UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AMÁLIA REGINA MAR BARBIERI

**Ecologia de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos em uma
reserva natural de cerrado brasileiro**

São Paulo
2016

AMÁLIA REGINA MAR BARBIERI

**Ecologia de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural
de cerrado brasileiro**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

De acordo:

Orientador

São Paulo
2016

Obs: A versão original se encontra disponível na Biblioteca da FMVZ/USP

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3283
FMVZ

Barbieri, Amália Regina Mar
Ecologia de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural de cerrado brasileiro / Amália Regina Mar Barbieri. -- 2016.
103 f. il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde animal, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna.

1. Ecologia. 2. Carrapatos. 3. Rickettsia. 4. Cerrado. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Ecologia de carrapatos e rickettsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural de Cerrado brasileiro", protocolado sob o nº 2718/2012, utilizando aves e pequenos mamíferos silvestres, sob a responsabilidade do(a) Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 28/11/2012.

We certify that the Research "Ecology of ticks and rickettsias transmitted by ticks in a brazilian savana natural reserve", protocol number 2718/2012, under the responsibility Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 11/28/2012.

São Paulo, 18 de dezembro de 2012.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: BARBIERI, Amália Regina Mar

Título: Ecologia de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural de cerrado brasileiro

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

**Ao Danilo Gonçalves Saraiva (*in memoriam*),
excelente profissional,pessoa maravilhosa e
amigo amoroso.**

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por todas as oportunidades que tem me dado.

Aos meus pais, João Getulio (*in memoriam*) e Gislaine, pela criação, pelos valores morais que me ensinaram, pelo amor incondicional, por sempre acreditarem em mim e moldarem a pessoa que sou hoje.

Ao meu filho, Lorenzo, que a cada dia faz de mim uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos, João Getulio (e família) e Vanessa, pelo amor e carinho.

Ao meu orientador Marcelo, pelos direcionamentos, ensinamentos, pela sensibilidade, flexibilidade e liberdade que dá aos orientados.

Agradeço à Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento através da bolsa de doutorado para manutenção e reserva técnica para despesas com o trabalho (Processo nº 2012/10102-2).

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro e por tornar possível a realização deste trabalho.

Ao meu “segundo orientador” Matias, pela paciência e carinho com que dedica seu tempo para ensinar com seriedade e descontração e por corrigir minha discussão.

À professora Solange pela ajuda com a correção de parte deste trabalho escrito.

Aos meus amigos, irmãos de alma, Herbert, Eveline e Monize, pelo companheirismo, amizade e força em todos os momentos.

Às Amigas Solange e Adne, pelo companheirismo, trocas de experiências e pelos momentos de descontração.

Ao amigo Danilo (*in memoriam*) companheiro de campo, quem me ensinou a amar os pequenos mamíferos e a trabalhar com eles no campo.

À Graziela Pascoli e Khelma Torga, responsáveis pelo trabalho com as aves, excelentes companheiras de coletas.

À Vanessa Ramos, Carolina Osava e Natália de Quadros por participarem e ajudarem em algumas campanhas.

Aos colegas e amigos de laboratório, Thiago, Jonas, Sebastián, Francisco e Andréa, Felipe, Igor, Diego, Marcos, Alejandro, Fernanda e Arlei, pelo companheirismo e bom relacionamento no trabalho, pelas trocas de experiências e conhecimentos.

Aos funcionários Hilda, Renato, Pedro e Márcio, por cuidar da organização e bom funcionamento dos laboratórios, nos ajudando direta e indiretamente.

À Sueli e Sheila do Labmas, pela ajuda com o sequenciamento e esclarecimento.

Aos secretários Danival, Cristina e Vanessa pela ajuda com a parte burocrática de todos os assuntos cotidianos dos alunos.

À Fundação Pró-Natureza (FUNATURA), pelo apoio e por ceder o alojamento durante as campanhas.

Ao Sr. Jacinto (Sr. Jau), guarda-parque que nos acompanhou e ajudou, principalmente com as aves, durante todas as campanhas. Por sua atenção e cuidado, seus ensinamentos sobre a região e cultura local e por compartilhar seu café todos os dias.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), pelo apoio e por autorizar a realização da pesquisa dentro do parque.

Ao professor Ricardo A. Dias por ajudar na estatística e à Gina por fazer o mapa com os pontos de coleta.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde sou doutoranda e foram desenvolvidos todos os trabalhos laboratoriais e por fornecer veículo para todas as viagens de campo.

Ao Joares May Jr. e Edsel Junior, por nos apresentar ao parque e indicar as áreas de estudo.

RESUMO

BARBIERI, A. R. M. **Ecologia de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural de cerrado brasileiro**. [Ecology of ticks and tick-borne rickettsia in a natural reserve of Brazilian cerrado]. 2016. 103 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

O Parque Nacional Grande Sertão Veredas (PNGSV) é uma das últimas reservas naturais de Cerrado do Brasil, localizada no noroeste de Minas Gerais. O presente estudo envolveu 24 meses de trabalho de campo, que incluiu oito campanhas ao parque, intervaladas de três meses, com o objetivo de determinar a ocorrência e aspectos ecológicos de carrapatos e riquetsias no meio ambiente, em pequenos mamíferos e aves. No total 8488 carrapatos foram coletados durante as campanhas. Foram coletados nas armadilhas de CO₂ 3050 carrapatos, sendo 2369 *A. sculptum*, 337 *A. parvum*, 233 *A. triste*, 13 *A. dubitatum* e 98 *Amblyomma* spp., enquanto por arraste de flanela 1998 carrapatos foram coletados, sendo 1511 *A. sculptum*, 77 *A. parvum*, 83 *A. triste*, um *A. dubitatum* e 326 *Amblyomma* spp. Foram capturados 75 pequenos mamíferos de 16 espécies, 10 pertencem à ordem Didelphimorphia e 65 à ordem Rodentia, 48 (64%) deles estavam parasitados por carrapatos, sendo 208 ninfas (114 *A. parvum*, 64 *A. triste*, 23 *A. auricularium*, quatro *A. sculptum*, um *A. dubitatum*, um *A. naponense* e um *Amblyomma* spp.) e 1358 larvas (93 *Ornithodoros mimon*, 17 *A. triste*, 14 *A. parvum*, quatro *A. auricularium*, três *A. sculptum*, um *Ixodes* spp. e 1226 larvas não identificadas). Foram capturadas 717 aves de 88 espécies, destas, 74 (10,3%) estavam parasitadas por 247 espécimes de carrapatos imaturos, sendo seis *A. sculptum*, 14 *A. parvum*, 29 *A. triste*, um *A. dubitatum*, 66 *A. nodosum* e 131 *Amblyomma* spp. Cinco isolados de *R. parkeri* foram obtidos de 12 *A. triste* e quatro isolados de *R. belli* foram obtidos de oito *A. parvum*, além de detecção molecular de *Candidatus R. andeanae* em *A. parvum* e *R. amblyommi* em *A. sculptum*. Nas duas propriedades rurais, de 36 caninos, 20 equinos e 12 bovinos inspecionados foram coletados 1186 carrapatos, sendo 639 *A. sculptum*, 58 *A. parvum*, quatro *A. triste*, 17 *A. tigrinum*, um *A. ovale*, 17 *R. sanguineus*, 177 *R. microplus*, 91 *D. nitens* e 182 do gênero *Amblyomma*. Foram coletados parasitando 21 humanos um total de 441 carrapatos, entre imaturos e adultos, sendo 333 *A. sculptum*, 64 *A. parvum*, três *A. auricularium*, dois *R. microplus* e um *D. nitens*. Sorologia foi realizada em 64 amostras, sendo que apenas 20 (31,25%) sororeagiram para algum dos seis antígenos de *Rickettsia* testados e foi observado títulos quatro vezes maiores para *R. parkeri* em dois *O. delator* e dois *C. Tener*. Os resultados mostram a riqueza de espécie de pequenos mamíferos, aves, carrapatos e riquetsias encontrados na pequena área estudada no parque. Com a sua abertura à visitação turística,

deve-se ter em mente não apenas o risco de infestação por carrapatos, mas também a infecção por, pelo menos, quatro espécies de *Rickettsia* encontradas durante a pesquisa.

Palavras-chave: Ecologia. Carrapatos. *Rickettsia*. Cerrado.

ABSTRACT

BARBIERI, A. R. M. **Ecology of ticks and tick-borne rickettsia in a natural reserve of Brazilian cerrado**. [Ecologia de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural de cerrado brasileiro]. 2016. 103 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

The Grande Sertão Veredas National Park (GSVNP) is one of the last natural reserves of Cerrado of Brazil, located in the northwest of Minas Gerais. This study involved 24 months of field work, which included eight campaigns at the park with intervals of three months, in order to determine the occurrence and ecological aspects of ticks and rickettsia on the environment, small mammals and birds. In total 8488 ticks were collected during the campaigns. Through CO₂ traps 3050 ticks were collected, being 2369 *A. sculptum*, 337 *A. parvum*, 233 *A. triste*, 13 *A. dubitatum* and 98 *Amblyomma* spp., while by dragging flannel 1998 ticks were collected, being 1511 *A. sculptum*, 77 *A. parvum*, 83 *A. triste*, one *A. dubitatum* and 326 *Amblyomma* spp. 75 small mammals of 16 species were captured, 10 belong to Didelphimorphia order and 65 to the Rodentia order, 48 (64%) of them were parasitized by ticks, being 208 nymphs (114 *A. parvum*, 64 *A. triste*, 23 *A. auricularium*, four *A. sculptum*, one *A. dubitatum*, one *A. naponense* and one *Amblyomma* spp.) and 1358 larvae (93 *Ornithodoros mimon*, 17 *A. triste*, 14 *A. parvum*, four *A. auricularium*, three *A. sculptum*, one *Ixodes* spp. and 1226 larvae unidentified). 717 birds of 88 species were captured, of these, 74 (10.3%) were parasitized by 247 specimens of immature ticks, six *A. sculptum*, 14 *A. parvum*, 29 *A. triste*, one *A. dubitatum*, 66 *A. nodosum* and 131 *Amblyomma* spp. Five isolates of *R. parkeri* were obtained from 12 *A. triste* and four isolates of *R. bellii* were obtained from eight *A. parvum*. In addition, molecular detection of *Candidatus R. andeanae* in *A. parvum* and *R. amblyommi* in *A. sculptum* in adults ticks were found. In the two farms, from 36 dogs, 20 horses and 12 bovine inspected 1186 ticks were collected, being 639 *A. sculptum*, 58 *A. parvum*, four *A. triste*, 17 *A. tigrinum*, one *A. ovale*, 17 *R. sanguineus*, 177 *R. microplus*, 91 *D. nitens* and 182 *Amblyomma* spp. Parasitizing 21 humans a total of 441 immature and adults ticks were collected, being 333 *A. sculptum*, 64 *A. parvum*, three *A. auricularium*, two *R. microplus* and one *D. nitens*. Serology was performed on 64 samples, but only 20 (31.25%) seroreacted for some of the six Rickettsia antigens tested. Titers four-fold higher to *R. parkeri* than against the other antigens were observed on two *O. delator* and two *C. tener*. The results show the richness of ticks species, of small mammals and birds species and also of *Rickettsia* species found in the studied area inside the park.

Keywords: Ecology. Ticks. Rickettsia. Cerrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Localização geográfica do Estado de Minas Gerais, do Parque Nacional Grande Sertão e dos Pontos de estudo, Brasil.....	22
Figura 2 -	Carrasco, Ponto 1, PNGSV, 2012-2014.....	23
Figura 3 -	Ponto 2, foto de uma região de transição entre a área úmida e a área seca, PNGSV, 2012-2014.....	24
Figura 4 -	Ponto 2, foto da área úmida, PNGSV, 2012-2014.....	24
Figura 5 -	Ponto 3, foto da vereda, PNGSV, 2012-2014.....	25
Figura 6 -	Pequena propriedade dentro do PNGSV, amostrada durante o estudo, 2012-2014.....	26
Figura 7 -	Armadilha de CO ₂ para coleta de carrapatos de vida livre, PNGSV, 2012-2014.....	27
Figura 8 -	Flanela para arraste e coleta de carrapatos de vida livre, PNGSV, 2012-2014.....	28
Figura 9 -	Equipe armando e colocando iscas nas armadilhas, Ponto 3, PNGSV, 2012-2014.....	29
Figura 10 -	Equipe armando rede de neblina para captura de aves, PNGSV, 2012-2014.....	30
Figura 11 -	Rede de neblina colocada no Ponto 2, entre mata de Galeria e Cerrado, PNGSV, 2012-2014.....	30
Figura 12 -	Contenção de animais para vistoria e coleta de carrapatos, PNGSV, 2012-2014.....	32
Figura 13 -	<i>Amblyomma sculptum</i> fixado no braço de humano, PNGSV, 2012-2014..	32

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, capturados em armadilhas de CO ₂ nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	39
Gráfico 2 -	Distribuição sazonal de <i>A. sculptum</i> , por estágio de vida, coletados por armadilhas de CO ₂ durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014...	40
Gráfico 3 -	Distribuição sazonal de <i>A. triste</i> , por estágio de vida, coletados por armadilhas de CO ₂ durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014...	40
Gráfico 4 -	Distribuição sazonal de <i>A. parvum</i> , por estágio de vida, coletados por armadilhas de CO ₂ durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014...	40
Gráfico 5 -	Número de carrapatos coletados por armadilhas de CO ₂ em cada um dos três Pontos e em cada uma das oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	42
Gráfico 6 -	Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, capturados por arraste de flanelas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	43
Gráfico 7 -	Distribuição sazonal de <i>A. sculptum</i> , por estágio de vida, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	44
Gráfico 8 -	Distribuição sazonal de <i>A. triste</i> , por estágio de vida, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	44
Gráfico 9 -	Distribuição sazonal de <i>A. parvum</i> , por estágio de vida, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	44
Gráfico 10 -	Número de carrapatos coletados por arraste de flanela nos cinco Pontos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	45
Gráfico 11 -	Número de <i>A. sculptum</i> , <i>A. triste</i> e <i>A. parvum</i> adultos de vida livre coletados por armadilhas de CO ₂ e por arraste de flanela nos cinco pontos escolhidos para o estudo no PNGSV, 2012- 2014.....	48
Gráfico 12 -	Distribuição sazonal de pequenos mamíferos capturados nos três pontos de estudo durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	49
Gráfico 13 -	Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	51
Gráfico 14 -	Distribuição sazonal de <i>A. sculptum</i> , por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	53
Gráfico 15 -	Distribuição sazonal de <i>A. triste</i> , por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	53
Gráfico 16 -	Distribuição sazonal de <i>A. parvum</i> , por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	53
Gráfico 17 -	Número de carrapatos coletados de pequenos mamíferos capturados em cada um dos três Pontos, nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	56
Gráfico 18 -	Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	61
Gráfico 19 -	Distribuição sazonal de <i>A. nodosum</i> , por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	61
Gráfico 20 -	Distribuição sazonal de <i>A. sculptum</i> , por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	62

