



Protocolo de coleta, armazenamento e preparação de ectoparasitos de pequenos mamíferos terrestres em estudos de monitoramento nos módulos RAPELD Ilha Grande, estado do Rio de Janeiro

Elizabete Captivo Lourenço^{1*}, Matheus Pereira e Silva², Helena Godoy Bergallo¹

¹ Laboratório de Ecologia de Mamíferos, Departamento de Ecologia, Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

² Faculdade de Formação de Professores, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, São Gonçalo, Brasil.

* Autor para correspondência: beteclouren1205@yahoo.com.br

Resumo: Estudos ecológicos relacionados a ectoparasitos não são frequentes, principalmente, quando se trata de amostragens de longa duração. O presente estudo teve como objetivo relatar o protocolo de coleta de ectoparasitos de pequenos mamíferos terrestres não voadores realizada em dois módulos RAPELD na Ilha Grande, município de Angra dos Reis, estado do Rio de Janeiro. Assim, buscamos detalhar as atividades metodológicas sobre as pesquisas com ectoparasitos de pequenos mamíferos, visando facilitar os procedimentos para futuras pesquisas. As campanhas de monitoramento de pequenos mamíferos ocorreram de 2013 a 2019, enquanto o procedimento de coleta de ectoparasitos aqui detalhado abrangeu as campanhas de 2013 a 2018. Dez espécies de pequenos mamíferos foram capturadas em armadilhas de contenção, inseridos em sacos plásticos e triados no local. Os ectoparasitos foram removidos por escovação e catação e armazenados em etanol absoluto. No laboratório, as amostras foram triadas sob microscópio estereoscópico e separados em grupos taxonômicos para posterior determinação da espécie ou para diafanização e montagem em lâminas semipermanentes. O protocolo executado buscou minimizar qualquer tipo de contaminação, que poderiam ter implicações ecológicas, devido a confusões de associações parasito-hospedeiro. Os métodos discriminados no laboratório para clarificação dos espécimes foram eficazes, permitindo a determinação de espécies de diferentes *taxa*.

Palavras-chave: Ácaros; Ilha Grande; Piolhos; Pulgas; RAPELD.

Abstract: Protocol for collection, storage, and preparation of ectoparasites from small terrestrial mammals in monitoring studies in RAPELD Ilha Grande modules, state of Rio de Janeiro. Ecological studies related to ectoparasites are rare, especially regarding long-term sampling. Our study aims to a protocol description for ectoparasites collection from non-volant small mammals conducted in two RAPELD modules in Ilha Grande, municipality of Angra dos Reis, state of Rio de Janeiro. We detailed the methodological activities on research with ectoparasites of small mammals to facilitate procedures for future research projects. The small mammal monitoring programs took place from 2013 to 2019, while the ectoparasite collection procedure covered the campaigns from 2013 to 2018. Ten small mammal species were captured in live-capture traps, placed in a plastic bag, and sorted at the location site. Ectoparasites were removed by brushing and stored in absolute ethanol. We separated the samples into taxonomic groups using a stereoscopic microscope for further species identification or diaphanization, and for material mounting on semi-permanent slides. The executed protocol sought to minimize any contamination, which could have been ecologically engineered, due to parasite-host association confusion. The methods described in the laboratory for clarifying the specimens were effective, allowing the species identification into different *taxa*.

Key-words: Mites; Ilha Grande; Lice; Fleas; RAPELD.

INTRODUÇÃO

Ectoparasitos são aqueles parasitos que vivem sobre seus hospedeiros e, embora essa definição seja simples, é a mais disseminada (e.g., Monteiro, 2017; Neves *et al.*, 2016;). Os ectoparasitos podem viver, perfurar, escavar ou anexar-se à superfície de seu hospedeiro (Pollack *et al.*, 2017). Além disso, podem ser internos, enterrando-se nos tecidos (completamente ou não) e viver em cavidades do corpo do hospedeiro (Pollack *et al.*, 2017). O hospedeiro fornece uma série de recursos essenciais para a sobrevivência desses parasitos, como

o alimento, que pode ser sangue, linfa, lágrimas, suor, restos de pele e pelo (Díaz, 2015; Pollack *et al.*, 2017). Além disso, o hospedeiro fornece o ambiente no qual o parasito vive, permitindo o transporte de um lugar ao outro, favorecendo a dispersão a maiores distâncias, e de um hospedeiro a outro (Colebrook & Wall, 2004; Pollack *et al.*, 2017).

Os ectoparasitos podem afetar o hospedeiro de várias formas, causando desconforto, perda de peso e servindo como vetores de patógenos (e.g., Grenfell & Gulland, 1995; Rajput *et al.*, 2006; Wood & Johnson, 2015). Assim, podem aumentar as chances de o



indivíduo ser predado, reduzir a sua competitividade, modificar o padrão de movimento, além de diminuir o tempo e espaço de seu forrageamento (e.g., Fonseca *et al.*, 2009; Scott, 1988). Sabe-se que altas cargas parasitárias podem afetar diretamente a reprodução do hospedeiro, sendo relacionadas a diversos fatores, tais como: dificultar a escolha de parceiros reprodutivos devido à baixa mobilidade/energia; causar redução na produção de leite (no caso de hospedeiros mamíferos); redução da fecundidade e da prole (Beltran-Bech & Richard, 2014; Fitze *et al.*, 2004; Kavaliers *et al.*, 2003; Warburton *et al.*, 2021). Essas características podem influenciar no controle populacional, diminuindo o número absoluto da população ou a sua densidade. Ademais, em decorrência das infestações, podem ocorrer irritações na pele, que subsequentemente podem levar a ulcerações e infecções secundárias (Colebrook & Wall, 2004; Diaz, 2015).

Os resultados dos efeitos negativos sobre o bem-estar dos hospedeiros são bem conhecidos para animais domésticos e de produção, no entanto, o mesmo não ocorre para os hospedeiros silvestres (Colebrook & Wall, 2004; Fonseca *et al.*, 2009; Senbeto, 2022). Ainda assim, a principal importância dos ectoparasitos é seu potencial de ser vetor de patógenos, transmitindo infecções entre diferentes animais, inclusive para humanos (Diaz, 2015; Rajput *et al.*, 2006).

Os pequenos mamíferos terrestres não voadores (ordem Rodentia e Didelphimorphia) são hospedeiros de uma ampla diversidade de ectoparasitos pertencentes às classes Insecta e Arachnida. As pulgas (ordem Siphonaptera) são hematófagas, sendo comum o encontro de espécies do gênero *Polygenis* em hospedeiros silvestres (Linardi & Guimarães, 2000). Os piolhos (ordem Phthiraptera) podem ser hematófagos ou se alimentar de pelos e pele. As espécies mais comuns em roedores e marsupiais no Brasil são do gênero *Ctenophthirus*, *Polyplax* (Anoplura: Polyplacidae), *Pterophthirus*, *Hoplopleura* (Anoplura: Hoplopleuridae) e *Eogyropus* (Amblycera: Gyropidae) (Saraiva *et al.*, 2012; Werneck, 1948;). Larvas de dípteros podem ser encontradas, formando mífase (Forattini & Lenko, 1959; Vieira, 1993), além de exemplares de besouros que são associados à pelagem de alguns pequenos mamíferos, embora sejam animais comensais, que se alimentam dos ectoparasitos (Ashe & Timm, 1987). Ácaros das ordens Sarcoptiformes, Mesostigmata e Trombidiformes, além de carrapatos da ordem Ixodida, são comuns nos pequenos mamíferos (e.g., Bassini-Silva *et al.*, 2019; Mendonça *et al.*, 2020; Sponchiado *et al.*, 2015).

