

AValiação de dois métodos de coleta de indivíduos de *Amblyomma* sp

Marcus V. S. A. Duarte; Larissa M. S. Pinto; Dalva M. Silva Matos; Driéli C. Vergne

INTRODUÇÃO

Os carrapatos *Amblyomma* sp são parasitas de vertebrados, principalmente capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766), se alimentando do sangue do hospedeiro. Podem ser encontrados em pastos, gramados e outros tipos de vegetação, preferencialmente em lugares distantes do sol, bem sombreados e próximos a rios e lagos (Labruna *et al.*, 2013; Emmons & Feer, 1997). Carrapatos do gênero *Amblyomma* são os principais vetores da bactéria *Rickettsia rickettsii* Brumpt 1922, principalmente a espécie *sculptum*. Esta bactéria é responsável por causar a febre maculosa nos humanos, uma enfermidade muito grave cuja taxa de mortalidade está entre 30 e 40% (Angerami *et al.*, 2006).

Com o recente aumento de relatos de febre maculosa no Sudeste, principalmente em regiões metropolitanas de São Paulo onde entre 2005 e 2015 foram registrados cerca de 98 casos confirmados (Pinter *et al.*, 2016) é necessário entender os fatores que afetam a distribuição dos carrapatos e para isso é preciso avaliar a efetividade de métodos de coleta.

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo comparar os 2 métodos mais conhecidos e utilizados para coleta de carrapatos, arrasto de flanela em vegetação e armadilhas de gelo seco, e avaliar a efetividade de cada método para coleta de carrapatos em diferentes estágios do ciclo de vida.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo está sendo realizado em três áreas dentro e aos arredores da Universidade Federal de São Carlos (47°30' e 48°30'W 21°30' e 22°30'S), no município de São Carlos, localizado na região central do estado de São Paulo. O clima é classificado como subtropical úmido com verão quente e úmido, de outubro a março e inverno seco, de abril a setembro (Tolentino, 1967).

Os carrapatos são coletados utilizando uma técnica ativa e outra passiva, arraste de flanela e armadilhas de gelo seco, respectivamente. A primeira consiste em arrastar uma flanela branca de 1,5 m de comprimento por 1,0 m de largura sobre uma área de 10m² vegetação. A segunda técnica é caracterizada pela disposição de uma flanela branca de 1m² contendo cerca de 500g de dióxido de carbono (CO₂) em estado sólido, para que o mesmo sublime liberando CO₂ na forma gasosa. Isto simula a respiração de um animal de sangue quente, atraindo os carrapatos em um raio de até 10m (Balashov, 1972; Koch and MacNew, 1982). Todos os carrapatos que se fixam nas flanelas estão sendo coletados com fita adesiva e separados em recipientes ou envelopes devidamente identificados. Em seguida os carrapatos são levados para laboratório onde é realizada uma triagem, contabilizando o número de carrapatos coletados em cada tipo de armadilha, medidos e separados por classe de desenvolvimento. As análises estatísticas foram realizadas utilizando ANOVA e GLM utilizando o ambiente R (R Development Core Team, 2018), e os pacotes “Matrix” versão 1.2-17 (Martin Maechler *et al.*, 2019), “lme4” versão 1.1-21 (Douglas Bates *et al.*, 2019), “lmerTest” versão 3.1-0 (Alexandra Kuznetsova *et al.*, 2019).

DISCUSSÃO E RESULTADOS

No total foram coletados 13377 no total, sendo que o método ativo coletou mais indivíduos (N=10003) comparado com o método passivo (N=3374). A diferença no número de indivíduos coletados em cada método foi significativa ($p < 0.0001$). Porém, ao comparar o desvio padrão da média de indivíduos coletados/mês, percebe-se que o método de arrasto de flanela tem uma grande variação entre as coletas ao longo do ano (DP ± 503) enquanto o método utilizando dióxido de carbono tem um desvio padrão bem menor (DP ± 85). Aparentemente o método usando dióxido de carbono é mais eficiente ao longo do ano.

Quando comparada a efetividade dos métodos para coletar indivíduos de diferentes classes de desenvolvimento (larva, ninfa e adultos), a flanela foi mais efetiva para a fase de larva (Anova, $p = < 0.00001$), tendo uma média de indivíduos coletados maior ($x=92$, dp ± 498) que a do método de gelo ($x=25$, dp ± 80). Para fase de ninfa, o método de flanela ($x=11$, dp ± 79) também foi mais eficiente (Anova, $p < 0.0001$) em relação ao método passivo ($x=7$, dp ± 19). Por outro lado, o método de gelo foi mais eficiente ($p < 0.00001$) para a coleta de indivíduos na fase de adultos ($x=4$, dp ± 8) no quesito quantitativo do que o método de flanela ($x=1$, dp ± 2).

