

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES
MESTRADO EM BIOCÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE**

MARCELA FERREIRA MELO

**ECOLOGIA DE CARRAPATOS E SUAS RIQUÉTSIAS EM
DUAS LOCALIDADES DA ZONA DA MATA DE
PERNAMBUCO**

RECIFE

2018

MARCELA FERREIRA MELO

**ECOLOGIA DE CARRAPATOS E SUAS RIQUÉTSIAS EM DUAS LOCALIDADES
DA ZONA DA MATA DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr. Filipe Dantas Torres

Recife

2018

MARCELA FERREIRA MELO

**ECOLOGIA DE CARRAPATOS E SUAS RIQUÉTSIAS EM DUAS LOCALIDADES
DA ZONA DA MATA DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde do Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em: 26/07/2018

BANCA EXAMINADORA

Dr. Filipe Dantas Torres

Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ-PE

Dr. Fábio André Brayner dos Santos

Instituto Aggeu Magalhães, FIOCRUZ-PE

Dra. Maria Aparecida da Gloria Faustino

Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Filipe Dantas Torres, por me receber de volta ao Instituto Aggeu Magalhães (IAM) após oito anos distante do universo científico. Por todos os ensinamentos diretos e indiretos tão importantes para a minha vida profissional e pessoal. Por tantas oportunidades dadas, conselhos e conversas.

À FIOCRUZ Pernambuco por toda a estrutura envolvida na realização de cada uma das etapas desse projeto.

Às meninas do grupo “VBDs One Health” que sempre estiveram presentes no dia a dia, acompanhando tudo de tão perto: Kamila Gaudêncio, por tantas contribuições, correções, acompanhamento e disponibilidade de sempre em todas as etapas do mestrado; Débora Miranda, por toda a ajuda com os dados meteorológicos e sua torcida sempre tão positiva; Luciana Figueredo por tanto carinho desde a minha graduação se estendendo à correção dessa dissertação, Rafaela Luna e Yury Yzabella, por toda a sua presteza e empenho na ajuda com a limpeza das armadilhas (e as benditas caixas de ponteiras!) quando meu tempo se tornava escasso; Joanna Lúcia, que mesmo de longe esteve mandando energias positivas.

Um agradecimento especial a Fernando José por todo o suporte em absolutamente tudo o que precisei, foi quase um pai! Obrigada também pelo empenho nas coletas dos carrapatos, junto a Hamilton e Hélio.

Aos amigos que o mestrado me deu e que me fizeram mais feliz e mais forte nessa caminhada. Aos três que junto a mim formaram um quarteto fantástico: Derciliano, Fernando e Yzabella! A Marjorie Freire, que se tornou uma amiga tão especial e verdadeira. A Fernanda Medeiros por cada conversa e por tanta serenidade. Ao Gabriel Faienstein por essa amizade com tantos desabafos e confiança. A Diego Torres, por cada “conversation” e toda a sua preocupação. A Neide Xavier pela amizade e carinho. Ao inteligentíssimo e sábio Roberto Werkhauser por tamanha generosidade e todas as suas longas e curiosas conversas. Obrigada a todos que fazem o Departamento de Imunologia do IAM.

Às comissões da V e VI SBBS por todo o aprendizado e tantos momentos de descontração. Não tenho dúvidas que fizemos história nas melhores edições do evento até então, mostrando que somos capazes de fazer e compartilhar ciência com qualidade.

A minha pequenina turma BBS 2016.2, Iany França, João Pitta, Marjorie Freire e Yury Yzabella pela torcida nos momentos decisivos!

A Moezio Vasconcellos, que chegou na reta final e me fortaleceu quando eu achava que não daria mais para continuar. Obrigada por toda a força e encorajamento. Foi realmente essencial para eu chegar até o fim. Você me inspira.

Aos peladeiros do basquete e os queridos colegas do Kung Fu, os dias dos nossos treinos eram sempre os mais felizes!

Agradeço ao Dr Lindomar Pena e a Dra Virgínia Lorena pelo ombro amigo, pelo apoio, bom senso e tamanha dedicação ao que fazem, inspirando muitos de nós estudantes. Obrigada também a cada mestre do PPGBBS que compartilhou um pouco do seu conhecimento em sala de aula.

Aos membros da Comissão Executiva do Colegiado (CEC), Dra Sheilla, Dr. Lindomar Pena, Dra Christina Peixoto, Dra Claudia Fontes, Dra Silvia Montenegro, Msc Tiago Pinheiro e a querida Janice Silva, por cada ensinamento através de seus exemplos e suas opiniões a cada decisão a ser tomada. Além das conversas e reflexões entre as extensas pautas de reuniões.

Aos amigos doutores biomédicos, que foram os principais incentivadores e responsáveis pela minha decisão em cursar o mestrado: Layse Malagueta, Marina Ferraz e Tiago Ferreira. Obrigada por tudo! Às amigas que a faculdade me deu e que estão sempre tão presentes: Givânia Leite e Lucia Helena Amorim, e nossa nova princesa Bia.

Aos meus pais, Vanilda e Sílvio, pela geração da minha vida, pela criação cercada de amor, por todo o investimento em minha educação, pelo respeito e apoio às minhas escolhas em cada momento da minha vida. Aos meus irmãos, Silvinha, Rodrigo e Isabela, pelo enorme amor que nos une. Ao mais novo amor da minha vida, minha sobrinha Maria Eduarda, por ter chegado ao mundo e nos inundado de felicidade (e revirado a minha vida em meio à disciplina SEP2!). Ao meu Tio Val, Tia Vilani e Tia Fatinha por todo o incentivo desde a época da graduação. A minha amiga-irmã Nilse Sarmiento por compreender as ausências e torcer por cada conquista, além da minha gratidão pelo grande presente que recebi na vida: minha amada afilhada Rafaela Sarmiento.

Agradeço ao universo por ter me direcionado a viver essa experiência do mestrado e, através dela, o entendimento que a vida pode ser muito mais fluida, leve e feliz, principalmente quando estamos alinhados com a nossa essência e desprendidos da opinião alheia e da vaidade do ego. Foi uma experiência necessária e surpreendente!

“Feliz aquele que superou seu ego.”

(Sidarta Gautama)

MELO, Marcela Ferreira. **Ecologia de carrapatos e suas riquetsias em duas localidades da zona da mata de Pernambuco**. 2018. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2018.

RESUMO

Os carrapatos do gênero *Amblyomma* são vetores de várias espécies de riquetsias e a compreensão da sua sazonalidade é importante para prever o risco de transmissão desses patógenos. O objetivo do presente estudo foi de investigar a ecologia de carrapatos e riquetsias em dois tipos de ambiente na zona da mata atlântica de Pernambuco, nordeste do Brasil. Os carrapatos foram coletados mensalmente, de janeiro de 2015 a dezembro de 2016, através de armadilhas com gelo seco. O primeiro local de coleta foi uma área rural no município de Amaraji, e o segundo um remanescente de Mata Atlântica no município de Paudalho. Os carrapatos foram identificados morfológicamente e posteriormente submetidos à extração de DNA e PCR para detecção de *Rickettsia* spp. No total, 17.196 carrapatos foram coletados. Na área rural, foram coletados 74 machos, 94 fêmeas e 468 ninfas de *Amblyomma sculptum* e 864 larvas de *Amblyomma* spp. Na área de mata, foram coletados 116 machos, 69 fêmeas e 1.063 ninfas de *Amblyomma dubitatum* e 14.448 larvas de *Amblyomma* spp. *A. sculptum* mostrou uma tendência bimodal, com um pico maior no segundo semestre, ao passo que *A. dubitatum* apresentou um padrão mais definido, unimodal, com um pico acentuado no primeiro semestre. Dos 161 *A. sculptum* e 173 *A. dubitatum* adultos testados, 49 (30,4%) e 44 (25,4%) apresentaram positividade para o gene *gltA*, respectivamente. Quanto às ninfas, a taxa mínima de infecção foi de 2,1% (468 ninfas testadas, 11 *pools* positivos) e 5,91% (1.032 ninfas testadas, 61 *pools* positivos) para *A. sculptum* e *A. dubitatum*, respectivamente. Todas as amostras positivas para o gene *gltA* foram testadas para o gene *OmpA*, mas nenhuma delas apresentou resultado positivo. Esse estudo confirma a presença durante todo o ano de *A. sculptum* na zona da mata de Pernambuco. Embora não tenham sido encontrados carrapatos positivos para o gene *OmpA*, novos estudos serão necessários para investigar a circulação de *Rickettsia rickettsii* em diferentes populações de *A. sculptum* em Pernambuco.

Palavras-chave: Febre maculosa. *Rickettsia rickettsii*. Carrapatos. *Amblyomma sculptum*. *Amblyomma dubitatum*.

MELO, Marcela Ferreira. **Ecology of ticks and their rickettsia in two localities of the Pernambuco forest area.** 2018. Dissertation (Master Academic Degree in Biosciences and Biotechnology) – Aggeu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Recife, 2018.

ABSTRACT

Amblyomma ticks are vectors of several species of rickettsiae and understanding their seasonality is important in predicting the risk of pathogen transmission. The objective of this study was to investigate the ecology of ticks and rickettsiae in two types of environment of in the Atlantic forest region of Pernambuco, northeastern Brazil. The ticks were collected monthly, from January 2015 to December 2016, using dry-ice traps. The first collection site was a rural area in the municipality of Amaraji, and the second a remnant of Atlantic Forest in the municipality of Paudalho. Ticks were identified morphologically and posteriorly subject to DNA extraction and PCR testing for *Rickettsia* spp. In total, 17,196 ticks were collected. In the rural area, 74 males, 94 females and 468 nymphs of *Amblyomma sculptum* and 864 larvae of *Amblyomma* spp. were collected. In the forest area, 116 males, 69 females and 1,063 females of *Amblyomma dubitatum* and 14,448 *Amblyomma* spp. were collected. *A. sculptum* showed a bimodal trend, with a higher peak in the second semester, whereas *A. dubitatum* presented a more defined, unimodal pattern, with a sharp peak in the first semester. Out of the 161 *A. sculptum* and 173 *A. dubitatum* adults tested, 49 (30.4%) and 44 (25.4%) were positive for the *gltA* gene, respectively. As far as the nymphs, a minimum infection rate of 2.1% (468 nymphs tested, 11 positive pools) and 5.9% (1,032 nymphs tested, 61 positive pools) were calculated for *A. sculptum* and *A. dubitatum*, respectively. All *gltA* gene positive samples were tested for the *OmpA* gene, but none was positive. This study confirms the year-round presence of *A. sculptum* in the Atlantic forest of Pernambuco. Although none of the ticks were positive for the *OmpA* gene, further studies are needed to investigate the presence of *Rickettsia rickettsii* in different populations of *A. sculptum* em Pernambuco.

Key words: Spotted fever, *Rickettsia rickettsii*, ticks, *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma dubitatum*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Escara de inoculação, associada à picada de um carrapato, no tornozelo esquerdo de um paciente infectado com <i>Rickettsia parkeri</i> (cepa Mata Atlântica), no estado de Santa Catarina.....	26
Figura 2 -	Foto aérea da entrada do CIMNC.....	30
Figura 3 -	Vegetação típica das localidades investigadas em Amaraji.....	31
Quadro 1 -	Pontos georreferenciados onde as armadilhas foram instaladas no CIMNC	32
Quadro 2 -	Pontos georreferenciados onde as armadilhas foram instaladas em Amaraji	33
Figura 4 -	Armadilha de gelo seco em um dos pontos de coleta (ponto 9) no CIMNC.....	34
Figura 5 -	Abertura genital de fêmeas adultas.....	35
Quadro 3 -	<i>Primers</i> utilizados para identificação gênero e grupo específico de <i>Rickettsia</i>	36
Figura 6 -	Vista dorsal de um macho de <i>Amblyomma sculptum</i>	40
Figura 7 -	Vista dorsal de uma fêmea de <i>Amblyomma sculptum</i>	40
Figura 8 -	Vista dorsal de um macho de <i>Amblyomma dubitatum</i>	41
Figura 9 -	Vista dorsal de uma fêmea de <i>Amblyomma dubitatum</i>	41
Figura 10 -	População de larvas de <i>Amblyomma</i> spp. em Amaraji e CIMNC.....	42
Figura 11 -	População de ninfas de <i>A. sculptum</i> e <i>A. dubitatum</i>	42
Figura 12 -	População da população de adultos de <i>A. sculptum</i> e <i>A. dubitatum</i>	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de larvas, ninfas e adultos de carrapatos coletados em Amaraji	38
Tabela 2 - Número de larvas, ninfas e adultos de carrapatos coletados no CIMNC	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CIMNC	Centro de Instrução Militar Marechal Newton Cavalcanti
DNA	Deoxyribonucleic acid
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FM	Febre maculosa
GFM	Grupo da febre maculosa
<i>gltA</i>	Citrato sintase
IAM	Instituto Aggeu Magalhães
Kit	Conjunto diagnóstico
n	Número de indivíduos na amostra
<i>ompA</i>	<i>Outer membrane protein A</i>
pb	Pares de base
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
SINAM	Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
2.1 Carrapatos como vetores de <i>Rickettsia</i>.....	15
2.1.1 Taxonomia e biologia do carrapato.....	15
2.1.2 Gênero <i>Amblyomma</i>	17
2.1.2.1 <i>Amblyomma sculptum</i>	18
2.1.2.2 <i>Amblyomma dubitatum</i>	20
2.2 Riquetsias.....	21
2.2.1 Riquetsias do GFM no Brasil.....	22
2.2.1.1 <i>Riquetsiose por Rickettsia rickettsii</i>	23
2.2.1.2 <i>Riquetsiose por Rickettsia parkeri</i>	25
2.2.2 Outras Riquetsias.....	26
2.3 Febre maculosa em Pernambuco.....	27
3 JUSTIFICATIVA.....	28
4 OBJETIVOS.....	29
4.1 Geral.....	29
4.2. Específicos.....	29
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
5.1 Áreas de estudo.....	30
5.2 Dados meteorológicos	32
5.3 Coleta e identificação de carrapatos.....	32
5.4 Extração de DNA de carrapatos.....	35
5.5 Detecção de <i>Rickettsia</i> spp. em carrapatos.....	35
5.6 Análises dos dados.....	36
5.7 Aspectos éticos.....	37
6 RESULTADOS.....	38
7 DISCUSSÃO.....	44
8 CONCLUSÃO.....	49
REFERÊNCIAS.....	50

1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por vetores são um dos principais problemas de saúde pública no Brasil e no mundo. Dentre elas, destacam-se a malária, doença de Chagas, dengue, febre amarela, as leishmanioses e as doenças transmitidas por carrapatos (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012). O controle destas doenças em diferentes áreas geográficas constitui um desafio para os órgãos competentes (HARRUS; BANETH, 2005). O desmatamento, a rápida urbanização e as mudanças climáticas são importantes fatores que contribuem com o aumento da incidência dessas doenças nos tempos atuais. Mudanças ambientais interferem diretamente na presença de vetores, hospedeiros e reservatórios, influenciando assim no ciclo de transmissão dessas doenças (COLWELL; DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2011; DANTAS-TORRES, 2015).