A literatura associada à relação parasitária com animais silvestres em toda região Neotropical ainda é escassa, principalmente quando se trata de parasitos como os ácaros (Bassini-Silva *et al.*, 2019; Mendonça *et al.*, 2020). As dificuldades metodológicas de coleta e preparação, bem como as taxonômicas, podem dificultar o incremento de espécies e pesquisas ecológicas sobre essas interações. Existem diversos métodos

para a coleta e, principalmente, para a preparação dos ectoparasitos (e.g., Flechtmann, 1975; Krantz & Walter, 2009; Whitaker *et al.*, 2009). No entanto, muitos desses protocolos para animais silvestres são voltados para animais que são eutanasiados e processados em laboratório, contando com disponibilidade de equipamentos, recursos humanos e materiais que podem não estar disponíveis para a maioria das pesquisas de campo (e.g., Galbreath *et al.*, 2019; Herbreteau *et al.*, 2011). De fato, é mais fácil e mais acurado conduzir o exame ectoparasitológico em animais mortos e em ambiente laboratorial. No entanto, a logística e os recursos para execução de muitos desses protocolos são onerosos e distantes da realidade da ciência brasileira e de muitos projetos de pesquisas. Ademais, estudos ecológicos de monitoramento a longo prazo prezam pelos hospedeiros vivos, sem a retirada dos espécimes do seu ambiente natural, já que dados populacionais podem ser adquiridos com a recaptura dos indivíduos. Assim, diante das dificuldades financeiras enfrentadas nos diversos campos da ciência e a necessidade de integração de pesquisas e, com a repercussão de questões relacionadas a saúde pública (agora mais evidente, a Saúde Única), diversos laboratórios e pesquisadores que trabalhavam somente com os mamíferos passaram a apresentar um olhar de interesse para os parasitos. Dessa forma, uma abordagem prática e detalhada poderá facilitar a execução do método para aqueles que iniciam as atividades nos diversos laboratórios.

Buscando prover detalhes metodológicos sobre as pesquisas com ectoparasitos de pequenos mamíferos e, visando facilitar os procedimentos para futuras pesquisas, o objetivo deste trabalho foi apresentar o protocolo operacional padrão da manipulação de hospedeiros vivos para coleta de ectoparasitos realizado nos módulos RAPELD na Ilha Grande, estado do Rio de Janeiro e abordar as implicações desses métodos para estudos ecológicos.

MATERIAL E MÉTODOS

O RAPELD é um método que integra pesquisas ecológicas de longa duração (componente PELD), com inventários rápidos para avaliação (componente RAP) (Magnusson *et al.*, 2005). O delineamento é padronizado e permite pesquisas integradas de todos os táxons, sendo grande o suficiente para monitorar os elementos da biodiversidade e processos ecossistêmicos. Por ser modular, permite comparações com amostragens menos intensivas feitas em áreas muito grandes e pode ser compatível com iniciativas já existentes (Magnusson *et al.*, 2005).

Em 2013, iniciou-se a implementação dos módulos RAPELD na Ilha Grande, município de Angra dos Reis, estado do Rio de Janeiro. Dois módulos foram demarcados na Ilha Grande, totalizando 14 parcelas. Um módulo



Tabela 1: Pequenos mamíferos terrestres não voadores avaliados para ectoparasitos e número de hospedeiros infestados (presença) nos módulos RAPELD da Ilha Grande, Rio de Janeiro, entre dezembro de 2013 e junho de 2015. Lae = Laelapidae, Mac = Macronyssidae, Ixo = Ixodidae, Tro = Trombiculidae, Sar = Sarcoptidae, Sip = Siphonaptera, Dip = ovos de Diptera, Pht = Phthiraptera, Amb = Coleoptera: Staphylinidae: Staphylininae: Amblyopinini. *Amblyopinini não é considerado um ectoparasito, mas um artrópode associado aos mamíferos.

Espécie	N	Lae	Mac	Ixo	Tro	Sar	Sip	Dip	Pht	Amb*
<i>Didelphis aurita</i>	41	1	2	20	1	1	3	7	0	1
<i>Marmosops incanus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Euryoryzomys russatus</i>	11	8	0	2	0	0	1	0	0	0
<i>Phyllomys pattoni</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trinomys iheringi</i>	47	16	0	2	3	0	7	0	2	1
<i>Guerlinguetus brasiliensis</i>	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	104	25	2	25	4	1	11	6	2	2

se localiza na parte leste da ilha, no Parque Estadual da Ilha Grande, entre a Vila do Abraão e a Vila Dois Rios, e é caracterizado pela fitofisionomia de Floresta Ombrófila Submontana e Montana (23°08'11"S, 44°10'47"W e 23°10'22"S, 44°10'44"W, Datum WGS84). O outro módulo está situado na porção oeste da ilha, inserido na Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul, em área de Floresta Ombrófila Submontana e Mata de restinga, entre as praias da Longa e do Sul (23°10'36"S e 44°17'53"W e 23°09'49"S e 44°18'30"W, Datum WGS84). As parcelas permanentes foram demarcadas a cada quilômetro em duas linhas paralelas de 5 km cada, em dois módulos. Cada parcela apresenta 250 m de comprimento, acompanhando a curva de nível.

Para a captura dos mamíferos, foram alocadas 12 armadilhas do tipo Sherman e 13 armadilhas do tipo Tomahawk em cada parcela. Cada armadilha foi situada em um ponto, distando entre si em 10 m, em alturas alternadas entre os pontos, chão e sub-bosque (1,5-2 m) (Figura S1A). As armadilhas ficaram abertas geralmente por cinco noites, e foram vistórias todas as manhãs. Ao todo, foram realizadas 19 campanhas, totalizando um esforço amostral de 2350 armadilha-noite. As campanhas de monitoramento de pequenos mamíferos no módulo RAPELD Ilha Grande ocorreram de 2013 a 2019. No entanto, o procedimento para a coleta de ectoparasitos apresentado neste trabalho abrangeu as campanhas entre 2013 e 2018, além de apresentarmos alguns dos ectoparasitos já processados e identificados do período de 2013 a 2015. Todo o procedimento foi realizado por pelo menos dois pesquisadores, no mesmo local de captura dos mamíferos. As capturas e coletas foram realizadas através da licença permanente para coleta de material zoológico do SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade) Nº 12548-1 e licença INEA (Instituto Estadual do Ambiente) 015/2013.

RESULTADOS

No período de 2013 a junho de 2015, analisamos 104 indivíduos de pequenos mamíferos de sete espécies: *Trinomys iheringi*, *Didelphis aurita*, *Euryoryzomys*

russatus, *Marmosops incanus*, *Oligoryzomys nigripes*, *Phyllomys pattoni* e *Guerlinguetus brasiliensis* (Tabela 1). Os pequenos mamíferos capturados nas armadilhas foram levados ao ponto de triagem, na própria parcela (Figura S1A-B). A triagem foi realizada sobre lona plástica sobre o solo, e ali foram organizados todo o material de triagem. Os animais foram retirados das armadilhas direto para sacos de contenção plásticos (Figura S1C), e pesados com uso de dinamômetro analógico (Pesola). O peso do animal mais o saco foi anotado. Os animais foram anestesiados com éter sulfúrico (algodão embebido no líquido) dentro do saco e para minimizar o estresse do animal o saco com o espécime foi acondicionado em pote plástico fechado. Após algum tempo, e quando o espécime estivesse calmo, retiramos o animal do pote e depois do saco. O saco de contenção foi lacrado com fita adesiva, barbante, fitilho ou mesmo dobrado sobre si mesmo, para não haver perda dos ectoparasitos, e pesado na sequência. Subtraímos o peso do saco do peso do animal dentro do saco para obtenção do peso do espécime analisado. O primeiro procedimento realizado foi a marcação: marcamos os animais com brincos próprios (Figura S1D), com auxílio de alicate, e anotamos na caderneta de campo.

