 - 4; HFA, 5 - 8; HG, E, EU & A, 9 - 24 (Fig.15,149 dia); ES, 25-30
	24	18.06.74	29	1 - I	.	8 - 30	36*	15**	36	HF, 1 - 3; HFA, 4 - 6; HG, E, EU & A, 13 - 30; ES, 31 - 35
	29	05.09.74	107	1 - I	.	11 - 12	8*	10**	12	HF, 1 - 3; HFA, 4; HG & E, 5 - 8, EU, 9 - 12; morreu no 12º dia.
	38	19.02.75	24	1 - I	.	16 - 26	9*	7**	32	HF, 1; HFA, 2 - 4; HG, E & EU, 5 - 26; ES, 27 - 32
	44	27.05.75	120 -	1 - I	.	9 - 14	12*	10**	21	HF, 1; HFA, 2; HG, E, EU & A, 3 - 14; ES, 15 - 21
	47	23.09.75	130 - 150	1 - I	.	7 - 16	13*	9**	22	HF, 1; HFA, 2; HG, 3 - 6; EU, 7 - 12; A, 13 - 16; ES, 17 - 22
(d)	39	29.01.75	72	1 - L	.	4 - 9	1070	L	10	HF, 1 - 2; HFA, 3 - 5; HG, 6 - 9
		13.02.75	82	2 - L	15	6 - 13	302	L	14	HF, 1 - 2; HFA, 3 - 9; HG, 10 - 12
		05.05.75	76	3 - N	71	5 - 12	142	N	16	HF, 1; HFA, 2 - 4; HG, E, EU & A, 5 - 13; ES, 13 - 16
(e)	46	22.09.75	39	1 - L	.	4 - 10	1823	L	11	HF, 1 - 2; HFA, 3 - 5; HG & E, 6 - 10
		13.10.75	40	2 - L	21	5 - 7	168	L	11	HF, 1 - 2; HFA, 3 - 5; HG, 6 - 8
		27.10.75	140 - 160	3 - I	14	9 - 20	10*	5**	25	HF, 1; HFA, 2 - 4; HG, E & EU, 5 - 20; ES, 21 - 25
(f)	41	17.03.75	120	1 - N	.	5 - 10	95	N	16	HF, 1 - 2; HG, E & N, 3 - 10; ES, 11 - 15
		02.04.75	44	2 - N	16	5 - 10	114	N	12	HF, 1; HG, E, EU & N, 2 - 6; ES, 7 - 10
		26.05.75	120	3 - I	54	9 - 14	12*	8**	18	HF, 1 - 2; HG, E & EU, 3 - 14; ES, 15 - 17
	42	11.03.75	110	1 - N	.	6 - 10	68	N	16	HF, 1 - 2; HFA, 3 - 5; HG, E & A, 6 - 10; ES, 11 - 15
		31.03.75	47	2 - N	20	4 - 11	47	N	18	HF, 1; HG & E, 2 - 5; EU & N, 6 - 11; ES, 12 - 17
		19.04.75	95	3 - N	19	7 - 11	21	N	19	HF, 1; HG & E, 2 - 5; HG, E & A, 6 - 11; ES, 12 - 18
		26.05.75	92	4 - N	37	6 - 11	63	N	15	HF, 1; HG, E & EU, 2 - 9; ES, 10 - 15
		16.06.75	34 - 76	5 - I	21	6 - 16	15*	7**	25	HF, 1; HG, 2 - 4; HG, EU & N, 5 - 16; ES, 17 - 25
(g)	25	02.08.74	72 - 74	1 - I	.	12 - 18	22*	15**	30	HF, 1; HFA, 2 - 3; HG, E, EU, 4 - 7 (Fig.16, 79 dia); HG, EU, A & N, 8 - 12 (Fig.17, 109 dia); ES, 13 - 30 (epiderme descamada, Fig. 18, 179 dia).
		27.09.74	16	2 - L	56	4 - 7	335	L	8	HF, 1; HFA, 2 - 4; HG, 5 - 7
		07.10.74	25	3 - L	10	5 - 13	642	L	13	HF, 1 - 3; HFA, 4 - 12
		29.10.74	48	4 - L	22	6 - 9	961	L	10	HG, 4 - 9