Os carrapatos são vetores de grande importância médica e veterinária, pois são transmissores de uma variedade de microrganismos patogênicos, como bactérias, protozoários e vírus. (PFÄFFLE *et al.*, 2013). Devido ao potencial zoonótico e importância global das doenças transmitidas por carrapatos, a comunidade científica tem dedicado sua atenção a esses ectoparasitos.

A distribuição dos carrapatos está diretamente relacionada à presença de hospedeiros e a características climáticas como temperatura, umidade e precipitação pluviométrica (BARCELLOS, 2009; DANTAS-TORRES, 2015). O conhecimento da fauna de carrapatos de uma determinada região pode nortear os estudos de transmissão de patógenos, permitindo assim uma ação mais adequada na prevenção de doenças transmitidas por esses vetores.

A febre maculosa (FM) é a principal doença transmitida por carrapatos no Brasil. A bactéria *Rickettsia rickettsii* é o principal agente etiológico e as espécies de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma aureolatum*, seus principais vetores (NAVA *et al.*, 2014; SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013). Além do carrapato *Amblyomma dubitatum* que tem sido encontrado infectado pela *Rickettsia parkeri*, que causa uma forma mais branda de FM (WECK *et al.*, 2017). No Brasil, casos de FM já ocorreram em todas as regiões do País, apesar de a maioria ocorrer nas regiões Sudeste e Sul (DE OLIVEIRA *et al.*, 2016; LABRUNA, 2009; NIERI-BASTOS *et al.*, 2014; ROTONDANO *et al.*, 2017).

Novas espécies de carrapatos, assim como novas espécies de riquétsias, têm sido encontradas em diferentes regiões do País. Em 2015, descreveu-se a associação de espécies de carrapatos e riquétsias até então desconhecidas no Brasil (LUGARINI *et al.*, 2015), o que

demonstra a necessidade de novos estudos a respeito desses patógenos e seus vetores, principalmente na região Nordeste, onde o conhecimento sobre eles ainda é incipiente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Carrapatos como vetores de *Rickettsia*

Os carrapatos são artrópodes ectoparasitos hematófagos de grande importância médica e veterinária, uma vez que são vetores de inúmeros microrganismos patogênicos, como espécies de *Rickettsia*, *Borrelia*, *Erlichia*, *Babesia* e *Anaplasma* (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012). Depois dos culicídeos, os carrapatos formam o segundo grupo de vetores mais importantes relacionados à transmissão de agentes etiológicos de doenças para humanos e animais (JONGEJAN; UILENBERG, 2004). De fato, as doenças transmitidas por carrapatos são um problema crescente em todo o mundo, representando uma ameaça para saúde (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012), e por essa razão vem despertando a atenção da comunidade científica.

R. rickettsii, agente etiológico da FM, destaca-se na saúde pública como um dos principais patógenos transmitidos por carrapatos. Nos Estados Unidos, principal foco de FM nas Américas, os vetores primários são carrapatos do gênero *Dermacentor* (*Dermacentor andersoni* e *Dermacentor variabilis*). Porém, outras espécies de carrapatos têm sido incriminadas, tais como o carrapato marrom do cão *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, que foi associado a um surto de FM no Arizona (DEMMA *et al.*, 2005). No Brasil, *R. rickettsii* é transmitida primariamente através dos carrapatos *A. sculptum* (NAVA *et al.*, 2014) e *A. aureolatum* (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013). Outros estudos detectaram também a presença de *R. rickettsii* em carrapatos *R. sanguineus s.l.* (CUNHA *et al.*, 2009; PIRANDA *et al.*, 2011; SILVA *et al.*, 2017). Porém, o papel desse carrapato na epidemiologia da FM no Brasil ainda é pouco conhecido.

2.1.1 Taxonomia e biologia dos carrapatos

Os carrapatos estão inseridos no filo Arthropoda, classe Arachnida, ordem Ixodida e estão divididos em três famílias viventes: Ixodidae, Argasidae e Nuttalliellidae; sendo esta última, compreendida de apenas uma espécie e encontrada apenas na Tanzânia e África do Sul (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006). Com ampla distribuição mundial, atualmente são conhecidas mais de 900 espécies de carrapatos ao redor do mundo (em fase de

elaboração¹). No Brasil ocorrem cerca de 72 espécies, sendo 47 pertencentes à família Ixodidae e 25 à família Argasidae (GIANIZELLA *et al.*, 2018; MUÑOZ-LEAL, 2017).

O ciclo biológico dos carrapatos é caracterizado pelas fases de ovo, larva, ninfa e adulto. Existem características básicas que distinguem cada estágio: as larvas possuem apenas três pares de patas, enquanto as ninfas e adultos apresentam quatro pares. As ninfas se diferenciam dos adultos pela ausência de abertura genital (ANDREOTTI; KOLLER; GARCIA, 2016).

Os carrapatos são hematófagos em quase todos os estágios ativos (adultos de algumas espécies possuem aparelho bucal rudimentar e não se alimentam de sangue). Conseqüentemente, quando infectados, os carrapatos podem potencialmente transmitir patógenos em qualquer estágio de desenvolvimento. Durante o repasto sanguíneo, o carrapato se mantém fixado na pele do hospedeiro, sendo que a alimentação pode durar mais de 10 dias, a depender do estágio e da espécie. Após a alimentação e a copulação, as fêmeas se desprendem do hospedeiro, caem no meio ambiente e depositam centenas a milhares de ovos. O período de ovipostura pode durar vários dias e, no caso dos ixodídeos, é sucedida pela morte da fêmea. Para a eclosão das larvas, os ovos precisam de condições climáticas favoráveis, principalmente temperatura e umidade relativa (ARTHUR, 1962; JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

Em relação ao ciclo biológico, os carrapatos da família Ixodidae podem ser classificados como espécies de um, dois ou três hospedeiros. Nas espécies de um hospedeiro, as larvas encontram o seu hospedeiro e realizam todas as mudas sucessivas sobre o mesmo. Nos carrapatos de dois hospedeiros, a muda de larva para ninfa ocorre geralmente sobre o hospedeiro, enquanto que a muda de ninfa para adulto ocorre no ambiente. Já nos carrapatos de três hospedeiros, todas as mudas (*i.e.*, de larva para ninfa e de ninfa para adulto) ocorrem no ambiente. A transmissão de patógenos se torna potencialmente maior em espécies de carrapatos de três hospedeiros (RIBEIRO; VELENZUELA, 2011).

Para completar o repasto sanguíneo, os carrapatos precisam utilizar uma série de mecanismos que garantam essa alimentação e até mesmo a sua sobrevivência. Para isso, a saliva dos carrapatos dispõe de um arsenal de moléculas bioativas que atuam de forma citolítica, vasodilatadora, anticoagulante, anti-inflamatória e imunossupressora. São essas características salivares que favorecem e facilitam a inoculação de patógenos nos hospedeiros (SAUER *et al.*, 1995; ŠIMO *et al.*, 2017). Os carrapatos se infectam quando realizam o

¹ Informação contida em capítulo de livro escrito por Filipe Dantas Torres, em fase de publicação.

repasto sanguíneo sobre hospedeiros infectados, e da mesma forma infectam novos hospedeiros. A manutenção de um determinado patógeno na população de carrapatos, através das gerações, pode ocorrer por meio da passagem transovariana (da mãe para os descendentes) e transestadial (de estágio de desenvolvimento para o outro).

No Brasil, toda a região litorânea era amplamente coberta pela Mata Atlântica, bioma esse que vem sendo destruído ao longo dos últimos séculos, desde a chegada dos colonizadores europeus (RIBEIRO *et al.*, 2009). De fato, a Mata Atlântica foi reduzida a pequenos fragmentos que hoje, em sua maioria, encontram-se circundados por áreas rurais e urbanas. Isso, eventualmente, pode favorecer o contato de seres humanos e animais domésticos com agentes patogênicos associados à vida selvagem (BRADLEY; ALTIZER, 2006). Pequenos mamíferos já foram implicados nos ciclos de transmissão de patógenos transmitidos por carrapatos em todo o mundo (BOWN *et al.*, 2008; ZHAN *et al.*, 2009). Em estudo realizado em um fragmento de Mata Atlântica no estado de Pernambuco, marsupiais e pequenos roedores foram identificados como potenciais hospedeiros de *Rickettsia* spp., uma vez que esse tipo de fragmento propicia um ambiente ideal tanto para os carrapatos como para esses pequenos mamíferos (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012). O estudo afirma ainda que os fragmentos florestais estabelecidos nas áreas rurais geralmente estão associados a altas taxas de densidade de carrapatos, bem como uma maior diversidade de pequenos mamíferos (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012).

De acordo com Labruna (2009), a relação dos carrapatos com o ambiente é um dos aspectos mais importantes da biologia desses artrópodes, sendo sua distribuição diretamente relacionada com a especificidade ecológica da espécie. Embora algumas espécies de carrapatos expressem, especialmente na fase adulta, grande especificidade por hospedeiros, a especificidade ecológica parece ser mais determinante na distribuição geográfica destes parasitos (ESTRADA-PEÑA; DE LA FUENTE, 2014). Essa comprovação é vital no esclarecimento da epidemiologia das doenças, uma vez que explica claramente a associação entre as doenças transmitidas por carrapatos e seus contextos ecológicos específicos (LABRUNA, 2009).

2.1.2 Gênero *Amblyomma*

Os carrapatos do gênero *Amblyomma* ocorrem em várias regiões do mundo, predominando nas regiões neotropical, afrotropical e australásia (GUGLIELMONE *et al.*,

2014). O gênero inclui espécies importantes sob o ponto de vista médico e veterinário, inclusive os principais vetores do agente da FM no Brasil.

Amblyomma cajennense foi considerada uma única espécie por muitos anos, amplamente distribuído nas Américas e, até então, a única espécie apontada como responsável pela transmissão do agente da FM na região sul e sudeste do Brasil (LABRUNA, 2009). Em 2014, Nava *et al.* (2014) reavaliaram a classificação taxonômica de *A. cajennense*, realizando análises moleculares, biológicas e morfológicas, e através de evidências genéticas mitocondriais e nucleares, demonstraram a existência do complexo *A. cajennense*, formado por seis espécies (levando em consideração também sua área biogeográfica): *A. cajennense sensu stricto* (região amazônica da América do Sul), *Amblyomma interandinum* (Peru), *Amblyomma mixtum* (Estados Unidos e Equador), *Amblyomma patinoi* (Colômbia), *Amblyomma tonelliae* (Argentina, Bolívia e Paraguai) e *Amblyomma sculptum* (Argentina, Bolívia, Paraguai e Brasil, incluindo o estado de Pernambuco).

As espécies de carrapatos incriminadas como principais vetores de riquetsias no Brasil são *A. sculptum*, *A. aureolatum* e *A. ovale* (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013). Outras espécies já foram encontradas infectadas por *Rickettsia* spp., como *A. dubitatum* (ALMEIDA *et al.*, 2011; BRITES-NETO; DUARTE; MARTINS, 2015) e *Rhipicephalus sanguineus s.l.* (MORAES-FILHO *et al.*, 2009; SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013) em áreas endêmicas para FM no País. Contudo, o papel dessas outras espécies na transmissão de *Rickettsia* spp. ao homem ainda carece de mais estudos. Em Pernambuco, várias espécies de *Amblyomma* já foram relatadas na zona da mata, inclusive *A. sculptum* e *A. dubitatum* (DANTAS-TORRES, 2009; DANTAS-TORRES *et al.*, 2010).

2.1.2.1 *Amblyomma sculptum*

A. sculptum é um carrapato de três hospedeiros e, apesar de possuir uma baixa especificidade parasitária, é mais frequentemente encontrado em capivaras, cavalos e antas, além do parasitismo em humanos, principalmente quando ninfas (DANTAS-TORRES, 2007). Infestações por essa espécie de ixodídeo estão diretamente associadas à presença desses hospedeiros no ambiente (LABRUNA, 2009). Em áreas onde populações de *A. sculptum* encontram-se estabelecidas, ao menos um desses três hospedeiros estará presente no ambiente e o parasitismo em outros hospedeiros pode ser relativamente frequente. Além da presença dos hospedeiros primários, os carrapatos necessitam ainda de condições ambientais adequadas às suas fases de vida. Áreas verdes de parques, margens de rios e fragmentos de florestas

constituem um ambiente bastante favorável para o *A. sculptum*, favorecendo também o contato com seres humanos (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013).