Utilizamos uma bacia branca (pote de sorvete) e adicionamos etanol 70% no fundo, o suficiente para cobrir o fundo do pote, de modo que os ectoparasitos que ali caíssem não saíssem do pote. O animal foi escovado utilizando escova de dente, no sentido contrário do crescimento do pelo, sobre o pote e, eventualmente, foi utilizado um pente fino (Figura S1D, E). Escovamos todo o corpo do animal, principalmente cabeça, focinho, garganta, ventre, dorso, pernas, base da cauda, queixo, nuca e orelhas. O lado do corpo do animal que estivesse sendo escovado era voltado para dentro do pote. Não mensuramos o tempo gasto nesse procedimento. Após a escovação, armazenamos a escova dentro do saco de contenção e lacramos.

Continuamos com a busca visual por ectoparasitos nas patas, orelhas (interior), região anal, região dos olhos e narinas, entre os pelos do corpo e interior da boca (parasitismo por carrapatos, principalmente). A coleta foi realizada através de pinça de ponta fina,



cuidadosamente, para não amassar ou destruir caracteres taxonômicos necessários para identificação dos parasitos. Tais parasitos foram colocados na bacia juntamente aos demais. No caso de carrapatos, para garantir a retirada de todo seu aparelho bucal, giramos cuidadosamente para soltar o cimento que o prendia à epiderme. No caso de exemplares de carrapatos ingurgitados (já alimentados, logo, cheios de sangue), armazenamos algumas amostras em potes plásticos com tampas furadas, colocando folhas verdes (vivas) a fim de manter a umidade e a oxigenação. Os potes foram etiquetados na parte externa e no interior acrescentamos papel vegetal com as informações pertinentes. O objetivo deste procedimento foi manter vivos os carrapatos para que fizessem a muda (ecdise) ou (no caso de fêmeas adultas) que pusessem os ovos. No período de estudo, nenhum carrapato foi recuperado por esse procedimento.

Muitos ectoparasitos são ágeis, principalmente pulgas, e podem passar para a luva ou braço do pesquisador, inclusive para a superfície da área de triagem. Durante os procedimentos, caso algum parasito fosse observado saindo do hospedeiro, o colocamos no pote destinado ao hospedeiro que acabara de ser triado. Caso fosse encontrado um ectoparasito sobre o pesquisador e não soubéssemos ao certo a qual hospedeiro ele pertencia, coletávamos e identificávamos com o local, data e observações pertinentes, como o local de onde foi coletado (e.g., mão do pesquisador), e colocamos em um microtubo separado.

Seguimos a triagem dos mamíferos, realizando as medidas biométricas, caracterizando-os com relação à espécie, sexo, idade e condição do animal. Após tais procedimentos, o espécime era liberado (Figura S1F). Após a liberação, retornamos ao saco de contenção limpando-o com água ou etanol 70%, com auxílio de uma pisseta, sobre a bacia, depois lavamos a escova na bacia e a retornamos para o saco de contenção, que foi fechado com elástico ou fita adesiva e identificado com o número do hospedeiro (brinco), data, parcela e espécie e só aberto no laboratório. O líquido da bacia com os parasitos foi coado utilizando filtro de café posicionado em um funil confeccionado com garrafa pet (Figura 1SG). O líquido filtrado foi descartado no local. Lavamos a bacia com água e filtramos o líquido da lavagem, repetindo o processo até que a bacia estivesse limpa. O filtro de café foi colocado em um pote de vidro ou tubo Falcon, sendo acrescentado etanol absoluto até cobrir todo o conteúdo.

Etiquetas foram confeccionadas em papel vegetal, escritas com lápis grafite 2B. Anotamos a espécie e a marcação (brinco) do hospedeiro, o nome da parcela e a data de coleta. Todos os dados foram anotados em caderno de campo, inclusive informações a respeito da localização dos ectoparasitos ou estado aparente de saúde do hospedeiro, e outras informações pertinentes. Esse procedimento foi realizado para cada hospedeiro, mesmo que ele tenha sido recapturado.

No laboratório, os sacos de contenção foram armazenados na geladeira até o momento da triagem. Durante a triagem, os sacos foram novamente lavados com água da torneira utilizando a pisseta. O líquido foi derramado em uma placa de Petri grande e analisado em microscópio estereoscópico (lupa), sendo a escova e o saco plástico vistoriados sob a lupa também. As escovas e sacos foram acondicionados em bacias com solução de hipoclorito de sódio a 2% e em seguida lavados com detergente e esponja. Os eventuais ectoparasitos foram contabilizados e separados em microtubos de 1,5-2 ml com etanol absoluto por *taxa* ou morfotipos e etiquetados. Analisamos 157 amostras de sacos de contenção e escovas, de amostra de dezembro de 2015 a dezembro de 2016, e em apenas 39 delas encontramos parasitos (de um a cinco espécimes), ou seja, cerca de 25% de recuperação do material analisado.

Os tubos trazidos do campo tiveram o líquido e o filtro retirados e colocados sobre a placa de Petri com auxílio de pinças, sendo analisados utilizando microscópio estereoscópico. Os tubos foram lavados com etanol 70% e depois inspecionados sobre o microscópio estereoscópico a fim de verificar que todos os exemplares de ectoparasitos fossem removidos. Todos os dados foram anotados em caderno, a lápis, com a data e o nome dos responsáveis pela triagem. Para cada amostra foi utilizada uma placa de Petri higienizada, por conta do risco de contaminação entre amostras. A higienização foi realizada com esponja e detergente em água corrente. As pinças e estiletes foram lavados com etanol 70% entre uma amostra e outra visando evitar a contaminação de parasitos entre as amostras. Para finalização da triagem de cada amostra, antes da higienização, as pinças e estiletes utilizadas eram verificadas sob microscópio estereoscópico, assim como toda a placa de Petri, para a confirmação de que nenhum exemplar ficasse preso nos instrumentos. Os microtubos contendo os ectoparasitos foram acondicionados em potes de plástico ou vidro grandes cheios com etanol 70% (Figura 1SH). Esses potes eram subdivididos com relação às ordens ou famílias dos ectoparasitos.

Após a triagem nesses grandes grupos, os materiais foram processados para a diafanização ou diretamente para a determinação das espécies. Nem todos os ectoparasitos necessitam de diafanização, no geral, ninfas e adultos de carrapatos não necessitam ser montados em lâminas. Os espécimes de carrapatos foram avaliados sob microscópio estereoscópico para determinação do estágio, seguir para a determinação da espécie ou diafanização. No caso de larvas, o procedimento seguiu como para os demais ácaros, para diafanização e posterior montagem em lâminas semipermanentes em meio de Hoyer (Figura 1SI-J).

A diafanização (ou clarificação) é um processo que visa à destruição do conteúdo interno dos ectoparasitos, já que os caracteres do espécime necessários para determinação taxonômica estão presentes no exoesqueleto, como as cerdas e placas. Realizamos todo o processo de

**Tabela 2:** Lista de referencial teórico para determinação de espécies de ectoparasitos de pequenos mamíferos terrestres não-voadores.