L = larvas,

N = ninfes,

I = imagos,

* = fêmeas,

** = machos

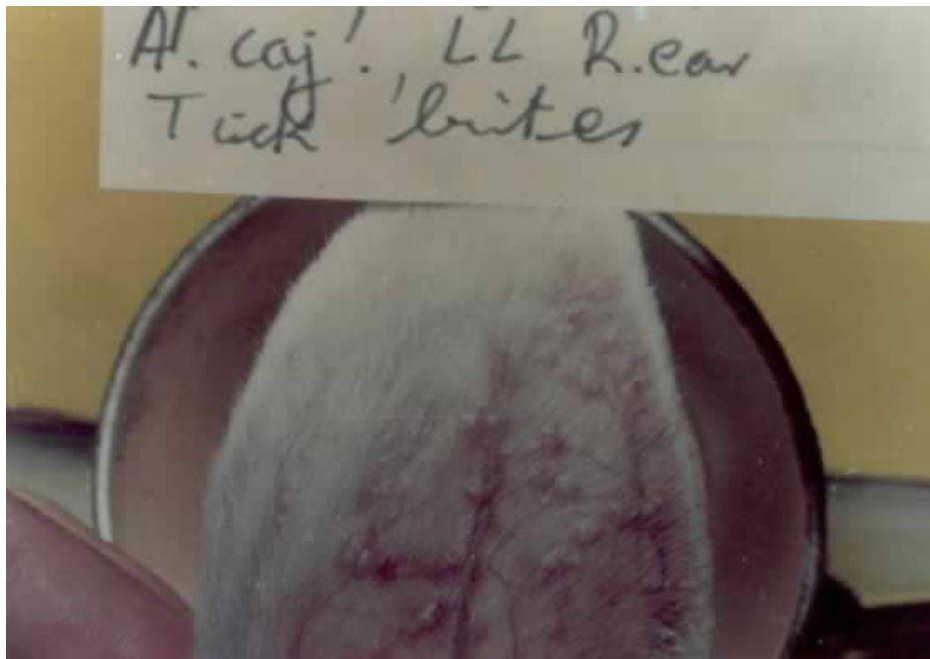


Fig. 14. Hiperemia e numerosos pequenos abscessos em uma orelha nos pontos onde as larvas de *A. cajennense* se tinham alimentado até a repleção, no 8º dia após a infestação (coelho 19).

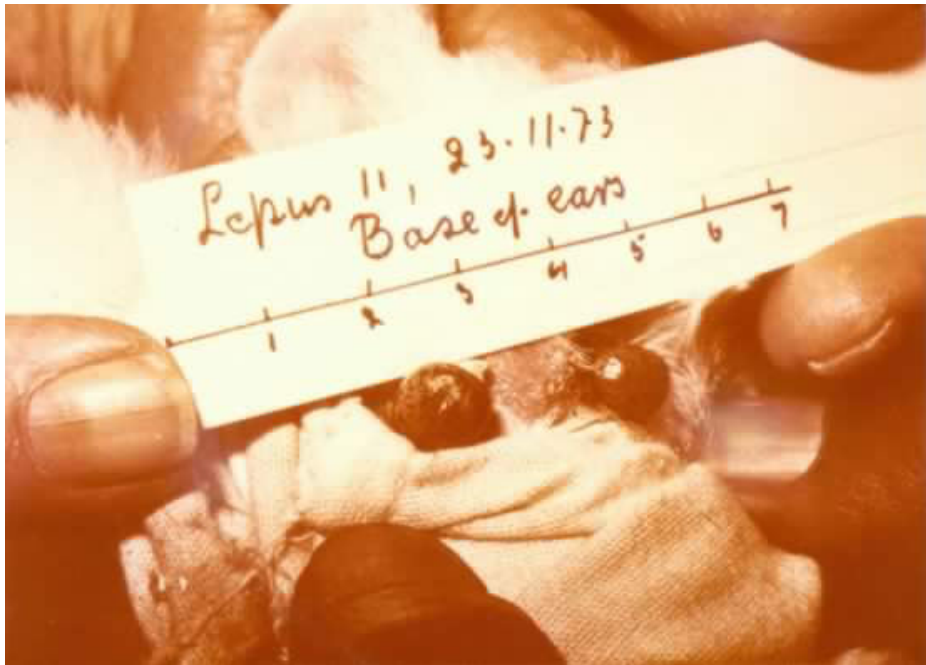


Fig. 15. Duas fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* e hiperemia da pele auricular, no 14º dia após a infestação (coelho 11).



Fig. 16. Hiperemia, edema, extenso eczema úmido e exudado envolvendo as extremidades das orelhas, no 7º dia após a infestação com adultos de *A. cajennense* (coelho 25).



Fig. 17. Hiperemia, eczema úmido e necrose da pele auricular, no 10 ° dia após a infestação com adultos de *A. cajennense* (coelho 25).



Fig. 18. Tecido cutâneo auricular descarnado, no 17º dia após a infestação com adultos de *A. cajennense* (coelho 25).