Gráfico 21 -	Distribuição sazonal de <i>A. triste</i> , por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	62
Gráfico 22 -	Distribuição sazonal de <i>A. parvum</i> , por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	62
Gráfico 23 -	Número de aves capturadas em cada um dos três Pontos, nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	65
Gráfico 24 -	Número de carrapatos coletados de aves em cada um dos três pontos, nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Lista dos primers utilizados nas reações da PCR para a identificação das riquetsias nos carrapatos.....	35
Quadro 2 -	Espécies de carrapatos e fase evolutiva coletados por armadilhas de CO ₂ por ponto experimental e campanha no PNGSV, 2012-2014.....	41
Quadro3 -	Espécies de carrapatos e fase evolutiva coletados por arraste de flanela por ponto experimental e campanha no PNGSV, 2012 – 2014.....	46
Quadro 4 -	Espécie, quantidade e Ponto amostral de captura de pequenos mamíferos por campanha no PNGSV, 2012 – 2014.....	50
Quadro 5 -	Classificação das espécies e quantidade de pequenos mamíferos capturados nas oito campanhas no PNGSV e número de animais parasitados por carrapatos, 2012- 2014.....	51
Quadro6 -	Número e espécies de hospedeiros parasitados e espécies e fases evolutivas de carrapatos coletados dos pequenos mamíferos nas oito campanhas ao PNGSV, 2012 - 2014.....	54
Quadro 7 -	Classificação e número de aves capturadas por espécie e número (%) de aves parasitadas por carrapatos nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014.....	57
Quadro8 -	Número e espécies de hospedeiros parasitados e espécies e fases evolutivas e carrapatos coletados das aves nas oito campanhas ao PNGSV, 2012-2014.....	63
Quadro9 -	Número e estágio das espécies de carrapatos coletados de animais domésticos das propriedade 1 e 2 dentro do PNGSV, nas últimas seis campanhas, 2012-2014.....	67
Quadro 10 -	Espécie, número e estágio de carrapatos coletados de humanos em cada campanha no PNGSV, 2012-2014.....	69
Quadro11 -	Espécies e número de carrapatos submetidos ao teste de hemolinfa e número de amostras consideradas positivas, PNGSV, 2012-2014.....	70
Quadro 12 -	Espécies de carrapatos e quantidade submetidos à técnica de isolamento e número e espécies de riquetsias molecularmente caracterizadas. PNGSV, 2012-2014.....	71
Quadro13 -	Número e espécies de carrapatos adultos coletados no PNGSV, amostras submetidas ao teste de hemolinfa e amostras mantidas à -80°C, amostras submetidas à PCR e positivos, amostras submetidas ao isolamento e isoladas, 2012-2014.....	71
Quadro 14 -	Sororeatividade de amplitude de títulos contra seis espécies de <i>Rickettsia</i> dos pequenos mamíferos do PNGSV, 2012-2014.....	72

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	OBJETIVOS.....	21
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1	ÁREA DE ESTUDO.....	22
3.2	COLETA DE CARRAPATOS DO AMBIENTE.....	26
3.2.1	Armadilhas de CO₂.....	27
3.2.2	Arraste de flanela.....	27
3.3	CAPTURA DOS ANIMAIS E COLETA DE CARRAPATOS E DE AMOSTRAS DE SANGUE.....	28
3.3.1	Pequenos Mamíferos.....	28
3.3.2	Aves.....	29
3.4	COLETA DE CARRAPATOS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS.....	31
3.5	COLETA DE CARRAPATOS DE HUMANOS.....	32
3.6	IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE CARRAPATOS.....	33
3.7	SAZONALIDADE DE CARRAPATOS.....	33
3.8	DETECÇÃO DE <i>Rickettsia</i> NOS CARRAPATOS.....	34
3.8.1	Teste de hemolinfa.....	34
3.8.2	Extração do DNA.....	34
3.8.3	Reação em Cadeia pela Polimerase.....	34
3.8.4	Eletroforese.....	36
3.8.5	Purificação de Nucleotídeos.....	36
3.8.6	Sequenciamento e Análise das sequências.....	36
3.8.7	Isolamento de <i>Rickettsia</i> em cultivo celular e caracterização molecular.....	37
3.9	REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.....	38
3.10	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
4	RESULTADOS.....	39
5	DISCUSSÃO.....	74
6	CONCLUSÕES.....	84
	REFERÊNCIAS.....	85
	APÊNDICE.....	100
	ANEXOS.....	102

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado, uma formação do tipo savana tropical, é considerado um dos 35 “hotspots” da biodiversidade global, ou seja, é uma região que apresenta riqueza de espécies endêmicas e grande ameaça à integridade da vegetação, particularmente degradada pelas atividades humanas (CINCOTTA; WISNEWSKI; ENGELMAN, 2000; SLOAN et al., 2014). Segundo Coutinho (2006) o Cerrado não é um único bioma e sim um complexo de biomas e Batalha (2011) concorda com esta classificação, salientando que o domínio do cerrado é bastante diversificado, apresentando desde formas campestres bem abertas, como os campos limpos de cerrado, várzeas, campos rupestres e até formas relativamente densas, florestais, como os cerradões (COUTINHO, 1978).

O Cerrado estende-se por uma grande área contínua no Brasil Central e ocorre, também, em áreas descontínuas ao sul e ao norte do país. Segundo Ribeiro e Walter (1998) o Cerrado apresenta onze fitofisionomias principais que foram agrupadas da seguinte forma: formações savânicas (cerrado sentido restrito, parque de cerrado, palmeiral e vereda), formações florestais (mata ciliar, mata de galeria, mata seca e cerradão) e formações campestres (campo rupestre, campo sujo e campo limpo), podendo ocorrer alguns subtipos. Algumas áreas disjuntas de Cerrado estão dispersas na floresta úmida nos Estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima e são conhecidas como savanas amazônicas (PRANCE, 1996). Segundo dados do IBGE (2004), o Cerrado tem uma extensão aproximada de 2.036.448 Km² ocupando uma área total de 23,92% do território brasileiro, perdendo em tamanho apenas para a floresta Amazônica. Esta formação ocupa todo o Distrito Federal, e nos demais Estados ocupa mais da metade do seu território: Goiás (97%), Maranhão (65%), Mato Grosso do Sul (61%), Minas Gerais (57%) e Tocantins (91%). O Cerrado possui relevo plano a suavemente ondulado. Cerca de 50% de sua área situa-se em altitudes que variam entre 300 e 600 m acima do nível do mar; apenas 5,5% vão além de 900 m.

Segundo Marinho-Filho, Rodrigues e Juarez (2002), uma vasta diversidade de mamíferos é encontrada no cerrado, com 30 famílias, 9 ordens e 194 espécies, sendo que destas 18 são endêmicas dessa região, fazendo do Cerrado o terceiro maior bioma brasileiro, depois da Amazônia e Mata Atlântica, quanto à riqueza de espécies, seguido pela Caatinga e Pantanal.

Com apenas 2,2% de sua área protegida, o Cerrado está mais ameaçado que a floresta Amazônica, perdendo seu território para a agricultura e pastagens (MARRIS, 2005). Esta

formação brasileira tornou-se, um pólo econômico de grande relevância em função do rápido avanço agrícola acompanhado de uma crescente pressão urbana. Tais mudanças diminuem áreas naturais, mas intensificam o contato do homem e de animais domésticos com vários patógenos dos ecossistemas originais como, por exemplo, os carrapatos (KNIGHT, 1992), pouco estudados neste vasto ecossistema.

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos de grande importância médico-veterinária, por poderem causar danos diretos a seus hospedeiros durante o parasitismo e por serem vetores de uma infinidade de agentes patogênicos, tais como vírus, bactérias, fungos e helmintos, para humanos e animais, além de poderem causar irritação local, alergia, toxicose e paralisia (JONGEJAN; UILENBERG, 2004). Considera-se que nenhum outro grupo de ectoparasita, incluindo os mosquitos, possa transmitir uma variedade tão grande de patógenos para os animais e humanos (OLIVER, 1989). Além dessa grande importância médico-veterinária, estudos com enfoque bioquímico e molecular de carrapatos têm resultado na descoberta de diversas substâncias bioativas, derivadas especialmente da saliva e do intestino desses parasitos, com potenciais usos quimioterápicos (RIBEIRO et al., 2006, BATISTA et al., 2008). Dada a sua enorme importância, os carrapatos estão entre os parasitos mais pesquisados em todo o mundo, porém com uma clara concentração de pesquisas no hemisfério Norte, especialmente nos Estados Unidos e Europa, onde tradicionalmente existe maior disponibilidade de recursos financeiros e humanos. Por esta razão, a enorme lista mundial de patógenos transmitidos por carrapatos contempla pouquíssimos agentes de ocorrência reconhecida na América do Sul, onde há relativamente poucos estudos (DE LA FUENTE et al., 2008; LABRUNA et al., 2011a). Neste contexto, o presente estudo foi delineado visando contribuir com informações relativas aos carrapatos e riquetsias transmitidas por estes em uma área de reserva natural de Cerrado.

Em um levantamento geral realizado por Dantas-Torres, Onofrio e Barros-Battesti (2009), a fauna brasileira de carrapatos estava constituída por 61 espécies estabelecidas, sendo 44 pertencentes à família Ixodidae e 17 pertencentes à família Argasidae. No entanto, recentes estudos de sistemática de carrapatos do Brasil descreveram três novas espécies de argasídeos, *Carios fonsecai* Labruna e Venzal no Mato Grosso do Sul (LABRUNA; VENZAL, 2009), *Nothoaspis amazoniensis* Nava, Venzal & Labruna na Amazônia (NAVA et al., 2010) e *Ornithodoros cavernicoulous* Dantas-Torres, Venzal e Labruna em diferentes estados do país (DANTAS-TORRES et al., 2012). Em adição, a espécie *Ornithodoros marinkellei* Kohls, Clifford & Jones foi relatada no Brasil, em um trabalho que descreveu, pela primeira vez, os estágios de macho, fêmea e ninfa desta espécie rara de argasídeo na Amazônia brasileira

(LABRUNA et al., 2011b). Recentemente, a fauna ixodídica foi descrita por estar composta de 66 espécies, sendo 45 da família Ixodidae e 21 Argasidae (MARTINS et al., 2014; NAVA et al., 2014a). Krawczak et al. (2015) descreveram uma nova espécie encontrada no sul do Brasil, *Amblyomma yucumense*, aumentando para 67 o número de espécies de carrapatos no país, sendo 46 pertencentes à família Ixodidae.

Seguramente, este número está subestimado e, considerando a extensão do Brasil e sua diversidade de biomas e ecossistemas, é de se esperar que mais espécies novas ainda serão descobertas; espera-se que essas espécies sejam descobertas antes de sua possível extinção, que por ventura venha a ocorrer juntamente com a destruição de seu habitat e a co-extinção de seus principais hospedeiros, especialmente naqueles ambientes mais ameaçados do país, tais como a Caatinga, o Cerrado e a Mata Atlântica. Algumas pesquisas realizadas em regiões de Cerrado encontraram carrapatos das espécies *Amblyomma ovale* Koch 1844, *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888, *Amblyomma tigrinum* Koch, 1844, *Dermacentor nitens* Neumann, 1897 e *Rhipicephalus microplus* Canestrini, 1888 (MARTINS et al., 2015), *Amblyomma nodosum* Neumann, 1899, *Amblyomma longirostre* Koch, 1844, *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (TOLESANO-PASCOLI et al., 2010; TORGA et al., 2013), *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899 (PASCOAL et al., 2013) e *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 (SZABÓ, OLEGÁRIO, SANTOS, 2007a), sendo estes encontrados tanto em hospedeiros domésticos e selvagens quanto em vida livre.

As bactérias do gênero *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) são cocobacilos Gram-negativos, intracelulares obrigatórios e aeróbicos (OLANO, 2005; SAHNI; RYDKINA, 2009), associados a vetores invertebrados e causadores de zoonoses (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005; RAOULT et al., 2005). As riquetsias estão distribuídas mundialmente, e os vetores artrópodes são os responsáveis pela manutenção destas na natureza, sendo estes agentes capazes de infectar hospedeiros vertebrados e, assim, infectar novos vetores (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005).

Até 2001, a bactéria *Rickettsia rickettsii* (agente etiológico da febre maculosa brasileira) era o único agente conhecido de zoonose transmitido por carrapatos no Brasil. Estudos mais recentes nos Estados de São Paulo, Rondônia (Amazônia) e Santa Catarina, descreveram diferentes espécies de riquetsias em carrapatos no país, sendo algumas patogênicas e outras de patogenicidade desconhecida (BARROS-BATTESTI et al., 2006; LABRUNA, 2009; SABATINI et al., 2010; LABRUNA et al., 2011a; SPOLIDORIO et al., 2010; SZABÓ et al., 2013; BARBIERI et al., 2014). O mesmo se passa com carrapatos de ambientes silvestres, que vêm assumindo importância cada vez maior em decorrência de

descobertas de novos patógenos, especialmente protozoários e riquetsias, associados a eles. Em algumas espécies de carrapatos que ocorrem no Cerrado já foi demonstrada a infecção por riquetsias, como por exemplo *Candidatus Rickettsia andeanae*, um agente de patogenicidade desconhecida, infectando *A. parvum* (NIERI-BASTOS et al., 2014), *Rickettsia amblyommii*, outra bactéria de patogenicidade desconhecida, infectando *A. sculptum* (NUNES et al., 2015) e *Rickettsia parkeri*, um agente patogênico, infectando *A. triste* (SILVEIRA et al., 2015; MELO et al., 2015). Tais descobertas alertam para uma possível emergência de novas zoonoses transmitidas por carrapatos, em consequência das severas alterações de caráter antrópico em ambientes naturais, assim como foi visto com a emergência da doença de Lyme, anaplasmose, erliquiose e babesiose humana nos Estados Unidos e Europa nos últimos 40 anos (OSTFELD; KEESING, 1999). Desta forma, o estudo de patógenos transmitidos por carrapatos é extremamente importante, seja em ambientes alterados ou em ambientes preservados, como o do Parque Nacional Grande Sertão Veredas (PNGSV).

De acordo com o Plano de Manejo: Parque Nacional Grande Sertão Veredas (Parna-GSV) (BRASIL, 2003), o parque foi criado em 1989 e situa-se no noroeste do Estado de Minas Gerais na divisa com a Bahia, com sede localizada no município de Chapada Gaúcha-MG. Possui uma área de 230.853,42 hectares e é administrado pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). O clima da região é característico da Savana do Centro-Oeste, com condições sub-úmidas, com época seca no inverno e chuvas no verão. As temperaturas médias anuais estão em torno de 23°C, com as máximas alcançando 37-40°C e as mínimas de 16-19°C, de acordo com o plano de manejo do parque. O nome do parque é uma homenagem a João Guimarães Rosa, um dos maiores escritores da literatura brasileira, cuja passagem pela região na década de 50 resultou na obra-prima “Grande Sertão: Veredas”, na qual o escritor destaca a realidade regional e a luta dos sertanejos com riqueza de detalhes e sensibilidade.