Taxa	Referências
Siphonaptera	Linardi & Guimarães, 2000
Phtiraptera	Ferris, 1921; Werneck, 1948; Guimarães, 1948; Johnson, 1972; Emerson & Price, 1975
Acari: Parasitiformes	Fonseca, 1935a, b; 1939a, b; 1957; 1958; Radovsky, 1967, 2010; Krantz & Walter, 2009; Furman, 1971, 1972; Bastos, 2008; Nieri-Bastos <i>et al.</i> , 2011
Acari: Parasitiformes Ixodida	Clifford <i>et al.</i> , 1961; Kohls & Clifford, 1964; Kohls <i>et al.</i> , 1965; Vargas, 2006; Barros-Battesti <i>et al.</i> , 2006; 2013; Dantas-Torres <i>et al.</i> , 2019
Acari: Acariformes	Brennan & Reed, 1972; Al-Rabiai <i>et al.</i> , 1983; Krantz & Walter, 2009; Bochkov, 2010; Jacinavicius, 2015; Jacinavicius <i>et al.</i> , 2018; Bochkov & Valim, 2016

clareamento com ácido láctico, utilizando-o em lâminas escavadas para ectoparasitos pequenos (pioelhos e alguns ácaros) ou no microtubo. Adicionamos o ácido láctico com pipeta de Pasteur e colocamos os parasitos com auxílio de pinça de ponta fina ou estilete. Colocamos a lâmina diretamente sobre a placa aquecedora (Figura 1SI) ou em uma placa de Petri com tampa, em temperatura de 40-60°C, ou estufa. A temperatura acelera o processo de clareamento. A placa de Petri não deve ser aberta enquanto o ácido láctico estiver quente, o vapor de ácido pode causar danos às mucosas se aspirado. Como esse processo não tem tempo determinado e depende da quitinização do parasito, verificamos de tempos em tempos, e para confirmação observamos sob microscópio estereoscópico e, caso ainda houvesse dúvida, observávamos em microscópio óptico. O processo na placa aquecedora é mais rápido (de minutos a horas) do que na estufa (geralmente, de um a vários dias), e precisa ser acompanhado, com vistorias com menor intervalo, além de ser necessário verificar se o ácido não evaporou. Uma vez confirmado o clareamento do exemplar, retiramos do ácido láctico com cuidado, transferido para outra lâmina escavada com etanol 70%. Para montagem, usamos uma lâmina limpa e seca onde coletamos uma gota de Hoyer, com auxílio de um tubo capilar e, colocamos no centro da lâmina, sem deixar bolhas. Manuseamos o espécime com pinça de ponta fina ou estilete e o posicionamos no meio e no fundo da gota de Hoyer, com o espécime em decúbito dorsal. Mais de um espécime da mesma amostra foi montado numa mesma lâmina. Observamos novamente no microscópio óptico ou estereoscópico, se o exemplar estava devidamente posicionado e se era possível observar todas as estruturas diagnósticas do grupo, posicionando as patas abertas, de forma que não ficassem sob o corpo do exemplar. A lamínula foi posicionada no canto da gota de Hoyer em uma posição de 45° com a lâmina, onde a soltamos. Demos preferência ao uso de lamínulas redondas ou menores, pois evita formação de bolhas. Caso houvesse excesso de Hoyer no bordo da lâmina, limpávamos com gaze umedecida em água da torneira. Caso a montagem não estivesse boa, com muitas bolhas, ou o espécime estivesse fixado na borda da lamínula, remontávamos a lâmina. Etiketamos provisoriamente as lâminas e levamos à estufa (50-60°C), onde deixamos por um tempo mínimo de uma semana, realizando a verificação periodicamente. Caso necessário,

completávamos com Hoyer, posicionando o líquido com pipeta ou capilar no canto da lamínula.

Após uma semana e a verificação de que a lâmina estava totalmente seca e adequada, selamos com esmalte (preferencialmente incolor). Colocamos várias camadas grossas para impedir a entrada de água, já que o meio de Hoyer é hidrofílico. Caso houvesse a necessidade de desmontar a lâmina já selada com esmalte, deixamos a lâmina em placa de Petri submersa em água (preferência destilada) até soltar a lamínula e fazer a remontagem como de início.

Os cuidados de biossegurança devem ser seguidos, principalmente durante o aquecimento do ácido láctico: trabalhar em capela ou local ventilado, utilizando máscaras, óculos e luvas de proteção. A identificação dos ectoparasitos é baseada em diversas literaturas. No geral, não há chaves recentes da maioria dos grupos taxonômicos para o Brasil. A análise das descrições e redescrições é essencial para a maioria dos grupos. A comparação com outros materiais auxilia na correta identificação. Sumarizamos as referências utilizadas para identificação e apoio dos principais ectoparasitos de roedores e marsupiais na Tabela 2.

Após a determinação dos *taxa*, as lâminas receberam duas etiquetas. A primeira com o número da coleção parasitológica do Laboratório de Ecologia de Mamíferos e dados de local, data de coleta e hospedeiro (sexo e espécie) e dados dos coletores. A segunda com os dados de determinação das espécies de ectoparasitos, do identificador, data de determinação, número de indivíduos, estágios e sexo. As etiquetas foram impressas em etiqueta PIMACO® modelo A4267, utilizamos o assistente *software* PIMACO®, e planilha em Excel formulada especificamente para a impressão das etiquetas. Os dados foram planilhados no *software* Excel, na mesma planilha dos dados dos hospedeiros. Para os parasitos as colunas consideradas foram: ordem, família, gênero, espécie, sexo estágio, quantidade, observações, data de determinação, identificador.

Dos 104 eventos de captura dos pequenos mamíferos (período de 2013 a junho de 2015), 74 indivíduos de cinco espécies apresentaram algum tipo de parasitos (72,11%) (Tabela 1; Figura S2). Nenhum animal foi à óbito devido à manipulação. Alguns espécimes de ácaros Mesostigmata foram tombados na coleção Acarológica do Instituto Butantan, São Paulo, SP (Tabela 3; Figura S2).



Tabela 3: Espécies de ectoparasitos de pequenos mamíferos não voadores da Ilha Grande, Angra dos Reis, RJ, tombados na Coleção Acarológica do Instituto Butantan (IBSP). F = fêmea, M = macho, P = protoninfa.

Taxa	Sexo	Hospedeiro	Quantidade	Número IBSP
Laelapidae				
<i>Androlaelaps fahrenheiti</i>	F	<i>Trinomys iheringi</i>	4	12667
	F	<i>Euryoryzomys russatus</i>	1	12678
<i>Gigantolaelaps oudemansii</i>	F	<i>Oligoryzomys nigripes</i>	2	12663
	F	<i>Euryoryzomys russatus</i>	3	12677
<i>Tur turki</i>	F, M, P	<i>Trinomys iheringi</i>	6	12666, 12668, 12670, 12679
<i>Tur megistoproctus</i>	F, M, P	<i>Trinomys iheringi</i>	11	12664, 12665, 12669, 12673, 12674, 12675, 12676
Macronyssidae				
<i>Ornithonyssus wernecki</i>	F, M, P	<i>Didelphis aurita</i>	16	12671, 12672, 12680

DISCUSSÃO

O protocolo de coleta de dados em campo foi elaborado considerando as experiências prévias já realizadas no laboratório (ver Bittencourt, 2013; Martins-Hatano *et al.*, 2001, 2002, 2011). Adaptações foram realizadas para encaixar nas necessidades especiais que a logística do campo permitia, levando em consideração tempo, acessibilidade, volume e peso dos materiais, como o uso de filtragem dos parasitos ao invés de coleta com pipeta Pasteur, uso de ácido láctico ao invés de lactofenol ou utilizar uma escova por espécime. O campo de pequenos mamíferos no módulo RAPELD da Ilha Grande exigiu uma equipe ampla, contando com cerca de 10 pessoas para efetuar o monitoramento de até cinco parcelas em um prazo de cinco dias. Essas parcelas estavam inseridas em trilhas de até 6 km em aclave, com duração média entre três e quatro horas de percurso. Dessa forma, a logística dificultou uma triagem mais demorada e equipamentos em demasia. Além disso, uma equipe com muitos integrantes requer um protocolo detalhado e treinamento prévio, já que a equipe dificilmente será composta por parasitologistas.