A. sculptum apresenta um ciclo de vida de um ano, acompanhado por um período de diapausa, relacionado à permanência de larvas não alimentadas em um estágio de dormência, por muitas semanas, o qual ocorre em sincronia com as estações do ano (LABRUNA *et al.*, 2003). Embora a incubação de ovos possa ocorrer no verão, as larvas geralmente procuram por hospedeiros somente no outono, fenômeno explicado pela diminuição tanto da temperatura como da duração do dia. Assim, as larvas predominam no outono e inverno, as ninfas no inverno e primavera, e os adultos na primavera e no verão (CABRERA; LABRUNA, 2009).

Um estudo sobre a ecologia de *A. sculptum* (relatado na época como '*A. cajennense*') em Minas Gerais indicou que as larvas apresentaram maior pico populacional durante o mês de maio, estando presentes em alta densidade entre os meses de abril a agosto, contrastando com os meses de setembro a março quando apresentaram um número bastante reduzido ou nulo. As ninfas se apresentaram entre os meses de junho a outubro, com pico populacional em julho. Os adultos foram coletados durante todos os meses, com maior pico populacional entre setembro e março (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

A espécie *A. sculptum* se destaca especialmente na saúde pública, uma vez que é incriminada como o principal vetor do agente etiológico da febre maculosa. *R. rickettsii* pode ser transmitida entre carrapatos da espécie através da transmissão transovariana, onde a fêmea infectada transmite o patógeno às próximas gerações, tornando *A. sculptum* simultaneamente vetor e reservatório do patógeno (LEMOS *et al.*, 1997). A transmissão também pode ocorrer de forma transestadial, quando a infecção passa do estágio de larva para ninfa e de ninfa para adulto (PEREIRA; LABRUNA, 1998). Oliveira *et al.* (2004) observaram que os machos não alimentados apresentam uma tendência de parasitar os animais antes das fêmeas. As ninfas, por possuírem tamanho pequeno, podem se manter fixadas na pele de um hospedeiro por um longo período de tempo despercebidas, condição que oferece uma maior possibilidade de transmissão de agentes patogênicos (GUGLIELMONE *et al.*, 2006).

A maioria dos casos de FM ocorre durante o inverno (PINTER *et al.*, 2011). Embora outros fatores possam estar envolvidos, a alta agressividade de ninfas em relação aos seres humanos e sua alta densidade em áreas infestadas podem estar relacionadas à sazonalidade de casos de FM. Corroborando essa hipótese, experimentos em laboratório mostraram a baixa competência vetorial de larvas infectadas, enquanto que as ninfas foram consideradas altamente competentes (SOARES *et al.*, 2012).

A. sculptum possui uma ampla distribuição geográfica. No Brasil é encontrado em área de Mata Atlântica, Cerrado, Pantanal e em raras áreas da Caatinga. A ausência de *A. sculptum* no sul do país sugere que as baixas temperaturas durante o inverno podem ser a causa para o não estabelecimento da espécie nessa região, da mesma forma que o clima semiárido na Caatinga provavelmente também seja o fator limitante (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013).

2.1.2.2 *Amblyomma dubitatum*

O *A. dubitatum* estão amplamente distribuídos no Brasil, Argentina, Paraguai e Uruguai. As capivaras são o principal hospedeiro para todos os estágios parasitários desta espécie de carrapato (NAVA *et al.*, 2010), porém as larvas e ninfas apresentam menor especificidade com relação a hospedeiros e podem parasitar outras espécies, inclusive seres humanos (LABRUNA *et al.*, 2007). Perez *et al.* (2008) infestaram experimentalmente várias espécies de mamíferos e aves com *A. dubitatum* e a capivara foi considerada o melhor hospedeiro para formas imaturas desses artrópodes. Observa-se que o crescimento da população de carrapatos infectados está intimamente relacionado com aumento do número de capivaras em determinadas localidades (PINTO *et al.*, 2006; SOUZA *et al.*, 2004).

Souza *et al.* (2006), ao avaliarem a dinâmica populacional de carrapatos de vida livre em uma área de mata do estado de São Paulo, onde a FM é endêmica, encontraram uma alta densidade de larvas do gênero *Amblyomma* na maioria dos meses de estudo. Os picos ocorridos entre novembro e março foram atribuídos a picos de *A. dubitatum*. As ninfas se apresentaram durante todo o ano, com picos de julho a dezembro, também atribuídos a *A. dubitatum* nos meses de julho e agosto. Os adultos apresentaram uma maior densidade populacional entre agosto e fevereiro.

Estudos no Brasil relataram populações de *A. dubitatum* infectadas por diferentes espécies de *Rickettsia*. Labruna *et al.* (2004) descreveram que em São Paulo, 40% de uma população de *A. dubitatum* estava infectada por *R. bellii*. Pacheco *et al.* (2009) realizaram um estudo em São Paulo e observaram que 62,5% da população de *A. dubitatum* também estavam infectadas por *R. bellii*. Sequências de DNA semelhantes a *Rickettsia tamurae* foram detectadas em *A. dubitatum* em Minas Gerais e Rio de Janeiro (ALMEIDA *et al.*, 2011; SPOLIDORIO *et al.*, 2012). Esses estudos indicam que esse carrapato pode albergar diferentes espécies de *Rickettsia* no Brasil.

Muitas áreas consideradas endêmicas para FM no Brasil possuem uma crescente população de capivaras, e apresentam populações simultâneas de *A. sculptum* e *A. dubitatum* (KRAWCZAK *et al.*, 2014). Sendo *A. sculptum* o principal vetor e a capivara o maior hospedeiro amplificador do agente da FM no Brasil (SOUZA *et al.*, 2009), supõe-se o contato natural de *A. dubitatum* com hospedeiros infectados com *R. rickettsii* nessas áreas. Sakai *et al.* (2014) realizaram infecção experimental de carrapatos *A. dubitatum* para avaliar a competência vetorial da espécie para o agente da FM, assim como verificaram a perpetuação da bactéria por via transovariana e transestadial nesses carrapatos. No entanto, todos os estágios de *A. dubitatum* mostraram ser apenas parcialmente suscetíveis à infecção por *R. rickettsii*, uma vez que, apenas uma parte dos carrapatos foi infectada por esse agente, depois de terem sido alimentados em animais infectados. Embora a transmissão transovariana de *R. rickettsii* tenha sido ineficiente nas fêmeas desses carrapatos, vale ressaltar que todas transmitiram transovariamente *R. bellii* em infecção prévia. É provável que esta tenha sido a causa da ineficácia na transmissão transovariana de *R. rickettsii* por *A. dubitatum* pois uma infecção primária por uma espécie de *Rickettsia* impediria a transmissão transovariana de uma segunda espécie.

Considerando que a capivara é o principal hospedeiro de *A. dubitatum*, sua relevância como vetor natural de *R. rickettsii* para humanos ou animais tem sido discutida (SAKAI *et al.*, 2014).

2.2 Riquétsias

As riquétsias são bactérias pertencente ao filo Proteobacteria, classe Alphaproteobacteria e ordem Rickettsiales, composta por duas famílias: Anaplasmataceae (gêneros *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia* e *Wolbachia*) e *Rickettsiaceae* (gêneros *Orientia* e *Rickettsia*) (DUMLER *et al.*, 2001).

O gênero *Rickettsia* é caracterizado por bactérias intracelulares obrigatórias, gram-negativas, de forma cocobacilar, medindo 0,8 a 2,0 µm de comprimento por 0,3 a 0,5 µm de diâmetro, desprovidas de motilidade. Quando corados pelo método de Gimenez, retém fucsina básica. Possuem citocromo e reações metabólicas aeróbias (YU; WALKER, 2003; EREMEEVA; DASCH, 2000). Replicam-se exclusivamente em células eucarióticas, por divisão binária simples, apresentando crescimento lento e de difícil cultivo. Utilizam nutrientes da célula infectada, e assim não necessitam sintetizar proteínas específicas para seu metabolismo. A composição da parede celular, rica em lipopolissacarídeos, é semelhante a

outras bactérias gram-negativas, mas duas proteínas de superfícies a diferenciam, entre elas a OmpA, proteína específica de riquetsias do grupo da febre maculosa (CHEN; SEXTON, 2008; SAHNI; RYDKINA, 2009; TYERYAR *et al.*, 1973; WALKER, 1989).

Tradicionalmente o gênero *Rickettsia* é dividido em três grupos: grupo da FM (GFM), grupo tifo e grupo ancestral. Mais recentemente, o gênero tem sido dividido em quatro grupos: GFM, grupo tifo, grupo *Rickettsia belli* e grupo *Rickettsia canadensis* (OGRZEWALSKA *et al.*, 2017). *R. rickettsii* pertence ao grupo da FM, o qual inclui pelo menos 23 espécies comprovadamente patogênicas ao homem, sendo a grande maioria dessas transmitidas por carrapatos ixodídeos (OGRZEWALSKA *et al.*, 2017). As únicas exceções são a *Rickettsia felis*, transmitida por pulgas, e a *Rickettsia akari* transmitida por ácaros (BLAIR *et al.*, 2004; GILLESPIE *et al.*, 2008; PAROLA *et al.*, 2013).

A presença de hospedeiros reservatórios é imprescindível para a manutenção do patógeno circulante na natureza, tais como roedores silvestres, equinos, cães, gatos, marsupiais e morcegos (DIAS; MARTINS, 1939; LEMOS, 2002; VIANNA, 2002). Dentre os roedores, a capivara se destaca como principal hospedeiro amplificador.

Para ser considerado um hospedeiro amplificador competente para *R. rickettsii*, um animal precisa possuir alguns requisitos: ser abundante na área endêmica, apresentar alta taxa de renovação populacional, ser um hospedeiro eficaz para o carrapato em condições naturais, ser suscetível ao desenvolvimento da infecção e apresentar bacteremia suficiente para infectar os vetores no momento do repasto sanguíneo (BURGDORFER, 1988).

2.2.1 Riquetsias do GFM no Brasil

Durante muito tempo *R. rickettsii* foi considerada a única riquetsia do GFM associada à doença humana nas Américas. Da mesma forma, *Rickettsia conorii* foi considerada a única riquetsia capaz de causar doença em seres humanos na Europa e na África. Por fim, *Rickettsia australis* na Austrália e *Rickettsia sibirica* na China foram, por décadas, consideradas as únicas espécies transmitidas por carrapatos a humanos (BROUQUI *et al.*, 2004; PAROLA *et al.*, 2005; PAROLA *et al.*, 2009; RAOULT; ROUX, 1997). Ao longo do século XX, várias espécies de riquetsias pertencentes ao GFM foram descobertas ao redor do mundo, muitas delas inicialmente encontradas em carrapatos e posteriormente associadas à doença no homem, como: *Rickettsia aeschlimannii*, *R. africae*, *R. akari*, *R. australis*, *R. conorii*, *R. felis*, *R. helvetica*, *R. honei*, *R. japonica*, *R. marmionii*, *R. mongolotimonae*, *R. parkeri* (incluindo *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica), *R. rickettsii*, *R.*

sibirica e *R. slovacca* (AUNG *et al.*, 2014; BROUQUI *et al.*, 2007; DE ALMEIDA *et al.*, 2010; ELGIN; PAROLA *et al.*, 2015, LABRUNA *et al.*, 2011). As riquetsias são ditas sabidamente patogênicas quando infectam e causam doença em humanos, mas quando são detectadas somente em vetores, são relatadas como de patogenicidade desconhecida (PADDOCK *et al.*, 2004).

Na América do Sul, três espécies de riquetsias do GFM já foram incriminadas como agente patogênico para o homem: *R. rickettsii*, *R. parkeri* (incluindo *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica), *R. massiliae* (PAROLA *et al.*, 2013). No Brasil, existem duas espécies de riquetsia associadas à etiologia da FM no ser humano, *R. rickettsii* e *R. parkeri* (LABRUNA, 2009; SPOLIDORIO *et al.*, 2010; WECK *et al.*, 2016). Adicionalmente, um caso importado de infecção por *R. africae* foi diagnosticado recentemente no Brasil (ANGERAMI *et al.*, 2018) e esse patógeno foi detectado em carrapatos da espécie *Amblyomma ovale* na Nicarágua (VOGEL *et al.*, 2018).

2.2.1.1 Riquetsiose por *R. rickettsii*

R. rickettsii é o principal agente etiológico da FM nas Américas. Em 1899, nos Estados Unidos, Edward E. Maxey fez a primeira descrição clínica da FM (erupções purpúreas na pele), chamando-a de FM das Montanhas Rochosas (do inglês, *Rocky Mountain spotted fever*), pois os casos da doença estavam concentrados na região das Montanhas Rochosas (MAXEY, 1899), uma cordilheira que se estende desde o oeste do Canadá até o sudoeste dos Estados Unidos. Após sete anos, Howard T. Ricketts isolou pela primeira vez a bactéria *R. rickettsii* e comprovou que sua transmissão se dava durante o repasto sanguíneo do carrapato *D. andersoni* (*Rocky Mountain wood tick*) (RICKETTS, 1906; 1909). Ao longo do século passado, a FM foi descrita em vários Países das Américas, inclusive no Brasil, onde a doença ficou conhecida como FM brasileira (DIAS; MARTINS, 1939). Na Colômbia, ela é chamada de *fiebre de Tobia*. Na Argentina, Costa Rica, México e Panamá, a FM é conhecida como *fiebre manchada* (HIDALGO *et al.*; 2007, PAROLA *et al.*, 2013).

A FM causada por *R. rickettsii* ocorre exclusivamente no continente americano, sendo considerada endêmica na Argentina, Brasil, Canadá, Colômbia, Costa Rica, Estados Unidos, México e Panamá (DANTAS-TORRES, 2007).