V. DISCUSSÃO

As observações mostraram que houve distinta diferença de toxidez entre as quatro espécies de carrapato usadas nas séries de experimentos, como foi evidenciado pela resposta das lesões cutâneas auriculares de coelhos brancos adultos. Os padrões das lesões macroscopicamente visíveis que sempre apareceram nos coelhos durante a exposição aos estádios do carrapato monoxeno *B. microplus* e do carrapato trioxeno *A. cajennense* foram semelhantes, mas a severidade das reações dependeu do estágio de desenvolvimento, da duração do período alimentar e do número de carrapatos se alimentando até a repleção.

Foi interessante notar que a infestação larval com *B. microplus* causou pequenos focos hiperêmicos, os quais aumentaram de tamanho por ocasião da muda larval, enquanto a metamorfose ninfal foi seguida por uma forte reação inflamatória que incluiu uma hiperemia generalizada acompanhada, em 6 dentre 7 coelhos, por edema que envolveu quase completamente a

superfície auricular. A conclusão tirada foi a de que o desenvolvimento dos ectoparasitos estava associado ao aumento progressivo na produção de toxina livremente inoculada nos hospedeiros. Em todos os coelhos, a recuperação foi precedida por eczema seco que se iniciou após o destacamento das fêmeas parcialmente ou plenamente ingurgitadas. Parece que os machos, que não são tão vorazes, inoculam menos toxina, se é que inoculam alguma, nos hospedeiros, já que a sua presença, continuada por vários dias após o destacamento das fêmeas, não retardou o processo de cura.

Nenhum esforço foi feito para se determinar o grau de imunidade adquirida por coelhos, como nas investigações sistemáticas e críticas de Roberts (1968a) e Brossard (1976), que mostraram que os bovinos (*Bos taurus*) desenvolvem uma substancial resistência após uma infestação primária por *B. microplus*.

Em contraste com o aparecimento de um aumento progressivo nas reações inflamatórias causadas pelos três estádios sucessivos do carrapato monoxeno *B. microplus*, foi visto que padrões semelhantes de reações cutâneas auriculares resultaram da infestação por qualquer um dos estádios de desenvolvimento do carrapato trioxeno *A. cajennense*, nos períodos de alimentação. A severidade das lesões era dependente do número de carrapatos empregados em cada exposição e da duração do período alimentar. O padrão das lesões causadas por carrapatos imaturos e adultos possuía características comuns, as quais incluíam pequenos focos hemorrágicos e seu desenvolvimento até

uma hiperemia generalizada. Lesões adicionais tais como edema e pequenos abscessos foram de ocorrência irregular após a infestação larval, mas foram vistas comumente durante as infestações por ninfas e adultos. Eczema úmido foi uma lesão constante, enquanto necrose ocorreu esporadicamente durante os períodos alimentares de ninfas e adultos. A recuperação começava quando os carrapatos ingurgitados começavam a destacar-se, mas era precedida por eczema seco cuja duração dependia da severidade das lesões precedentes.

Foi notado que, quando os coelhos eram infestados com um estádio e depois reinfestados uma vez com o mesmo estádio, ou várias vezes com outros estádios, o tipo de lesões que aparecia era o mesmo que tinha sido observado durante a primeira exposição, exceto no coelho 25 (Grupo (g), Tabela 5). A conclusão que se tira é que nenhuma imunidade foi adquirida contra a toxina responsável pelas lesões cutâneas. Apesar disso, teve-se a impressão de que se desenvolveu em dois coelhos, uma imunidade contra as larvas após a primeira infestação (Grupos (d) e (e), Tabela 5). As coletas após as primeiras exposições foram de 1.070 e 1.823 larvas, enquanto que nas segundas infestações elas decresceram bastante, tendo sido coletadas 302 a 168 larvas, respectivamente. Então foi outra vez observado que uma infestação por adultos em um coelho (Grupo (f), Tabela 5). resultou no aparecimento de severas lesões cutâneas, enquanto que, cada uma das três infestações larvais sucessivas foi seguida por um decréscimo progressivo na severidade

da reação inflamatória. Em contraste, as coletas de larvas após cada exposição mostraram um substancial aumento. A consideração destas irregularidades indica que devem ser desenvolvidos outros estudos imunológicos sobre o problema.