Os *taxa* de ectoparasitos aqui relatados são espécies já registradas para a Ilha Grande (Guitton *et al.*, 1986; Lourenço *et al.*, 2020; Martins-Hatano *et al.*, 2001, 2002). O relato desses ectoparasitos no presente estudo buscou evidenciar as espécies encontradas pelo método aqui descrito. Geralmente, para uma coleta parasitológica confiável, é necessário que os pequenos mamíferos sejam eutanasiados ou anestesiados, permitindo uma busca completa no corpo do espécime, sem preocupações na manipulação, e a retirada total dos ectoparasitos. No entanto, esse tipo de estudo pode não ser possível em todos os projetos. O presente trabalho, bem como alguns protocolos e trabalhos mais antigos, relatam o armazenamento temporário dos animais em câmeras fechadas com éter, para a melhor retirada dos parasitos (e.g., Bittencourt, 2013; Whitaker *et al.*, 2009). No entanto, atualmente, esse não é um procedimento válido eticamente (CFBio, 2019; CONCEA, 2023). Todavia, é preciso que o pesquisador avalie o custo para o animal, já que uma manipulação demorada pode afetar mais negativamente o espécime do que o processo anestésico.

A manipulação realizada pode gerar estresse e um desgaste de energia do animal que, em alguns casos, poderá levar o indivíduo ao óbito. Alguns autores têm realizado os procedimentos sem anestesia e relatado o encontro de diversas espécies de ectoparasitos (e.g., Reis, 2020; Shilerey *et al.*, 2022). Apesar das dificuldades de manipulação, o uso de anestésicos pode ser suprimido sem grandes perdas para o inventário ectoparasitológico ou da própria caracterização da morfometria do mamífero. No caso dos morcegos, temos utilizado uma variação do método aqui apresentado, posicionando o corpo dos animais dentro de um saco plástico com algodão embebido em éter, deixando a cabeça dos indivíduos para fora (observações pessoais). O uso de algodão embebido em éter ou clorofórmio ainda é utilizado para a eutanásia de artrópodes e pode ser utilizado passando superficialmente na pelagem do mamífero também (e.g., Fontalvo, 2016). Apesar de não ter sido utilizado no presente estudo do RAPELD Ilha Grande, este método pode ser uma possibilidade para pesquisas futuras. É importante ressaltar que o clorofórmio é altamente perigoso devido aos riscos de câncer e toxicidade hepática, e deve ser usado apenas ao ar livre (Sikes & Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists, 2016).

Whitaker *et al.* (2009) discutem sobre os custos relativos aos estudos de ecologia parasitária, como tempo, esforço, abundância e taxonomia para o estudo de ectoparasitos, bem como a inconveniência e perturbação para o hospedeiro e até que ponto os resultados alcançados são ecologicamente relevantes. Como exemplo, Whitaker *et al.* (2009) relatam que a análise sob microscópio de um morcego (que no geral são animais pequenos – até 100g) pode durar 15 min quando apresenta poucos parasitos a 60 min quando apresenta muitos parasitos. Nesse caso, os animais eram inspecionados em microscópio estereoscópico. Manusear um animal por 60 min é um tempo muito longo quando ele não está sob efeitos de fármacos e pode gerar uma carga alta de estresse para o animal, o que pode levar ao óbito do indivíduo manipulado, além do elevado custo operacional para a equipe. Além disso, a utilização de microscópio não é possível em alguns campos, como no caso do RAPELD da Ilha Grande. A escovação é uma técnica de



recuperação dos ectoparasitos de fácil realização e amplamente utilizada (Bittencourt, 2013; Martins-Hatano *et al.*, 2001, 2002, 2011). No caso do RAPELD da Ilha Grande, por ser um estudo de longa duração, onde várias pesquisas puderam ser associadas à essas coletas, a metodologia deveria ser ampla, de baixo custo financeiro, que contemplasse a comunidade parasitária e que pudesse ser realizada ao longo do tempo, bem como não eutanasiar os hospedeiros. A triagem do saco e escova em laboratório buscou aprimorar a eficiência de coleta, mas apresenta alto custo operacional.

As técnicas empregadas em laboratório buscaram minimizar qualquer tipo de contaminação e ser a mais generalistas para diferentes grupos de parasitos, buscando facilitar a prática laboratorial e de aquisição de reagentes e produtos. Muitos meios para a diafanização são conhecidos na literatura (e.g., Flechtmann, 1975; Guimarães, 1976; Palma, 1978), no entanto, optamos por utilizar somente o ácido láctico (Krantz & Walter, 2009) por considerarmos a substância de fácil acesso, não requerer processamento, ser hidrofílico e principalmente por não ser prejudicial à saúde. Compostos como fenol são potencialmente cancerígenos e muitos possuem processamento demorado, onerando ainda mais a manipulação das amostras (Flechtmann, 1975; Huber & Reis, 2011; Krantz & Walter, 2009; Palma, 1978).

Para o armazenamento dos parasitos, optamos pelo uso de etanol absoluto, devido à sua ação de diminuir a degradação de DNA (Galbreath *et al.*, 2019; Whitaker *et al.*, 2009). Galbreath *et al.* (2019) consideram ainda que os parasitos preservados em etanol devem ser armazenados a -20°C . Essa metodologia de armazenamento permite ainda não só análises do genoma dos ectoparasitos, mas também busca por microorganismos comensais dos artrópodes e possíveis patógenos para os hospedeiros (Amaral *et al.*, 2018). No entanto, para uma análise de encontro facilitada recomenda-se o uso de RNAlater®, essa substância tem sido amplamente utilizada para análises moleculares, permitindo inclusive o encontro de vírus nos ectoparasitos (Cerutti *et al.*, 2018; Luz *et al.*, 2017).

Para análises de carga parasitária (número de parasitos sobre um indivíduo hospedeiro) é desejável que todos os ectoparasitos tenham sido retirados, ou que se tenha padronizado um esforço de coleta. Esse esforço pode ser considerado por determinado tempo. No entanto, o uso de intervalo de tempo para animais com diferentes tamanhos pode ser um problema. Nesse caso as análises precisam considerar essa variável, no caso de comparações interespecíficas. Caso não seja possível a retirada total dos ectoparasitos, pode ser determinado e padronizado o tempo de escovação e o tempo de busca visual. As análises ecológicas e de associação podem ser amplamente exploradas e muitos fatores podem ser analisados buscando estimar as relações parasitárias. No entanto, o parasitismo apresenta características peculiares, como populações agregadas, alta número de

ausências e, muitas vezes, as análises são realizadas somente verificando a presença e ausência de espécies nos hospedeiros triados (Furman 1971; Lourenço *et al.*, 2016; 2020; Reis 2020). Essas características requerem análises apropriadas com uso de tratamentos e modelagem adequadas às populações estatísticas (Alexander, 2012; Morrison, 2002; Paterson & Lello, 2003). Análises de redes são interessantes e apresentam foco nas especificidades das relações (Mendonça *et al.*, 2020). Programas específicos para análises parasitológicas podem ser utilizados, como Quantitative Parasitology (Reiczigel *et al.*, 2019).

Um dos pontos mais importantes na amostragem parasitológica é não haver erros de contaminação, ou seja, não associar um parasito a um hospedeiro que não é verdadeiro. Esse dado errôneo, pode ter implicações ecológicas, de especificidade, que contribuirão para as confusões de associações e, conseqüentemente, epidemiológicas. Para tal, tomamos alguns cuidados, como o uso de sacos plásticos. Não recomendamos sacos de pano que apresentem orifícios grandes na malha e permitam a passagem dos parasitos, principalmente as pulgas, que possuem grande mobilidade.