Clinicamente, a FM se apresenta como uma doença multissistêmica, potencialmente fatal, se não diagnosticada e tratada prontamente. Os pacientes afetados podem apresentar sinais e sintomas clínicos inespecíficos, comuns a muitas outras patologias (por exemplo,

gripe, erliquiose, dengue e leptospirose), tais como febre alta, mialgia, cefaleia, vômitos, podendo ainda evoluir para *rash* cutâneo e aparecimento de equimose. Considerando a capacidade das riquétsias de infectar células endoteliais de todo o corpo, o quadro pode evoluir para uma vasculite multissistêmica, comum em casos mais severos da doença, com quadros neurológicos de encefalite, insuficiência cardíaca, pulmonar, renal e distúrbios gastrointestinais (CHAPMAN *et al.*, 2006).

No Brasil, a maior parte dos casos se encontra na região sudeste, sobretudo no estado de São Paulo, mas já foram notificados casos em todas as regiões do País. De fato, as áreas de transmissão têm sofrido uma expressiva expansão, inclusive em áreas urbanas próximas a resquícios de mata. O aumento do número de casos pode ser parcialmente conferido a um aumento no número de casos diagnosticados e notificados, pois em 2001 a FM passou a ser classificada como uma doença de notificação obrigatória no Brasil (BRASIL, 2001; LABRUNA, 2009).

Oliveira *et al.* (2016) analisaram a distribuição de casos de FM no período entre 2007 e 2015. De um total de 17.117 casos suspeitos notificados, 1.245 foram confirmados. O Sudeste continua se destacando como a região com maior ocorrência de FM. Com 44,2% dos casos, São Paulo apresenta a maior ocorrência de casos, seguido de Santa Catarina com 22,2% e então em ordem crescente os estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Paraná, Ceará, Rio Grande do Sul, Goiás, Bahia, Mato Grosso do Sul e Rondônia. Dos 1.245 casos confirmados da doença (90,2% através de critérios laboratoriais), grande parte foi notificada nos meses de setembro e novembro (41%). A maioria das pessoas acometidas vivia em zonas rurais e tinham entre 20 e 64 anos. Os principais sintomas relatados foram: febre, cefaleia, mialgia, prostração, náuseas e vômitos. Houve registro de 411 mortes, resultando em uma taxa de letalidade de 33%. Vale ressaltar que 57,9% das mortes aconteceram nos últimos anos, mostrando um aumento bastante considerável. A região sudeste do País apresentou o maior número de mortes por FM (55%). Os homens estavam envolvidos na maior parte dos casos fatais (79,1%). Um total de 239 homens (30,6%) relatou a probabilidade de contato com o carrapato ter acontecido durante atividades de lazer, enquanto que 65,4% das mulheres relataram a casa como o local mais provável de aquisição da infecção. Um grande percentual de pacientes (66,7%) relatou visitas a ambientes como matas, cachoeiras e rios. Em 72,7% dos casos houve registro de exposição a carrapatos. O contato com animais foi citado, como cães e gatos (42,4%), bovinos (17,2%), equinos (17,4%) e capivaras (15,6%).

2.2.1.2 Riquetsiose por *R. parkeri*

R. parkeri foi identificada pela primeira vez na década de 1930, nos Estados Unidos, infectando carrapatos da espécie *Amblyomma maculatum* (PARKER *et al.*, 1939). Somente após mais de 60 anos, *R. parkeri* foi isolada de um paciente do sexo masculino apresentando doença febril aguda associada à escara (PADDOCK *et.al*, 2004). Provavelmente muitos casos de FM nessa época, foram erroneamente diagnosticados como casos mais brandos de infecção por *R. rickettsii*.

No Uruguai *R. parkeri* é considerada o principal agente etiológico da FM, sendo transmitida através da picada do *Amblyomma triste* (VENZAL *et al.*, 2004). Na Argentina casos comprovados de infecção humana por *R. parkeri* também foram associados à espécie *A. triste* (ROMER *et al.*, 2011), porém em 2014 *R. parkeri* foi identificada onde não existe população de *A. triste*, levantando a hipótese de que a espécie *A. dubitatum* possa estar atuando como um possível vetor no ciclo desta espécie de riquetsia em algumas regiões (LADO *et al.*, 2014).

No Brasil, *R. parkeri* foi identificada pela primeira vez em 2007, em espécimes de *A. triste* localizados em área rural do estado de São Paulo, mas sem associação a infecção em ser humano (SILVEIRA; PACHECO; LABRUNA, 2007). Em 2016, Weck *et al.* (2016) propuseram que *R. parkeri* poderia estar associada à FM no Pampa brasileiro, uma vez que detectaram a espécie em carrapatos de *A. tigrinum* coletados no domicílio de um paciente acometido pela doença. No mesmo ano, Krawczak *et al.* (2016) detectaram molecularmente *R. parkeri* (anteriormente classificada como *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica) (NIERI-BASTOS *et al.*, 2018) em um paciente em Santa Catarina, na região sul do País (Figura 1). Há ainda nesse estado, relatos de carrapatos das espécies *A. ovale*, *A. aureolatum* e *R. sanguineus s.l.* infectados por *R. parkeri* (MEDEIROS *et al.*, 2011; BARBIERI *et al.*, 2014).

Figura 1 - Escara de inoculação, associada à picada de um carrapato, no tornozelo esquerdo de um paciente infectado com *R. parkeri* (cepa Mata Atlântica), no estado de Santa Catarina.



Fonte: Krawczak *et al.* (2016).

Nota: (A) 12 dias após a picada do carrapato (DAPC). (B) 14 DAPC. (C) 23 DAPC. (D) 30 DAPC.

Populações das espécies de carrapatos supracitadas estão frequentemente associadas a ambientes de Mata Atlântica, onde ocasionalmente acontece a invasão de humanos para construção de moradias e outros tipos de atividades, lícitas ou ilícitas (SZABÓ; PINTER; LABRUNA 2013). Nesse contexto, o cão tem exercido o papel no transporte de carrapatos para o domicílio e peridomicílio, facilitando assim o contato desses carrapatos com seres humanos.

Até o momento não existem casos fatais de riquetsiose por *R. parkeri* no Brasil, ao passo que a FM pela *R. rickettsii* apresenta uma letalidade de até 40% no Brasil; em pacientes que não são tratados corretamente, essa taxa pode subir para 80% dos casos (BARBIERI *et al.*, 2014; BRITES-NETO; DUARTE; MARTINS, 2015).

2.2.2 Outras riquetsias

A presença de outras riquetsias já foi detectada em várias espécies de carrapatos, como exemplo *Candidatus Rickettsia andeanae* em *A. parvum*, *Rickettsia amblyommatis* (previamente “*Rickettsia amblyommii*” ou “*Candidatus Rickettsia amblyommii*”) em *A. sculptum* (NIERI-BASTOS *et al.*, 2014; NUNES *et al.*, 2015), assim como *R. amblyommatis*, *R. felis*, *R. monteiroi*, *R. rhipicephali*, *R. typhi* e *R. bellii* infectando outras espécies de carrapatos e pulgas no Brasil (PAROLA *et al.*, 2013). *R. bellii* é a espécie que apresenta alta frequência no Brasil, já foi isolada em diversas espécies de carrapatos, incluindo *A. aureolatum*, *A. dubitatum*, *Amblyomma humerale* e *A. ovale*.

Essas detecções chamam atenção para a possibilidade do envolvimento dos

carrapatos em novas zoonoses, uma vez que seu habitat natural vem passando por diversas alterações resultantes da intervenção humana. Na Europa e Estados Unidos nas últimas quatro décadas, doenças transmitidas por carrapatos como a anaplasmoze, babesiose, doença de Lyme e erliquiose emergiram em humanos (OSTFELD; KEESING, 2006). À vista disso, percebe-se a enorme importância de continuar os estudos e novas descobertas de patógenos transmitidos por esse potencial artrópode vetor.

2.3 Febre maculosa em Pernambuco

A situação da FM em Pernambuco é um tanto obscura. Entre 2014 a 2016, sete casos suspeitos foram notificados, sendo 57% desses indivíduos do sexo feminino. Quanto à faixa etária, dois eram menores de 5 anos (28,6%), três tinham entre 20 e 30 anos (42,9%) e dois eram idosos (28,6%). Quanto à procedência, os pacientes eram residentes de Abreu e Lima, Arcoverde, Camaragibe, Ipojuca, Recife e São Lourenço da Mata. Desses, apenas um caso foi confirmado por PCR, mas os autores do trabalho não informaram qual o tipo de PCR utilizada e nem a origem do caso (FERREIRA *et al.*, 2016).

Mais recentemente, novos casos suspeitos foram notificados nos municípios de Sertânia e Gravatá, sendo que neste último a presença de *A. sculptum* já havia sido relatada anteriormente (DANTAS-TORRES, 2009). Esses dados reforçam a necessidade da ampliação das ações de vigilância da FM em Pernambuco, no intuito de se conhecer melhor a situação da doença no estado. É importante também capacitar profissionais de saúde para que eles possam atuar no reconhecimento da doença, com diagnóstico e tratamento precoce dos casos.

3 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, pesquisas relacionadas a carrapatos e patógenos transmitidos por esses artrópodes foram conduzidas em Pernambuco. Essas pesquisas levaram à confirmação da ocorrência de inúmeras espécies de carrapatos cuja presença em Pernambuco era incerta (DANTAS-TORRES, 2009), incluindo *A. sculptum*, indicando o risco de transmissão de *R. rickettsii*, e *A. dubitatum*, sugerindo o risco de transmissão de *R. parkeri* (cepa Mata Atlântica). A FM é uma doença infecciosa e, se não diagnosticada e tratada adequadamente, o paciente pode evoluir rapidamente para óbito. A grande parte dos estudos realizados no Brasil, concentram-se nas regiões sul e sudeste, e a falta de conhecimento sobre a situação da FM no nordeste brasileiro justifica a realização deste estudo. É preciso conhecer a diversidade de carrapatos e riquétsias em diferentes tipos de ambiente (e.g. área rural *versus* resquícios de Mata Atlântica) em Pernambuco. Esse estudo também permitirá um melhor entendimento da dinâmica populacional de espécies de carrapatos incriminadas na transmissão de riquétsias no nordeste do Brasil.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Descrever a ecologia de carrapatos e riquétsias em diferentes ambientes da zona da mata de Pernambuco.

4.2 Específicos

- a) Analisar a diversidade de carrapatos de vida livre em uma zona rural e em um fragmento de mata atlântica da Zona da Mata de Pernambuco;
- b) Analisar a sazonalidade de carrapatos nas áreas estudadas;
- c) Detectar riquétsias do GFM presentes em carrapatos de vida livre coletados.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Área de estudo

O presente estudo foi conduzido em duas áreas de influência da zona da mata de Pernambuco, onde a presença de animais infestados por carrapatos foi confirmada em estudos precedentes (DANTAS-TORRES, 2009; DANTAS-TORRES *et al.*, 2012). A primeira área de estudo se localiza em um remanescente de Mata Atlântica fragmentada (Figura 2) que faz parte do Centro de Instrução Militar Marechal Newton Cavalcanti (CIMNC). A segunda área (Figura 3) se encontra na zona rural do município de Amaraji, zona da mata sul de Pernambuco.

Figura 2 - Foto aérea da entrada do CIMNC.



Fonte: Google maps (2017).

Figura 3 - Vegetação típica das localidades investigadas em Amaraji.



Fonte: Silva (2016).

O CIMNC (07°50'00"S, 35°06'00"W) possui sede no município de Paudalho, zona da mata norte de Pernambuco. Sua área de 7.324 hectares abrange os municípios de Araçoiaba, Igarassu, Paulista, Paudalho e Tracunhaém. O clima da região é tropical chuvoso, apresentando uma temperatura média anual de 25,2°C. O período de chuvas se inicia em fevereiro e vai até outubro, com uma precipitação anual média de 1.634 mm. A mata do CIMNC abrange uma área de remanescentes florestais, representando o maior bloco de florestas ao norte do rio São Francisco. Formada principalmente pelos subtipos floresta ombrófila aberta e floresta estacional semidecidual, a mata do CIMNC é bastante fragmentada, uma vez que estradas foram abertas para locomoção veicular de militares e civis. A área possui riachos e um açude (SOBRAL-LEITE, 2011). Estudos precedentes confirmaram a presença de carrapatos do gênero *Amblyomma* em pequenos roedores capturados no CIMNC (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012).

O município de Amaraji (08°22'59"S, 35°27'09"W) se localiza na zona da mata sul de Pernambuco, possuindo um território total de 235 km². Possui uma população com cerca de 22 mil habitantes. A principal atividade econômica do município gira em torno da agroindústria açucareira. Além da plantação da cana-de-açúcar, há plantio de banana, laranja, abacaxi, batata doce e mandioca (IBGE, 2018). A vegetação nativa é composta por floresta subperenifólia, com floresta subcaducifólia e transição cerrado/floresta. Na criação de animais se destacam os bovinos e equinos. A presença de *A. sculptum* em equinos já foi confirmada em Amaraji (DANTAS-TORRES, 2009).

5.2 Dados meteorológicos

Dados meteorológicos diários e mensais referentes à temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação foram obtidos do Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa (BDMEP) do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), utilizando informações coletadas na estação meteorológica de número 82900 (para as duas localidades), durante todo o período do estudo. O déficit de saturação (DS) foi calculado da através da seguinte fórmula: $DS = (1 - UR/100) \times 4,9463 \times e^{0,0621 \times T}$; onde UR representa umidade relativa do ar e T, a temperatura (DANTAS-TORRES *et al.*, 2017).