O parque preserva parte do planalto chamado Chapadão Central, que divide as bacias dos rios São Francisco e Tocantins. A vegetação é dominada pelo Cerrado, fazendo do parque o maior do país com essa predominância. Segundo o plano de manejo, foram identificadas no parque as fitofisionomias Cerrado sentido restrito (denso e típico), cerradão, cerrado ralo, carrasco, vereda, mata de galeria, formações campestres (campo sujo e campo limpo) e agricultura/pastagens artificiais, apresentadas no Anexo A. As matas de galeria ocorrem às margens dos rios, onde podem ser encontrados muitos buritis. Quantitativamente, a riqueza de fauna vertebrada do parque concentra-se nas fitofisionomias de vereda, mata ciliar e cerrado. Durante a elaboração do plano de manejo foram realizados estudos sobre a fauna no parque,

com encontro de 22 espécies de anfíbios, 31 espécies de répteis e 244 espécies de aves. Segundo o inventário da mastofauna, foram registradas dez ordens de mamíferos de 56 espécies incluindo *Ozotoceros bezoarticus* (veado campeiro), *Blastoceros dichotomus* (cervo do pantanal), *Myrmecophaga tridactyla* (tamanduá-bandeira), *Priodontes maximus* (tatu canastra), *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará), *Pecari tajacu* (cateto), *Tayassu pecari* (queixada), *Panthera onca* (onça-pintada), populações residentes de *Tapirus terrestris* (anta), dentre várias outras espécies (BRASIL, 2003). Com relação aos pequenos mamíferos, foram registradas 21 espécies de quatro ordens, dentre eles *Trichomys apereoides*, *Galea spixii* e *Gracilinanus agilis*. No entanto, no tocante a fauna de carrapatos do parque nenhum estudo foi realizado até o momento.

2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo determinar a ocorrência de carrapatos e riquetsias transmitidas por carrapatos no Parque Nacional Grande Sertão Veredas.

Para tanto o projeto contemplou:

- estudo da diversidade de carrapatos;
- estudo da diversidade e isolamento de riquetsias;
- diversidade de carrapatos da avifauna;
- diversidade de carrapatos de pequenos mamíferos;
- sazonalidade de carrapatos;
- infestação de carrapatos nos animais domésticos dentro do parque;
- avaliação da infestação humana durante as campanhas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ÁREA DO ESTUDO

Segundo o plano de manejo do PNGSV, o clima no parque é quente, tropical semiúmido. A temperatura média anual fica em torno de 23°C, a máxima podendo chegar a 40°C e a mínima média de 16°C. O regime de chuvas é tropical, com duas estações bem marcadas, o período de chuvas prevalece no verão, de novembro a março, enquanto o período seco tem início em maio e dura até outubro, com umidade relativa do ar variando de 70 à menos de 35%.

Para o presente estudo foram escolhidas inicialmente três áreas no PNGSV (Figura 1), aqui denominadas como Ponto 1, 2 e 3, apresentando duas fitofisionomias distintas:

Figura 1 – Localização geográfica do Estado de Minas Gerais, do Parque Nacional Grande Sertão Veredas e dos Pontos de estudo, Brasil

P1 = Ponto 1, Carrasco; P2 = Ponto 2, Vereda; P3 = Ponto 3, Vereda; P4 = Ponto 4, Cerrado; P5 = Ponto 5, mata; PP1 = Propriedade rural 1; PP2 = Prop. rural 2

Ponto 1: Carrasco, caracterizado pelo predomínio de plantas arbustivas e lianas com densidade elevada dificultando a penetração humana. Vegetação arbórea predominante de Cerrado sentido restrito, porém apresentando porte menor que o normalmente encontrado e apresentando alguns elementos de caatinga (Anexo B). Presença de árvores inclinadas, tortuosas, com ramificações retorcidas e irregulares, e com evidências de queimadas. As plantas lenhosas apresentam troncos com cascas grossas de cortiça, folhas rígidas e coriáceas, características essas que demonstram adaptação às condições de seca e queimadas. Localizada à 781 metros de altitude e $15^{\circ} 18' 0,3''$ S $45^{\circ} 49' 11,3''$ W (Figura 2).

Figura 2 - Carrasco, Ponto 1, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

Ponto 2: Vereda, caracterizada pela presença do buriti *Mauritia flexuosa* em meio à espécies arbustivo-herbácea, circundada por campos limpos, seguindo um curso d'água, solo hidromórficos, saturados por água durante a maior parte do ano e com a presença de uma pequena área de mata de galeria em torno d'orvalho. Localizada à 729 metros de altitude e $15^{\circ} 18' 39,3''$ S $45^{\circ} 53' 8,1''$ W (Figuras 3 e 4);

Figura 3 - Ponto 2, foto de uma região de transição entre a área úmida e a área seca, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

Figura 4—Ponto 2, foto da área úmida, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

Ponto 3: Vereda, definida pelas mesmas características do ponto 2, exceto por ser uma área de menor tamanho, curso d'água menos volumoso e pela ausência de mata de galeria ao redor deste. Localizada à 786 metros de altitude e 15° 20' 15,2'' S 45° 48' 48,5'' W (Figura 5).

Figura 5 -Ponto 3, foto da vereda, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

Essas áreas foram amostradas em paralelo, sob os mesmos procedimentos metodológicos, a cada três meses durante dois anos consecutivos, totalizando oito campanhas de campo. Desta forma, todos os procedimentos descritos a seguir referem-se a todas as áreas amostradas em cada uma das oito visitas ao parque.

Adicionalmente, somente para a coleta de carrapatos pela técnica de arraste de flanela, que será descrita adiante, foram incluídos os Ponto 4 ($15^{\circ} 20' 45,5''$ S, $45^{\circ} 48' 32,7''$ W, 794 metros de altitude), área de cerrado com cobertura vegetal sombreando o solo, porém bem seco e sem curso d'água, portanto não inundável e Ponto 5 ($15^{\circ} 20' 50,8''$ S, $45^{\circ} 48' 28,2''$ W, 792 metros de altitude), área de mata mais extensa, com árvores mais altas, muito sombreada e inundável com muitas raízes de árvores expostas, e pouquíssima cobertura vegetal rasteira (arbustos ou capim).

Complementarmente, duas pequenas propriedades rurais dentro do parque: Propriedade 1 $15^{\circ} 23' 16,3''$ S, $45^{\circ} 53' 03,4''$ W, 776 metros de altitude e Propriedade 2 $15^{\circ} 23' 10,48''$ S, $45^{\circ} 52' 36,17''$ W, 772 metros de altitude, ambas com a presença humana e de seus animais domésticos, foram visitadas uma vez a cada campanha, a partir da terceira campanha (primavera de 2012) e carrapatos foram coletados destes animais afim de verificar a fauna ixodídica (Figura 6).

Figura6–Pequena propriedade dentro do PNGSV, amostrada durante o estudo, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

As campanhas de captura de animais e coleta de amostras foram realizadas nas seguintes datas:

Primeira campanha: de 10 a 07 de maio de 2012 (outono)

Segunda campanha: de 30 de julho a 03 de agosto de 2012 (inverno)

Terceira campanha: de 14 a 18 de novembro de 2012 (primavera)

Quarta campanha: de 17 a 21 de fevereiro de 2013 (verão)

Quinta campanha: de 14 a 18 de maio de 2013 (outono)

Sexta campanha: de 01 a 04 de setembro de 2013 (inverno)

Sétima campanha: de 12 a 16 de novembro de 2013 (primavera)

Oitava campanha: 03 a 10 de fevereiro de 2014 (verão).

3.2 COLETA DE CARRAPATOS DO AMBIENTE

Nas visitas a cada uma das três áreas, carrapatos foram colhidos do ambiente através de armadilhas de gelo seco, CO₂ usado como atrativo, e arraste de flanela, conforme previamente descrito (SZABÓ et al., 2009; TERASSINI et al., 2010).

3.2.1 Armadilhas de CO₂

Em cada área, foram utilizadas 30 armadilhas de gelo seco (50x50cm), espaçadas pelo menos a 10 metros, deixadas por um período de 1 hora, perfazendo um esforço de captura total de 720 armadilhas (Figura 7).

Figura7 - Armadilha de CO₂ para coletade carrapatos de vida livre, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Matias Pablo Juan Szabó (2012)

3.2.2 Arraste de flanela

Nos cinco pontos determinados, foi considerado o esforço de captura de três investigadores arrastando uma flanela (1m largura/2m comprimento) cada (Figura 8), por um período de 20 minutos cada e o esforço de captura foi calculado:

E.C. = 3 investigadores x 20 minutos x [(4 pontos x 2 campanhas) + (5 pontos x 6 camp.)]

Figura 8 - Flanela para arraste e coleta de carrapatos de vida livre, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Matias Pablo Juan Szabó (2012)

Todos os carrapatos imaturos (larvas e ninfas) foram conservados em álcool absoluto, ao passo que os carrapatos adultos foram mantidos vivos e posteriormente levados ao laboratório para testes de detecção e isolamento de riquetsias (métodos descritos a seguir).

3.3 CAPTURA DOS ANIMAIS E COLETA DE CARRAPATOS E DE AMOSTRAS DE SANGUE

3.3.1 Pequenos mamíferos

Em cada uma das três áreas e em cada uma das oito visitas ao parque, as capturas de pequenos mamíferos foram realizadas durante quatro noites consecutivas com 60 armadilhas tipo Tomahawk[®] (9 x 9.5 x 23 cm) utilizando como iscas uma mistura de pasta de amendoim, pedaços de mortadela e abacaxi. Estas armadilhas foram colocadas a intervalos de 10-20 m entre elas, e próximas às redes de neblina para captura de aves foram montadas (Figura 9).

Figura 9 - Equipe armando e colocando iscasnas armadilhas, Ponto 3, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Matias Pablo Juan Szabó (2012)

Todos os mamíferos capturados foram anestesiados com quetamina(50mg/Kg) e xilazina(20mg/Kg),via intra-muscular, associados na mesma seringa e,posteriormente,submetidos a uma minuciosa inspeção visual para a presença de carrapatos, os quais foram colhidos e armazenados em frascos identificados e contendo álcool absoluto.Os animais capturados, quando possível, foram identificados à campo, segundo Bonvicino et al. (2008) e os primeiros dois espécimes de cada espécie foram eutanasiados, com superdosagem de anestésico e posteriormente encaminhados ao Museu de Zoologia da Pontifícia Universidade Católica-MG, para identificação taxonômica.

Também foi realizada coleta de sangue dos mamíferos, por via caudal (marsupiais), submandibular (roedores), ou intra-cardíaca (quando não possível nenhuma das duas anteriores). Os tubos foram deixados resfriados, no gelo,em repouso para permitir a coagulação do sangue e separação do soro, em seguida foram centrifugados por 10 minutos a 5.000 rpm. O soro foi separado e transferido para microtubos tipo eppendorf, que foram etiquetados e estocados a -20° C até serem testados.

3.3.2 Aves

Em cada uma das três áreas nas oito visitas ao parque, aves silvestres foram capturadas utilizando-se 10 redes de neblina de 3m x 12m, com malha de 36mm. As redes foram

dispostas em trilhas dentro das áreas amostradas, sendo que nas Veredas estas foram colocadas próximo às áreas com cursos d'água, porém fora da água (Figuras 10 e 11).

Figura 10 – Equipe armando rede de neblina para captura de aves, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Matias Pablo Juan Szabó (2012)

Figura 11 - Rede de neblina colocada no Ponto 2, entre mata de Galeria e Cerrado, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Matias Pablo Juan Szabó (2012)

Devido ao clima extremamente quente do parque, as redes foram abertas para englobar somente os horários de pico de atividade das aves, a saber, das 16h às 18h30m no primeiro

dia, e das 5h às 10h30mno segundo dia. Para o cálculo de esforço de captura foi usado como referência Roos (2010) onde:

$$E=(\text{área da rede})\times(\text{tempo de exposição})\times(\text{número de redes})$$

As vistorias das redes armadas foram feitas a cada meia-hora. Todas as aves capturadas foram anilhadas com anilhas metálicas cedidas pelo Centro Nacional de Pesquisa para a Conservação das Aves Silvestres (Cemave) (número do projeto 3437) e identificadas segundo a Lista Oficial do Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO) (2014). As aves foram classificadas quanto ao posicionamento no estrato da vegetação segundo Parker *et al.* (1996) e Antunes *et al.* (2005). Foi realizada a determinação do sexo, quando possível as aves foram minuciosamente examinadas quanto à presença de carrapatos, os quais foram colhidos e imediatamente armazenados em álcool absoluto.

A autorização para a manipulação e coleta de animais e materiais biológicos está registrada junto ao Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) sob o número 25554-3 e o projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no uso de animais, da USP sob o número 2718/2012.

3.4 COLETA DE CARRAPATOS DE ANIMAIS DOMÉSTICOS

Nas duas propriedades rurais dentro do parque (Propriedade 1 e Prop. 2) visitadas a cada campanha, os animais domésticos (caninos, equinos e bovinos) foram contidos manualmente e realizou-se inspeção visual e coleta manual dos carrapatos que foram mantidos em álcool absoluto (Figura 12).

Figura 12 – Contenção de animais para vistoria e coleta de carrapatos, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

3.5 COLETA DE CARRAPATOS DE HUMANOS

Foram coletados carrapatos que fixaram-se nos humanos (membros da equipe) durante os dois anos de campanhas, bem como anotados os locais de preferência de fixação (Figura 13).

Figura 13 – *Amblyomma sculptum* fixado no braço de humano, PNGSV, 2012-2014

Fonte: Marcelo Bahia Labruna (2012)

3.6 IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE CARRAPATOS

Os carrapatos coletados das aves, mamíferos e do ambiente foram identificados por morfologia a nível de espécie, no caso de adultos e ninfas, segundo Barros-Battesti et al. (2006) e Martins et al. (2010), respectivamente. Os carrapatos no estágio de larva foram identificados por métodos moleculares (no caso de grupo de larvas coletados de vida livre foi feito apenas uma amostra) através de extração de DNA e reação em cadeia pela polimerase (PCR) para um fragmento do gene mitocondrial 16S rDNA segundo Mangold et al. (1998). Os produtos da PCR foram sequenciados em sequenciador automático (Applied Biosystems/PerkinElmer, Foster City, CA), conforme instruções do fabricante e as sequências obtidas foram comparadas com sequências de carrapatos disponíveis no GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) para identificação da espécie.

Uma amostra de carrapatos de cada espécie foi depositada na Coleção Nacional de Carrapatos no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, da USP.

3.7 SAZONALIDADE DE CARRAPATOS

Para as espécies de carrapatos que foram amostradas em maior número, foi determinado um padrão sazonal de seus diferentes estágios pós-embrionários (larvas, ninfas e adultos), de modo a determinar a duração do ciclo de vida em condições naturais. Para tal, foram considerados tanto os dados das capturas de carrapatos do ambiente, como dos carrapatos colhidos de mamíferos e aves silvestres.

3.8 DETECÇÃO DE *Rickettsia* NOS CARRAPATOS

3.8.1 Teste de Hemolinfa

Carrapatos adultos foram submetidos ao teste de hemolinfa para verificar a presença de estruturas morfolologicamente compatíveis com *Rickettsia* em seus hemócitos de acordo com Burgdorfer (1970).

3.8.2 Extração do DNA

A extração de DNA dos carrapatos foi realizada de acordo com a técnica de Isotiocianato de Guanidina (GT) descrita por Chomkzynski (1993) e modificada por Sangioni et al. (2005).

3.8.3 Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)

A presença de riquetsia nos carrapatos foi avaliada individualmente através da amplificação de um fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*glTA*), presente em todas as espécies de riquetsias, utilizando-se par de oligonucleotídeos iniciadores (“primers”), descritas no Quadro1.