Acreditamos que o protocolo aqui apresentado minimizou a contaminação e sua adoção em futuras pesquisas permitirá estudos ecológicos comparativos e associativos abordando a ecologia dos hospedeiros. O protocolo apresentado pode ser realizado para procedimentos com ou sem anestesia dos mamíferos, dispensando técnico para a anestesia e diminuindo os custos financeiros. O protocolo abordando um método menos invasivo, sem necessidade de eutanásia, poderá alavancar as associações ecológicas e de monitoramento das incidências dos parasitos ao longo do tempo. Os métodos descritos no laboratório para clarificação dos espécimes foram eficazes, permitindo a determinação de espécies de pulgas, ácaros e piolhos. O protocolo apresentado visa ser um protocolo simples, mas se bem executado permitirá a coleta de dados e amostras adequadas para diversas análises como requerido pelos trabalhos realizados no RAPELD e que permitirá o monitoramento das populações de mamíferos e a integração e ampliação de pesquisas na área. Ressaltamos a necessidade de capacitação técnica para a coleta dos parasitos. A experiência do coletor é um importante fator que influenciará nos achados das espécies e na quantidade deles. O investimento nessa capacitação é essencial para qualquer projeto de pesquisa e mais ainda em projetos integrativos como o RAPELD.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao INEA pela permissão para as atividades; ao Centro Educação Ambiental e Desenvolvimento Sustentável (CEADS) pelo apoio; aos integrantes do Laboratório de Ecologia de Mamíferos que participaram



dos campos e trabalho de laboratório: Thais Caruso, Maria Serrano, Beatriz Soares, Jéssica Assis, Chaenny Silva, Carlota Enrici, Guilherme Paiva. ECL agradece ao Programa de Apoio à Docência e Pesquisa da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ). HGB agradece à FAPERJ (E-26/201.267/2014), ao CNPq (307781/2014-3) e o Prociência/UERJ pelas bolsas e auxílios à pesquisa e ao MCTIC e ao CNPq pelo financiamento a Rede PPBioMA (457458/2012-7 e E-26/200.913/2021).

REFERÊNCIAS

- Alexander N. 2012. Analysis of parasite and other skewed counts. *Tropical Medicine & International Health* 17(6): 684-693. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3156.2012.02987.x>.
- Al-Rabiai S, Wagner JE, Enns WR, Farrar PL. 1983. A redescription of *Chirodiscooides caviae* Hirst (Acari: Atopomelidae), with differentiating characteristics of male and female adult and nymphal stages. *Journal of the Kansas Entomological Society* 56: 483-495. Disponível em: <https://www.jstor.org/stable/25084451>. Acessado em: 16 de dezembro de 2023.
- Amaral RB, Lourenço EC, Famadas KM, Garcia AB, Machado RZ, Andre MR. 2018. Molecular detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in bat ectoparasites in Brazil. *PLoS One* 13(6): e0198629. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198629>.
- Ashe JS, Timm RM. 1987. Predation by and activity patterns of 'parasitic' beetles of the genus *Amblyopinus* (Coleoptera: Staphylinidae). *Journal of Zoology* 212(3): 429-437. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1987.tb02914.x>.
- Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. 2006. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. *Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo*.
- Barros-Battesti DM, Ramirez DG, Landulfo GA, Faccini JLH, Dantas-Torres F, Labruna MB, Venzal JM, Onofrio VC. 2013. Immature argasid ticks: Diagnosis and keys for neotropical region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 22(4): 443-456. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612013000400002>.
- Bassini-Silva R, Jacinavicius FC, Pinter A, Fournier GFSR, Lugarini C, Ferreira A, Moreira-Lima L, Hingst-Zaher E et al. 2019. *Eutrombicula tinami* (Oudemans, 1910) (Trombidiformes: Trombiculidae) in Brazil: A neglected ectoparasite of several animals including humans. *Acarologia* 59(4): 412-423. <https://doi.org/10.24349/acarologia/20194343>.
- Bastos FA. 2008. Revisão taxonômica das espécies do gênero *Ornithonyssus* (Acari: Macronyssidae) parasitos de pequenos mamíferos terrestres no Brasil e avaliação da infecção desses ácaros por *Rickettsia* spp. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia experimental e aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. <https://doi.org/10.11606/D.10.2008.tde-11042008-145748>.
- Beltran-Bech S, Richard FJ. 2014. Impact of infection on mate choice. *Animal Behaviour* 90: 159-170. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2014.01.026>.
- Bittencourt EB. 2013. Pequenos mamíferos e seus ectoparasitos: estudo de caso em floresta nativa e eucaliptais na Reserva Biológica União (RJ, Brasil), com considerações sobre a biodiversidade de ectoparasitos escondida nos hospedeiros. Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Bochkov AV, Valim MP. 2016. New species and records of mites of the superfamily Sarcoptoidea (Acariformes: Psoroptida) from mammals in Brazil. *Acta Parasitologica* 61(1): 22-41. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0003>.
- Bochkov AV. 2010. A review of mammal-associated Psoroptida (Acariformes: Astigmata). *Acarina* 18(2): 99-260. Disponível em: https://kmkjournals.com/upload/PDF/Acarina/18/18_2_099_260_Bochkov.pdf. Acessado em: 16 de dezembro de 2023.
- Brennan JM, Reed JT. 1972. Two new Venezuelan chiggers of the genus *Polylopadium* (Acarina: Trombiculidae). *Journal of Medical Entomology* 9(5): 461-463. <https://doi.org/10.1093/jmedent/9.5.461>.
- Cerutti F, Modesto P, Rizzo F, Cravero A, Jurman I, Costa S, Giammarino M, Mandola ML et al. 2018. The microbiota of hematophagous ectoparasites collected from migratory birds. *PLoS One* 13(8): e0202270. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202270>.
- CFBio – Conselho Federal de Biologia. 2019. Legislação do biólogo. Brasília: Ideal, 349 p.
- Clifford CM, Anastos G, Van der Borgh-Elbl A. 1961. The larval ixodid ticks of the eastern United States (Acarina-Ixodidae). *Entomological Society of America* 2(3): 213-237. <https://doi.org/10.4182/BHJB6050.2-1.3>.
- Colebrook E, Wall R. 2004. Ectoparasites of livestock in Europe and the Mediterranean region. *Veterinary Parasitology* 120(4): 251-274. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.01.012>.
- CONCEA – Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal. 2023. Guia brasileiro de produção, manutenção ou utilização de animais em atividades de ensino ou pesquisa científica, 1. ed. Brasília: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação, 1.107p.
- Dantas-Torres F, Martins TF, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM. 2019. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks and Tick-borne Diseases* 10(6): 101252. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.012>.
- Diaz JH. 2015. Introduction to ectoparasitic diseases. Pp. 3243-3245, In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (Eds.), *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases*, v. 2. Elsevier Health Sciences. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4801-3.00293-9>.
- Emerson KC, Price RD. 1975. Mallophaga of Venezuelan mammals. *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series* 20(3): 1-77. Disponível em: <https://scholarsarchive.byu.edu/byuscib/vol20/iss3/1>. Acessado em: 16 de dezembro de 2023.
- Ferris GF. 1921. Contributions toward a monograph of the sucking lice, vol. 1. Stanford University publications, *Biological Series* 2(2): 57-133.
- Fitze OS, Tschirren B, Richner H. 2004. Life history and fitness consequences of ectoparasites. *Journal of Animal Ecology* 73(2): 216-226. <https://doi.org/10.1111/j.0021-8790.2004.00799.x>.
- Flechtman CHW. 1975. Elementos de acarologia. Nobel, São Paulo.
- Fonseca F. 1935a. Notas de Acareologia, XVIII, Gêneros e espécies de acarianos parasitos de ratos (Acari, Laelaptidae) (Nota prévia). *Memórias do Instituto Butantan* 10: 17-23.
- Fonseca F. 1935b. Notas de Acarologia XX. Espécies novas de acarianos do gênero *Laelaps*, parasitas de ratos do Brasil (Acari: Laelaptidae). *Memórias do Instituto Butantan* 10: 33-37.
- Fonseca F. 1939a. Notas de Acarologia. XXV. Os Laelaptidae gigantes, parasitas de roedores sulamericanos, gêneros e espécies novas (Acari). *Memórias do Instituto Butantan* 12: 7-53.
- Fonseca F. 1939b. Novos estudos sobre o gênero *Laelaps* Kock, 1836 (Acari: Laelapidae). *Memórias do Instituto Butantan* 12: 103-123.
- Fonseca F. 1957. Notas de Acarologia. XLIV. Inquérito sobre a fauna acarologia de parasitas no Nordeste do Brasil. *Memórias do Instituto Butantan* 28: 99-186.
- Fonseca F. 1958. Notas de Acarologia XLIV. Inquérito sobre a fauna acarológica de parasitas no nordeste do Brasil. *Memórias do Instituto Butantan* 28: 99-186.
- Fonseca ZA, Ferreira CG, Ahid SMM. 2009. Ectoparasitas de ruminantes na região semiárida do Rio Grande do Norte, Brasil. *Acta Veterinaria Brasileira* 3(4): 141-145. <https://doi.org/10.21708/avb.2009.3.4.1418>.
- Fontalvo MC. 2016. Ocorrência de *Bartonella* spp. em mamíferos domésticos, silvestres e em ectoparasitos no semiárido de Pernambuco. Tese de Mestrado em Ciências Veterinárias, Pós-Graduação em Ciências Veterinárias no Semiárido, Universidade Federal do Vale do São Francisco, Pernambuco, Brasil.
- Forattini OP, Lenko K. 1959. Nota biológica sobre *Metacuterebra apicalis* (Guérin, 1829/38) (Diptera. Cuterebridae). *Arquivos da*



- Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo 13(1): 155-158. <https://doi.org/10.11606/issn.2358-792X.v13i1p155-158>.
- Furman DP. 1971. Observations on some Laelapid and Macronyssid mites in the Fonseca collection (Acari: Mesostigmata). *Papéis Avulsos de Zoologia* 25(9): 69-88. <https://doi.org/10.11606/0031-1049.1971.25.p69-88>.
- Furman DP. 1972. Laelapid mites (Laelapidae: Laelapinae) of Venezuela. *Brigham Young University Science Bulletin* 17(1): 1-58. Disponível em: <https://scholarsarchive.byu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1069&context=byuscib>. Acessado em: 16 de dezembro de 2023.
- Galbreath KE, Hoberg EP, Cook JA, Armien B, Bell KC, Campbell ML, Dunnum JL, Dursahinhan AT *et al.* 2019. Building an integrated infrastructure for exploring biodiversity: Field collections and archives of mammals and parasites. *Journal of Mammalogy* 100(2): 382-393. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyz048>.
- Grenfell BT, Gulland FMD. 1995. Introduction: Ecological impact of parasitism on wildlife host populations. *Parasitology* 111(S1): S3-S14. <https://doi.org/10.1017/S0031182000075788>.
- Guimarães JM. 1976. Técnicas de preparação microscópica de artrópodes. Separata do curso de Atualização e extensão Universitária Sociedade Portuguesa de Ciências Naturais, Lisboa. Disponível em: <http://fenix.isa.ulisboa.pt/qubEdu/disciplinas/entapl/2017-2018/2- semestre/lateral/documentos-apoio/preparacoes-microscopicas-de-insectos>. Acessado em: 15 de dezembro de 2023.
- Guimarães LR. 1948. Sobre uma nova espécie de *Pterophthirus* Ewing, 1923 (Anoplura). *Papéis Avulsos de Zoologia* 9: 83-88. <https://doi.org/10.11606/0031-1049.1948.9p83-88>.
- Guitton N, Araújo NA, Sherlock L. 1986. Ectoparasitos de roedores e marsupiais no ambiente silvestre de Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz* 81(2): 233-234. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761986000200014>.
- Herbretreau V, Jittapalpong S, Rerkamnuaychoke W, Chaval Y, Cossou JF, Morand S. 2011. Protocols for field and laboratory rodent studies. Kasetsart University Press, Bangkok, Thailand.
- Huber F, Reis FH. 2011. Técnica alternativa para montagem de insetos em lâminas permanentes para visualização em microscopia óptica. *Entomobrasilis* 4(1): 13-19. Disponível em: <https://www.entomobrasilis.org/index.php/ebbras>. Acessado em: 15 de dezembro de 2023.
- Jacinavicius FC, Bassini-Silva R, Mendoza-Roldan JA, Pepato AR, Ochoa R, Welbourn C, Barros-Battesti DM. 2018. A checklist of chiggers from Brazil, including new records (Acari: Trombidiformes: Trombiculidae and Leeuwenhoeekiidae). *ZooKeys* 743: 1-41. <https://doi.org/10.3897/zookeys.743.22675>.
- Jacinavicius FC. 2015. Ácaros trombiculídeos (Trombidiformes: Trombiculidae) de pequenos mamíferos dos estados de São Paulo e Paraná estudos morfológicos e investigação da presença de *Rickettsia*. Tese de Mestrado em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. <https://doi.org/10.11606/D.10.2015.tde-04082015-142832>.
- Johnson PT. 1972. Sucking lice of Venezuelan rodents with remarks on related species (Anoplura). *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series*, 17(5): 1-61. Disponível em: <https://scholarsarchive.byu.edu/byuscib/vol17/iss5/1>. Acessado em 16 de dezembro de 2023.
- Kavaliers M, Fudge MA, Colwell DD, Choleris E. 2003. Aversive and avoidance responses of female mice to the odors of males infected with an ectoparasite and the effects of prior familiarity. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 54: 423-430. <https://doi.org/10.1007/s00265-003-0631-2>.
- Kohls GM, Clifford CM. 1964. *Ornithodoros (Alectorobius) boliviensis* sp. n. (Acarina: Argasidae) from bats and houses in Bolivia. *The Journal of Parasitology* 50(6): 792-796. <https://doi.org/10.2307/3276204>.
- Kohls GM, Sonenshine DE, Clifford CM. 1965. The systematics of the subfamily Ornithodorinae (Acarina: Argasidae). II. Identification of the larvae of the Western Hemisphere and descriptions of three new species. *Annals of the Entomological Society of America* 58(3): 331-364. <https://doi.org/10.1093/aesa/58.3.331>.
- Krantz GW, Walter DE. 2009. *A Manual of Acarology*. 3rd ed. Texas Tech University Press, Lubbock.
- Linardi PM, Guimarães LR. 2000. Sifonápteros do Brasil. Museu de Zoologia USP/ FAPESP, São Paulo.
- Lourenço EC, Lacerda AC, Bergallo HG. 2020. Lice community structure infesting *Trinomys iheringi* (Thomas, 1911) – Occurrence, sex bias and climatic variables on tropical island. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 13: 299-306. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2020.11.004>.
- Lourenço EC, Patrício PM, Famadas KM. 2016. Community components of spinturnicid mites (Acari: Mesostigmata) parasitizing bats (Chiroptera) in the Tinguá Biological Reserve of Atlantic Forest of Brazil. *International Journal of Acarology* 42(2): 63-69. <https://doi.org/10.1080/01647954.2015.1117525>.
- Luz HR, Faccini JLH, McIntosh D. 2017. Molecular analyses reveal an abundant diversity of ticks and rickettsial agents associated with wild birds in two regions of primary Brazilian Atlantic Rainforest. *Ticks and Tick-borne Disease* 8(4): 657-665. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.04.012>.
- Magnusson WE, Lima AP, Luizão R, Luizão F, Costa FRC, Castilho CV, Kinupp VF. 2005. RAPELD: A modification of the Gentry method for biodiversity surveys in long-term ecological research sites. *Biota Neotropica* 5(2): 1-6. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032005000300002>.
- Martins-Hatano F, Gettinger D, Bergallo HG. 2001. *Androlaelaps marmosops* (Acari: Laelapidae), a new species associated with the mouse opossum, *Marmosops incanus* (Lund, 1840) in the Atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 61: 685-688. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842001000400019>.
- Martins-Hatano F, Gettinger D, Bergallo HG. 2002. Ecology and host specificity of laelapine mites (Acari: Laelapidae) of small mammals in an Atlantic Forest area of Brazil. *Journal of Parasitology* 88(1): 36-40. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2002\)088\[0036:EAHSOL\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0036:EAHSOL]2.0.CO;2).
- Martins-Hatano F, Raices DS, Gazeta GS, Serra-Freire NM, Gettinger D, Bergallo HG. 2011. Community composition of laelapine mites (Acari: Laelapidae) associated with the nests and fur of *Cerradomys subflavus* (Wagner, 1842). *Journal of Natural History* 45(27-28): 1679-1688. <https://doi.org/10.1080/00222933.2011.559690>.
- Mendonça RF, Colle AC, Freitas LC, Martins TF, Horta MC, Oliveira GM, Rossi RV. 2020. Ectoparasites of small mammals in a fragmented area of the Southern Amazonia: Interaction networks and correlations with seasonality and host sex. *Experimental and Applied Acarology* 81: 117-134. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00491-5>.
- Monteiro SG. 2017. *Parasitologia na Medicina Veterinária*. 2 ed. Editora Roca, Rio de Janeiro.
- Morrison DA. 2002. How to improve statistical analysis in parasitology research publications. *International Journal for Parasitology* 32(8): 1065-1070. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(02\)00064-4](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(02)00064-4).
- Neves DP, Melo AI, Linardi PM, Vitor RWA. 2016. *Parasitologia Humana*. 13 ed. Livraria Atheneu, Rio de Janeiro.
- Nieri-Bastos FA, Labruna MB, Marcili A, Durden LA, Mendoza-Uribe L, Barros-Battesti DM. 2011. Morphological and molecular analysis of *Ornithonyssus* spp. (Acari: Macronyssidae) from small terrestrial mammals in Brazil. *Experimental and Applied Acarology* 55: 305-327. <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9475-z>.
- Palma RL. 1978. Slide-mounting of lice: A detailed description of the Canada balsam technique. *New Zealand Entomologist* 6(4): 432-436. <https://doi.org/10.1080/00779962.1978.9722313>.
- Paterson S, Lello J. 2003. Mixed models: Getting the best use of parasitological data. *Trends in Parasitology* 19(8): 370-375. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(03\)00149-1](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(03)00149-1).
- Pollack RJ, Engelman D, Steer AC, Norton SA. 2017. Ectoparasites. *International Encyclopedia of Public Health* 2: 417-428. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803678-5.00123-5>.
- Radovsky FJ. 1967. The Macronyssidae and Laelapidae (Acarina: Mesostigmata) parasitic on bats. University California Publications Entomology 46: 153-159.
- Radovsky FJ. 2010. Revision of genera of the parasitic mite family Macronyssidae (Mesostigmata: Dermanyssoidea) of the world. Indira Publishing House, Michigan.