5.3 Coleta e identificação de carrapatos do ambiente

Os carrapatos foram coletados mensalmente, de janeiro de 2015 a dezembro de 2016, totalizando 24 meses, diretamente do ambiente utilizando armadilhas com gelo seco (fonte de CO₂) (OLIVEIRA *et al.*, 2000), em pontos georreferenciados pré-definidos nas duas áreas de estudo (Quadro 1 e Quadro 2). Os critérios utilizados para a escolha dos pontos de coleta foram presença de coleções de água (ex. açude), trilhas de animais silvestres, áreas de pastagem de animais domésticos e/ou relato prévio de infestações por carrapatos em humanos (especificamente no CIMNC).

Quadro 1 - Pontos georreferenciados onde as armadilhas foram instaladas no CIMNC.

Localidade	Ponto de coleta	Coordenadas geográficas
CIMNC	1	7° 49.847' S, 35° 06.166' O
CIMNC	2	7° 49.896' S, 35° 06.150' O
CIMNC	3	7° 49.777' S, 35° 06.263' O
CIMNC	4	7° 49.798' S, 35° 06.265' O
CIMNC	5	7° 49.727' S, 35° 06.372' O
CIMNC	6	7° 49.738' S, 35° 06.394' O
CIMNC	7	7° 50.057' S, 35° 06.515' O
CIMNC	8	7° 50.037' S, 35° 06.517' O
CIMNC	9	7° 50.006' S, 35° 06.853' O
CIMNC	10	7° 49.997' S, 35° 06.853' O
CIMNC	11	7° 50.089' S, 35° 06.837' O
CIMNC	12	7° 50.094' S, 35° 06.826' O
CIMNC	13	7° 50.088' S, 35° 06.667' O
CIMNC	14	7° 50.093' S, 35° 06.674' O
CIMNC	15	7° 50.152' S, 35° 06.617' O
CIMNC	16	7° 50.171' S, 35° 06.624' O
CIMNC	17	7° 50.215' S, 35° 06.618' O
CIMNC	18	7° 50.052' S, 35° 06.563' O
CIMNC	19	7° 50.070' S, 35° 06.258' O
CIMNC	20	7° 50.009' S, 35° 06.259' O

Quadro 2 - Pontos georreferenciados onde as armadilhas foram instaladas em Amaraji.

Localidade	Ponto de coleta	Coordenadas geográficas
Amaraji	1	8° 25.821' S, 35° 26.977' O
Amaraji	2	8° 25.804' S, 35° 26.969' O
Amaraji	3	8° 25.748' S, 35° 26.990' O
Amaraji	4	8° 25.814' S, 35° 26.994' O
Amaraji	5	8° 25.776' S, 35° 26.889' O
Amaraji	6	8° 25.768' S, 35° 26.896' O
Amaraji	7	8° 25.765' S, 35° 26.874' O
Amaraji	8	8° 25.746' S, 35° 26.882' O
Amaraji	9	8° 25.751' S, 35° 26.857' O
Amaraji	10	8° 25.738' S, 35° 26.870' O
Amaraji	11	8° 25.705' S, 35° 26.813' O
Amaraji	12	8° 25.705' S, 35° 26.838' O
Amaraji	13	8° 25.492' S, 35° 26.872' O
Amaraji	14	8° 25.518' S, 35° 26.896' O
Amaraji	15	8° 25.694' S, 35° 26.670' O
Amaraji	16	8° 25.676' S, 35° 26.667' O
Amaraji	17	8° 25.689' S, 35° 26.656' O
Amaraji	18	8° 25.732' S, 35° 26.736' O
Amaraji	19	8° 25.706' S, 35° 26.741' O
Amaraji	20	8° 25.690' S, 35° 26.771' O

Fonte: A autora.

Foram utilizadas de 14 a 20 armadilhas uma vez por mês em cada fragmento, as quais foram deixadas no ambiente por 2 horas, no período vespertino, perfazendo um esforço amostral de 1.752 horas de captura e 876 armadilhas instaladas durante o estudo. As armadilhas consistiram de uma flanela branca (100 cm x 100 cm) esticada sobre o solo ou vegetação rasteira, contendo fita adesiva de dupla face em suas bordas e um recipiente isotérmico contendo 500 g de gelo seco no centro da flanela (Figura 4). Nesse método de captura, os carrapatos são atraídos pelo CO₂ emitido pelo gelo seco e ficam aderidos na fita adesiva, sendo posteriormente coletados com auxílio de pinças entomológicas.

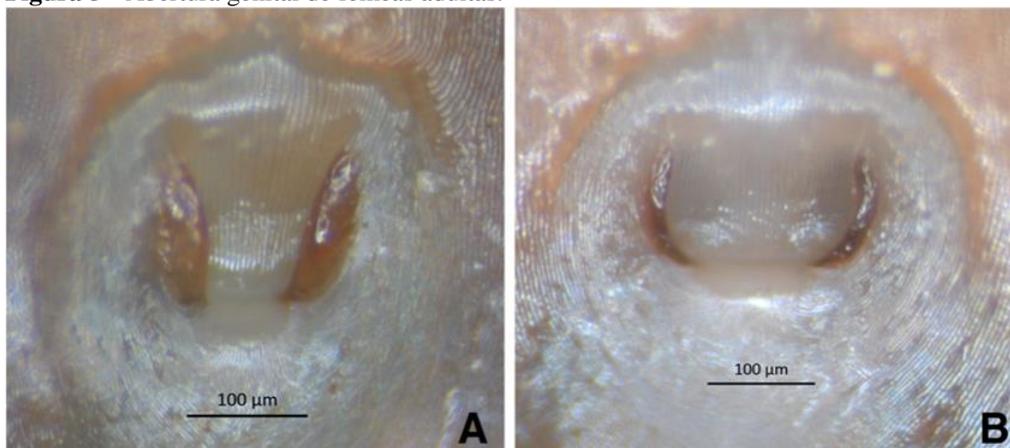
Figura 4 - Armadilha de gelo seco em um dos pontos de coleta no CIMNC.



Fonte: Melo (2016).

Os carrapatos coletados foram armazenados em frascos contendo etanol 70% para posterior identificação morfológica. Os adultos foram identificados seguindo chaves taxonômicas apropriadas (ARAGÃO; FONSECA, 1961; ONOFRIO *et al.*, 2006; NAVA *et al.*, 2014). As fêmeas de *A. cajennense s.l.* foram identificadas morfológicamente considerando a diferença na morfologia da abertura genital (Figura 5). As ninfas foram identificadas de acordo com a chave de Martins *et al.* (2010), inclusive para ninfa de *A. sculptum*, descrita como “*A. cajennense*” na chave em questão. Por fim, as larvas foram identificadas a nível de gênero, uma vez que não existe chave taxonômica para larvas do gênero *Amblyomma* presentes no Brasil.

Figura 5 - Abertura genital de fêmeas adultas.



Fonte: MARTINS *et al.* (2016)

Nota: (A) Em forma de “V”, um espécime de *A. cajennense* (*sensu stricto*); (B) Em forma de “U”, um espécime de *A. sculptum*.

Dos espécimes coletados durante este estudo, foram enviadas 28 amostras (dois machos, duas fêmeas e 10 ninfas de cada espécie – *A. sculptum* e *A. dubitatum*) para a Coleção Nacional de Carrapatos Danilo Gonçalves Saraiva da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CNC-3647 para *A. sculptum* e CNC-3648 para *A. dubitatum*).

5.4 Extração de DNA de carrapatos

Após identificação morfológica, foi realizada a extração de DNA usando o kit comercial DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Germantown, MD, USA), seguindo as instruções do fabricante. O DNA de carrapatos adultos foi obtido através de extração individual, enquanto o DNA de ninfas foi extraído individualmente ou em *pools* compostos por 2 a 10 exemplares, de acordo com o número de espécimes disponível em cada armadilha.

5.5 Detecção de *Rickettsia* spp. em carrapatos

Todas as amostras foram submetidas a uma primeira reação de PCR utilizando como alvo o gene *gltA* que codifica a proteína citrato sintase, que está presente em todas as espécies de riquetsias, utilizando um par de *primers* gênero-específicos (*Rickettsia* spp.). Quando positivas, as amostras foram submetidas a uma nova reação de PCR utilizando como alvo o gene *OmpA* que codifica a proteína A extrema da membrana, que está presente apenas em espécies de riquetsias do GFM (Quadro 3).

Quadro 3 - *Primers* utilizados para detecção de *Rickettsia* spp.

Gene	<i>Primer</i>	Sequência de nucleotídeos (5'-3')	Tamanho do fragmento
<i>gltA</i>	Rp CS-78 forward	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT	401 pb
	Rp CS-323 reverse	GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT	
<i>OmpA</i>	Rr 190.70 forward	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA	631 pb
	Rr 190.602n reverse	AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT	

Fonte: A autora.

A primeira PCR foi realizada utilizando os *primers* Rp CS-78F e Rp CS-323R, conforme adaptação de protocolo descrito previamente na literatura (LABRUNA *et al.*, 2004). O volume total da reação foi de 25 µl, sendo composto por 6,5 µl de água livre de DNA, 12,5 µl de GoTaq Colorless Master Mix, 2 µl de cada *primer* na concentração de 25 pmol/µl e 2 µl da amostra de DNA. As temperaturas utilizadas para ciclagem no protocolo adaptado foram: 95°C por 3 minutos (desnaturação inicial), seguidos por 40 ciclos de 95°C por 15 segundos, 58°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos, e uma extensão final de 72°C por 7 minutos.

Posteriormente, as amostras positivas na primeira PCR foram submetidas a uma nova PCR utilizando os *primers* Rr 190.70 e Rr 190.602n, inicialmente seguindo o protocolo descrito na literatura (LABRUNA *et al.*, 2004) e posteriormente modificando as condições de ciclagem como se segue: 95°C por 5 minutos (desnaturação inicial), 35 ciclos de 95°C por 40 segundos, 58°C por 30 segundos e 65°C por 45 segundos, e uma extensão final de 72°C por 10 minutos.

Além do controle positivo (DNA genômico de *R. rickettsii*, gentilmente cedido pelo Prof. Marcelo B. Labruna, Universidade de São Paulo), incluiu-se um controle negativo (mix da PCR sem DNA) em cada teste. Os produtos de PCR foram submetidos ao processo de eletroforese em gel de agarose a 1,5% corados com brometo de etídio (10 mg/ml) e observados sob luz ultravioleta.

5.6 Análises dos dados

Frequências relativas e absolutas foram calculadas para os estágios de desenvolvimento (larvas, ninfas e adultos) e sexo (macho e fêmea) dos carrapatos coletados, utilizando o programa Microsoft Excel 2013. As análises estatísticas de correlação entre as variáveis meteorológicas e o número de carrapatos coletados mensal e diariamente foram realizadas utilizando os coeficientes de correlação de Pearson (*r*) e Spearman (*rs*). O nível de significância foi definido por $p < 0,05$. As análises foram realizadas com auxílio do software BioEstat, versão 5.3 (AYRES *et al.*, 2007).

5.7 Aspectos éticos

O presente estudo não envolveu a participação de seres humanos ou a manipulação de animais nos experimentos.

6 RESULTADOS

De janeiro de 2015 a dezembro de 2016, coletou-se um total de 17.196 carrapatos, sendo 190 machos, 163 fêmeas, 1.531 ninfas e 15.312 larvas. Em particular, 74 machos, 94 fêmeas, 468 ninfas e 864 larvas foram coletados em Amaraji (Tabela 1). No CIMNC, 116 machos, 69 fêmeas, 1.063 ninfas e 14.448 larvas foram coletados (Tabela 2).

Tabela 1 – Número de larvas, ninfas e adultos de carrapatos coletados em Amaraji.

	Mês	<i>Amblyomma</i> spp.			Total	
		Larva	Ninfa	Macho		Fêmea
2015	Janeiro	50	1	2	1	54
	Fevereiro	208	10	1	0	219
	Março	4	7	0	0	11
	Abril	101	15	1	8	125
	Maio	99	24	1	2	126
	Junho	35	4	0	2	41
	Julho	0	6	1	2	9
	Agosto	2	5	4	5	16
	Setembro	0	4	7	14	25
	Outubro	2	15	8	17	42
	Novembro	1	56	2	6	65
	Dezembro	0	29	2	4	35
		Total 2015	502	176	29	61
2016	Janeiro	0	18	2	1	21
	Fevereiro	0	5	2	3	10
	Março	210	5	5	1	221
	Abril	9	1	2	3	15
	Maio	1	1	2	2	6
	Junho	8	14	13	7	42
	Julho	0	1	0	3	4
	Agosto	84	23	5	4	116
	Setembro	0	70	3	4	77
	Outubro	19	56	2	2	79
	Novembro	30	55	3	2	90
	Dezembro	1	43	6	1	51
		Total 2016	362	292	45	33
	Total 2015 e 2016	864	468	74	94	1500

Fonte: A autora.

Tabela 2 – Número de larvas, ninfas e adultos de carrapatos coletados no CIMNC.

	Mês	<i>Amblyomma</i> spp.	<i>Amblyomma dubitatum</i>			Total
		Larva	Ninfa	Macho	Fêmea	
2015	Janeiro	224	5	4	3	236
	Fevereiro	706	42	8	2	758
	Março	0	0	0	0	0
	Abril	9	6	0	0	15
	Mai	6	31	3	2	42
	Junho	20	18	3	2	43
	Julho	0	2	0	0	2
	Agosto	0	8	1	0	9
	Setembro	11	8	0	2	21
	Outubro	0	3	1	2	6
	Novembro	1	39	3	2	45
	Dezembro	153	26	4	4	187
	Total 2015	1130	188	27	19	1364
2016	Janeiro	2270	138	1	0	2409
	Fevereiro	2473	5	1	1	2480
	Março	5434	156	9	2	5601
	Abril	2328	201	11	10	2550
	Mai	3	26	0	0	29
	Junho	12	38	4	2	56
	Julho	0	19	9	4	32
	Agosto	20	38	4	3	65
	Setembro	612	19	4	2	637
	Outubro	12	20	9	5	46
	Novembro	154	116	14	12	296
	Dezembro	0	99	23	9	131
	Total 2016	13318	875	89	50	14332
Total 2015 e 2016	14448	1063	116	69	15696	

Fonte: A autora.

