

Valores hematológicos e identificação morfo-citoquímica de células sangüíneas de capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) parasitadas por carrapatos e capivaras livres de infestação

Karin Marie van der Heijden^{1*}, Matias Pablo Juan Szabó², Eliana Reiko Matushima¹, Marcelo Leite da Veiga³, Antenor Aguiar Santos³ e Mizue Imoto Egami³

¹Departamento de Patologia Veterinária, FMVZ, Universidade de São Paulo, Av. Corifeu de Azevedo Marques, 2720, 05340-000, São Paulo, São Paulo, Brasil. ²Departamento de Patologia Veterinária, FCAV, Unesp, Rod. Carlos Tomanni, Km 05, 14870-000, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. ³ Departamento de Morfologia, Unifesp-EPM, Rua Botucatu, 740, 04023-900, São Paulo, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. Praça Santa Terezinha, 54, apto 61 A, 03309-070, São Paulo, São Paulo, Brasil.

RESUMO. Amostras de sangue foram colhidas de 37 capivaras parasitadas por carrapatos e de 21 capivaras livres de infestação para a identificação dos diferentes tipos celulares circulantes e para realização de hemograma. Após análise morfológica, as células sangüíneas foram identificadas como heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos e plaquetas. A reação de PAS demonstrou glicogênio no citoplasma dos heterófilos e plaquetas. Reação positiva para mieloperoxidase e lipídeos foi demonstrada apenas nos grânulos citoplasmáticos esféricos dos heterófilos e em todos os grânulos citoplasmáticos dos eosinófilos. O método do azul de bromofenol revelou reação fortemente positiva nos grânulos de heterófilos, eosinófilos, basófilos e nas hemácias. Reação positiva para fosfatase alcalina foi observada nos heterófilos e eosinófilos. Os valores hematimétricos que mostraram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$), quando comparados aos animais parasitados com aqueles livres de infestação, foram: contagem total de hemácias ($3,13 \pm 0,31 \times 10^6/\mu\text{L}$ e $2,81 \pm 0,62 \times 10^6/\mu\text{L}$), hematócrito ($48,14 \pm 4,75\%$ e $41,22 \pm 6,21\%$), e, na contagem diferencial, os heterófilos ($39,38 \pm 11,02\%$ e $16,14 \pm 7,13\%$) e, eosinófilos ($8,57 \pm 3,78\%$ e $21,92 \pm 10,24\%$). Os carrapatos foram identificados como *Amblyomma cajenense* and *Amblyomma cooperi*. As capivaras altamente infestadas por esses carrapatos apresentaram anemia e uma eosinofilia marcante.

Palavras-chave: carrapatos, valores hematológicos, células sangüíneas, capivaras, *Hydrochoerus hydrochoeris*.

ABSTRACT. Hematological values and morpho-cytochemical blood cells identification of tick parasited capybaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) and capybaras free of parasitism. Blood samples were collected from thirty seven adult parasited capybaras and twenty one free of parasitism aiming the characterization of different circulating cell types and complete hemogram. After a morphological analysis, the blood cells were identified as heterophils, eosinophils, basophils, lymphocytes, monocytes and platelets. The PAS reaction revealed glycogen in heterophils and platelets cytoplasm. A positive reaction was found only in heterophils round granules and in all cytoplasmic granules of eosinophils for the demonstration of myeloperoxidase activity and lipids. The bromofenol blue method revealed strong positivity in heterophils, eosinophils, basophils granules and red blood cells. A positive reaction for alkaline phosphatase was observed in eosinophils and heterophils. The blood parameters studied showed statistic differences ($p < 0,05$) between non- parasited capybaras and parasited capybaras in the red blood cell count ($3,13 \pm 0,31 \times 10^6/\mu\text{L}$ and $2,81 \pm 0,62 \times 10^6/\mu\text{L}$), haematocrit ($48,14 \pm 4,75\%$ and $41,22 \pm 6,21\%$) and heterophils ($39,38 \pm 11,02\%$ and $16,14 \pm 7,13\%$) /eosinophils ($8,57 \pm 3,78\%$ and $21,92 \pm 10,24\%$) in differential count. In this case the ticks involved in the parasitism of these capybaras were identified as *Amblyomma cajenense* and *Amblyomma cooperi*. These data showed that the highly infested capybaras presented some anemia and a remarkable eosinophilia.

Key words. ticks, hematological values, blood cells, capybaras, *Hydrochoerus hydrochoeris*.

Introdução

Os carrapatos ixodídeos são ectoparasitas obrigatórios de uma ampla variedade de vertebrados. Na produção animal, os carrapatos levam a grandes perdas econômicas diretas por sua ação espoliativa, lesões locais com depreciação do couro e paralisia via toxinas (Stone *et al.*, 1983). A maioria dos vertebrados está exposta à infestação por carrapatos ixodídeos, particularmente os mamíferos, cujo calor e odor são atrativos para esses ectoparasitas (Aeschlimann, 1991).