- Rajput ZI, Hu SH, Chen WJ, Arijó AG, Xiao CW. 2006. Importance of ticks and their chemical and immunological control in livestock. *Journal of Zhejiang University Science B* 7(11): 912-921. <https://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0912>.
- Reiczigel J, Marozzi M, Fábíán I, Rózsa L. 2019. Biostatistics for parasitologists – a primer to quantitative parasitology. *Trends in Parasitology* 35(4): 277-281. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.01.003>.
- Reis SF. 2020. Ectoparasitas de pequenos mamíferos e suas especificidades: uma rede de interações em um fragmento de Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado em Ciência, Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. Brasil.
- Saraiva DG, Fournier GFSR, Oliveira SP, Ogrzewalska M, Câmara EMVC, Costa CG, Botelho JR. 2012. Ectoparasites from small mammals from the Cerrado region in the Minas Gerais state, Brazil. *UNED Research Journal* 4: 21-29. <https://doi.org/10.22458/urj.v4i1.129>.
- Scott ME. 1988. The impact of infection and disease on animal populations: Implications for conservation biology. *Conservation Biology* 2(1): 40-56. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1988.tb00334.x>.
- Senbeto YA. 2022. Review on importance, diagnosis and control methods of ectoparasites. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences* 9(9): 81-92. <https://doi.org/10.22192/ijarbs.2022.09.09.009>.
- Shilereyo M, Magige F, Ranke PS, Ogotu JO, Røskft E. 2022. Ectoparasite load of small mammals in the Serengeti Ecosystem: Effects of land use, season, host species, age, sex and breeding status. *Parasitology Research* 121(3): 823-838. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07439-1>.
- Sikes RS, Animal Care and Use Committee of the American Society of Mammalogists. 2016. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research and education. *Journal of Mammalogy* 97(3): 663-688. <https://doi.org/10.1093/jmammal/gyw078>.
- Sponchiado J, Melo GL, Landulfo GA, Jacinavicius FC, Barros-Battesti DM, Cáceres NC. 2015. Interaction of ectoparasites (Mesostigmata, Phthiraptera and Siphonaptera) with small mammals in Cerrado fragments, western Brazil. *Experimental and Applied Acarology* 66: 369-381. <https://doi.org/10.1007/s10493-015-9917-0>.
- Vargas M. 2006. Clave para los géneros más comunes de larvas de Ixodida. (Acari: Ixodidae). *Agronomía Costarricense* 30(1): 101-105. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/436/43630109.pdf>. Acessado em: 16 de dezembro de 2023.
- Vieira EM. 1993. Occurrence and prevalence of bot flies, *Metacuterebra apicalis* (Diptera: Cuterebridae) in rodents of Cerrado from Central Brazil. *Journal of Parasitology* 79: 792-792. <https://doi.org/10.2307/3283626>.
- Warburton EM, Khokhlova IS, Palme R, Surkova EN, Krasnov BR. 2021. Effects of ectoparasite infestation during pregnancy on physiological stress and reproductive output in a rodent-flea system. *Internationale Journal for Parasitology* 51(8): 659-666. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.12.005>.
- Werneck FL. 1948. Os malófagos de mamíferos: Parte 1 – Amblycera e Ischnocera. *Revista Brasileira de Biologia*: 1-243.
- Whitaker JJO, Ritzi CM, Dick CW. 2009. Collecting and preserving bat ectoparasites for ecological study. Pp. 806-827, *In*: Kunz TH, Parsons S (Eds.), *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Wood CL, Johnson PT. 2015. A world without parasites: exploring the hidden ecology of infection. *Frontiers in Ecology and the Environment* 13(8): 425-434. <https://doi.org/10.1890/140368>.

Submitted on: June/27/2023
Accepted on: December/05/2023

MATERIAL SUPLEMENTAR ONLINE

Informações suplementares encontram-se em <https://bjm.emnuvens.com.br/bjm>.

Figura S1: Procedimento de captura e coleta de ectoparasitos de mamíferos no RAPELP.

Figura S2: Ectoparasitos de pequenos mamíferos capturados no RAPELP Ilha Grande.