Em Amaraji todos os machos foram tentativamente identificados como *A. sculptum* (Figura 6), uma vez que todas as fêmeas e ninfas foram identificadas como pertencentes a essa espécie (Figura 7). Já no CIMNC, todos os adultos e ninfas foram identificados como *A. dubitatum* (Figuras 8 e 9). As larvas coletadas nesse estudo foram identificadas como *Amblyomma* spp.

Figura 6 - Vista dorsal de um macho de *Amblyomma sculptum*.



Fonte: Dantas-Torres (2017)

Figura 7 - Vista dorsal de uma fêmea de *Amblyomma sculptum*.



Fonte: Dantas-Torres (2017)

Figura 8 - Vista dorsal de um macho de *Amblyomma dubitatum*.



Fonte: Dantas-Torres (2017)

Figura 9 - Vista dorsal de uma fêmea de *Amblyomma dubitatum*.

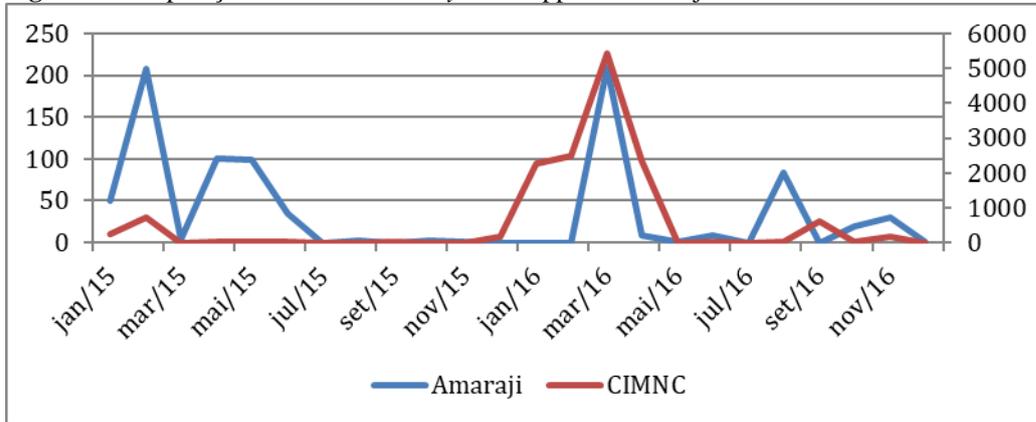


Fonte: Dantas-Torres (2017)

A população de larvas encontradas em Amaraji, apresentou um pico bem definido durante o primeiro semestre (fevereiro e março), enquanto que as larvas encontradas no CIMNC apresentaram um pico definido durante os primeiros meses do ano (janeiro a abril), sendo mais significativo no segundo ano do estudo (Figura 10). O maior número mensal de carrapatos coletados foi registrado no mês de março, nas duas áreas estudadas. As ninfas de *A. sculptum* apresentaram maior densidade populacional durante o segundo semestre, enquanto as ninfas de *A. dubitatum* foram predominantes entre os meses de janeiro e abril (Figura 11). O

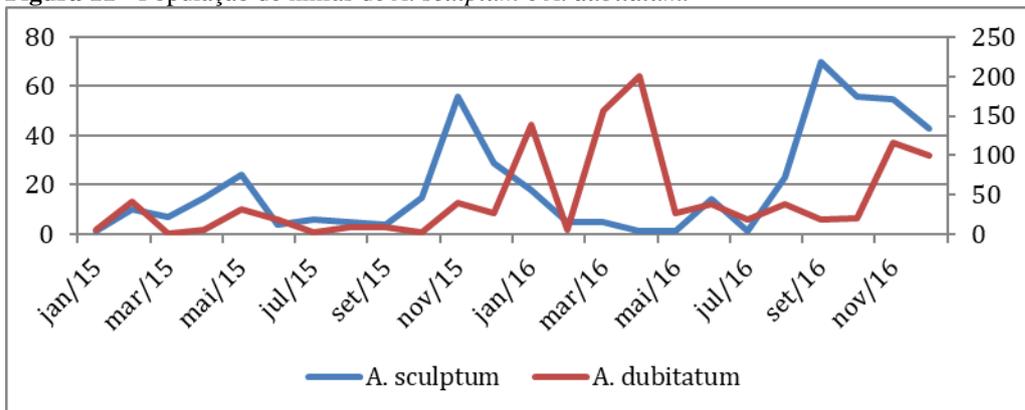
maior número de adultos coletados foi percebido nos meses de setembro (n = 21) e outubro (n = 25) de 2015 em Amaraaji e em novembro (n = 26) e dezembro (n = 32) de 2016 no CIMNC (Figura 12).

Figura 10 - População de larvas de *Amblyomma* spp. em Amaraaji e CIMNC.



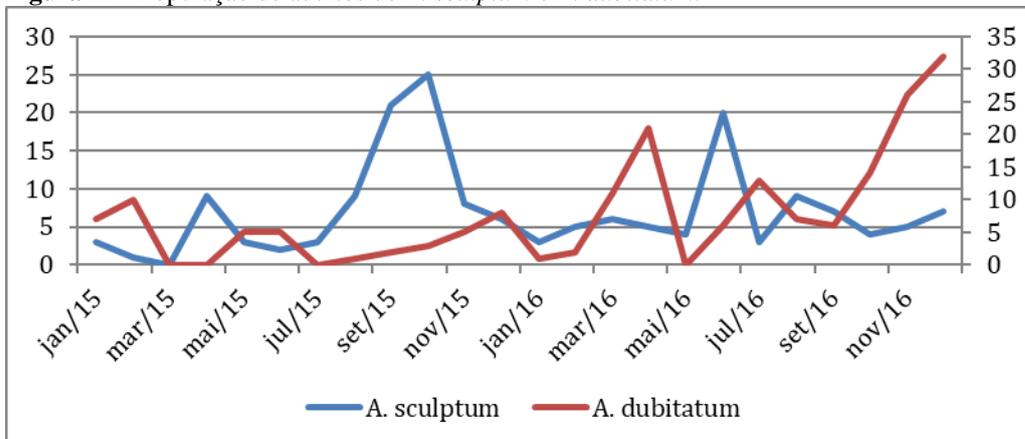
Fonte: A autora.

Figura 11 - População de ninfas de *A. sculptum* e *A. dubitatum*.



Fonte: A autora.

Figura 12 - População de adultos de *A. sculptum* e *A. dubitatum*.



Fonte: A autora.

Durante os dois anos do estudo, a temperatura média mensal nas duas localidades variou entre 24,3°C e 28,4°C, a umidade relativa do ar entre 63,0% e 91,5%, a precipitação pluviométrica entre 0,0 mm e 76,3 mm e o déficit de saturação entre 1,88 e 10,46. Não houve correlação significativa entre o número de larvas, ninfas ou adultos e as variáveis climáticas aqui analisadas, em nenhuma das áreas de estudo.

Dos 161 *A. sculptum* e 173 *A. dubitatum* adultos testados, 49 (30.4%) e 44 (25.4%) apresentaram positividade para o gene *gltA*, respectivamente. Quanto às ninfas, a taxa mínima de infecção foi de 2,1% (468 ninfas testadas em 138 *pools*, sendo 11 *pools* positivos) e 5,91% (1.032 ninfas testadas em 188 *pools*, sendo 61 *pools* positivos) para *A. sculptum* e *A. dubitatum*, respectivamente. Todas as amostras positivas para o gene *gltA* (49 adultos e 11 *pools* de ninfas de *A. sculptum*; 44 adultos e 61 *pools* de *A. dubitatum*) foram testadas para o gene *OmpA*, nenhuma das amostras foi positiva.

7 DISCUSSÃO

No presente estudo foi identificada apenas uma espécie de carrapato em cada uma das áreas estudadas (*A. sculptum* em Amaraji e *A. dubitatum* no CIMNC). Em um estudo precedente realizado no CIMNC, pequenos mamíferos foram capturados e parasitando-os foram encontradas quatro espécies diferentes de *Amblyomma*, dentre elas, *A. dubitatum*, parasitando roedores da espécie *Nectomys rattus* (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012). Já outro estudo sobre a associação de carrapatos e animais domésticos em Pernambuco, encontrou *A. sculptum* (identificado na época como “*A. cajennense*”) parasitando equinos e cães de áreas rurais (DANTAS-TORRES, 2009). Szabó *et al.* (2009) sugerem que mesmo em áreas ricas em biodiversidade, pode-se encontrar uma baixa heterogeneidade de espécies de carrapatos por conta da forte antropização, o que favorece inclusive o aumento da população de *A. sculptum*.

São escassos os estudos sobre a ixodofauna na região nordeste do Brasil, inclusive no estado de Pernambuco, sendo o presente estudo o primeiro sobre a sazonalidade de carrapatos de vida livre conduzido nesse estado. A maioria dos estudos sobre a sazonalidade de *A. sculptum* e *A. dubitatum* foram realizados na região sul e sudeste do País. Souza *et al.* (2006) realizaram trabalho sobre sazonalidade de carrapatos em Jaguariúna, São Paulo, onde as mesmas espécies (*A. sculptum* e *A. dubitatum*) foram encontradas. Szabó *et al.* (2009) realizaram coletas de carrapatos de vida livre em trilhas de animais no Parque Estadual de Intervales (fragmento de Mata Atlântica), em São Paulo, durante um período de 45 meses. Foram identificadas sete espécies, dentre elas *A. sculptum* (descrita como “*A. cajennense*”) e *A. dubitatum*. Em 2012, Ogrzewalska *et al.* (2012) realizaram coletas de carrapatos em cães, aves e pequenos mamíferos silvestres também em fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de São Paulo. Dentre as nove espécies encontradas, estavam presentes *A. sculptum* e *A. dubitatum*. Esses dados apenas confirmam a ampla distribuição dessas espécies por diferentes estados brasileiros.

De acordo com vários autores (BECHARA *et al.*, 2000; PEREIRA *et al.*, 2000; SZABÓ *et al.*, 2006; VERONEZ *et al.*, 2010), *A. sculptum* está presente em três biomas brasileiros (Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal), estando fortemente associado a regiões de clima tropical, sobretudo áreas que sofrem degradação ambiental. No presente estudo, a espécie *A. sculptum* foi encontrada exatamente na área rural, onde a Mata Atlântica vem sendo degradada e substituída por plantações de banana, laranja e cana-de-açúcar.

A. dubitatum é uma espécie fortemente associada a capivaras e apresentam predileção maior por ambientes mais úmidos quando comparada a *A. sculptum* (NAVA *et al.*, 2010; QUEIROGAS *et al.*, 2012; SZABÓ *et al.*, 2007). No presente estudo, as armadilhas com o maior número de espécimes de *A. dubitatum* foram aquelas que se localizavam às margens de um açude, onde há maior umidade e possivelmente um maior número de capivaras, uma vez que esses animais costumam estar próximos à beira de rios, açudes e lagos.

As larvas de *Amblyomma* spp., assim como as ninfas e adultos de ambas as espécies, de forma geral, estavam presentes em todos os períodos das coletas realizadas, porém com picos populacionais distintos. Foi observada uma dinâmica populacional de larvas de *Amblyomma* spp. e ninfas de *A. sculptum* em Amaraji que diverge da maior parte dos estudos de sazonalidade dessa espécie realizados no sudeste brasileiro. Há relatos que a diapausa ocorra entre novembro e março no sudeste do Brasil, esse fato é claramente observado na acentuada redução no número de larvas de *Amblyomma* spp. e ninfas de *A. sculptum* nas coletas realizadas neste período (LABRUNA *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2000). Oliveira *et al.* (2000) afirmam que a maior população de estágios imaturos de *A. sculptum* ocorre quando a temperatura e umidade estão mais baixas. A sazonalidade de larvas e ninfas encontrada no presente estudo difere dos dados acima citados, uma vez que entre os meses de novembro a março de 2015 e 2016 (durante o verão, onde historicamente a temperatura e umidade estão mais altas) foram coletadas 864 larvas e 468 ninfas, dado que corresponde a 58,33% e 48,93%, respectivamente, da coleta total desses estágios durante os dois anos de estudo. Isso sugere um diferente comportamento dos estágios imaturos de *A. sculptum* na região nordeste. Essa diferença comportamental pode ser influenciada pela temperatura, uma vez que a região nordeste apresenta temperatura mais alta do que as regiões sul e sudeste do País durante o verão (dezembro a março).

A população de adultos de *A. sculptum* apresentou um padrão sazonal com maior quantidade de espécimes na primavera (setembro e outubro). Apesar de a maior parte dos estudos realizados descrever os maiores picos de adultos de *A. sculptum* no verão, alguns também relatam picos desde a primavera (GUEDES; LEITE, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2000; SOUZA *et al.*, 2006; TOLEDO *et al.*, 2008), estações onde há aumento da temperatura e umidade relativa do ar concordando com o padrão conhecido da espécie.

A população de larvas de *Amblyomma* spp. no CIMNC foi encontrada em maior quantidade nos meses fevereiro, abril e novembro, enquanto que as ninfas de *A. dubitatum* foram mais abundantes durante os meses novembro, dezembro, janeiro, março e abril. Os

dados gerados por Guedes *et al.* (2008) descrevem o aumento da população de larvas e ninfas nos meses de outubro e novembro, enquanto que Souza *et al.* (2006) atribuem os picos de novembro a março à população de estágios imaturos de *A. dubitatum*. De janeiro a abril de 2016 houve um pico na população de larvas no CIMNC sendo responsável por 86,55% (n = 12.505) da quantidade total de larvas coletadas durante os dois anos. Esses dados corroboram os achados de Toledo *et al.* (2008) que encontraram um pico da população de larvas entre abril e junho, quando a temperatura estava elevada.