As observações sobre a resposta do tecido cutâneo auricular às infestações com larvas, ninfas ou adultos de *H. leporis-palustris* mostram diferença marcante com relação à resposta observada durante a exposição de coelhos a *B. microplus* e *A. cajennense*. Foi interessante notar que nem as infestações simples, nem as infestações repetidas com o mesmo estágio de desenvolvimento de *H. leporis-palustris* foram seguidas por qualquer lesão macroscopicamente visível. Entretanto, infestações com adultos precedidas de infestações por ninfas em dois coelhos do Grupo (d) (Tabela 3) resultaram em desenvolvimento de lesões que incluíram uma hiperemia focal que se desenvolveu até uma hiperemia generalizada. Em um coelho, que tinha produzido uma coleta extremamente grande de carrapatos a reação foi acompanhada por eczema úmido. Esta manifestação pode ser explicada por uma sensibilização à toxina inoculada pela ninfa, mas não é coerente com a ausência de reação cutânea no coelho do Grupo (c) (Tabela 3) quando reinfestado com adultos.

As observações sobre a resposta dos coelhos às infestações por *R. sanguineus* de acordo com o exposto na Tabela 4, revelam que em nenhum dos coelhos que foram infestados uma vez, ou mesmo quatro vezes, com larvas, apareceram quaisquer lesões cutâneas macroscopicamente visíveis.

veis. Lesões moderadas ou moderadamente severas foram vistas, contudo, em hospedeiros que tinham sido previamente expostos a adultos ou a larvas e adultos. Esta manifestação pode ser atribuída a uma sensibilização pela toxina previamente inoculada pelas larvas.

As ninfas produziram reações fracas ou moderadamente severas. Carrapatos adultos causaram severas reações, as quais incluíram uma hiperemia focal que se expandiu sobre ampla área das orelhas, eczema úmido e abscessos. A recuperação, que começava quando os carrapatos ingurgitados se destacavam, era precedida por eczema seco que persistia por vários dias.

Houve indicações de que coelhos adquirem imunidade contra larvas de *R. sanguineus* (Tabela IV). As infestações larvais constaram de 2.000 indivíduos. Um coelho que foi infestado quatro vezes com larvas mostrou decréscimo progressivo no número de larvas que se alimentaram até a repleção após a segunda e a terceira infestações, enquanto que à quarta exposição a produção foi igual a zero. Uma infestação com larvas, seguida por duas sucessivas exposições a adultos, mostrou que o hospedeiro tinha adquirido uma imunidade que aumentava pelas sucessivas infestações com larvas. A primeira exposição larval deu uma produção de 473 larvas e esse resultado diminuiu até chegar ao nível de 76 larvas após a quarta infestação.

Um coelho do Grupo (d), que tinha sido submetido a uma infestação maciça de adultos e, em seguida, a uma exposição a larvas, mostrou que somente um pequeno número de larvas da se-

gunda exposição se alimentou até a repleção. As ninfas usadas para a terceira infestação alimentaram-se sem problemas até a repleção, mas uma exposição adicional a ninfas deu produção nula. Contudo, não foi determinado se esta última resposta foi ou não devida a reforço da imunidade determinado pelas ninfas da infestação anterior. Esta mortalidade também pode ser atribuída a um comportamento esporádico determinado por causa desconhecida; esta hipótese aplica-se também à mortalidade observada por ocasião da primeira infestação do coelho do Grupo (b), que não tinha tido contacto prévio com carrapatos.

As investigações foram dirigidas no sentido de se determinar o grau de toxidez de quatro espécies de carrapato comumente encontradas no Brasil.

VI. CONCLUSÕES

1. O aparecimento de uma resistência adquirida a acaricidas, pelos carrapatos monoxenos *Boophilus* spp., pelo dióxeno *Rhipicephalus evertsi* e pelo trióxeno *Rhipicephalus appendiculatus*, subsequente acompanhada por uma resistência cruzada a vários acaricidas sintéticos, tem levado cientistas a continuar suas investigações sobre aspectos biológicos de vários artrópodes, na tentativa de encontrar novo caminho para combate a esses parasitos e ao crescente prejuízo que eles acarretam para a indústria pastoril.

2. O processo de exterminação pela fome, dirigido ao único estágio de vida livre de *Boophilus annulatus* e baseado na duração do período de incubação e do período máximo de sobrevivência das larvas, pelo pastoreio rotativo em intervalos específicos, teve completo sucesso em uma área extremamente grande nos Estados Unidos da América (Graybill, 1912). A aplicação desse esquema em regiões infestadas por *Boophilus micro-*

plus foi desencorajada por vários aspectos epidemiológicos que incluem a presença de animais selvagens como hospedeiros de carrapatos e as irregulares regiões arbustivas que interfeririam com a reunião do gado.

3. Observações experimentais feitas por Trager (1939a,b) mostraram que as infestações de cobaias e coelhos com larvas de duas espécies de *Dermacentor* spp. e com *Haemaphysalis leporis-palustris* conduziram tanto a uma imunidade homóloga adquirida como a uma imunidade cruzada que impede o ingurgitamento em subseqüentes infestações por larvas. Roberts (1968a,b) observou que os bovinos desenvolvem resistência a *Boophilus microplus* após várias infestações, mas concluiu que cada animal desenvolve somente aquele grau de imunidade para o qual tinha capacidade inata.