A pesquisa de relações carrapato-hospedeiro e o estudo de processos fisiológicos e patológicos de vertebrados têm se restringido às espécies de animais domésticos e de laboratório (Randolph, 1979; Hoogstraal, 1985; Tatchell, 1987; Rechav, 1992; Willadsen e Kemp, 1999) sendo que a pesquisa de tais processos em animais silvestres é insipiente e, no caso dos silvestres brasileiros, as informações são, muitas vezes, totalmente ausentes.

A capivara é o maior roedor atualmente vivo, chegando a medir 1,30m de comprimento e 0,50 a 0,60m de altura. Seu pelo é castanho escuro e alguma variação de cor ocorre, podendo estar relacionada ao meio ambiente onde o animal vive. A água desempenha funções de extrema importância na vida desses animais, como reprodução, proteção e defecação. Suas patas são providas de membrana natatória, que torna mais eficiente o ato de nadar. Tem como característica comportamental viver em grupo, estabelecendo território às margens dos rios, lagos ou pântanos. Nesses animais, não existem diferenças sexuais marcantes, pois os órgãos genitais encontram-se encerrados em uma prega cutânea que os recobre, assim como o ânus, exibindo externamente apenas um orifício semelhante à cloaca. Como caráter secundário de dimorfismo sexual, pode ser citado um entumescimento glandular na parte superior do focinho mais desenvolvido nos machos adultos (Fowler, 1986). Sendo um animal essencialmente herbívoro, em sua dieta chega a ingerir de 3 a 4kg de vegetação fresca, diariamente. Sua dentição, com incisivos de crescimento contínuo, e sua forte mandíbula facilitam o corte e o trituração de vegetação (Silva, 1986).

Com a crescente criação de capivaras para fins comerciais e a observação de infestações intensas por carrapatos em capivaras (Sinkoc *et al.*, 1997; Gonzales e Oliveira, 1994; Machado *et al.*, 1985) motivaram o estudo da susceptibilidade e reação hemática desse hospedeiro.

Face ao exposto, propomo-nos a estudar a relação hospedeiro-parasita envolvendo carrapatos e

capivaras em cativeiro, no que se refere à identificação das espécies de carrapatos que afetam esse hospedeiro e as possíveis alterações nas células do sangue periférico, decorrentes do parasitismo, que podem refletir estados de susceptibilidade ou de resistência ao carrapato e que poderão contribuir para melhor conhecimento da fisiologia da capivara e da fauna ixodológica do Brasil. Será realizada também a identificação dos carrapatos adultos, caracterização morfológica e citoquímica dos tipos celulares circulantes e o hemograma completo. Todos os métodos serão aplicados em animais infestados e não-infestados.

Material e métodos

Capivaras em cativeiro do Estado de São Paulo e do Rio Grande do Sul foram classificadas em dois grupos: parasitadas por carrapatos e não-parasitadas (animais controle). Todas as capivaras, parasitadas e controle, eram animais adultos pesando em média 45kg. Colheram-se, de todos os animais, carrapatos para identificação e sangue para a análise morfológica, citoquímica e realização do hemograma. Foram obtidas amostras de vinte e uma capivaras sem infestação aparente (animais controle) e de trinta e sete capivaras parasitadas por carrapatos. A procedência e o sistema de criação estão demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1. Procedência e quantidade de capivaras utilizadas e sistema de criação

Procedência	Número de animais	Sistema de criação
Carapicuíba-SP (23° 33'S, 46° 53'W)	3	Intensivo
São Bernardo do Campo-SP (23° 45'S, 46° 30'W)	3	Intensivo
Santo Antônio da Patrulha-RS (29° 47'S, 50° 32'W)	15	Semi- extensivo
Piracicaba- SP (22° 44'S, 47° 38'W)	3	Intensivo
Guararapes-SP (21° 14'S, 50° 39'W)	4	Extensivo
Ibiting -SP (21° 46'S, 48° 48'W)	12	Extensivo
Salmourão-SP (21° 33'S, 50° 54'W)	9	Extensivo
Guararapes-SP (21° 14'S, 50° 39'W)	9	Extensivo

Para colheita das amostras de sangue, os animais foram contidos com auxílio de puça e anestesiados utilizando-se a associação anestésica de quetamina (Ketalar®, Aché Lab. Farmacêuticos S/A) e xilazina (Rompun®, Bayer do Brasil S.A.), i.m., conforme preconizado por Pachaly (2001), Clark e Olfert (1986), na dose inicial de 5mg/kg e 1mg/kg, respectivamente. Em casos de necessidade, doses adicionais foram aplicadas.

O sangue colhido por punção na veia femoral, no volume de três mL, foi acondicionado em tubos com EDTA 10% para determinação do hematócrito e contagem global de células. As extensões sanguíneas foram feitas no local da colheita e submetidas posteriormente à coloração pelo método de Rosenfeld (1947 a e b) para a identificação morfológica dos tipos celulares e aos seguintes métodos citoquímicos para determinação de: a) glicogênio, pelo método do PAS (McManus, 1946) com controle pela amilase salivar (Lison, 1960); b) mieloperoxidase, pelo o-toluidina-peróxido de hidrogênio (Jacobs, 1958); c) lipídeos pelo Sudan black B (Lison, 1960); d) proteínas em geral pelo azul de bromofenol (Mazia *et al.*, 1953); e) fosfatase alcalina pelo Naftol AS-MX-fosfato (Ackerman, 1962).