Quanto à população de adultos de *A. dubitatum*, os resultados indicaram um maior número de espécimes coletados nos meses de fevereiro de 2015 e março de 2016, concordando com Durães *et al.* (2015), Guedes *et al.* (2008) e Toledo *et al.* (2008) que relataram aumento do número de adultos durante o verão e a primavera, quando há aumento da temperatura e umidade relativa do ar. Porém há relatos também de picos de adultos de *A. dubitatum* durante o ano inteiro, inclusive em meses de inverno (TOLEDO *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2006; DURÃES *et al.*, 2015).

Os dados climáticos encontrados no presente estudo influenciaram de forma discreta as populações de *A. sculptum* e *A. dubitatum*. Analisando os dados meteorológicos mensais ou diários, não foram observadas correlações positivas ou negativas significativas entre as populações de larvas, ninfas ou adultos com as variáveis climáticas estudadas (precipitação pluviométrica, umidade relativa do ar, déficit de saturação e temperatura). De fato, os dados sugerem que as populações de *A. sculptum* e *A. dubitatum* do estado de Pernambuco, onde o clima é relativamente mais constante, sofre uma menor influência climática, quando comparado aos estudos realizados na região sudeste do Brasil (SOUZA *et al.*, 2006).

Szabó *et al.* (2009) ao não encontrarem *A. sculptum* em área de mata fechada, sugeriram a preferência dessa espécie por áreas de florestas abertas, onde foi encontrado um grande número de carrapatos da espécie. Isso sugere que a distribuição de *A. sculptum* possa ter aumentado como resultado do intenso processo de desmatamento sofrido pela Mata Atlântica ao longo das últimas décadas (DANTAS-TORRES, 2015). Uma vez que a maioria das espécies de carrapatos passa mais tempo no ambiente do que em seus hospedeiros, o meio ambiente torna-se essencial para o surgimento, comportamento e até desaparecimento de populações de ixodídeos. Essa seria uma possível explicação para as diferenças de sazonalidade encontradas entre o presente estudo e os descritos na literatura, uma vez que os estudos foram realizados em regiões com diferentes condições ambientais e climáticas. Esses aspectos influenciam diretamente o padrão sazonal dos carrapatos (WECK *et al.*, 2017).

No Brasil foram estabelecidos vários cenários quanto à ecologia da FM. Diferentes espécies de *Rickettsia* têm sido detectadas em diferentes espécies de carrapatos, como *R. rickettsii* associada a *A. sculptum* (LABRUNA, 2009) e *A. aureolatum* (PINTER; LABRUNA, 2006); *R. parkeri* associada a *A. dubitatum*, *A. tigrinum* e *A. ovale* (SPOLIDORIO *et al.*, 2010; WECK *et al.*, 2016).

Quanto à detecção de *Rickettsia* spp. no presente estudo, 49 (30,4%) adultos e 11 *pools* de ninfas (2,1%) de *A. sculptum* apresentaram positividade para o gene *gltA*, assim como 44 adultos (25,4%) e 61 (5,91%) *pools* de *A. dubitatum*. Nenhuma das amostras foi positiva para o gene *OmpA*, sugerindo a ausência de riquétias do GFM nas áreas estudadas.

R. bellii se destaca entre as espécies não patogênicas mais frequentes em carrapatos no Brasil. Labruna *et al.* (2004) registraram positividade de 40% numa população de *A. dubitatum* em São Paulo. Em Minas Gerais, amostras de DNA de *A. sculptum* e *A. dubitatum* foram testadas para presença de *Rickettsia* spp., sendo encontrado apenas um *pool* com três fêmeas de *A. sculptum* infectado com *R. rickettsii* (GUEDES *et al.*, 2005). Em outro estudo realizado em São Paulo (PACHECO *et al.*, 2009), *R. bellii* foi a única espécie de riquétia encontrada, infectando carrapatos *A. dubitatum* (23,8%). Brites-Neto *et al.* (2013) encontraram populações de carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* em São Paulo, mas apenas 3,9% da população de *A. dubitatum* foi encontrada infectada por *Rickettsia*, nesse caso a *R. bellii*. Na cidade de Uberlândia, em Minas Gerais, foram recentemente relatadas altas taxas de infecção por *R. bellii*, na população de *A. sculptum* e *A. dubitatum* (PAJUABA NETO *et al.*, 2018).

Labruna *et al.* (2004) observaram que, quando populações de *A. dubitatum* apresentam elevadas taxas de infecção por *R. bellii*, a infecção por riquétias do GFM, como a *R. parkeri*, parece ser um achado bem raro nessa espécie de carrapato. Embora a patogenicidade da *R. bellii* para os seres humanos seja desconhecida, essa observação aponta para um possível importante papel da espécie em diferentes populações de carrapatos, principalmente quanto à ecologia de riquétias do GFM (PACHECO *et al.*, 2009), uma vez que um carrapato infectado por uma espécie de *Rickettsia* se torna resistente à infecção por uma segunda espécie de *Rickettsia* (BURGDORFER *et al.*, 1981).

Apesar de a espécie *A. sculptum* ser considerada o principal vetor de *R. rickettsii* no Brasil (GUEDES *et al.*, 2005), alguns estudos, inclusive em áreas endêmicas, não verificam a infecção por nenhuma espécie de *Rickettsia*. Isso ocorre possivelmente em consequência de uma baixa infecção pela bactéria (PACHECO *et al.*, 2009). É importante relatar que Labruna *et al.* (2008) observaram uma parcial refratariedade de *A. sculptum* à infecção por *R. rickettsii*,

quando comparado com outras espécies de carrapatos. Além disso, outro importante fator para baixas taxas de infecção encontradas em vários estudos são os efeitos deletérios da bactéria no carrapato, podendo aumentar a mortalidade entre indivíduos infectados.

O presente estudo compreendeu duas áreas onde a presença de *A. sculptum* e *A. dubitatum* já havia sido anteriormente confirmada. A presença desses carrapatos durante todo o ano, associada à presença de hospedeiros amplificadores, denota a necessidade de mais estudos para verificar a circulação de riquetsias do GFM nessas áreas, que podem se tratar de focos silenciosos de riquetsioses. No CIMNC, soldados em treinamento já relataram a presença de carrapatos fixados à pele. Em Amaraji, os trabalhadores rurais estão em contato direto com ambientes onde os carrapatos foram coletados, e não realizam vistoria no corpo após o trabalho. É importante salientar que a degradação ambiental pode favorecer o aumento da população de *A. sculptum* no município de Amaraji, aumentando o risco de contato entre carrapatos e humanos. É fato que o cenário estabelecido nas áreas estudadas requer atenção por parte da vigilância epidemiológica, para implementação de programas de vigilância, bem como a implementação de estudos regulares sobre circulação de *Rickettsia* spp., e assim entender o real risco da FM para humanos e animais no estado de Pernambuco.

O banco de dados gerado a partir desse projeto abrirá novas perspectivas para estudos futuros sobre a diversidade genética de carrapatos e permitirá a elaboração de modelos preditivos para definição da distribuição provável de espécies de interesse médico no nordeste brasileiro.

Serão necessários novos estudos, com um número maior de áreas estudadas, na busca de evidências sobre circulação de agentes da FM na área de estudo e municípios vizinhos.

8 CONCLUSÃO

O presente estudo confirma a presença *A. sculptum* e *A. dubitatum* nas áreas estudadas durante todo o ano. Esse dado é de extrema relevância considerando a importância desses carrapatos na transmissão da *R. rickettsii* e *R. parkeri* no Brasil. O estudo confirma também a circulação de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* nas áreas estudadas. A ausência de DNA de riquetsias do grupo da febre maculosa nos carrapatos testados não elimina a possibilidade de circulação desse patógeno na área de estudo.

REFERÊNCIAS

- ANGERAMI, R. N. *et al.* First report of African tick-bite fever in a South American traveler. **SAGE Open Medical Case Reports**, London, v. 6, p. 1-3, 2018.
- ALMEIDA, A. P. *et al.* A novel *Rickettsia* infecting *Amblyomma dubitatum* ticks in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 2, n. 4, p. 209-212, 2011.
- ANDREOTTI, R.; KOLLER, W.W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos**: protocolos e técnicas para estudo. 1 ed. Brasília: Embrapa, 2016, cap. 1, p. 3-33.
- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p. 115-129, 1961.
- ARTHUR, D. R. **Ticks and disease**. 1 ed. Oxford: Pergamon Press, 1962, 445 pp.
- AUNG, A. K. *et al.* Rickettsial infections in Southeast Asia: implications for local populace and febrile returned travelers. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 91, n. 3, p. 451-460, 2014.
- AYRES, M. *et al.* **Bioestat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Belém: MCT, 2007. 364p.
- BARBIERI, A. R. M. *et al.* Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 848-853, 2014.
- BARCELLOS, C. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 18, n. 3, p. 285-304, 2009.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical**: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox, 2006. 223p.
- BECHARA, G. H. *et al.* Ticks associated with wild animals in the Nhecolândia Pantanal, Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 916, p. 289-297, 2000.
- BLAIR, P. J. *et al.* Characterization of spotted fever group rickettsiae in flea and tick specimens from northern Peru. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 42, n. 11, p. 4961-4967, 2004.
- BOWN, K. J. *et al.*, Relative importance of *Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps* as vectors for *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in field vole (*Microtus agrestis*) populations. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 74, n. 23, p. 7118-7125, 2008.
- BRADLEY, C.; ALTIZER, S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. **Trends in Ecology and Evolution**, Amsterdam, v. 22, n. 2, p. 95-102, 2006.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.943, de 18 outubro de 2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo o território nacional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 out 2001. Seção 1, p. 36, 2001.
- BRITES-NETO, J. *et al.* Environmental infestation and rickettsial infection in ticks in an area endemic for Brazilian spotted fever. **Revista Brasileira de Parasitologia**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 367-372, 2013.
- BRITES-NETO, J.; DUARTE, K. M. R.; MARTINS, T. F. Tick-borne infections in human and animal population worldwide. **Veterinary World**, Gujarat State, v. 8, n. 3, p. 301, 2015.
- BROUQUI, P. F *et al.* Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. **Clinical microbiology and infection**, Paris, v. 10, n. 12, p. 1108-1132, 2004.
- BROUQUI, P. *et al.* Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, Amsterdam, v. 49, n. 1, p. 2-12, 2007.
- BURGDORFER, W.; HAYES, S. F.; MAVROS, A. J. Nonpathogenic rickettsiae in *Dermacentor andersoni*: a limiting factor for the distribution of *Rickettsia rickettsii*. In: BURGDORFER W.; ANACKER R. L. **Rickettsiae and rickettsial diseases**. Salt Lake: Academic Press, 1981. p. 585-594.
- BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrub typhus. **Biology of rickettsial diseases**, Boca Raton, v. 1, p. 33-50, 1988.
- CABRERA, R. R.; LABRUNA, M. B. Influence of photoperiod and temperature on the larval behavioral diapause of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Journal of medical entomology**, Honolulu, v. 46, n. 6, p. 1303-1309, 2009.
- CHAPMAN A. S. *et al.* Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis-United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. **MMWR. Recommendations and Reports: Morbidity and Mortality Weekly Report. Recommendations and Reports**, Atlanta, v. 55, n. RR-4, p. 1-27, 2006.
- CHEN, L. F.; SEXTON, D. J. What's new in Rocky Mountain spotted fever? **Infectious Diseases Clinics of North America**, Philadelphia, v. 22, n. 3, p. 415-432, 2008.
- COLWELL, D. D.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Vector-borne parasitic zoonoses: emerging scenarios and new perspectives. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 182, n. 1, p. 14-21, 2011.
- CUNHA, N. C. *et al.* First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 2, p. 105-108, 2009.
- DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **Lancet Infectious Diseases**, Philadelphia, v. 7, n. 11, p. 724-732, 2007.

DANTAS-TORRES, F. Ticks on domestic animals in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 22-28, 2009.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Ticks infesting wildlife species in northeastern Brazil with new host and locality records. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 47, n. 6, p. 1243-1246, 2010.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Exposure of small mammals to ticks and rickettsiae in Atlantic Forest patches in the metropolitan area of Recife, North-eastern Brazil. **Parasitology**, London, v. 139, n. 1, p. 83-91, 2012.

DANTAS-TORRES, F. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: the butterfly effect. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, Oxford, v. 4, n. 3, p. 452-461, 2015.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Sand fly population dynamics and cutaneous leishmaniasis among soldiers in an Atlantic forest remnant in northeastern Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 11, n. 2, p. e0005406, 2017. Disponível em <<https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005406>> Acesso em: 20 jan. 2018;

DANTAS-TORRES, F. **Vista dorsal de um macho de *Amblyomma sculptum***. Recife, 2017. Uma fotografia color.

DANTAS-TORRES, F. **Vista dorsal de uma fêmea de *Amblyomma sculptum***. Recife, 2017. Uma fotografia color.

DANTAS-TORRES, F. **Vista dorsal de um macho de *Amblyomma dubitatum***. Recife, 2017. Uma fotografia color.

DANTAS-TORRES, F. **Vista dorsal de uma fêmea de *Amblyomma dubitatum***. Recife, 2017. Uma fotografia color.

DAUMAS, R. P. *et al.* Interobserver agreement on signs and symptoms of patients with acute febrile illness. **Infection**, Berlim, v. 39, n. 2, p. 135-140, 2011.

DE ALMEIDA, D. N. *et al.* Fatal spotted fever group rickettsiosis due to *Rickettsia conorii conorii* mimicking a hemorrhagic viral fever in a South African traveler in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 1, n. 3, p. 149-150, 2010.

DEMMA, L. J. *et al.* Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 353, n. 6, p. 587-594, 2005.