4. Experimentos sistemáticos têm mostrado que as infestações com certas espécies de carrapatos não foram necessariamente seguidas por resposta uniformemente padronizada. Tornou-se evidente que somente algumas linhagens de muitos dos vetores testados possuem a neurotoxina da paralisia por carrapato. Esta situação está associada com uma interessante observação. Kemp (1975), citado por Bagnall e Doube (1975), obteve evidências que mostraram "que exposições anteriores do gado a uma infestação por fêmea adulta de *Ixodes holocyclus* induziu um alto grau de imunidade para subseqüentes alimentações de fêmeas de carrapatos. Esta resistência pode fornecer um caminho para proteger o gado contra a para-

lisia por carrapato". A saliva pode, então, conter uma toxina e um componente imunogênico.

Neitz (1962) determinou que todos os carrapatos adultos de *Hyalomma truncatum* contém uma toxina fibrinogênica na saliva, enquanto que um número relativamente pequeno de linhagens possui também a toxina epiteliotrópica responsável pela dehidrose tropical. Ainda não foi determinado se a saliva possui ou não, um componente imunogênico.

Thomas e Neitz (1958) concluíram que a saliva de carrapatos *Rhipicephalus appendiculatus*, em certas regiões do Sul da África, contém uma toxina leucocitotrópica que causa uma disfunção do sistema retículo-endotelial do bovino, como foi evidenciado pelas recaídas de um ou mais animais pré-ímmunes aos parasitos transmitidos por carrapatos. Embora o gado recuperado mostre alto grau de resistência a carrapatos após re-exposição, ainda precisa ser determinado se esta manifestação é ou não, devida a um adicional componente imunogênico.

5. As presentes investigações revelaram que cada uma das quatro espécies de carrapato estudadas possui uma toxina que tem afinidade pela pele, como foi revelado pela natureza das lesões cutâneas auriculares em coelhos brancos.

6. As lesões causadas pelas larvas de *Boophilus microplus* mostraram aumento progressivo em gravidade paralelamente à sequência dos estádios e atingiram o ápice durante o período alimentar dos estádios maduros.

7. Lesões macroscopicamente visíveis foram observadas em coelhos somente após infestações com adultos de *Haemaphysalis leporis-palustris* precedidas por exposição ninfal. Não houve evidência de resposta imunogênica dos hospedeiros.

8. As infestações larvais com *R. sanguineus* não foram seguidas por resposta cutânea, mas as infestações sucessivas com larvas, ou uma primeira exposição a adultos seguida por exposição a larvas, mostrou que os hospedeiros tinham adquirido imunidade. Foi observada resposta cutânea à toxina após infestações por ninfas e por adultos.

9. Foi evidenciado que todos os estádios de desenvolvimento de *A. cajennense* são muito mais tóxicos do que as outras três espécies em discussão. Foi constantemente observada a resposta da pele após uma ou várias infestações sucessivas. Somente após a segunda infestação larval os coelhos mostraram uma resposta imunológica.

10. Nenhuma imunidade foi adquirida contra a toxina responsável pelas lesões cutâneas causadas pelo *A. cajennense*.

11. Considerando o alto grau de toxicidade do *A. cajennense*, pesquisas devem ser realizadas com animais domésticos visando o melhor conhecimento desta espécie.

VII. RESUMO

Com o objetivo de determinar a natureza da resposta do tecido cutâneo da orelha de coelhos à infestação com estádios imaturos e adultos de espécies de carrapatos comumente encontradas no Brasil, *Boophilus microplus* Canestr., *Haemaphysalis leporis-palustris* Packard, *Amblyomma cajennense* Fabricius e *Rhipicephalus sanguineus* Latr., foram conduzidos em Itaguai, Rio de Janeiro, experimentos que envolveram 57 coelhos brancos e carrapatos procedentes dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e Mato Grosso. Os testes constaram de infestações com diferentes estádios de desenvolvimento dos parasitos e repetidas com variadas seqüências dos estádios testados.