O hematócrito das amostras foi avaliado através da técnica de microhematócrito (Birgel e Benesi, 1982). A determinação do número de hemácias e do número de leucócitos foi realizada seguindo-se a técnica clássica de contagem em câmara de Neubauer, conforme descrito por Birgel e Benesi (1982). A concentração de hemoglobina foi determinada espectrofotometricamente utilizando-se Kit Labtest® para hemoglobina. A dosagem da proteína plasmática total foi determinada através de refratômetro.

As contagens diferenciais de leucócitos foram realizadas em preparados corados por Rosenfeld, sob microscopia de luz e em objetiva de imersão. Rastreando-se a lâmina em zigue-zague, foram contadas 200 células por amostra. Considerando-se, portanto, o número total de amostras estudadas dos animais controle (21) e parasitados (37), foram identificados e contados 11600 leucócitos.

Os valores obtidos no hemograma completo, dos animais não-parasitados e parasitados, foram comparados utilizando teste T de Student, com significância definida em $p < 0,05$, seguindo-se o programa Instat.

Resultados

Identificação dos carrapatos

A classificação dos carrapatos foi feita com a utilização das chaves sugeridas por Mendez-Arocha e Ortiz (1958), Aragão e Fonseca (1952) e Jones *et al.* (1972). Os carrapatos foram identificados como pertencentes ao gênero *Amblyomma*. A espécie *A. cajennense* foi encontrada parasitando capivaras provenientes de todas as cidades, enquanto que a espécie *A. cooperi* parasitando somente as provenientes de Ibatinga (Tabela 1). Todos os animais apresentaram alto grau de parasitismo.

Análise morfológica e citoquímica

Extensões sanguíneas coradas por Rosenfeld dos animais controle e parasitados mostraram heterófilos de forma esférica, tamanho uniforme, núcleo segmentado de cor púrpura, citoplasma abundante, com grânulos acidófilos esféricos e bastonetiformes de tamanho variado (Figura 1a). Os eosinófilos apresentaram forma esférica, núcleo segmentado de cor púrpura e citoplasma compactamente repleto de grânulos acidófilos, esféricos e de tamanho homogêneo (Figura 1d). Os linfócitos mostraram aspecto clássico, isto é, núcleo de cromatina condensada e um fino halo de citoplasma basófilo, com variação no seu tamanho, porém com predominância da forma pequena (Figura 1g). Os monócitos, atingindo cerca de três a quatro vezes o tamanho dos eritrócitos, apresentaram núcleo reniforme volumoso de cromatina frouxa, contorno irregular e citoplasma basófilo (Figura 1h). Os basófilos mostraram forma esférica, tamanho homogêneo, núcleo em geral volumoso e citoplasma apresentando grânulos basófilos em grande quantidade fortemente corados em azul e dispostos sobre o núcleo (Figura 1i). As plaquetas mostraram aspecto morfológico clássico observado em mamíferos.

Em relação aos resultados citoquímicos de células sanguíneas de animais controle e parasitados, após a aplicação do método do PAS para detecção do glicogênio e realizando-se o controle de especificidade pela amilase salivar, observou-se a presença dessa substância sob a forma de pequenos grânulos de cor magenta nos heterófilos e no citoplasma das plaquetas. Através do método da o-toluidina-peróxido de hidrogênio e realizando-se o controle de especificidade na ausência de substrato, observou-se reação fortemente positiva, sob a forma de precipitado de cor marrom, apenas nos grânulos esféricos dos heterófilos (Figura 1b), de forma homogênea em todos os grânulos dos eosinófilos (Figura 1e), e nos grânulos esféricos dos basófilos tanto nos animais controle e parasitados. Em relação ao método de Sudan black B, com controle de especificidade, observou-se grânulos sudanófilos, de tonalidade escura, apenas nos grânulos esféricos dos heterófilos (Figura 1c), uniformemente em todos os grânulos dos eosinófilos (Figura 1f) e basófilos nos animais controle e parasitados. Com a aplicação do método do azul de bromofenol, foi observada reação intensa para proteínas nos grânulos alongados dos heterófilos e menos intensa nos grânulos esféricos. Eosinófilos e basófilos também apresentaram reação intensa porém variável de grânulo para grânulo. As hemácias mostraram, de modo geral, apenas fraca

reatividade. Esses resultados foram semelhantes nos animais controle e parasitados. O método do naftol AS-MX-fosfato para detecção da fosfatase alcalina e respectivo controle de especificidade permitiu demonstrar reação intensa apenas nos grânulos dos heterófilos e menos intensa nos eosinófilos, nos grupos controle e parasitados.

Hemograma

Os valores das contagens globais dos eritrócitos e leucócitos, hematócrito, hemoglobina e índices eritrocíticos (VCM - volume celular médio, HCM - hemoglobina celular média, CHCM - concentração

de hemoglobina celular média) de 37 capivaras parasitadas e de 21 animais controle estão expressos nas Tabelas 2 e 3. Os resultados das contagens diferenciais de leucócitos dos mesmos animais estão expressos nas Tabelas 4 e 5.