Quadro 1 - Lista dos primers utilizados nas reações da PCR para a identificação das riquetsias nos carrapatos

Gene alvo epares de primers	Especificidade	Sequência dos primers (5' → 3')	Fa (pb)	Referência
<i>gltA</i> CS-78 CS-323	Gênero <i>Rickettsia</i>	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT	401	Labruna et al., 2004b
<i>ompA</i> Rr190.70 Rr190.701	Grupoda Febre Maculosa	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA GTTCCGTTAATGGCAGCATCT	632	Roux et al., 1996; Fournier et al., 1998; Regnery et al., 1991
<i>ompB</i> 59 807	Grupoda Febre Maculosa	CCGCAGGGTTGGTAACTGCCTTTTAGAT TACCGCCTAA CCTTTTAGATTACCGCCTAA	820	Roux; Raoult, 2000
<i>htrA</i> 17K5 17K3	Gênero <i>Rickettsia</i>	GCTTTACAAAATTCTAAAAACCATATA TGTCTATCAATTCACAACCTTGCC	549	Labruna et al., 2004a

Fa – número de pares de base do fragmento amplificado

O gene da proteína externa de membrana 190-kDa (*ompA*), presente apenas nas riquetsias do GFM, foi utilizado para a confirmação da infecção nas amostras positivas na primeira reação, empregando-se oligonucleotídeos iniciadores Rr190.70 e Rr190.701 que amplificam um fragmento de aproximadamente 632 pb (REGNERY et al., 1991; ROUX; FOURNIER; RAOULT, 1996; FOURNIER; ROUX; RAOULT, 1998). Para cada reação foram utilizados controles negativos (água MilliQ livre de DNA) e positivos (*Rickettsia parkeri* cepa NOD). Para a caracterização molecular, algumas amostras foram selecionadas e submetidas à PCR para amplificação dos genes *ompB* e *htrA*.

O protocolo térmico utilizado para o fragmento de gene *gltA*, realizado em termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf®), foi o seguinte: 1 ciclo à 95°C por 5 minutos, seguidos por 40 ciclos de 30 segundos à 95°C, 30 segundos à 58°C, 40 segundos 45 à 72°C, e 7 minutos à 72°C. Para o fragmento de gene *OmpA* foi realizado o seguinte protocolo térmico: 1 ciclo à 95°C por 5 minutos, seguidos por 35 ciclos de 40 segundos à 95°C, 30 segundos à 58°C, 45 segundos à 72°C, com extensão final por 10 minutos à 72°C.

Dos isolados de carrapatos obtidos em laboratório, foi feita a extração de DNA seguida de caracterização molecular, através de sequenciamento de fragmentos dos genes *gltA*, *ompA*, *ompB* e *htrA*, conforme previamente descrito (LABRUNA et al., 2004a, b).

3.8.4 Eletroforese

Todos os produtos da PCR foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5% acrescido de 10% de corante SYBR® Safe (ThermoFisher Scientific®) e usado tampão de corrida TBE 1X pH 8,0 (44,58 M Tris-base; 0,44 M ácido bórico; 12,49 mM EDTA) à 110v/50mA. O gel era posteriormente visualizado sob luz ultravioleta (UV) em câmara escura (Alphamager®) (SAMBROOK; FRITSCH; MANIATIS, 1989). As amostras que revelavam bandas de DNA na altura do controle positivo, confirmando a amplificação de nucleotídeos, eram consideradas positivas para a reação da PCR utilizada.

3.8.5 Purificação de Nucleotídeos

Os produtos da PCR foram purificados utilizando o produto comercial ExoSAP-IT (USB Corporation), que consiste em Exonuclease I (*Exo I*) para digerir excesso de primers e Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) para degradar excesso de nucleotídeos provenientes da PCR. Para tal, em microtubo identificado colocou-se 4 µL de ExoSAP e adicionou-se 10 µL da amostra amplificada na PCR, em seguida as amostras foram colocadas no termociclador nas temperaturas de 37°C por 15 minutos e 80°C por mais 15 minutos.

3.8.6 Sequenciamento e Análise das sequências

Após a purificação os nucleotídeos estavam prontos para serem utilizados na reação de sequenciamento com o kit comercial BigDye TM Terminator (Perkin Elmer) de acordo com especificações do fabricante: 5µL de DNA purificado – concentração máxima de 100 ng, 2 µL de “Big Dye”, 1µL de oligonucleotídeos iniciadores específicos senso e anti-senso (5 pmoles/µL), e 2 µL de buffer. As amostras foram sequenciadas em sequenciador automático modelo ABI 377 (Applied Biosystem, Foster, CA), disponível no Departamento da FMVZ/USP de acordo com as instruções do fabricante.

As sequências obtidas foram editadas no computador usando o programa SeqMan (Lasergene, DNASTar, Madison, Wis.), e submetidas à análise de similaridade através do

programa Basic Local Alignment Search Tool (*BLAST two sequences analysis*) (ALTSCHUL et al., 1990) para verificar homologia com sequências correspondentes disponíveis no GenBank, e desta forma, efetuar a identificação dos produtos amplificados nas amostras testadas..

3.8.7 Isolamento de *Rickettsia* em cultivo celular e caracterização molecular

Dos carrapatos adultos positivos no teste de hemolinfa, foi realizada o isolamento de *Rickettsia* em cultivo de células Vero pelo método *shell vial*, descrita por Marrero e Raoult (1989) e adaptada por Labruna et al. (2004a1), Labruna et al. (2004a & 2007b). A manutenção em laboratório dos isolados de *Rickettsia* foi feita conforme descrito por Labruna et al. (2004a). A cada três dias, amostra do meio contendo células em suspensão foi observado para verificar a presença de estruturas compatíveis com riquetsias, através da coloração de Gimenez (GIMENEZ, 1964; LABRUNA et al., 2004a). Quando estruturas compatíveis com riquetsias foram observadas, as células do fundo do tubo foram raspadas com a ponta de uma pipeta e inoculadas em uma garrafa de 25 cm², também contendo monocamada de células Vero, na tentativa de estabelecer o isolado em laboratório. Quando negativos, os tubos continuavam incubados, sendo examinados a cada três dias, até que a monocamada estivesse naturalmente destruída. A monocamada de células Vero foi monitorada até que no mínimo 90% das células estivessem infectadas com a bactéria, realizando-se desta forma, várias passagens com altos níveis de infecção (>90%).

Uma vez estabelecido em cultivo celular, uma amostra de células infectadas foi utilizada para extração de DNA e submetida à PCR com o objetivo de amplificar fragmentos de quatro genes de *Rickettsia*: *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB*. Os *primers* para este procedimento estão discriminados no Quadro 1 e as condições da PCR foram aquelas descritas por Labruna et al. (2004a,b). Os fragmentos amplificados pela PCR foram purificados e sequenciados conforme descrito no item 3.1.6.3.

Após cada carrapato ter sido triturado e inoculado em células Vero, na etapa previamente descrita, uma alíquota desta suspensão, contendo o remanescente do carrapato, foi submetida à extração de DNA pelo método de GT e à PCR usando *primers* específicos, conforme já descrito acima.

3.9 REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

As amostras de soro foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), avaliando a quantidade de anticorpos gerados pelo estímulo de microorganismos, no caso *Rickettsia* sp. durante uma infecção ativa (GALVÃO, 1996; FONSECA; MARTINS, 2007; MORAES-FILHO et al., 2009).

Todas as amostras foram analisadas no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), onde foram processadas para RIFI (MORAES-FILHO et al., 2009) usando lâminas de antígeno produzidas no próprio laboratório, com seis riquetsias isoladas no Brasil, sendo *R. rickettsii* cepa Taiaçu (PINTER; LABRUNA, 2006), *R. parkeri* cepa At24 (SILVEIRA et al., 2007), *R. amblyommii* cepa Ac37 (LABRUNA et al., 2004a1), *R. rhipicephali* cepa HJ5 (LABRUNA et al., 2005a), *R. bellii* cepa Mogi (PINTER; LABRUNA, 2006), *R. felis* cepa Pedreira (HORTA et al., 2006), seguindo protocolo previamente descrito (LABRUNA et al., 2007a) (Pinter et al. 2008).

Foram consideradas reagentes as amostras com títulos ≥ 64 . Em cada lâmina foi utilizado soro previamente testado não reativo (controle negativo) e o sabidamente positivo (controle positivo) (PINTER et al., 2006) .

3.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas, comparando o número de carrapatos adultos das espécies *Amblyomma sculptum*, *A. triste* e *A. parvum* coletados nos Pontos 1, 2, 3, 4, e 5, foram realizadas utilizando o programa de computador SPSS versão 16.0, com nível de significância igual a 0,05 (5%). Para comparação dos carrapatos coletados nos diferentes pontos foi utilizado o teste não paramétrico Qui-quadrado, quando necessário.

4 RESULTADOS

4.1 CARRAPATOS DE VIDA LIVRE - ARMADILHAS DE CO₂

Foram coletados nas armadilhas de CO₂ um total de 3050 carrapatos, 2369 *A. sculptum*, 337 *A. parvum*, 233 *A. triste*, 13 *A. dubitatum* e 98 *Amblyomma* spp. O Gráfico 1 ilustra o número e a distribuição dos estágios de carrapatos coletados em armadilhas de CO₂ durante as oito campanhas.

Gráfico 1 - Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, capturados em armadilhas de CO₂ nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Os Gráficos 2, 3 e 4 ilustram o número e a distribuição dos estágios de *A. sculptum*, *A. triste* e *A. parvum*, respectivamente, que foram as espécies de carrapatos coletados em maior número, em armadilhas de CO₂ durante as oito campanhas.

Gráfico 2 - Distribuição sazonal de *A. sculptum*, por estágio de vida, coletados por armadilhas de CO₂ durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Gráfico 3 - Distribuição sazonal de *A. triste*, por estágio de vida, coletados por armadilhas de CO₂ durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Gráfico 4 - Distribuição sazonal de *A. parvum*, por estágio de vida, coletados por armadilhas de CO₂ durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Os gêneros e fase de vida dos carrapatos de vida livre coletados por armadilhas de CO₂ e por Ponto de coleta estão listados na Quadro 2.

Quadro 2–Espécies de carrapatos e fase evolutiva coletados por armadilhas de CO₂ por ponto experimental e campanha no PNGSV, 2012-2014

CAMPANHAS	PONTOS	ESPECIES DE CARRAPATOS			
		<i>Amblyomma</i> spp	<i>A. sculptum</i>	<i>A. parvum</i>	<i>A. dubitatum</i>
Outono 2012	1	37N	25N 49M 91F 1N 4M 7F	13N 15M 48F	
	2		28N 19M 17F		22M 17F
	3	34N	54N 72M 115F	13N 15M 48F	22M 17F
Total		71N	39N 9M 15F 10M 7F 1M	64N	
Inverno 2012	1		39N 20M 22F	64N	
	2		27N 62M 62F	47M 33F	
	3		219N 69M 59F 186N 41M 48F	1N 1M 1N 1M	1N 2M 5F 5M 3F
Total			432N 172M 169F	2N 49M 33F	1N 7M 8F
Verão 2013	1		44M 36F	18M 29F	
	2		2N 29M 24F	1M 2F	1N 6M 5F
	3	1L	1L 2N 44M 53F	2M 2F	13M 14F
Total		1L	1L 4N 117M 113F	21M 33F	1N 19M 19F
Outono 2013	1		1L 2M 3F	2M 1F	
	2		7L 2N 12M 22F		3M 4F
	3	2L 19N	5M 8F	1F	3M 1F
Total		2L 19N	8L 2N 19M 33F	2M 2F	6M 5F
Inverno 2013	1		92N 6M 1F	36N 4M 3F	
	2		96N 6M 10F		5M 12F
	3	5L	64N 10M 7F	1M	3M 2F
Total		5L	252N 22M 18F	36N 5M 3F	8M 14F
Primavera 2013	1		27N 149M 126F	1M 1F	
	2		26M 24F		4M 5F
	3		31M 37F	1M 2F	1M 1F
Total			27N 206M 187F	2M 3F	5M 6F
Verão 2014	1		42M 31F	3M 1F	
	2		21N 31M 38F		39M 45F
	3		4N 44M 54F	2F	2M 5F
Total			25N 117M 123F	3M 3F	41M 50F
Total Geral		8L 90N	9L 835N 745M 780F	115N 97M 125	2N 108M 123F

L = grupo de larvas; N = ninfas; M = machos; F = fêmeas; Ponto 1 = Carrasco; Ponto 2 = Vereda; Ponto 3 = Vereda

O Gráfico 5 mostra o número de carrapatos coletados por armadilhas de CO₂ em cada um dos pontos e em cada uma das campanhas.

Gráfico 5 - Número de carrapatos coletados por armadilhas de CO₂ em cada um dos três pontos e em cada uma das oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

O maior número de carrapatos foi coletado no Ponto 1 (1295/3050), seguido pelo Ponto 2 (888/3050) e por último o Ponto 3 (867/3050).

4.5 CARRAPATOS DE VIDA LIVRE – ARRASTE DE FLANELA

O esforço de captura calculado resultou em 38 horas de arraste. Um total de 1998 carrapatos foram coletados por arraste de flanela, sendo 1511 *A. sculptum*, 77 *A. parvum*, 83 *A. triste*, um *A. dubitatum* e 326 *Amblyomma* spp. O Gráfico 6 ilustra o número total e a distribuição dos estágios de carrapatos, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV.

Gráfico 6 - Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, capturados por arraste de flanelanas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Os Gráficos 7, 8 e 9 ilustram o número e a distribuição dos estágios de *A. sculptum*, *A. triste* e *A. parvum*, respectivamente, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas.

Gráfico 7 - Distribuição sazonal de *A. sculptum*, por estágio de vida, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Gráfico 8 - Distribuição sazonal de *A. triste*, por estágio de vida, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Gráfico 9 - Distribuição sazonal de *A. parvum*, por estágio de vida, coletados por arraste de flanela durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

O Gráfico 10 mostra o número de carrapatos coletados por arraste de flanela em cada um dos pontos e campanhas.

Gráfico 10 - Número de carrapatos coletados por arraste de flanela nos cinco pontos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

O ponto com maior número de carrapatos coletados por arraste de flanela foi o Ponto 4 (663/1998), seguido pelo Ponto 5 (456/1998), Ponto 2 (402/1998), Ponto 3 (302/1998) e por último Ponto 1 (175/1998).

O Quadro 3 apresenta o número e espécies de carrapatos coletados por arraste de flanela.