Concluiu-se que:

- cada uma das 4 espécies de carrapatos estudada possui uma toxina que tem afinidade pela pele, como foi revelado pela natureza das lesões cutâneas auriculares em coelhos brancos;

- no caso do *B. microplus*, a toxidez dos estádios de desenvolvimento mantidos continuamente em alimentação foi branda inicialmente mas aumentou progressivamente para chegar ao seu ponto máximo durante a fase de adulto. Não foram feitos estudos sobre um possível desenvolvimento de imunidade;

- as infestações larvais com *R. sanguineus* não foram seguidas por resposta cutânea, mas as infestações sucessivas com larvas, ou uma primeira exposição a adultos seguida por exposição a larvas, mostrou que os hospedeiros tinham adquirido imunidade. Foi observada resposta cutânea à toxina após infestações por ninfas e por adultos;

- não foi constatada resposta macroscopicamente visível, por lesão cutânea, à larvas, ninfas e imagos de *H. leporis-palustris*. Apesar disto, foram vistas lesões cutâneas em coelhos que tiveram prévio contacto com ninfas. Nenhuma evidência de imunidade adquirida foi constatada em qualquer um dos hospedeiros;

- todos os estádios de desenvolvimento de *A. cajennense* são muito mais tóxicos do que as outras 3 espécies em discussão.

VIII. A B S T R A C T

The primary object of these experiments was to determine the degree of toxicity caused by immature and mature stages and to compare the nature of the auricular cutaneous lesions in rabbits caused by four different tick species commonly found in Brazil: *Boophilus microplus* Canestr., *Haemaphysalis leporis-palustris* Packard, *Amblyomma cajennense* Fabricius and *Rhipicephalus sanguineus* Latr.

The experiments were conducted in Itaguaí, Rio de Janeiro using 57 white rabbits and ticks from Rio de Janeiro, Minas Gerais and Mato Grosso. The rabbits were infested and reinfested with the different developmental stages of the four tick species.

The present investigations have revealed that each of the four tick species harboured a toxin which had an affinity for the epidermis as disclosed by the nature of the auricular cutaneous lesions of white rabbits. In the case

of *B. microplus* the toxicity of the continuously feeding developmental stages was initially mild but progressively increased to reach its peak during the adult phase.

R. sanguineus larval infestations were not followed by an epidermal response but successive infestations with larvae or a primary exposure to adults followed by that of larvae showed that the hosts had acquired an immunity.

A macroscopically visible toxic epidermal response due to larvae, nymphae and imagines of *H. leporis-palustris* was not seen. Cutaneous lesions were nevertheless seen in rabbits that had a previous experience with nymphae.

All developmental stages of *A. cajennense* are far more toxic than those of the other three species under discussion. An epidermal response after one or several successive infestations was constantly observed.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT, K.H., 1943a, Tick paralysis: A review. I. Proc. Staff Meet. Mayo Clinic., 18(3):39-45.
- ABBOTT, K.H., 1943b, Tick paralysis. A review. II. Proc. Staff Meet. Mayo Clinic., 18(4):59-64.
- AITKEN, T.H.G., OMARDEEN, T.A. & GILKES, C.D., 1958, The 1958 Cayenne tick outbreak. 3rd Congr. Brit. Carib. Vet. Ass., Port of Spain, Trinidad, T.W.I., 30 May, 1958, pp. 3-6.
- ARTHUR, D.R., 1947, Observations on *Ixodes hexagonous* Leach, 1915. (Acarina: Ixodidae). Ent. Mon. Mag., (994), 83, 4.5 (87), 8:69-76
- BACKHOUSE, T., 1843, A narrative of a visit to the Australian colonies. London: Hamilton, Adams & Co.
- BAGNALL, B.G. & DOUBE, R.M., 1975, The Australian paralysis tick, *Ixodes holocyclus*. Aust. Vet. J., 51:159-160.
- BAKER, J.A.F. & SHAW, R.D., 1965, Toxophene and Lindane resistance in *Rhipicephalus appendiculatus*, the brown ear tick of

- equatorial and South Africa. Jl S. Afr. Vet. Med. Ass., 36 (3):321-330.
- BEKKER, P.M., 1959, Dipstof en dipping. Jl S. Afr. Vet. Med. Ass., 30(4):353-380.
- BEVAN, L.E.W., 1920, Report of the veterinary bacteriologist. Rep. Chf. Vet. Surg. Sth. Rhod. (1919), pp. 9-17.
- BORTHWICK, J.D., 1905, Tick paralysis affecting sheep and lambs. Vet. J., (361), 61, n.s. (67), 12:33-35.
- BREED, R.S., MURRAY, E.G.D. & SMITH, S., 1957, Bergey's manual of determinative bacteriology, 7. ed. Baltimore: Williams & Wilkens.
- BROSSARD, M., 1976, Relations immunologiques entre bovins et tiques, plus particulièrement entre bovins et *Boophilus microplus*. Acta Tropica, 33(1):15-36.
- BROWN, A.W.A., 1958, Insecticide resistance in arthropods W. H.O. Monograph Series 38, Geneva.
- CLELAND, J.B., 1913, Injuries and disease of man in Australia attributable to animals (except insects). J. Trop. Med. Hyg., 16:43-45.
- FELDMAN-MUHSAM, B., 1964, Laboratory colonies of *Rhipicephalus*. Bull. World Hlth. Org., 31:587-589.
- GARIN, C.P. & BUYADOUX, 1922, Un cas de tick paralysis. Lyon-Méd., an, 55.132(4):160-162.
- GONZALEZ, J.C., 1974, O carrapato do boi. São Paulo: Editora

Mestre Jou.