Na comparação estatística entre os valores obtidos no hemograma de capivaras normais com aqueles dos animais parasitados, diferenças significantes foram detectadas nas contagens totais de hemácias (Figura 2), no hematócrito (Figura 3) e nas contagens diferenciais de eosinófilos e heterófilos (Figura 4).

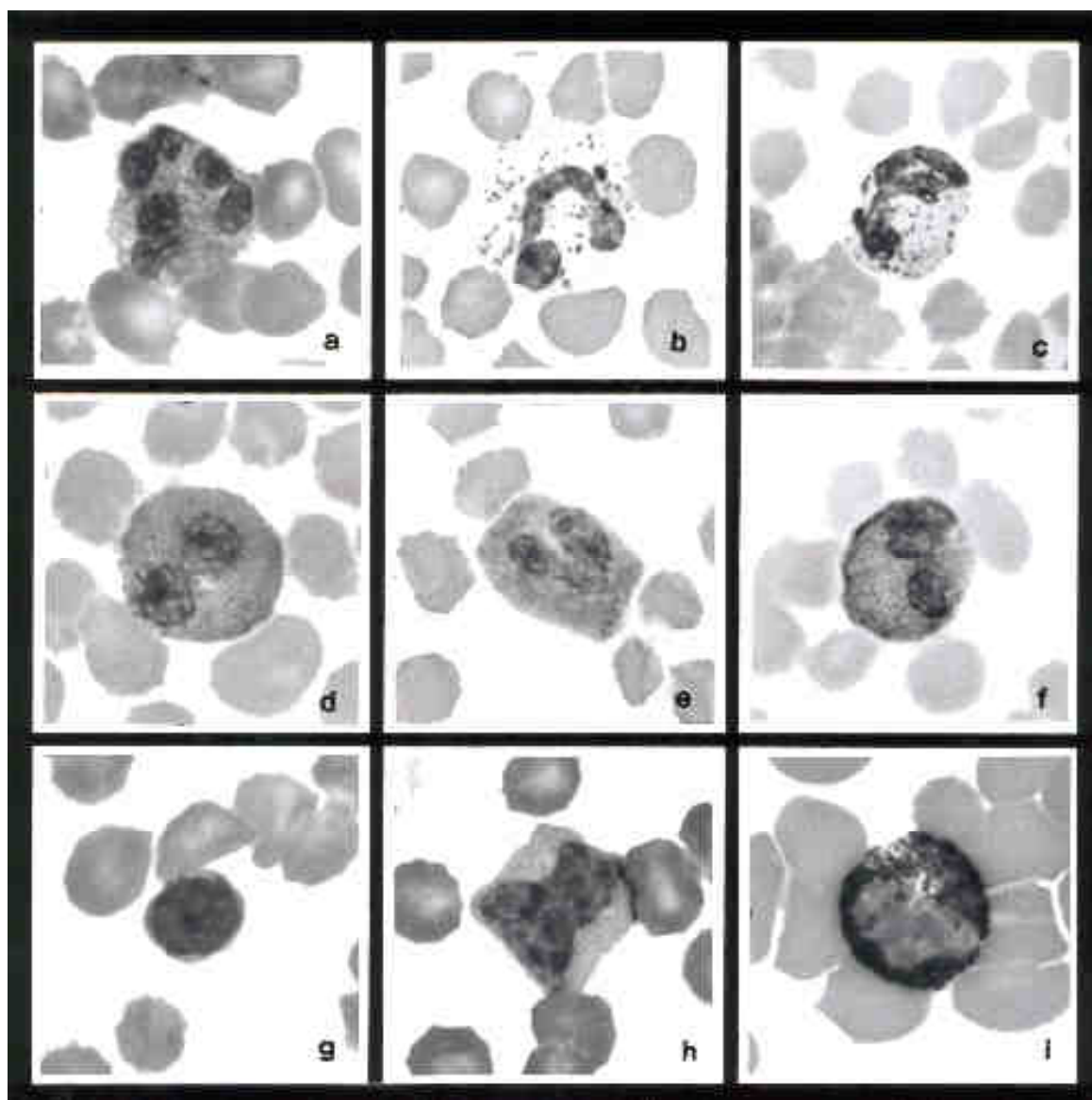


Figura 1. Fotomicrografia de extensão de sangue periférico de capivara, mostrando: heterófilo (a), eosinófilo (d), linfócito (g), monócito (h) e basófilo (i) - Método de Rosenfeld; reação positiva para mieloperoxidase apenas nos grânulos esféricos do heterófilo (b) e em todos os grânulos do eosinófilo (e) - Método da o-toluidina peróxido de hidrogênio e Hematoxilina de Carazzi; reação positiva para fosfolipídeos apenas nos grânulos esféricos do heterófilo (c) e em todos os grânulos do eosinófilo (f) - Método Sudan Black B e Hematoxilina de Carazzi. 1650x

Tabela 2. Média e desvio padrão dos valores referentes ao hemograma completo de animais controle