Quadro 3 – Espécies de carrapatos e fase evolutiva coletados por arraste de flanela por ponto experimental e campanha no PNGSV, 2012 – 2014

(continua)

CAMPANHAS	PONTOS	ESPÉCIES DE CARRAPATOS				
		Amblyomma spp	A. sculptum	A. parvum	A. triste	A. dubitatum
Outono 2012	1	1L 9N 1L 9N	4N 1M 3F	2M 6F	4M 9F 7M 7F 11M 16F	
	2		3L 2N 9M 6F	2M		
	3		1L 4N 4M	1M		
	4		6L 9N 6M 5F	1M 3F		
Total			10L 19N 20M 14F	6M 9F		
Inverno 2012	1	1L 25N 34N 4L 122N 5L 181N	128N 2M 1F		1F 1N 1M 1N 1M 1F	
	2		38N			
	3					
	4					
Total			166N 2M 1F			
Primavera 2012	1	1L 7L 8L	25N 10M 6F	1N 1F	1F 1N 1M 1N 1M 1F	
	2		48N 6M 6F			
	3		81N 7M 8F	5N 1M 1F		
	4		137N 26M 16F	5N 3M 6F		
	5		103N 10M 16F	1F		
Total			394N 59M 52F	11N 4M 9F		
Verão 2013	1	9M 3F 3N 3M 3F 5M 1F 1N 17M 15F 15N 24M 7F 19N 58M 29F	2F	3M 3F		
	2					
	3					
	4					
	5					
Total				3M 3F		
Outono 2013	1	7L 4L 7L 5L 23L	7M 9F	4M 4F	6M 4F 3M 4F 1F 9M 9F	1N 1N
	2		2L 2N 6M 3F			
	3		3L 20N 6M 7F	1N 1F		
	4		4L 26M 22F	4M 2F		
	5		4L 1N 23M 18F	1F		
Total			13L 23N 68M 59F	1N 8M 8F		
Inverno 2013	1	1L	7N	1N	3M 4F	
	2		82N 1F			
	3		25N			
	4		87N 1F			
	5		45N 3M 1F	2N		

(Conclusão)

CAMPANHAS	PONTOS	ESPÉCIES DE CARRAPATOS				
		Amblyomma spp	A. sculptum	A. parvum	A. triste	A. dubitatum
Total		1L	246N 3M 3F	4N	3M 4F	
Primavera 2013	1		3N 23M 12F	2M		
	2		3M 6F		1F	
	3		4M 1F			
	4	27N	14M 13F			
	5	70N	18M 15F			
Total		97N	3N 62M 47F	2M	1F	
Verão 2014	1		1M	1M 1F		
	2		3N 4M 5F		11M 3F	
	3		5M 4F		3M 1F	
	4		25M 26F	3M		
	5		38N 16M 14F	1M		
Total			41N 51M 49F	5M 1F	14M 4F	
Total geral		39L 287N	23L 911N 323M 254F	16N 30M 31F	2N 42M 39F	1N

M = machos; F = fêmeas; N = ninfas; L = grupo de larvas; Ponto 1 = Carrasco; Ponto 2 = Vereda; Ponto 3 = Vereda; Ponto 4 = Cerrado; Ponto 5 = Mata

O Gráfico 11 ilustra o total de adultos coletados de vida livre, por arraste de flanela e por amadilhas de CO₂, nos cinco pontos estudados, durante as oito campanhas.

Gráfico 11 - Número de *A. sculptum*, *A. triste* e *A. parvum* adultos de vida livre coletados por armadilhas de CO₂ e por arraste de flanela nos cinco pontos escolhidos para o estudo no PNGSV, 2012- 2014

N = número de carrapatos

A espécie com maior número de adultos coletados foi *A. sculptum*, variando de 812 a 165 exemplares coletados no ponto 1 e 5, respectivamente. Com relação ao *A. parvum*, foram coletados de 229 carrapatos no pontos 1 e 6 nos 2 e 5. *A. triste* apresentou o menor número de carrapatos adultos coletados, com 190 e 121 adultos somente nos pontos 2 e 3, respectivamente.

4.2 PEQUENOS MAMÍFEROS

O esforço de captura calculado foi de 240 armadilhas-noite por campanha em cada um dos três pontos amostrados, totalizando 5760 armadilhas durante o estudo. Foram capturados 75 pequenos mamíferos durante os dois anos de estudo e destes foram coletados carrapatos de 48 animais.

De 75 pequenos mamíferos capturados durante o estudo, 10 pertencem à ordem Didelphimorphia, família Didelphidae e 65 à ordem Rodentia, representados em sua maioria pela família Cricetidae, Echimyidae, Caviidae e Dasyproctidae, totalizando 16 espécies. Do

total de 75 indivíduos, 48 (64%) encontravam-se parasitados por carrapatos. O Gráfico 12 apresenta o número de mamíferos capturados em cada um dos pontos, nas oito campanhas.

Gráfico 12 -Distribuição sazonal de pequenos mamíferos capturados nos três pontos de estudo durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de pequenos mamíferos

As espécies e quantidade de pequenos mamíferos capturados e o Ponto amostral em cada uma das campanhas é apresentada no Quadro 4.

Quadro 4—Espécie, quantidade e Ponto amostral de captura de pequenos mamíferos por campanha no PNGSV, 2012 – 2014

CAMPANHA	ESPÉCIE PEQUENO MAMÍFERO	QUANTIDADE	PONTO
Outono 2012	<i>Didelphis albiventris</i>	1	1
	<i>Thrichomys apereoides</i>	4	2
	<i>Oxymycterus delator</i>	4	2
	<i>Monodelphis domestica</i>	1	2
	<i>Calomys tener</i>	1	3
	<i>Didelphis albiventris</i>	1	3
Inverno 2012	<i>Galea spixii</i>	1	1
	<i>D. albiventris</i>	1	1
	<i>Gracilinanus agilis</i>	1	1
	<i>O. delator</i>	4	2
	<i>T. apereoides</i>	1	2
	<i>C. tener</i>	1	2
	<i>Oligoryzomys</i> sp.	1	2
	<i>O. delator</i>	1	3
Primavera 2012	<i>G. agilis</i>	1	1
	<i>T. apereoides</i>	2	2
	<i>Dasyprocta</i> sp.	1	2
	<i>T. apereoides</i>	5	3
	<i>O. delator</i>	1	3
	<i>C. tener</i>	1	3
Verão 2013	<i>O. delator</i>	3	2
	<i>Cerradomys</i> sp.	1	2
	<i>T. apereoides</i>	1	2
	<i>T. apereoides</i>	1	3
Outono 2013	<i>O. delator</i>	6	2
	<i>T. apereoides</i>	2	2
	<i>Cerradomys</i> sp.	1	2
	<i>T. apereoides</i>	2	3
	<i>Cerradomys marinhui</i>	1	3
	<i>Rhipidomys</i> sp.	2	3
	<i>Holochilus</i> sp.	1	3
Inverno 2013	<i>Thylamys karimii</i>	2	1
	<i>Calomys</i> sp.	1	2
	<i>G. agilis</i>	2	2
	<i>Holochilus</i> sp.	2	3
	<i>Oligoryzomys</i> sp.	1	3
	<i>Rhipidomys</i> sp.	2	3
Primavera 2013	<i>T. apereoides</i>	2	2
	<i>T. apereoides</i>	2	3
	<i>Rhipidomys</i> sp.	1	3
Verão 2014	<i>O. delator</i>	3	2
	<i>Cerradomys</i> sp.	1	3
	<i>Rhipidomys</i> sp.	1	3

Ponto 1 = Carrasco; Ponto 2 = Vereda; Ponto 3 = Vereda

O Quadro 5 apresenta a classificação das espécies e o número de pequenos mamíferos capturados durante as oito campanhas e quantidade de animais com carrapatos.

Quadro 5—Classificação das espécies e quantidade de pequenos mamíferos capturados nas oito campanhas no PNGSV e número de animais parasitados por carrapatos, 2012 - 2014

ORDEM	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N CAPTURADO	N PARASITADO (%)
Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Didelphis albiventris</i>	3	3 (100)
Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Gracilinanus agilis</i>	2	1 (50)
Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Gracilinanus</i> sp	2	1 (50)
Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Monodelphis domestica</i>	1	1 (100)
Didelphimorphia	Didelphidae	<i>Thylamys karimii</i>	2	1 (50)
Rodentia	Caviidae	<i>Galea spixii</i>	1	1 (100)
Rodentia	Cricetidae	<i>Calomys</i> sp	1	1 (100)
Rodentia	Cricetidae	<i>Calomys tener</i>	3	1(33,33)
Rodentia	Cricetidae	<i>Cerradomys marinhus</i>	1	1 (100)
Rodentia	Cricetidae	<i>Cerradomys</i> sp	3	2 (66,67)
Rodentia	Cricetidae	<i>Holochilus</i> sp	3	3 (100)
Rodentia	Cricetidae	<i>Oligoryzomys</i> sp	2	1 (50)
Rodentia	Cricetidae	<i>Oxymycterus delator</i>	22	12 (54,55)
Rodentia	Cricetidae	<i>Rhipidomys</i> sp	6	1 (16,66)
Rodentia	Dasyproctidae	<i>Dasyprocta</i> sp	1	1 (100)
Rodentia	Echimyidae	<i>Thrichomys apereoides</i>	22	15 (71,43)
Total			75	48 (64)

N = número de animais

O Gráfico 13 ilustra a distribuição e o número total de carrapatos coletados dos pequenos mamíferos durante as oito campanhas.

Gráfico 13 -Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

Nenhum carrapato no estágio adulto foi coletado de pequenos mamíferos. Um baixo número de ninfas foram coletadas: no inverno de 2012 um maior número de ninfas foi encontrado (146) contrastando com o inverno de 2013 com somente um exemplar nessa fase. Para o estágio de larva, os valores variaram de sete a 554 larvas coletadas, com maior ocorrência no outono de 2012 e 2013, com 554 e 382 larvas respectivamente seguido pelo inverno de 2012 com 385 larvas e com apenas 7 larvas no inverno de 2013.

Das 208 ninfas coletadas, 114 foram identificadas como *A. parvum*, 64 *A. triste*, 23 *A. auricularium*, quatro *A. sculptum*, um *A. dubitatum*, um *A. naponense* e um *Amblyomma* sp. A identificação de algumas larvas foi feita por técnicas moleculares e das 1358 larvas 93 foram identificadas como *Ornithodoros mimon*, seguido de 17 *A. triste*, 14 *A. parvum*, quatro *A. auricularium*, três *A. sculptum* e um *Ixodes* sp., restando 1226 larvas que não foram identificadas.

Os Gráficos 14, 15 e 16 ilustram a distribuição e o número das três espécies de carrapatos mais frequentes *A. sculptum*, *A. triste* e *A. parvum*, respectivamente, obtidas de pequenos mamíferos nas oito campanhas no PNGSV.

Gráfico 14 -Distribuição sazonal de *A. sculptum*, por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

Gráfico 15 -Distribuição sazonal de *A. triste*, por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N=número de carrapatos

Gráfico 16 -Distribuição sazonal de *A. parvum*, por estágio de vida, coletados de pequenos mamíferos durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

O Quadro 6 apresenta o número de animais parasitados por campanha, as espécies e quantidade de carrapatos coletados dos pequenos mamíferos nas oito campanhas.

Quadro 6 -Número e espécies de hospedeiros parasitados e espécies e fases evolutivas e carrapatos coletados dos pequenos mamíferos nas oito campanhas ao PNGSV, 2012 – 2014

(continua)

CAMPANHAS	HOSPEDEIROS (n)	ESPÉCIES DE CARRAPATOS								
		A. sculptum	A. parvum	A. triste	A. dubitatum	A. auricularium	A. naponense	Ornithodoros mimon	Amblyomma spp.	Ixodes spp.
Outono 2012	C. tener (1)	3L 1N	1L 4N	1L		2N		69L	6L	
	D. albiventris (2)		4L	1L 2N					180L	
Total	M. domestica (1)	3L 1N	7L 9N	2L 2N		1L 7N			11L	
	T. apereoides (4)		12L 13N			1L 9N		69L	270L	
Inverno 2012	D. albiventris (1)	1N	10N	4N		5N		21L	9L	
	G. spixii (1)		63N			1N		3L	52L	
Total	Gracilinanus sp (2)		7N			1N			5L	1L
	Oligoryzomys sp (1)			11L 30N		4N			271L	
Total	O. delator (5)	1N	2L 19N	1N		11N		24L	10L	
	T. apereoides (1)		2L 99N	11L 35N					347L	1L
Primavera 2012	Dasyprocta sp (1)	1N				3L	1N		19L	
Total	O. delator (1)			8N					1L	
	T. apereoides (4)	1N		8N		3L	1N		20L	
Verão 2013	O. delator (3)			12N	1N					
Total				12N	1N					
Outono 2013	C. marinhui (1)								4L	
	Cerradomys sp (1)								13L	
Total	Holochilus sp (1)								1L	
	O. delator (2)								58L	
Total	Rhipidomys sp (1)		1N	4L 5N		1N			1L	
	T. apereoides (4)		1N	4L 5N		1N			301L	
Inverno 2013	Calomys sp (1)								378L	
	Gracilinanus sp (1)	1N							4L	
Total	Holochilus sp (1)								1L	
	Monodelphis sp (1)	1N							1L	
Primavera 2013	T. apereoides (2)		1N			2N			7L	
Total			1N			2N				

(Conclusão)

CAMPANHAS	HOSPEDEIROS (n)	ESPÉCIES DE CARRAPATOS								
		A. <i>sculptum</i>	A. <i>parvum</i>	A. <i>triste</i>	A. <i>dubitatum</i>	A. <i>auricularium</i>	A. <i>naponense</i>	<i>Ornithodoros</i> <i>mimon</i>	<i>Amblyomma</i> spp.	<i>Ixodes</i> spp.
Verão 2014	<i>O. delator</i> (2) <i>Rhipidomys</i> sp. (1)			2N 2N					7L 1N	
Total									7L 1N	
Total Geral		3L 4N	14L 114N	17L 64N	1N	4L 23N	1N	93L	1226L 1N	1L

(n)= número de animais parasitados; L= larvas; N= ninfas

O Gráfico 17 apresenta o número de carrapatos coletados de pequenos mamíferos em cada ponto e campanha.

Gráfico17 - Número de carrapatos coletados de pequenos mamíferos capturados em cada um dos três pontos, nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = numero de carrapatos de pequenos mamíferos

O Ponto 2 foi onde o maior número de pequenos mamíferos foram capturados (41/75), seguido do Ponto 3 (27/75) e por último o Ponto 1 (7/75). O mesmo padrão foi observado para o número de carrapatos destes pequenos mamíferos, com 888/1566 no Ponto 2, seguido do Ponto 3 com 409/1566 e por último o Ponto 1 com 273/1566 carrapatos coletados.

4.3 AVES

Foram capturadas durante os dois anos de estudo um total de 717 aves pertencentes à 9 ordens, 29 famílias e 88 espécies. Apenas 74 (10,3%) aves apresentavam-se parasitadas somente por imaturos, num total de 247 espécimes, sendo 6 (2,43%) *A. sculptum*, 14 (5,7%) *A. parvum*, 29 (11,74%) *A. triste*, 1 (0,4%) *A. dubitatum*, 66 (26,72%) *A. nodosum* e 131 (53,03%) *Amblyomma* spp. O esforço de captura foi calculado:

$$E = (12 \times 2,5) \times (6 \times 24) \times (10) = 43200 \text{ h/m}^2 \text{ total.}$$

O Quadro 7 apresenta a classificação das aves, o número de cada espécie capturada e o número de aves parasitadas por carrapatos.