- GRAYBILL, H.W., 1912, Methods of exterminating the Texas- fever tick. Fmrs. Bull. U.S. Dep. Agric. (498), 42 pp.
- GREGSON, J.D., 1973, Tick paralysis: An appraisal of natural and experimental data. Monogr. Can. Dep. Agric., No.9.
- HADWEN, J.D., 1973, On tick paralysis in sheep and man following bites of *Dermacentor venustus*. Parasitology, 6(3): 285-297.
- HOOGSTRAAL, H., 1969-1976, Bibliography of ticks and tick-borne diseases. Vol. 1 to 5. U.S.A. Nav. Med. Res. Unit. No. 3 Cairo, Egypt.
- HOOGSTRAAL, H., 1973, Viruses and ticks. Chapter 18. In: Viruses and Invertebrates. Edited by A.J. Gibbs. Amsterdam: North-Holland Publishing Co.
- HOVELL, 1824, Cited by SCOTT, E., 1921, Humo and Hovell's journey to Port Philip. Roy. Austr. Hist. Soc., 7(6):298.
- HUGHES, L. & PHILIP, C.B., 1958, Experimental tick paralysis in laboratory animals and native Montana rodents. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 99(2):316-319.
- KOLLE, W., 1898, Ueber einen neuen pathogenen Parasiten im Blute der Rinder in Süd-Afrika. Zeitschr. Hyg., 27:145.
- LEWIS, E.A., 1934, Study of the ticks of Kenya Colony. The influence of natural conditions and other factors on their distribution and the incidence of tick-borne diseases. Part III.

- Investigations into the tick problem in the Masai Reserve. Bull. No.7, 1934. Colony and Protectorate of Kenya. Gov. Printer Nairobi.
- LOUNSBURY, C.P., 1900, Tick-heartwater experiments. Agric. J., Cape Town, 16(11):692-687.
- LOUNSBURY, C.P., 1904a, Report of the government entomologist for the year 1903. Cape of Good Hope Department of Agriculture, Cape Times Ltd., Government Printers, Cape Town, 46 pp.
- LOUNSBURY, C.P., 1904b, Persiam sheep and heartwater. Agric. J. Capetown, 25(2):175-186.
- MALAN, J.R., 1962, Cited by NEITZ, W.O., 1962, Rep. 2nd Meet. of FAO/OIE Expert Panel of Tick-borne Diseases of Livestock Cairo, U.A.R., pp. 1-20.
- MALLY, C.W., 1904, Notes on the so-called paralysis tick, *Ixodes pilosus*. Agric. J., Cape Town, 25(3):291-296.
- NEITZ, W.O., 1953, Sweating sickness. Ann. Rep. Dep. Vet. Serv., Swaziland (1953).
- NEITZ, W.O., 1954, *Hyalomma transiens* Schulze: A vector of sweating sickness. Jl S. Afr. Vet. Med. Ass., 25(1):19-20.
- NEITZ, W.O., 1955, Sweating sickness. A tick-borne disease transmissible to several members of the order Artiodactyla. Bull. Epiz. Dis. Afr., 3(2):125-126, in French p.159.
- NEITZ, W.O., 1956a, A consolidation of our knowledge of the transmission of tick-borne diseases. Onderstepoort J. Vet.

- Res., 27(2):115-163.
- NEITZ, W.O., 1956b, Studies on the aetiology of sweating sickness. Onderstepoort J. Vet. Res., 27(2):197-203.
- NEITZ, W.O., 1959, Sweating sickness. The present state of our knowledge. Onderstepoort J. Vet. Res., 28(1):3-38.
- NEITZ, W.O., 1962, The different forms of tick toxicosis. Rep. 2nd Meet. of FAO/OIE Expert Panel of Tick-borne Diseases of Livestock, Cairo, U.A.R., pp. 1-20.
- NEITZ, W.O., BOUGHTON, F. & WALTERS, H.S., 1971, Laboratory investigations on the life-cycle of the Karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). Onderstepoort J. Vet. Res., 38(3):215-224.
- OXER, D.T., 1948, The preparation of canine anti-tick serum. Aust. Vet. J., 24(4):95-96.
- OXER, D.T. & RICARDO, C.L., 1942, Notes on the biology, toxicity and breeding of *Ixodes holocyclus* Neumann. Aust. Vet. J., 18(5):194-199.
- PAVLOV, P., 1940, Epizoozia de paralisi da zecche nelle capre in Bulgaria. Riv. Parasit., 4(4):227-232.
- PAVLOV, P. & MILJOWSKI, K., 1942, Untersuchungen ueber die Zeckenlaehme in Bulgarien. Dtsch. Tierärztl Wschr., Beilage, 50(50-51):539-542.
- PAVLOVSKY, E.N. & ALFEEVA, S.P., 1941, Histopathological changes in the skin of cattle from the bite of the tick *Ixodes*