	HE	HT	HB	VCM	HCM	CHCM	LE
Média	3,13	48,14	14,86	154,92	47,85	30,88	11628,57
Desv Pad.	0,31	4,75	1,64	19,50	6,70	1,83	4188,10

HE = n° total de hemácias $\times 10^6 / \text{mm}^3$; HT = hematócrito (%); HB = concentração de hemoglobina (g/dL); VCM = volume corpuscular médio (fl); HCM = hemoglobina celular média (pg); CHCM = concentração hemoglobínica celular média (%); LE = n° total de leucócitos / mm^3

Tabela 3. Média e desvio padrão dos valores referentes ao hemograma completo de animais parasitados

	HE	HT	HB	VCM	HCM	CHCM	LE
Média	2,81	41,22	14,33	149,98	52,63	35,10	10691,89
Desv Pad.	0,62	6,21	1,93	20,48	9,72	4,15	3286,62

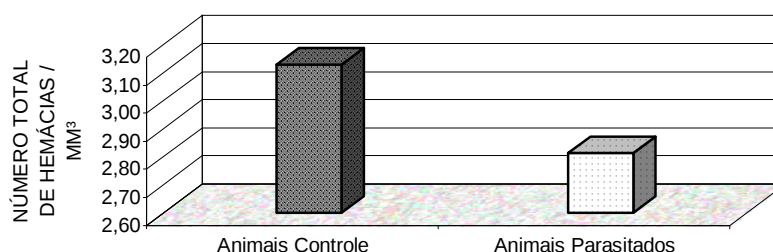
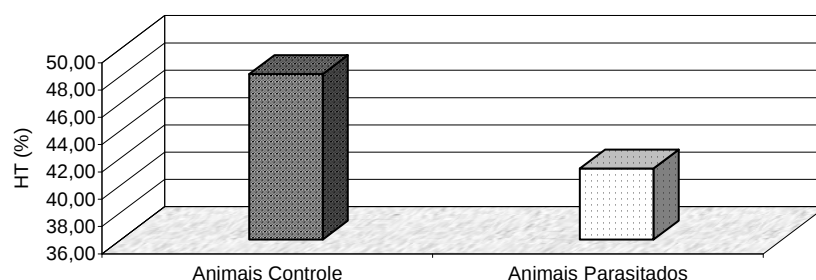
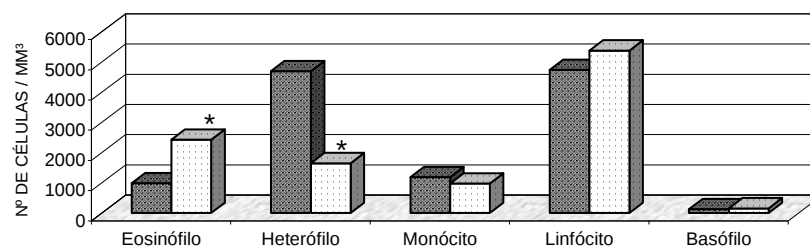
HE = n° total de hemácias $\times 10^6 / \text{mm}^3$; HT = hematócrito (%); HB = concentração de hemoglobina (g/dL); VCM = volume corpuscular médio (fl); HCM = hemoglobina celular média (pg); CHCM = concentração hemoglobínica celular média (%); LE = n° total de leucócitos / mm^3

Tabela 4. Média e desvio padrão dos valores referentes à contagem diferencial de leucócitos de animais controle.

	Eosinófilo		Heterófilo		Monócito		Linfócito		Basófilo	
	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto
Média	8,57	986,14	39,38	4699,76	10,19	1187,21	41,67	4733,88	1,13	125,38
Desv. Pad	3,78	603,54	11,02	2180,10	5,14	751,61	13,08	1842,32	0,35	108,12

Tabela 5. Média e desvio padrão dos valores referentes à contagem diferencial de leucócitos de animais parasitados.

	Eosinófilo		Heterófilo		Monócito		Linfócito		Basófilo	
	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto	%	Absoluto
Média	21,92	2434,78	16,14	1649,32	8,89	974,51	50,95	5386,11	1,45	158,09
Desv. Pad	10,24	1422,19	7,13	583,68	5,33	717,36	14,16	2200,19	0,51	64,90

**Figura 2.** Comparação entre os valores referentes do número total de hemácias de animais controle e parasitados**Figura 3.** Comparação entre os valores referentes ao Hematócrito de animais controle e parasitados**Figura 4.** Comparação entre os valores referentes à contagem diferencial de Leucócitos do sangue periférico de animais controle e parasitados

Discussão

A produção animal voltada principalmente, mas não somente, para obtenção de proteína de ordem nutricional é uma necessidade básica das nações. Essa atividade está baseada em espécies animais retiradas da natureza, artificialmente expandidas e moduladas geneticamente para atender às necessidades humanas. Outras espécies, apesar de permanecerem na natureza sob o cunho de silvestres, vêm sendo também utilizadas de forma crescente na produção animal. Populações selecionadas de animais silvestres poderão, portanto, se integrar no futuro ao conjunto dos animais domésticos. No Brasil, o melhor representante que se enquadra nessa situação é a capivara, espécie de animal já criada de forma intensiva e extensiva (Silva, 1986). Ao mesmo tempo, trata-se de uma espécie que é encontrada de forma rotineira, em estado silvestre, na beira de rios, próximo às aglomerações urbanas.