Quadro 7 - Classificação e número de aves capturadas por espécie e número (%) de aves parasitadas por carrapatos nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

(Continua)

ORDEM	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N INFESTADO/ N CAPTURADO	PREVALENCIA %	ESTRATO FORRAGEAMENTO
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Tigrisoma lineatum</i>	0/1	0	AQU
Gruiformes	Rallidae	<i>Laterallus viridis</i>	3/5	60	INF
Columbiformes	Columbidae	<i>Columbina talpacoti</i>	0/1	0	INF
Columbiformes	Columbidae	<i>Uropelia campestris</i>	0/2	0	SUP
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Diopsittaca nobilis</i>	0/2	0	SUP
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Eupsittula aurea</i>	0/4	0	SUP
Strigiformes	Strigidae	<i>Glaucidium brasilianum</i>	0/2	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Amazilia versicolor</i>	0/1	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Chlorostilbon lucidus</i>	0/4	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Chrysolampis mosquitos</i>	0/1	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Colibri serrirostris</i>	0/1	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Eupetomena macroura</i>	0/2	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Phaetornis pretrei</i>	0/2	0	SUP
Apodiformes	Trochilidae	<i>Thalurania furcata</i>	0/1	0	SUP
Galbuliformes	Bucconidae	<i>Nystalus chacuru</i>	0/1	0	SB/SUP
Galbuliformes	Galbulidae	<i>Galbula ruficauda</i>	0/4	0	SB/SUP
Piciformes	Picidae	<i>Campephilus melanoleucos</i>	0/2	0	SUP
Piciformes	Picidae	<i>Picumnus albosquamatus</i>	0/2	0	SUP
Passeriformes	Thamnophilidae	<i>Formicivora melanogaster</i>	0/4	0	SB/INF
Passeriformes	Thamnophilidae	<i>Formicivora rufa</i>	1/7	14,3	SB/INF
Passeriformes	Thamnophilidae	<i>Herpsilochmus sellowi</i>	0/3	0	SB/INF
Passeriformes	Thamnophilidae	<i>Myrmorchilus strigilatus</i>	0/2	0	INF
Passeriformes	Thamnophilidae	<i>Thamnophilus torquatus</i>	1/3	33,3	SUP
Passeriformes	Melanopareiidae	<i>Melanopareia torquata</i>	0/1	0	INF
Passeriformes	Dendrocolaptidae	<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	1/6	16,7	SUP

(Continua)

ORDEM	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N INFESTADO/ N CAPTURADO	PREVALENCIA %	ESTRATO FORRAGEAMENTO
Passeriformes	Furnariidae	<i>Furnarius rufus</i>	1/5	20	SB/INF
Passeriformes	Furnariidae	<i>Phacellodomus ruber</i>	3/3	100	SB/INF
Passeriformes	Furnariidae	<i>Synallaxis albescens</i>	0/1	0	SB
Passeriformes	Furnariidae	<i>Synallaxis frontalis</i>	0/2	0	SB
Passeriformes	Furnariidae	<i>Syndactyla dimidiata</i>	1/2	50	SB/SUP
Passeriformes	Pipridae	<i>Anilophia galeata</i>	0/34	0	SB/SUP
Passeriformes	Pipridae	<i>Neopelma pallescens</i>	0/1	0	SB
Passeriformes	Tityridae	<i>Pachyrhamphus polychopterus</i>	0/2	0	SB
Passeriformes	Rhynchocyclidae	<i>Hemitriccus margaritaceiventris</i>	0/5	0	SB/SUP
Passeriformes	Rhynchocyclidae	<i>Hemitriccus straticollis</i>	1/14	7,1	SB/INF
Passeriformes	Rhynchocyclidae	<i>Tolmomyias flaviventris</i>	0/1	0	SB/SUP
Passeriformes	Rhynchocyclidae	<i>Tolmomyias sulphureus</i>	1/4	25	SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Camptostoma obsoletum</i>	0/7	0	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia albiceps</i>	0/12	0	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia chiriquensis</i>	0/18	0	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia cristata</i>	5/99	5,1	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia flavogaster</i>	0/34	0	SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia mesoleuca</i>	0/3	0	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia obscura</i>	1/18	5,6	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia parvirostris</i>	0/3	0	SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Elaenia sp</i>	2/28	7,1	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Lathrotriccus euleri</i>	0/2	0	SB
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Myiarchus swainsoni</i>	0/4	0	SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Myiarchus tyrannulus</i>	0/4	0	SB/SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Myiarchus ferox</i>	1/5	20	SB/SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Myiophobus fasciatus</i>	0/12	0	SUP
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Phaeomyias murina</i>	0/1	0	SUP

(Continúa)

ORDEM	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N INFESTADO/ N CAPTURADO	PREVALENCIA %	ESTRATO FORRAGEAMENTO
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Sublegatus modestus</i>	1/4	25	SB/INF
Passeriformes	Tyrannidae	<i>Tyrannus albogularis</i>	0/9	0	SUP
Passeriformes	Vireonidae	<i>Cyclaris gujanensis</i>	1/14	7,1	SB/INF
Passeriformes	Vireonidae	<i>Vireo chivi</i>	0/4	0	SUP
Passeriformes	Corvidae	<i>Cyanocorax cristatellus</i>	1/2	50	SUP
Passeriformes	Hirundinidae	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	0/3	0	SUP
Passeriformes	Troglodytidae	<i>Troglodytes musculus</i>	0/1	0	INF
Passeriformes	Poliopitidae	<i>Poliopitila dunicola</i>	0/3	0	SUP
Passeriformes	Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i>	1/2	50	INF
Passeriformes	Turdidae	<i>Turdus leucomelas</i>	13/34	38,2	INF
Passeriformes	Mimidae	<i>Mimus saturninus</i>	1/6	16,7	INF
Passeriformes	Passerellidae	<i>Ammodramus humeralis</i>	1/3	33,3	INF
Passeriformes	Passerellidae	<i>Zonotrichia capensis</i>	1/6	16,7	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Coereba flaveola</i>	0/4	0	SB
Passeriformes	Thraupidae	<i>Hemithraupis guira</i>	0/2	0	SUP
Passeriformes	Thraupidae	<i>Saltator similis</i>	2/2	100	SB
Passeriformes	Thraupidae	<i>Lanio penicillatus</i>	2/2	100	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Nemosia pileata</i>	0/4	0	SUP
Passeriformes	Thraupidae	<i>Ramphocelus carbo</i>	10/24	41,7	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Schistochlamys melanopsis</i>	1/6	16,7	SB/INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	8/85	9,4	SB/INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Sporophila caerulescens</i>	0/2	0	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Sporophila nigrifrons</i>	0/5	0	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Sporophila plumbea</i>	0/1	0	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Sporophila sp</i>	0/2	0	INF
Passeriformes	Thraupidae	<i>Tachyphonus rufus</i>	1/4	25	SB
Passeriformes	Thraupidae	<i>Tangara palmarum</i>	1/6	16,7	SUP
Passeriformes	Thraupidae	<i>Tangara cayana</i>	0/13	0	SUP

(Conclusão)

ORDEM	FAMÍLIA	ESPÉCIE	N INFESTADO/ N CAPTURADO	PREVALENCIA %	ESTRATO FORRAGEAMENTO
Passeriformes	Thraupidae	<i>Tangara sayaca</i>	1/10	10	SUP
Passeriformes	Thraupidae	<i>Dacnis cayana</i>	0/6	0	SUP
Passeriformes	Thraupidae	<i>Volatinia jacarina</i>	2/25	8	INF
Passeriformes	Cardinalidae	<i>Piranga flava</i>	0/1	0	SUP
Passeriformes	Cardinalidae	<i>Myiothlypis leucophrys</i>	1/1	100	SB/INF
Passeriformes	Parulidae	<i>Myiothlypis flaveola</i>	0/1	0	SB/SUP
Passeriformes	Parulidae	<i>Setophaga pitiayumi</i>	0/2	0	SB/SUP
Passeriformes	Icteridae	<i>Gnorimopstar chopi</i>	3/30	10	SB/INF
Total			74/717	10,3	

N= número de aves, SUP = superior, INF = Inferior, SB = sub-bosque, AQU = aquático.

O Gráfico 18 representa a distribuição e número total de carrapatos,coletados das aves durante as oito campanhas.

Gráfico 18 -Distribuição sazonal de carrapatos, por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

Não foram coletados carrapatos adultos em aves, enquanto as ninfas predominaram no inverno e primavera e larvas no outono e inverno.

Os Gráficos 19, 20, 21 e 22 ilustram a distribuição e o número de *A. nodosum*, *A. sculptum*, *A. triste* e *A. parvum* respectivamente, coletados de aves nas oito campanhas.

Gráfico 19 - Distribuição sazonal de *A. nodosum*, por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

Gráfico 20 -Distribuição sazonal de *A. sculptum*, por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

Gráfico 21 -Distribuição sazonal de *A. triste*, por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

Gráfico 22 -Distribuição sazonal de *A. parvum*, por estágio de vida, coletados de aves durante as oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N= número de carrapatos

O Quadro 8 apresenta as espécies de aves parasitadas por campanhas e o número e espécies de carrapatos coletados durante as campanhas.

(Conclusão)

CAMPANHAS	HOSPEDEIROS (n)	ESPÉCIES DE CARRAPATOS					
		<i>A. sculptum</i>	<i>A. parvum</i>	<i>A. triste</i>	<i>A. dubitatum</i>	<i>A. nodosum</i>	<i>Amblyomma spp</i>
Outono 2013 Total	<i>Turdus leucomelas</i> (2)					1N 8N	8L 13L
Inverno 2013	<i>Gnorimopsar chopi</i> (2)	1N	3N	1N		1N	6L
	<i>Ramphocelus carbo</i> (1)		1N			2N	
	<i>Schistochlamys ruficapillus</i> (4)	1N	2N				
	<i>Turdus amaurochalinus</i> (1)	1N					
Total	<i>Turdus leucomelas</i> (1)			1N			1L
	<i>Volatinia jacarina</i> (2)	3N	6N	2N		3N	7L
Primavera 2013	<i>Myiothlypis leucophrys</i> (1)					1N	
	<i>Elaenia obscura</i> (1)					1N	
	<i>Lanio penicillatus</i> (2)					3N	
	<i>Myiarchus ferox</i> (1)					1N	
	<i>Phacellodomus ruber</i> (1)			1N			
	<i>Ramphocelus carbo</i> (6)					7N	
	<i>Saltator similis</i> (2)					5N	
	<i>Syndactyla dimidiata</i> (1)				1N	3N	
	<i>Tolmomyias sulphureus</i> (1)					1N	
	<i>Turdus leucomelas</i> (2)					2N	
				1N	1N	24N	
Total							
Verão 2014	<i>Elaenia cristata</i> (2)					2N	
	<i>Elaenia</i> sp (2)					2N	
	<i>Turdus leucomelas</i> (1)					2N	
	<i>Zonotrichia capensis</i> (1)					1N	
Total						7N	
Total Geral	(74)	1L 5N	7L 7N	8L 21N	1N	66N	131L

L=larvas, N=ninfas, n=número de aves parasitadas

Os Gráficos 23e 24 mostram o número de aves capturadas e o número de carrapatos coletados em cada ponto e campanha.

Gráfico23 - Número de aves capturadas em cada um dos três pontos, nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de aves

Gráfico24 - Número de carrapatos coletados de aves em cada um dos três pontos, nas oito campanhas no PNGSV, 2012-2014

N = número de carrapatos

O maior número de aves foram capturadas no Ponto 3 (340/717), seguido do Ponto 1 (214/717) e Ponto 2 (163/717). O número de carrapatos destas aves foi maior no Ponto 3 (186/247), seguido pelo Ponto 2 (49/247) e por último o Ponto 1 (12/247).

4.4 CARRAPATOS EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

As informações sobre os carrapatos coletados dos animais domésticos vistoriados nas duas pequenas propriedades rurais dentro do parque (Propriedade 1 e Prop. 2) estão apresentadas no Quadro 9.

Quadro 9 - Número e estágio das espécies de carrapatos coletados de animais domésticos das propriedades 1 e 2 dentro do PNGSV, nas últimas seis campanhas, 2012-2014

(continua)

CAMPANHA	PROP.	ANIMAL (n)	ESPÉCIE DE CARRAPATO								<i>Amblyomma</i> spp
			<i>A. sculptum</i>	<i>A. parvum</i>	<i>A. triste</i>	<i>A. tigrinum</i>	<i>A. ovale</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>R. microplus</i>	<i>D. nitens</i>	
Primavera 2012	1	Canino (3) Equino (2) Bovino (2)	5N 1F 13M 42F 10M 2F	1M 3F 1M 1M		1F	1F		1M 1F 17N 2M 8F	3N 6M 5F	
	2	Canino (4) Equino (2)	9N 6M 5F 14M 21F 14N 43M 71F	2M 16F 1F 5M 20F		3F 4F			17N 3M 9F	1F 3N 6M 6F	
	Total										
Verão 2013	1	Canino (3) Equino (1) Bovino (3)	16M 13F 39M 6F 3M 1F	2M 2F 2F 3M		1M 1M 3F		1M	16N 13M 16F		
	2	Canino (3) Equino (1)	16M 5F 74M 25F	1M 1F 6M 5F		2M 3F		2M 3M	16N 13M 16F	1F 1F	
	Total										
Outono 2013	1	Canino (3) Equino (2) Bovino (4)	13L 8N 9L 16M 20F 2N 5M	2F		1M		1M 1F	4N 9M 32F 1L	2N 7M	44L 101L
	2	Canino (3) Equino (2)	7L 4N 7M 14F 29L 14N 28M 34F	1M 1M 2F	2M 2F 2M 2F	1M 2M		3F 1M 4F	1N 11M 4M 4F 1L 4N 13M 36F	1N 11M 8F 3N 18M 8F	11L 18L 174L
	Total										
Inverno 2013	1	Canino (3) Canino (2) Equino (1)	2L 36N 1M 8N 49N 16M 10F			1M			2M 2F	7N 3M 7F	7N
	2		2L 93N 17M 10F			1M			2M 2F	7N 3M 7F	7N
	Total										
Primavera 2013	1	Canino (3) Equino (2) Bovino (1)	16N 2M 1N 5M 27F	1M 1F		1F		3F	8F 3N 3M 8F	2N 8M 6F	
	2	Canino (3)	34N 5M 1F	2M 6F				1M 1F			

(Conclusão)

CAMPANHA	PROP.	ANIMAL (n)	ESPÉCIE DE CARRAPATO								
			A. sculptum	A. parvum	A. triste	A. tigrinum	A. ovale	R. sanguineus	R. microplus	D. nitens	Amblyomma spp
Total			51N 12M 28F	3M 7F		1F		1M 4F	3N 3M 16F	2N 8M 6F	
Verão 2013	1	Canino (3)	2N 3M	2F		3F		2F		2N 3M 5F	1L
		Equino (3)	14M 19F	1F							
	2	Bovino (2)	16M 5F						2M 21F		
		Canino (3)	2N 3M 1F	3M 2F		1M		2M		3M	
		Equino (4)	1N 8M 20F	3M 5F		1M 3F		2M 2F	2M 21F	2N 6M 5F	1L
Total			5N 44M 45F						1L 40N 36M 100F	17N 41M 33F	175L 7N
Total geral			31L 177N 218M 213F	18M 40F	2M 2F	6M 11F	1F	7M 10F			

Prop. = propriedade; n = número de animais; L = larva; N = ninfa; M = macho; F = fêmea

No total, de 36 caninos, 20 equinos e 12 bovinos foram coletados 1186 carrapatos, sendo 639 *A. sculptum*, 58 *A. parvum*, quatro *A. triste*, 17 *A. tigrinum*, um *A. ovale*, 17 *R. sanguineus*, 177 *R. microplus*, 91 *D. nitens* e 182 do gênero *Amblyomma*.