- ricinus*. Trudy Voenno-Med. Akad. Krasnoi Armii, 25:153-160.
- ROBERTS, J.A., 1968a, Acquisition by the host of resistance to the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini). J. Parasit., 54(4):657-662.
- ROBERTS, J.A., 1968b, Resistance of cattle to the tick *Boophilus microplus* (Canestrini). II. Stages of the life cycle of the parasite against which resistance is manifest. J. Parasit., 54(4):667-673.
- ROSS, I.C., 1935, Tick paralysis: A fatal disease of dogs and other animals in eastern Australian. J. Counc. Sci. Ind. Res. Australia, 8:8-13.
- SERGEANT, E., DONATIEN, A.L., PARROT, L.M. & LESTOGUARD, F., 1945, Études sur les piroplasmoses bovines. Institut Pasteur D'Algérie, Alger. 816pp.
- SMITH, T. & KILBORNE, F.L., 1893, Investigation into the nature causation and prevention of Texas or southern cattle fever. Bull. Bur. Anim. Ind. U.S. Dep. Agric., (1), 301 pp.
- STANBURY, J.B. & HUYCK, J.H., 1945, Tick paralysis: A critical review. Med. Baltimore, 24(3):219-242.
- STILES, G.W., 1942, Anaplasmosis causes costly losses. Serious blood disease of cattle slowly spreading to new areas-much has been learned about means by which it is transmitted-cure not yet discovered. Amer. Hereford J., 33(16):58-59.
- STILES, G.W., 1946, Anaplasmosis in cattle. Circ. U.S. Dep. A-

- gric., Rev., (154), 11 pp
- TEMPLE, I.U., 1912, Acute ascending paralysis, or tick paralysis. Med. Sent., 20(9):507-514.
- THEILER, A., 1910, *Anaplasma marginale* (gen. and spec. nov.)
The marginal points in the blood of cattle suffering from a specific disease. Rep. Gov. Vet. Bact., Transv. Dep. Agric. (1908-1909), pp. 7-64.
- THEILER, G., 1947, Ticks in the South African zoological survey collection. Part VI. Little known African rhipicephalids. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., 21(2):253-300.
- THEILER, G., 1948, Zoological survey of the Union of South Africa. Tick Survey Part I. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., 23(1-2):217-231.
- THEILER, G., 1949, Ticks. (Presidential address to the S. A. Biological Society, 20th November, 1947). Pamph. S. Afr. Biol. Soc., (14):7-43(1948).
- THEILER, G., 1950, Zoological survey of the Union of South Africa. Tick Survey Part VI. Onderstepoort J. Vet. Sci. Anim. Ind., 24(1-2):37-51.
- THOMAS, A.D. & NEITZ, W.O., 1958, Rhipicephaline tick toxicosis in cattle. Its possible aggravating effects on certain diseases. Jl S. Afr. Vet. Med. Ass., 29(1):39-50.
- TRAGER, W., 1939a, Acquired immunity to ticks. J. Parasit., 25 (1):57-81.
- TRAGER, W., 1939b, Further observations on acquired immunity

- to the tick *Dermacentor variabilis* (Say). J. Parasit., 25 (2):137-139.
- VAN RENSBURG, S., 1928, Tick paralysis in sheep. Farmg. S. Afr., 2(24):661-662.
- VILORIA, P.P., 1954, Paralisis por garrapatas (tick paralysis) en caninos. Rev. Med. Vet. Parasit., Caracas, 13(1-4):66-70.
- VOLGELSANG, E.G., 1925, Existe la tick paralysis en el Uruguay? Bol. Bact. Invest. (Vet)., 1(5-6):6-7.
- WHITEHEAD, G.B. & BAKER, J.F., 1961, Acaricide resistance in the red tick, *Rhipicephalus evertsi* (Neumann). Bull. Ent. Res., 51(4):755-764.
- WOLBACH, S.B., 1919, Studies on Rocky Mountain spotted fever. J. Med. Res., (177), 41(1):1-197.