Se de um lado os animais silvestres representam um patrimônio genético valioso, por outro lado, podem estar associados às ocorrências na transmissão de doenças infecciosas e parasitárias para os seres humanos (Steere *et al.*, 1978; Donohue *et al.*, 1987; Madigan e Teitler, 1988; White *et al.*, 1991; Spielman *et al.*, 1993; Figueiredo *et al.*, 1999). A situação pode se tornar bastante delicada, uma vez que o estudo de processos fisiológicos e patológicos de vertebrados têm se restringido às espécies de animais domésticos e de laboratório. A pesquisa de tais processos em animais silvestres é ainda insipiente, incompleta e restrita a poucas espécies.

Sendo assim, o passo inicial, neste estudo, foi estabelecer as espécies de carrapatos que parasitam capivaras em cativeiro para se conhecer sua susceptibilidade aos mesmos. Como resultado, observou-se que, nas criações comerciais estudadas, esse roedor apresentou-se intensamente infestado pelo carrapato *Amblyomma cajennense*, um ixodídeo amplamente distribuído por toda a América do Sul e uma das espécies de maior prevalência no Brasil. É fato conhecido que esse parasita é comum em equídeos, apresentando baixa especificidade parasitária principalmente nos estádios de larva e ninfa (Lopes *et al.*, 1998). O *Amblyomma cajennense* foi recolhido também de hospedeiros diversos como quati, cervo-do-pantanal, veado catingueiro, tamanduá-mirim, tamanduá-bandeira e capivaras, além dos animais domésticos (Campos Pereira *et al.*, 2000). Sua capacidade em transmitir o agente da febre maculosa, *Rickettsia rickettsii*, já é reconhecida (Campos Pereira e Labruna, 1998) e aventa-se a possibilidade de ser, no Brasil, o vetor da *Borrelia*

burgdorferi, agente etiológico da doença de Lyme (Birman, 1990).

O carrapato *Amblyomma cooperi* foi a segunda espécie de carrapato identificada em capivaras no presente trabalho. Essa espécie de carrapato, menos comum em animais domésticos, parece ser específica de capivara (Sinkoc *et al.*, 1997; Aragão, 1936). Embora as informações a respeito de sua importância sejam mais restritas, riquetsia do grupo da febre maculosa já foi isolada dessa espécie de carrapato quando coletada de capivaras no Brasil (Lemos *et al.*, 1996), atestando a possibilidade dessa relação hospedeiro-parasita participar na epidemiologia de zoonoses.

Trata-se de situação que exigirá o estabelecimento de esquemas de controle rigoroso na criação de capivaras e concomitante controle sanitário rígido em função do potencial zoonótico das relações carrapato-capivara observadas.

Constatada a susceptibilidade da capivara a carrapatos em criadouros, foi realizada avaliação da reação desse hospedeiro ao parasita baseada nos dados hematológicos que representam reações sistêmicas. É importante ressaltar que, mesmo intensamente infestadas, as capivaras examinadas apresentavam um bom estado geral.

Como mencionado anteriormente, as informações sobre animais silvestres brasileiros são incompletas e muitas vezes ausentes. Por esse motivo, para se poder avaliar a reação sistêmica da capivara frente ao parasitismo pelo carrapato, foi necessário anteriormente estabelecer o perfil hematológico de animais controle, isto é, em estado hígido, uma vez que esses dados não se encontram disponíveis na literatura atual. Assim, foram utilizados, como controle, 21 capivaras que pertencem às criações comerciais e aos zoológicos, todas sem infestação aparente por carrapatos.

Nos animais selecionados, controle e parasitado, realizou-se hemograma completo com a determinação da contagem global de hemácias e leucócitos, determinação do hematócrito, concentração de hemoglobina, índices eritrocíticos e contagem diferencial de leucócitos.

Os valores obtidos no hemograma de capivaras controle, comparados aos dos valores do hemograma das 35 capivaras parasitadas, demonstraram diferenças significantes na contagem global de hemácias e no valor do hematócrito, isto é, observou-se uma diminuição significativa desses parâmetros nos animais infestados quando comparados aos dos animais controle. Os animais parasitados apresentaram concomitantemente uma eosinofilia significativa. Os baixos valores dos índices

hemáticos encontrados nos animais parasitados possivelmente se devem à anemia causada, provavelmente, por perda crônica de sangue; já em relação à marcante eosinofilia, é condizente com a situação classicamente descrita em quadros de parasitismo por carrapatos em animais domésticos (Ushio *et al.*, 1995; Spencer, 1993; Glines e Samuel, 1989; Brow e Rosallsky, 1984; Brown e Askennase, 1992; Corrier *et al.*, 1979).

Na avaliação do comportamento citoquímico, dados inéditos em relação aos glóbulos brancos circulantes de capivaras foram obtidos aplicando-se métodos específicos para a detecção de quatro tipos básicos de componentes macromoleculares de natureza química diferente: carboidratos, lipídeos, proteínas enzimática e estrutural. Esses componentes fundamentais servem tanto para identificação das células quanto para a indicação de suas possíveis funções.