Os caninos foram parasitados por 326 carrapatos, sendo 178 (54,6%) *A. sculptum*, 50 (15,3%) *A. parvum*, 16 (4,9%) *A. tigrinum*, um (0,3%) *A. ovale*, 17 (5,2%) *R. sanguineus*, dois (0,6%) *R. microplus* e 62 (19%) *Amblyomma* spp. Os equinos foram parasitados por 617 carrapatos, sendo 376 (60,9%) *A. sculptum*, cinco (0,8%) *A. parvum*, quatro (0,6%) *A. triste*, 21 (3,4%) *R. microplus*, 91 (14,7%) *D. nitens* e 120 (19,5%) *Amblyomma* spp. Por fim, os bovinos foram parasitados por 243 carrapatos, sendo 85 (35%) *A. sculptum*, três (1,2%) *A. parvum*, um (0,4%) *A. tigrinum*, 154 (63,4%) *R. microplus*.

4.5 CARRAPATOS EM HUMANOS

Carrapatos foram coletados parasitando 21 humanos num total de 441 indivíduos, entre imaturos e adultos, de três espécies do gênero *Amblyomma*, além de *R. microplus* e *D. nitens*. Destes, 333 *A. sculptum*, 64 *A. parvum*, três *A. auricularium* (Conil, 1878), dois *R. microplus* e um *D. nitens*. O Quadro 10 apresenta as espécies de carrapatos coletadas de humanos nas oito campanhas.

Quadro 10– Espécie, número e estágio de carrapatos coletados de humanos em cada campanha no PNGSV, 2012-2014

CAMPANHA	ESPÉCIES DE CARRAPATOS					
	<i>Amblyomma</i> spp	<i>A. sculptum</i>	<i>A. parvum</i>	<i>A. auricularium</i>	<i>R. microplus</i>	<i>D. nitens</i>
Outono 2012	1L	4N 2F	2M 1F	1N		
Inverno 2012	1L	40N	3N 2F	1N		
Primavera 2012		44N 2M 3F	7M 10F		1M	
Verão 2013	7L	6N 11M 6F	6M 10F			
Outono 2013	13L*	1L 2N 7M 6F	1M 3F			
Inverno 2013	3N	120N 1F	1F	1N	1M	
Primavera 2013	12N	50N 2M	1M 5F			1M
Verão 2014	1L	8N 9M 9F	6M 6F			
Total	23L 15N	1L 274N 31M 27F	3N 23M 38F	3N	2M	1M

L = larva; N = ninfa; M = macho; F = fêmea; *1 grupo de larvas

A maioria do parasitismo ocorreu por ninfas e adultos de *A. sculptum* seguido de *A. parvum* adultos. O parasitismo por adultos de *A. sculptum* ocorreu em maior número no verão

e outono. O maior número de ninfas fixadas ocorreu no inverno e primavera. Ninfas de *A. sculptum* foram mais prevalentes no parasitismo (62,13% do parasitismo total e 82,28% do parasitismo por *A. sculptum*). Do parasitismo total, 14,51% foi por *A. parvum* e do parasitismo por *A. parvum* 95,31% foi por adultos. Apenas três ninfas de *A. parvum* foram encontradas parasitando humanos, todas no inverno de 2012.

4.6 DETECÇÃO DE *Rickettsia* SPP NOS CARRAPATOS

4.6.1 Teste de Hemolinfa

O Quadro 11 apresenta os resultados dos carrapatos adultos submetidos ao teste de hemolinfa para detectar formas compatíveis com riquetsias.

Quadro 11–Espécies e número de carrapatos submetidos ao teste de hemolinfa e número de amostras consideradas positivas, PNGSV, 2012-2014

ESPÉCIE DE CARRAPATOS	N TESTADO	N POSITIVO (%)
<i>A. sculptum</i>	33	0
<i>A. parvum</i>	138	42 (30,43)
<i>A. triste</i>	210	63 (30)
<i>A. tigrinum</i>	5	2 (40)
<i>A. dubitatum</i>	5	5 (100)
<i>R. sanguineus</i>	4	2 (50)
Total	395	114 (28,86)

N= número de carrapatos

4.6.2 Isolamento de *Rickettsia* spp

O Quadro 12 apresenta os resultados dos carrapatos submetidos à técnica de isolamento de *Rickettsia* spp e resultados da caracterização molecular.

Quadro 12 -Espécies de carrapatos e quantidade submetidos à técnica de isolamento e número e espécies de riquetsias molecularmente caracterizadas. PNGSV, 2012-2014

ESPÉCIE	N TESTADO	N ISOLADO	IDENTIFICAÇÃO
<i>A. triste</i>	12	5	<i>Rickettsia parkeri</i>
<i>A. parvum</i>	8	4	<i>Rickettsia bellii</i>
<i>A. tigrinum</i>	2	0	-
Total	22	9	-

N= número de amostras

Todas as amostras isoladas foram molecularmente caracterizadas e as cinco amostras isoladas de *A. triste* foram idênticas à sequência de *R. parkeri* cepa Portsmouth depositada no Genbank (CP003341), enquanto as amostras isoladas de *A. parvum* tiveram 99% de identidade com as sequências de *R. bellii* depositadas no Genbank (CP000087).

4.6.3 PCR de carrapatos adultos

O Quadro 13 as espécies de carrapatos adultos coletados de vida livre no parque e as condutas a que foram submetidos.

Quadro 13 -Número e espécies de carrapatos adultos coletados no PNGSV, amostras submetidas ao teste de hemolinfa e amostras mantidas à -80°C, amostras submetidas à PCR e positivos, amostras submetidas ao isolamento e isoladas, 2012-2014

ESPÉCIE DE CARRAPATO	N COLETADO	N + HEMOLINFA	N -80°C	N PCR	N + PCR	N SHELL VIAL	N ISOLADOS
<i>A. sculptum</i>	1762	0	33	200	1 ¹	-	-
<i>A. parvum</i>	252	42	138	100	5 ⁴ 7 ²	8	4 ²
<i>A. triste</i>	284	63	210	100	8 ³	12	5 ³
<i>A. tigrinum</i>	5	2	5	-	-	2	0
<i>A. dubitatum</i>	5	5	5	-	-	-	-
<i>R. sanguineus</i>	4	2	4	-	-	-	-
TOTAL	2312	114	395	400	21	22	9

N = número de amostras; “+” = positivos; ¹ = *R. amblyommii*; ² = *R. bellii*; ³ = *R. parkeri*; ⁴ = *Candidatus R. andeanae*

Um total de 200 *A. sculptum* adultos foram submetidos à extração de DNA e à PCR, resultando em uma amostra positiva (0,5%), 99% de identidade com a sequência de *R. amblyommii* depositada no GenBank (CP012420), sendo a espécie *A. sculptum* confirmada por sequenciamento de fragmento de gene mitocondrial 16S.

Dos carrapatos adultos submetidos ao teste de hemolinfa que não foram utilizados para isolamento de riquetsia, foi realizada extração de DNA, PCR para detecção de riquetsia e identificação molecular de 92 *A. parvum*, 88 *A. triste* e sete *A. nodosum*. Dos 92 *A.*

parvum submetidos à PCR oito amostras resultaram positivas, sendo cinco das sequências resultantes idênticas à sequência de Candidatus *R. andeanae* presente no GenBank (JN180849) e três idênticas à sequência de *R. bellii* presente no GenBank (JQ906786), adicionando-se à estas as quatro amostras isoladas, um total de sete amostras positivas na PCR para *R. bellii*, foram obtidas. Com relação aos 88 *A. triste* submetidos à PCR, três amostras resultaram positivas e idênticas à sequência de *R. parkeri* cepa Portsmouth presente no GenBank (CP003341), adicionando-se à estas as cinco amostras isoladas temos oito amostras positivas na PCR.

4.7 REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

Dos 75 pequenos mamíferos capturados somente foram obtidos soro de 64 animais, incluindo as recapturas. O Quadro 14 apresenta os resultados sorológicos pela RIFI para pesquisa de anticorpos contra *Rickettsia* spp.

Quadro 14 - Sororeatividade e amplitude de títulos contra seis espécies de *Rickettsia* dos pequenos mamíferos do PNGSV, 2012-2014

Espécies (N)	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephalii</i>	<i>R. bellii</i>	<i>R. felis</i>
<i>C. marinus</i> (1)	-	-	-	-	-	-
<i>Calomys</i> sp (1)	-	-	-	-	-	-
<i>Calomys tener</i> (3)	-	512-1024	-	-	128	-
<i>Cerradomys</i> sp (2)	-	-	-	-	-	-
<i>D. albiventris</i> (3)	256	128	64	-	-	-
<i>Dasyprocta</i> sp. (1)	512	256	128	256	-	-
<i>Galea spixii</i> (1)	-	-	-	-	64	-
<i>Gracilinanus agilis</i> (2)	-	-	-	-	-	-
<i>Gracilinanus</i> sp (2)	-	-	-	-	-	-
<i>Holochilus</i> sp (2)	512	1024	128	512	-	-
<i>Monodelphis domestica</i> (1)	-	-	-	-	-	-
<i>O. delator</i> (19)	64-1024	64-1024	64-512	64-1024	64-512	64
<i>Oligoryzomys</i> sp. (2)	-	-	-	-	-	-
<i>Rhipidomys</i> sp. (4)	-	512	-	64	256	-
<i>T. apereoides</i> (18)	-	256	-	-	64-256	-
<i>Thylamys karimii</i> (2)	-	-	-	-	-	-

N = número de amostras testadas

Das 64 amostras analisadas, apenas 20 (31,25%) reagiram para algum dos seis antígenos testados. As espécies *O. delator* e *T. apereoides* foram as com maior número de indivíduos analisados e *O. delator* foi a espécie com títulos mais elevados e para um maior

número de antígenos. Analisando os resultados individuais (Apêndice A), foram observados títulos quatro vezes maiores para *R. parkeri* em dois *O. delator* e um *C. tener*, ambos coletados no Ponto 2, sendo considerados estes animais positivos à *R. parkeri*.

4.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar associações entre o número de carrapatos, das três espécies predominantes, coletados de vida livre e os diferentes pontos de coleta utilizou-se o Teste Qui-quadrado.

Existe diferença das proporções das espécies *A. triste* e *A. parvum* entre os pontos de coleta 1, 2, 3, 4 e 5 ($p < 0,001$). Para o *A. sculptum*, não há diferença das proporções de coletas entre os pontos ($p > 0,05$). Porém, para *A. parvum*, os valores observados são maiores que os valores esperados (no caso das proporções serem iguais) em ambientes mais secos (Pontos 1, 4 e 5) e menores que o esperado em ambientes mais úmidos (Pontos 3 e 2). O contrário ocorre com *A. triste*, com valores observados maiores que os valores esperados (no caso das proporções serem iguais) em ambientes mais úmidos e menores que o esperado em ambientes mais secos.

5 DISCUSSÃO

O presente trabalho representa a saber, o estudo mais abrangente sobre a ixodofauna e riquetsias do Cerrado. Este Bioma é representado por um mosaico de fitofisionomias e que determinam um espectro muito amplo de condições abióticas exemplificados pelos extremos de umidade de uma vereda e o carrasco. Tal variação é acompanhado por uma riqueza de fauna que se distribui de forma variada nas diversas fitofisionomias. Esta desigualdade na distribuição e as interconexões existentes entre as fitofisionomias geram uma rede complexa de interações entre hospedeiros, carrapatos e riquetsias alvo do presente estudo. Evidentemente os dados obtidos não abrangem a complexidade das interações. Assim algumas das observações são mais claras enquanto outras necessitarão de dados adicionais para a compreensão.

A ixodofauna coletada no ambiente com gelo seco e arraste foi similar àquela descrita em outras áreas do Cerrado. Desarte a ampla prevalência do *A. sculptum* (denominado *Amblyomma cajennense* nos trabalhos anteriores), a presença marcante do *A. parvum* e ocasional de *A. dubitatum* já foram relatados anteriormente (SZABÓ et al., 2007a; VERONEZ et al., 2010). A outra espécie capturada no ambiente em nosso trabalho, *A. triste*, também já tinha sido relatada em animais do Cerrado (MARTINS et al., 2011).

A espécie *A. sculptum* faz parte de um complexo de seis espécies, antigamente conhecidas somente como *A. cajennense* (BEATI et al., 2013; NAVA et al., 2014), e é encontrado de Norte a Sul do país, exceto Amazônia (ESTRADA-PEÑA et al., 2014). *A. sculptum* foi encontrado em números elevados nas diferentes fitofisionomias, talvez por ser uma espécie pouco seletiva e generalista, adaptada à ambientes secos, e parasita uma grande diversidade de hospedeiros, tanto em áreas mais secas quanto úmidas. Esta espécie de carrapato também foi a mais prevalente no ambiente em outras regiões de cerrado (CAMPOS PEREIRA et al., 2000; SZABÓ et al., 2007a; CANÇADO et al., 2008; VERONEZ et al., 2010). No caso dessa espécie observou-se um padrão sazonal com maior quantidade de adultos na primavera e verão, enquanto as ninfas predominaram na primavera e inverno, resultado semelhante aos encontrados anteriormente por outros pesquisadores (OLIVEIRA et al., 2000; Labruna et al., 2002; SZABÓ et al., 2007b).

O carrapato *A. parvum* também parece ser uma espécie com amplo espectro de hospedeiros incluindo animais domésticos, e comum em áreas do cerrado (NAVA et al., 2006; SZABÓ et al., 2007a; RAMOS et al., 2014a). Esta espécie de carrapato foi capturado em

maior número no carrasco (Ponto 1). Esta fitofisionomia, como descrita anteriormente, é de transição entre cerrado e caatinga, portanto muito seco. De fato, a espécie é também comum em animais da caatinga (HORTA et al., 2011). Um número menor de carrapatos foi coletado no segundo ano da pesquisa. Especula-se que talvez por ter sido um ano mais seco e quente, o que poderia ter afetado a população de hospedeiros desta espécie e, consequentemente seus parasitas.

A terceira espécie mais prevalente no ambiente foi o *A. triste*. Esta espécie no entanto, só foi coletada nas veredas (Pontos 2 e 3). As veredas se caracterizam pela elevada umidade durante o ano todo além de ser o local de preferência do Cervo-do-Pantanal, hospedeiro comum deste carrapato (SZABÓ et al., 2003, 2007b). Observou-se um padrão sazonal com maior quantidade de adultos no verão, enquanto as ninfas ocorreram na primavera e verão.

Um número reduzido de espécimes de *A. dubitatum* foram coletados no ambiente ao longo dos dois anos de estudo e somente em uma das veredas (Ponto 2). O *A. dubitatum* é um carrapato associado a capivaras e tem preferência maior por áreas mais úmidas em relação ao *A. sculptum* (SZABÓ et al., 2007b; NAVA et al., 2010b; QUEIROGA et al., 2012). Portanto, o carrasco (Ponto 1) não fornece condições abióticas para sua sobrevivência. Por outro lado, sua ausência na outra vereda amostrada (Ponto 3.) não é clara. Especulamos que esforço de captura pode não ter sido suficiente neste último ponto em função de menor abundância da espécie.