DE OLIVEIRA, S. V. *et al.* Vigilância de ambientes da febre maculosa: explorando as áreas silenciosas do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeuav, v. 7, n. 3, p. 65-72, 2016.

DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted fever in Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 1, n. 2, p. 103-108, 1939.

DUMLER, J. S. *et al.* Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.

DURÃES, L. S. *et al.* **Biodiversidade de potenciais vetores de Rickettsias em áreas de vulnerabilidade para febre maculosa no município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.** 2015. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2015.

ELDIN, C.; PAROLA, P. Rickettsioses as causes of CNS infection in southeast Asia. **The Lancet Global Health**, Philadelphia, v. 3, n. 2, p. 67-68, 2015.

EREMEEVA, M; DASCH, G. A. Rickettsiae. In: LEDERBERG, J. **Encyclopedia Microbiology**, New York: Elsevier, 2000. v. 4, p. 140-180.

ESTRADA-PEÑA, A.; DE LA FUENTE, J. The ecology of ticks and epidemiology of tick-borne viral diseases. **Antiviral research**, Amsterdam, v. 108, p. 104-128, 2014.

FERREIRA, G. M. O. G. *et al.* Febre Maculosa: uma análise epidemiológica dos casos em Pernambuco cadastrados no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 52. 2016. Maceió. Anais... Maceió: SBMT, 2016. Disponível em: <<http://www.sbmt.org.br/medtrop2016/wp-content/uploads/2016/11/8388-Febre-Maculosa-uma-ana%CC%81lise-epidemiolo%CC%81gica-dos-casos.....pdf>>. Acesso em: 13 ago.2017.

GIANIZELLA, S. L. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) of the state of Amazonas, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 74, n. 2, p. 177-183, 2018.

GILLESPIE, J. J. *et al.* *Rickettsia* phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. **PloS One**, San Francisco, v. 3, n. 4, p. e2018, 2008. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0002018>. Acesso em: 22 mai. 2018.

GUEDES E. *et al.* Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 841-845, 2005.

GUEDES, E.; LEITE, R. C. Dinâmica sazonal de estádios de vida livre de *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) numa área endêmica para febre maculosa, na região de Coronel Pacheco, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 17, n. 1, p. 78-82, 2008.

GUGLIELMONE, A. A. *et al.* Ticks (ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 40, n. 2, p. 83-100, 2006.

- HARRUS, S.; BANETH G. Drivers for the emergence and re-emergence of vector-borne protozoal and bacterial diseases. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 35, n. 11-12, p. 1309-1318, 2005.
- HIDALGO, M. *et al.* Rocky mountain spotted fever, Colombia. **Emerging infectious diseases**, Atlanta, v. 13, n. 7, p. 1058, 2007.
- IBGE. Amaraji. In: _____. **Cidades**. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/amaraji>>. Acesso em 20 jan. 2018.
- JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, London, v. 129, p. S3-14, 2004.
- KRAWCZAK, F. S. *et al.* Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasites and Vectors**, London, v. 7, n. 1, p. 7, 2014.
- KRAWCZAK, F.S. *et al.*, *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest infection in a human patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 95, n. 3, p. 551-553, 2016.
- LABRUNA, M. B. *et al.* Larval behavioral diapause regulates life cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 40, n. 2, p. 170-178, 2003.
- LABRUNA, M. B. *et al.* *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 42, n. 1, p. 90-98, 2004.
- LABRUNA, M. B. *et al.* Human parasitism by the capybara tick, *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). **The American Entomological Society**, Washington, v. 118, n. 1, p. 77-80, 2007.
- LABRUNA, M. B. Ecology of rickettsia in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1166, n. 1, p. 156-166, 2009.
- LABRUNA, M. B. *et al.* Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, Córdoba, v. 16, n. 2, p. 2435-2457, 2011.
- LADO, P. *et al.* First molecular detection of *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma tigrinum* and *Amblyomma dubitatum* ticks from Uruguay. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 660-662, 2014.
- LEMOS, E. R. S. *et al.* Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, p. 477-481, 1997.
- LEMOS, E. R. S. Diseases in Brazil. **Virus Reviews and Research**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 7-16, 2002.

- LUGARINI, C. *et al.* Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 6, n. 3, p. 364-375, 2015.
- MARTINS, T. F. *et al.* Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescriptions, and identification key. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 1, n. 2, p. 75-99, 2010.
- MARTINS, T. F. *et al.* Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (*sensu lato*) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (*sensu stricto*). **Parasites and Vectors**, London, v. 9, n. 1, p. 186, 2016.
- MAXEY, E.E. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. **Medical Sentinel**, Kutaisi, v.7, p.433-438, 1899.
- MEDEIROS, A. P. *et al.* Spotted fever group Rickettsia infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 8, p. 926-930, 2011.
- MELO, M.F. **Armadilha de gelo seco em um dos pontos de coleta no CIMNC**. Paudalho, 2016. Uma fotografia color.
- MORAES-FILHO, J. *et al.* New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 9, n. 1, p. 73-78, 2009.
- MUÑOZ-LEAL, S. *et al.* Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: Ornithodoros) associated with stream-breeding frogs (Anura: Cycloramphidae: Cycloramphus) in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 8, n. 5, p. 682-692, 2017.
- NAVA, S. *et al.* Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 51, n. 4, p. 335-351, 2010.
- NAVA, S. *et al.* Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 3, p. 252-276, 2014.
- NIERI-BASTOS, F. A. *et al.* Candidatus *Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 109, n. 2, p. 259-261, 2014.
- NIERI-BASTOS, F. A. *et al.* Phylogenetic evidence for the existence of multiple strains of *Rickettsia parkeri* in the New World. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 84, n. 8, p. e02872-17, 2018.

NUNES, E. C. *et al.* *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 110, n. 8, p. 1058-1061, 2015.

OGRZEWALSKA, M. *et al.* Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, London, v. 139, n. 10, p. 1283-1300, 2012.

OGRZEWALSKA, M. *et al.* Rickettsial infections, *Bartonella* infections and Coxiellosis. In: MARCONDES, C. B. **Arthropod Borne Diseases**. 1. ed. New York: Springer, 2017. cap.12, p. 171-192.

OLIVEIRA, P. R. *et al.* Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 92, n. 4, p. 295-301, 2000.

OLIVEIRA, P. R. *et al.* Biologia e controle de *Amblyomma cajennense*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 13, n. s1, p. 118-122, 2004.

OLIVEIRA, S. V. *et al.* Vigilância de ambientes da febre maculosa: explorando as áreas silenciosas do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, Ananindeua, v. 7, n. 3, p. 65-72, 2016.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F.; LOGIUDICE, K. Community ecology meets epidemiology: the case of Lyme disease. In: LOGIUDICE, K.; RAY, C., **Disease Ecology: community structure and pathogen dynamics**. Oxford: Oxford University Press, 2006. cap. 3, p. 28-40.

PACHECO, R. C. *et al.* Pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 3, p. 351-353, 2009.

PADDOCK, C. D. *et al.* *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 38, n. 6, p. 805-811, 2004.

PAJUABA NETO, A. A. *et al.* Influence of microhabitat use and behavior of *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma dubitatum* nymphs (Acari: Ixodidae) on human risk for tick exposure, with notes on *Rickettsia* infection. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 67-71, 2018.

PARKER, R. R. *et al.* Observations on an infectious agent from *Amblyomma maculatum*. **Public Health Reports**, New York, v. 54, n. 32, p. 1482-1484, 1939.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, 18, p.719-756, 2005.

PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Reports**, Philadelphia, v. 11, n. 1, p. 40-50, 2009.

- PAROLA, P. *et al.* Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 26, n. 4, p. 657-702, 2013.
- PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre maculosa: aspectos clínico-epidemiológicos. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, v. 3, n. 12, p. 19-23, 1998.
- PEREIRA, M. C. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 37, n. 6, p. 979-983, 2000.
- PEREZ, C.A. *et al.* Carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. e suas relações com os hospedeiros em área endêmica para Febre Maculosa de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, n. 17, p. 210-217, 2008.
- PFÄFFLE, M. *et al.* The ecology of tick-borne diseases. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 43, n. 12/13, p. 1059-1077, 2013.
- PINTER, A. *et al.* Febre maculosa brasileira. BEPA, **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 3-31, 2011.
- PINTO, G. R. M. *et al.* Detectability of capybaras in forested habitats. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 6, n. 1, p. 1-4, 2006.
- PIRANDA, E. M. *et al.* Experimental infection of *Rhipicephalus sanguineus* ticks with the bacterium *Rickettsia rickettsii*, using experimentally infected dogs. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 11, n. 1, p. 29-36, 2011.
- QUEIROGAS, V. L. *et al.* Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: Ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 57, n. 1, p. 75-82, 2012.
- RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.
- RIBEIRO, J. M. C.; VALENZUELA, J. G. Vector Biology. In: GUERRANT, R. L.; WALKER, D. H.; WELLER, P. F. **Tropical Infectious Diseases: Principles, Pathogens and Practice**. 3.ed. New York: Elsevier, 2011. cap. 8, p. 45-51,
- RIBEIRO, M. C. *et al.* The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, Amsterdam, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.
- RICKETTS, H. T. The transmission of rocky mountain spotted fever by the bite of the wood-tick (*Dermacentor occidentalis*). **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 47, n. 5, p. 358-358, 1906.
- RICKETTS, H. T. A micro-organism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain spotted fever. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 52, n. 6, p. 491-491, 1909.

- ROMER, Y. *et al.* *Rickettsia parkeri* rickettsiosis, Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 7, p. 1169, 2011.
- ROTONDANO, T. E. F. *et al.* *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. in dogs from urban areas in Paraíba state, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 211-215, 2017.
- SAHNI, S. K.; RYDKINA, E. Host-cell interactions with pathogenic *Rickettsia* species. **Future Microbiology**, London, v. 2, n. 1, p. 323-339, 2009.
- SAKAI, R. K. *et al.* Experimental infection with *Rickettsia rickettsii* in an *Amblyomma dubitatum* tick colony, naturally infected by *Rickettsia bellii*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 917-923, 2014.
- SAUER, J. R. *et al.* Tick salivary gland physiology. **Annual Review of Entomology**. Palo Alto, v. 40, p. 245-267, 1995.
- SILVA, F.J. **Vegetação típica das localidades investigadas em Amaraji**. Amaraji, 2016. Uma fotografia color.
- SILVA, A. B. *et al.* *Rickettsia rickettsii* infecting *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Latreille 1806), in high altitude Atlantic Forest fragments, Ceara State, Brazil. **Acta Tropica**, Basel, v. 173, p. 30-33, 2017.
- SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, n. 7, p. 1111-1113, 2007.
- ŠIMO, L. *et al.* The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 7, p. 281, 2017.
- SOARES, J. F. *et al.* Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 139-151, 2012.
- SOBRAL-LEITE, M. Mata do CIMNC, Pernambuco, Brasil: Levantamento físico-biótico, socioeconômico e Situação fundiária. **Mobic**, Recife, 38 p., 2011.
- SOUZA, C. E. *et al.* Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 161, n. 1-2, p. 116-121, 2009.
- SOUZA, C. E. *et al.* O papel da Capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 23, supl.1, p. 203-04, 2004.
- SOUZA, S. S. A. L. *et al.* Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para febre maculosa na região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 3, p. 887-891, 2006.

SPOLIDORIO, M. G. *et al.* Survey for tick-borne zoonoses in the state of Espírito Santo, southeastern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 83, n. 1, p. 201-206, 2010.

SPOLIDORIO, M.G. *et al.* Rickettsial infection in ticks collected from road-killed wild animals in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 49, n. 6, p. 1510-1514, 2012.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) on Small Red Brocket Deer (*Mazama bororo* Duarte) along Deer Trails in the Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 11, p. 41-45, 2006.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: Ixodidae) in the natural habitat of wild Marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 143, n. 2, p. 147-154, 2007.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 103, n. 1, p. 57-72, 2009.

SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 3, p. 27, 2013.

TOLEDO, R. S. *et al.* Dinâmica sazonal de carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) em um parque urbano da cidade de Londrina, PR. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 17, n. 1, p. 50-54, 2008.

TYERYAR, F. J. *et al.* DNA base composition of rickettsiae. **Science**, New York, v. 180, n. 4084, p. 415-417, 1973.

VENZAL, J. M. *et al.* *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 10, n. 8, p. 1493, 2004.

VERONEZ, V. A. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) within various phytophysiognomies of a Cerrado reserve in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 50, p. 169-179, 2010.

VIANNA, M. C. B. **Pesquisa de Infecção por Riquetsia do Grupo da Febre Maculosa em Humanos, Cães, Equídeos e em Adultos de Carrapatos *Amblyomma cajennense* em uma Área Endêmica do Estado de Minas Gerais.** 2002. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

VOGEL, H.; FOLEY, J.; FIORELLO, C. V. *Rickettsia africae* and Novel Rickettsial Strain in *Amblyomma* spp. Ticks, Nicaragua, 2013. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 24, n. 2, p. 385-387, 2018.

WALKER, D. H. Rickettsioses of the spotted fever group around the world. **The Journal of dermatology**, Tokyo, v. 16, n. 3, p. 169-177, 1989.

WECK, B. *et al.* Spotted Fever Group *Rickettsia* in the Pampa Biome, Brazil, 2015–2016. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 22, n. 11, p. 2014, 2016.

WECK, B. *et al.* *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma dubitatum* ticks in a spotted fever focus from the Brazilian Pampa. **Acta Tropica**, Basel, v. 171, p. 182-185, 2017.

YU, X. J.; WALKER, D. H. The Order Rickettsiales. In: DWORKIN, M., **The Prokaryotes**: an evolving electronic resource for the microbiology community. 3. ed. New York: Springer, 2003. cap 3, p. 493-527.

ZHAN, L. *et al.* Tick-borne agents in rodents, China, 2004–2006. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 15, p. 1904-1908, 2009.