Desta forma, foram empregados os seguintes métodos: P.A.S para detecção de glicogênio, Sudan Black B para fosfolipídeos, o-toluidina-peróxido de hidrogênio para identificação da mieloperoxidase, azul de bromofenol para a identificação de proteínas em geral e naftol AS-MX-fosfato para a fosfatase alcalina.

A análise citoquímica revelou uma variação na reatividade dos diferentes componentes em diversos tipos de leucócitos. Foi observada uma diferença digna de nota entre os heterófilos e eosinófilos, células com aspecto morfológico muito semelhante, de difícil diferenciação morfológica quando coradas somente pelo método de Rosenfeld. Através desses métodos, pudemos constatar que os heterófilos e os eosinófilos, apesar de mostrarem semelhanças morfológicas, compreendem duas populações de células complementemente distintas com reatividade citoquímica diferente dos componentes testados. Os dados assim obtidos e, portanto, os métodos citoquímicos aplicados se tornam extremamente importantes por permitirem, com segurança, diferenciar esses dois tipos de granulócitos, podendo fazer parte até de uma rotina laboratorial para a diferenciação dessas células em preparados sanguíneos de capivaras.

Conclusão

Frente aos resultados obtidos, os mesmos demonstram o grau de influência dos carrapatos na produção animal e na saúde pública em criações de capivara, sugerindo a necessidade de um melhor conhecimento da relação hospedeiro-parasita como forma de antever e/ou solucionar problemas a ela relacionados.

Referências

- AESCHLIMANN, A. Ticks and disease: susceptible hosts, reservoir hosts and Vectors *In: TOFT, C. A. et al. Parasite - host associations coexistence or conflict?* Oxford University Press, 1991. cap. 8, p.148-56.
- ACKERMAN, G.A. Substituted naftol AS phosphate derivatives for the localization of leukocyte alkaline phosphatase activity. *Laboratorial Investigation*, v.11, n.7, p.563-7, 1962.
- ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 31, n.4, p. 759-844, 1936.
- ARAGÃO, H.B.; FONSECA, F. Confirmação de *Ixodes aragaoi*, Fonseca, 1935, de *Ixodes amarali*, Fonseca, 1935, e de lista de espécies do gênero *Ixodes* que ocorrem no Brasil (Acari, Ixodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 50, p. 727-8, 1952.
- BIRGEL, E.H.; BENESI, F.J. *Patologia Clínica Veterinária*. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982.
- BIRMAN, D. Doença de Lyme. *Manchete*, p. 58-61, 14 Jul. 1990.
- BROWN, S.J.; ASKENASE, P.W. Blood eosinophil and basophil responses in guinea Pigs parasitised by *Amblyomma americanum* ticks. *Am. J. Trop. Med. Hy.*, Northbrook, v.31, n.3, p.593-8, 1992.
- BROWN, S.J.; ROSALSKY, J.H. Blood leukocyte response in hosts parasited parasitised by the hematophagous arthropods *Triatoma protracta* and *Lutzomyia longipalpis*. *Am. J. Trop. Med. Hy.*, Northbrook, v.33, n.3, p.499-505, 1984.
- CAMPOS PEREIRA, M.; LABRUNA, M.B. Febre maculosa: aspectos clínico-epidemiológicos. *Clínica Veterinária*, São Paulo, n.12, p.19-23, 1998.
- CAMPOS PEREIRA, M. *et al.* Ticks associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. *J. Med. Entomol.* Lanham, v.37, n.6, p.976-83, 2000.
- CLARK, J.D.; OLFERT, E.D. Rodents (Rodentia). *In: FOWLER, M.E. (Ed.). Zoo and wild animal medicine*. W. B. SAUNDERS, 1986. cap. 38, p. 727-752.
- CORRIER, D.E. *et al.* Mortality, weight loss and anaemia in *Bos taurus* calves exposed to *Boophilus microplus* ticks in the tropics of Colombia. *Trop. Anim. Health Prod.*, Dordrecht, v.11, n.4, p.215-21, 1979.
- DONAHUE, J.G. *et al.* Reservoir competence of white-footed mice for Lyme disease spirochetes. *Am. J. Trop. Med. Hy.*, Northbrook, v.36, p.92-96, 1987.
- FIGUEIREDO, L. T. M. *et al.* Relato sobre carrapatos coletados no sudeste e centro-oeste do Brasil analisando o potencial transmissão de microorganismos para o homem. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Brasília, v.32, p. 613-619, 1999.
- FOWLER, M.E. *Zoo and wild animal medicine*. W. B. SAUNDERS, 1986.
- GLINES, M.V.; SAMUEL, W.M. Effect of *Dermacentor albipictus* (Acari: Ixodidae) on blood composition, weight gain and hair coat of moose, *Alces alces*. *Exp. Appl. Acarol.* Dordrecht, v.6, n.3, p.197-213, 1989.