Baseado nos resultados encontrados, constatou-se que os métodos diferem entre si, em contraste com trabalho de Siqueira Franco (2018). Esta autora não encontrou diferença no número de carrapatos coletados ao longo de dois anos de estudo. Isto pode ser explicado pelo fato de que no trabalho desta autora, apesar das coletas terem sido realizadas durante um período maior de tempo, o número total de indivíduos coletados foi bem menor (N=2858) do que encontrado neste estudo. Através do método de flanela, Siqueira Franco (2018) coletou 1076 indivíduos e para a armadilha de gelo seco 1782 indivíduos. O método de flanela apesar de ser método muito variável, ele se mostrou eficiente na coleta de larvas e ninfas. Esta variação pode ser devida ao fato da flanela ser arrastada em uma altura definida e, portanto, apenas os indivíduos que se encontram nesta região são coletados. O método de dióxido de carbono atrai indivíduos de diferentes micro-locais da vegetação, principalmente adultos que podem ter maior mobilidade (Perez *et al.*, 2008; Franco, 2018).

CONCLUSÃO

Conclui-se que em relação a abundância de indivíduos coletados o método de arrasto de flanela é melhor, enquanto que em relação a constância, o método de gelo é mais seguro. Entretanto, deve-se considerar que existe uma variação entre os métodos em relação a eficiência de coleta de indivíduos em diferentes estágios de desenvolvimentos. Portanto, para conseguir-se resultados mais seguros e efetivos em experimentos científicos com carrapatos indica-se a utilização de ambos os métodos concomitantemente, visto que um preenche a lacuna do outro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANGERAMI, R.N.; RESENDE, M.R.; FELTRIN, A.F.C.; KATZ, G.; NASCIMENTO, E.M.; STUCCHH, R.S.B.; SILVA, L.J. (2006). **Brazilian Spotted Fever: A Case Series from an Endemic Area in Southeastern Brazil**. *Century of Rickettsiology; Emerging, Reemerging Rickettsioses, Molecular Diagnostics, and Emerging Veterinary Rickettsioses*. V.1078. p. 252-254.
- BALASHOV, Y.S. (1972). **Bloodsucking ticks (Ixodoidea) – Vectors of diseases of man and animals**. *Miscell. Public. Entomol. Soc. Am.*, 8: 160-376, 1972.
- EMMONS, L. H. & FEER F. (1997). **Neotropical Rainforest Mammals: a Field Guide (2ed)**. University of Chicago Press. Chicago, U.S.A. 307. Pp. FRANCO, C. S. A influencia dos fatores ambientais na ocorrência de carrapatos (ARTHROPODA, ACARI, IXODIDAE) e rickettsia em área de transmissão e área de predisposição para a febre maculosa brasileira. 2018. Tese (Doutorado em Biologia Animal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP.
- KOCH, H.G. & MCNEW, R.W. (1982). **Sampling of lone Star Ticks (Acari: Ixodidae): Dry Ice Quantity and Capture Success**. *Annals of Entomological Society of America*, 75: 579-572, 1982.
- LABRUNA, M.B.; SZABÓ, M.P.J.; PINTER, A. (2013). **Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil**. 2013. *Frontiers in Cellular Infection Microbiology*. v.3; p. 27; DOI=10.3389/fcimb.2013.00027 ISSN=2235-2988.
- PEREZ, C.A.; ALMEIDA, A.F.; ALMEIDA, A.; CARVALHO, V.H.B.; BALESTRIN, D.C.; GUIMARÃES, M.S.; COSTA, J.C.; RAMOS, L.A.; ARRUDA-SANTOS, A.D.; MÁXIMOESPÍNDOLA, C.P.; BARROS-BATTESTI, D.M. (2008). **Carrapatos do gênero Amblyomma (Acari: Ixodidae) e suas relações com os hospedeiros em área endêmica para febre maculosa no estado de São Paulo**. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17(4):210-217.
- PINTER, A.; COSTA, C. S.; HOLEMAN, M. M.; CAMARA, M.; LEITE, R. M. (2016). **A Febre Maculosa Brasileira na Região Metropolitana de São Paulo**. In: BOULOS, M.; ARANDA, C. (Eds), *Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA)*, volume 13 número 151. Junho de 2016. Imprensa Oficial do Estado de São Paulo. ISSN 1806-423-X.
- ## AGRADECIMENTOS
- Somos gratos ao Núcleo de Pesquisas de Sementes, Fisiologia e Bioquímica e Ecologia do Jardim Botânico de São Paulo, a Wayne Dawson por seus comentários sobre o manuscrito, à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, 2016 / 19522-5) para auxílio financeiro. D.M.S.M. reconhece o CNPq (*Fellowship of research productivity* 307839 / 2014-1).
- Somos gratos à Angélica Maria Penteado Martins Dias, coordenadora do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia dos Hymenoptera Parasitoides da Região Sudeste Brasileira (INCT Hympar Sudeste – Processo FAPESP 2008/57949-4 e CNPq 573802/2008-4) pela disponibilidade de uso do(s) equipamento(s) (MEV e/ou Estereomicroscópio).
- Somos gratos à Luciana Bueno dos Reis Fernandes, bióloga do DEBE/UFSCar, pelas fotos obtidas por meio do MEV e/ou estereomicroscópio.