- GONZALES, J.C.; OLIVEIRA, C.M.B. *Amblyomma cooperi* em capivara. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 12., 1994, Porto Alegre, RS. *Anais...* Porto Alegre : SOVERGS, 1994. p.47.
- HOOGSTRAAL, H. Ticks. In: GAAFAR, S.M. *et al.* (Ed.). *Parasites, pests and predators*. Amsterdam: Elsevier, 1985. p. 347-70.
- JACOBS, A. Staining for leucocyte peroxidase. *Lancet*, Boston, v.1, p. 697, 1958.
- JONES, E.K. *et al.* The ticks of Venezuela (Acarina: Ixoidae) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisphere. *Biological Series Brigham Young University Science Bulletin*, Brigham, v. 17, p. 1-40, 1972.
- LEMOES, E.R.S. *et al.* Primary isolation of spotted fever group Rickettsiae from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.91, n.3, p. 273-275, 1996.
- LISON, L. Lipides et lipoproteines. In: LISON, L. (Ed.). *Histochimie et cytochimie*. Principes et méthodes Paris: Gauthier Villars, 1960, p.449-530.
- LOPES, C.M.L. *et al.* Host specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v.93, n.3, p. 347-351, 1998.
- MACHADO, R. Z. *et al.* Ecologia em carrapatos XIII - *Boophilus microplus* em infestações de veados (*Ozotocerus bezoarticus*) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). *Ars. Vet.*, Jaboticabal, v. 1, p.47-50, 1985.
- MADIGAN, J.E.; TEITLER, J. *Borreliaburgdorferi* borreliosis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, Schaumburg, v.192, p.892-895, 1988.
- MAZIA, D. *et al.* The cytochemical staining and measurement of protein with mercuric bromophenol blue. *Biol. Bull.*, Woods Hole, v.104, p. 57-67, 1953.
- MC MANUS, J.F.A.. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, London, v.158, p. 202, 1946.
- MENDEZ-ARROCHA, M.; ORTIZ, I. Revision de las garrapatas venezolanas del genero *Ixodes* Latr., y estudio de un nuevo *Amblyomma*. *Mem. Soc. Cien. Nat. La Salle.*, Caracas, v. 51, p. 196-208, 1958.
- PACHALY, J.R. Rodents (Rodentia). In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z. S. *Biology, medicine and surgery of South American wild animals*. Iowa: Iowa State University Press, 2001. cap.23, p. 225-237.
- RANDOLPH, S.E. Population regulation in ticks: the role of acquired resistance in Natural and unnatural hosts. *Parasitology*, Cambridge, v.79, p. 141-56, 1979.
- RECHAV, Y. Naturally acquired resistance to ticks - a global view. *Insect. Sci. Appl.*, Nairobi, v.13, p. 405-504, 1992.
- ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue. Noções práticas sobre corantes pancrômicos e estudo de diversos fatores. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, v.20, p.315-328, 1947a.
- ROSENFELD, G. Corante pancrômico para a hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. *Mem. Inst. Butantan*, São Paulo, v.20, p.329-334, 1947b.
- SILVA, L.F.W. *Criação de capivaras em cativeiro*. São Paulo: Nobel, 1986.
- SINKOC, A L. *et al.* Ocorrência de Ixodidae parasitos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* LINNEUS, 1766) na estação ecológica do Taim, Rio Grande - RS, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.27, n.1, p. 119-122, 1997.
- SPENCER, A.J.; CANFIELD, P.J. Haematological characterization of heavy tick infestation in koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Comp. Haematol. Int.*, v.3, p.225-229, 1993.
- SPIELMAN, A. *et al.* The origin and course of the present outbreak of Lyme disease. In: GINSBERG, H.S. *Ecology and environmental management of lyme disease*. Rutgers University Press, 1993. p.83-96.
- STEERE, A.C. *et al.* Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: epidemiological evidence for a tick vector. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, v.108, p.312-321, 1978.
- STONE, B.F. *et al.* Tick (*Ixodes holocyclus*) paralysis in the dog - quantitative studies on immunity with the tick. *Aust. Vet. J.*, Sydney, v. 60, p. 65-68, 1983.
- TATCHELL, R.J. Interactions between ticks and their hosts. *Int. J. Parasitol.*, Sydney, v.17, p. 597-606, 1987.
- USHIO, H. *et al.* Mechanisms of eosinophilia in mice infested with larval *Haemaphysalis longicornis* ticks. *Immunology*, Oxford, v.84, n.3, p.469-75, 1995.
- WHITE, J. *et al.* The geographic spread and temporal increase of the Lyme disease epidemic. *J. Am. Med. Assoc.*, Chicago, v.266, p.1230-1236, 1991.
- WILLADSEN, P.; KEMP, D. Past, Present and Future of Vaccination Against Ticks. Control de La Resistencia en Garrapatas y Moscas de Importancia Veterinaria y Enfermedades que transmiten. In: IV SEMINARIO INTERNACIONAL DE PARASITOLOGIA ANIMAL, 1999, Puerto Vallarta, Mexico. *Anais...* Puerto Vallarta: Jalisco, 1999. p. 131-140.

Received on June 14, 2002.

Accepted on March 10, 2003.