Considerando o conjunto dos resultados da amostragem ambiental de carrapatos, percebe-se alguns padrões de distribuição das espécies. Neste contexto os diversos pontos de captura de carrapatos foram empiricamente ordenados do mais seco para o mais úmido, sendo o carrasco o mais seco (Ponto 1), depois sequencialmente os Pontos 4, 5, 3 e finalmente a vereda do Ponto 2, o mais úmido. A análise com o teste qui-quadrado confirmou a distribuição mais homogênea do *A. sculptum* em todos os ambientes, reafirmando a grande resistência e adaptabilidade da espécie às diferentes fitofisionomias. Ficou também demonstrada a prevalência de *A. parvum* nos Pontos mais secos (1, 4 e 3), o que pode ser relacionado tanto com a resistência e adaptação da espécie à clima mais seco e quente, quanto às espécies de hospedeiros presentes nestas regiões. Atestou-se também a relação de *A. triste* com as veredas, fator vinculado à presença de umidade e hospedeiros para os adultos, como o cervo do pantanal. A distribuição sazonal ficou mais bem evidenciada nas coletas feitas com gelo seco e que resultaram em uma amostragem maior. Reforçou nesta a distribuição sazonal do *A. sculptum* com o predomínio de adultos no final da primavera e verão e dos

imaturos no outono-inverno e de *A. triste* com predomínio dos adultos no verão. A sazonalidade do *A. parvum* não ficou evidente particularmente pelo declínio muito grande de espécimes no segundo ano de amostragem.

A eficiência de captura de pequenos mamíferos foi baixa, particularmente no segundo ano de campanha. Sponchiado et al. (2015) em estudo realizado no cerrado, em outro Estado, obtiveram um sucesso de captura muito maior e em menor tempo do que os encontrados no presente estudo. Desconhecemos a razão para o baixo sucesso de captura que pode ter sido determinado, entre outros, pelas características próprias da região, ou outros fatores não determinados. A redução no número de capturas de pequenos mamíferos interferiu com a avaliação da distribuição sazonal de carrapatos nestes hospedeiros. De qualquer forma foi digna de nota o elevado número de ninfas de *A. parvum* e de *A. triste* no inverno do primeiro ano que corrobora com a distribuição sazonal destas espécies semelhante ao do *A. sculptum*.

O carrapato coletado em maior número de pequenos mamíferos foi o *A. parvum* seguida por *A. triste*. Porém ao contrário do observado no ambiente, predominaram nestes hospedeiros as ninfas, além de algumas larvas. Esta observação reforça a noção de que animais de pequeno porte alimentam as formas imaturas de carrapatos e também demonstram os limites das técnicas de coleta ambientais de carrapatos. *G. spixii* foi o principal hospedeiro para ninfas de *A. parvum*, o que também foi encontrado por Horta et al. (2011) e na Argentina no mesmo gênero de mamífero, *Galea* (NAVA et al., 2006). Os roedores *O. delator* e *T. apereoides* também foram muito infestados pelas duas espécies de carrapatos acima, em especial *A. triste*. Saraiva et al. (2012) já haviam relatado anteriormente em áreas de cerrado em Minas Gerais *T. apereoides* infestados por ninfas de *A. parvum*. Um exemplar de *M. domestica* também encontrava-se parasitado por larvas de *A. parvum* e *A. triste*, entretanto, Saraiva et al. (2012) não encontraram estas espécies de carrapatos neste hospedeiro, encontram, por sua vez *I. amarali* e *A. sculptum*.

Outro carrapato coletado em números expressivos foi o *A. auricularium*. Esta espécie é encontrada no Cerrado e na Caatinga (SZABÓ et al., 2007a; HORTA et al., 2011) indicando sua relação com ambientes mais secos. É considerada uma espécie de carrapato com especificidade moderada dos adultos para Dasypodidae (tatu) (HOOGSTRAAL; AESCHLIMANN, 1982) e podem ser encontrados em outros hospedeiros (GUGLIELMONE et al., 2003a). Encontramos *Gracilinanus* sp parasitado por ninfas desta espécie e também por ninfas de *A. parvum* e larvas de *O. mimom.* Saraiva et al. (2012) também encontraram membro deste gênero parasitado, porém por ninfas de *A. sculptum*. *Gracilinanus* sp também foi relatado por Reis et al. (2008), porém não estavam infestados por carrapatos.

Larvas de *O. mimom* Kohls, Clifford e Jones (1969) foram primeiramente descritas em morcegos da Bolívia e Uruguai (KOHLS et al., 1969) e morcegos da Argentina e Brasil (VENZAL et al., 2004a; BARROS-BATTESTI et al., 2006). Recentemente, Labruna et al. (2014) relataram esta espécie parasitando humanos e *D. albiventris*. No presente trabalho também relatamos *D. albiventris* parasitado por *O. mimon*. Sponchiado et al. (2015) também relataram esta espécie parasitando *D. albiventris* e *G. agilis*.

Apesar da ampla prevalência na amostragem ambiental, um número muito reduzido de imaturos de *A. sculptum* foram coletados de pequenos mamíferos. Sabe-se que adultos desta espécie parasitam mamíferos de médio e grande porte, como capivaras e antas e imaturos podem ser encontrados em diversos hospedeiros, incluindo pequenos mamíferos e aves (ARAGÃO, 1936; ESTRADA-PENÑA et al., 2004). Uma ninfa foi coletada de *Dasyprocta* sp, o que já foi relatado anteriormente neste gênero (SARAIVA et al., 2012). As razões para a baixa prevalência desta espécie em pequenos mamíferos é incerta mas fatores como especificidade por hospedeiros e comportamento de busca por hospedeiros podem desempenhar um papel nestas observações.

Uma única ninfa de *A. dubitatum* foi coletada de *O. delator*. Este carrapato possui como hospedeiro primário as capivaras, e ocasionalmente é encontrado em pequenos mamíferos (NAVA et al., 2010b), como roedores da família Cricetidae. Vale lembrar que *O. delator* possui hábitos fossoriais e tem preferência pelo mesmo tipo de ambiente, com curso d'água e alagáveis, que as capivaras, não sendo incomum encontrar imaturos de *A. dubitatum* neste roedor.

As larvas encontradas no gênero *Cerradomys* não foram identificadas, porém ninfas de *A. sculptum* já foram descritas nestes animais (SARAIVA et al., 2012).

Apenas uma ninfa de *A. naponense* (Packard) foi coletada em *Dasyprocta* sp. Esta espécie de carrapato ocorre nas Américas central e do sul, e parasitam preferencialmente queixadas (*Tayassu pecari*). No Brasil já foi relatada em suínos (LABRUNA et al., 2002) e em queixadas (SOARES et al., 2014).

Um número muito maior de aves foi capturado quando comparado com pequenos mamíferos, porém a prevalência da infestação (10,3%) foi bem menor. Prevalências de infestação de aves por carrapatos semelhantes ao nosso já foram descritos no Cerrado (PASCOAL et al., 2013; TORGA et al., 2013) embora em formação florestal do mesmo Bioma tenha se relatado prevalência acima de 50% (TOLESANO-PASCOLI et al., 2010). Passeriformes dominaram a amostragem, provavelmente pela altura das redes de neblina que abrange o espaço utilizado por estas aves. Nenhum adulto foi coletado de aves, apenas os

estágios de larva e ninfa reafirmando observações anteriores da infestação de aves no Brasil (BARROS-BATTESTI et al, 2006; OGRZEWALSKA et al., 2009a). A maior parte dos carrapatos coletados foram larvas *Amblyomma* spp. e pela ausência de chaves específicas não pode ser identificada até espécie.

Foram encontradas nas aves cinco espécies de carrapatos com prevalência muito maior de ninfas de *A. nodosum*. Adultos desta espécie Neotropical alimentam-se primariamente em tamanduás (JONES et al., 1972) enquanto imaturos foram anteriormente relatados em passeriformes (LABRUNA et al., 2007c; PASCOAL et al., 2013). *A. nodosum* é de grande importância em áreas de Cerrado, prevalecendo frente outras espécies (TOLESANO-PASCOLI et al. 2010; LUZ et al.; 2012), bem como em outros biomas (OGRZEWALSKA et al., 2009b). O microambiente de infestação das aves por esta espécie de carrapato é desconhecida, uma vez que não foi coletado no ambiente em nosso trabalho.

A. triste foi a segunda espécie de carrapato mais prevalente 29/247 (11,74%) coletados, principalmente, de *P. ruber* (graveteiro) e *L. viridis* (sanã castanha). Em apenas dois exemplares de *L. viridis* foram coletadas 105 larvas, sendo sete delas, e mais uma ninfa, identificadas como *A. triste*. Vale notar que *L. viridis* é uma ave de estrato inferior e foi capturada em armadilha tomahawk para pequenos mamíferos na vereda (Ponto 2), área com elevada infestação ambiental por esta espécie de carrapato. Silveira et al. (2015) também encontraram *A. triste* em *L. viridis*, acidentalmente capturado em armadilha para mamíferos, em outra região de cerrado, em uma área de pântano, alagável e com a presença de cervo do pantanal, coincidindo com o encontrado no presente trabalho.

As outras espécies de carrapatos foram coletadas, em número menor, mas refletem a infestação ambiental por nós detectada na reserva. *A. parvum* já foram descritos em aves anteriormente (LUZ et al., 2012), *A. sculptum* já relatado em aves (ROJAS et al., 1999; OGRZEWALSKA et al, 2009a; TOLESANO-PASCOLI et al., 2010; RAMOS et al., 2015) e uma única ninfa de *A. dubitatum* foi coletado de *S. dimidiata*. Esta ave endêmica de cerrado e encontrada somente em ambientes preservados é exigente quanto a oferta de recursos e considerada localmente rara. Flores et al. (2014) relataram *A. dubitatum* anteriormente em aves.

Foram coletados carrapatos em animais domésticos de propriedades no interior da reserva com o intuito de verificar possíveis intercâmbios de vetores entre animais domésticos e selvagens. De fato, foram observados carrapatos de animais selvagens nos animais domésticos, mas também as espécies que se associam normalmente a animais domésticos e exógenos ao cerrado indicando uma intensa interação do meio selvagem e doméstico. De acordo com os resultados encontrados nas duas pequenas propriedades rurais visitadas dentro

do parque 36 caninos, 20 equinos e 12 bovinos foram vistoriados e nestes encontradas 639 *A. sculptum*, 58 *A. parvum*, 4 *A. triste*, 17 *A. tigrinum*, um *A. ovale*, 17 *R. sanguineus*, 177 *R. microplus*, 91 *D. nitens* e 182 *Amblyomma* spp.

Parasitando todos os animais domésticos a espécie mais prevalente foi *A. sculptum* refletindo a maior infestação ambiental e o espectro amplo de hospedeiros desta espécie. A segunda espécie mais prevalente foi o *A. parvum*, também encontrado em todos os hospedeiros domésticos. A ampla prevalência destas duas espécies em animais domésticos e no Cerrado já foi relatado anteriormente (GUGLIELMONE et al., 2003; SZABÓ et al., 2007).

De forma curiosa, duas espécies de carrapatos de carnívoros selvagens; *A. tigrinum* e *A. ovale* (LABRUNA et al., 2005b) não detectados no ambiente em nosso trabalho foram encontrados em cães e bovino. *A. tigrinum* adulto parasita preferencialmente canídeos (GUGLIELMONE et al., 2000; LABRUNA et al., 2005b). Entretanto, um macho de *A. tigrinum* foi encontrado parasitando bovino, provavelmente uma situação acidental. Apenas um adulto de *A. ovale* foi encontrado em cães, embora esta espécie de carrapato seja comum em carnívoros no Brasil (LABRUNA et al., 2005b) em elevada prevalência na Mata Atlântica (SZABÓ et al., 2013).

As outras espécies de carrapatos se referem àqueles de animais domésticos em ambientes antropizados no Brasil. *R. sanguineus* na região Neotropical é considerado um parasita de cães podendo, ocasionalmente, ser encontrado em outras espécies de mamíferos (LABRUNA et al., 2005b). *R. microplus* é um carrapato que foi introduzido na América do Sul juntamente com os bovinos, e está amplamente distribuído pela região Neotropical (GUGLIELMONE et al., 2003). *D. nitens* é um carrapato da região Neotropical que parasita preferencialmente equídeos e alguns ruminantes (YUNKER et al., 1986), portanto o parasitismo nos equinos das propriedades era o esperado. As infestações de animais domésticos no Cerrado por estas espécies de carrapatos já foi relatado anteriormente (KNIGHT, 1992).

Apesar da frequência elevada, os relatos de picada em humanos com identificação dos carrapatos é raro. Ao longo dos dois anos de trabalho do projeto anotamos o parasitismo de 21 humanos por 441 espécimes de carrapatos com absoluta prevalência de ninfas de *A. sculptum*. Esta prevalência parece refletir a abundância da espécie no Cerrado e sua baixa especificidade por hospedeiros. Segundo Guglielmone et al. (2006), *A. sculptum* (denominado na época de *A. cajennense*) parece ser a espécie que mais frequentemente parasita humanos no Brasil. O maior número de ninfas parasitando humanos ocorreu no inverno e primavera, época seca, concordando com achados de Ramos et al. (2014b) no Pantanal. Esta espécie de carrapato é o

principal transmissor do agente da Febre maculosa brasileira, *R. rickettsii*, doença com picos de incidência sazonal associados à época das ninfas deste carrapato (LABRUNA, 2009).

O parasitismo humano pelo carrapato *A. parvum*, em número menor, mas ainda frequente parece ter se dado pelos mesmos motivos espelhando a infestação ambiental. Este carrapato é pequeno, rápido e altamente móvel e apresenta comportamento de ataque, o que significa busca ativa por um hospedeiro (RAMOS et al., 2014a). Ao contrário do *A. sculptum*, a infestação por esta espécie de carrapato se deu predominantemente por adultos, superando em número os adultos do *A. sculptum* parasitando humano. De forma semelhante, Ramos et al. (2014b) em seu trabalho no Pantanal, não relatou ninfas desta espécie parasitando humanos, somente adultos. Como é um carrapato pequeno e não ornamentado, os adultos podem ser confundidos com ninfas. Por isso, é possível supor que o parasitismo por adultos deste carrapato seja subestimado em sua área de ocorrência no Cerrado. *A. parvum* é parasita da região Neotropical e além da ampla distribuição desde o sul do México até a Argentina (GUGLIELMONE et al., 2003b) ele parasita uma grande diversidade de hospedeiros (NAVA et al., 2008) e é descrito como um importante parasita de humanos (GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2007b; NAVA et al., 2008). Em *A. parvum* da Argentina, Pacheco et al. (2007) detectaram a infecção por *Rickettsia* sp. cepa Argentina, um agente de patogenicidade desconhecida até o presente momento, porém pertencente ao grupo da febre maculosa, também conhecido como *Candidatus R. andeanae*, detectado no Brasil por Nieri-Bastos et al. (2014) nesta mesma espécie de carrapatos.

No que se refere ao parasitismo em humanos por *R. microplus* e *D. nitens*, carrapatos de, respectivamente, bovinos e equinos (ARTHUR, 1960) os episódios devem ser considerados acidentais e decorrente das coletas de carrapato em animais muito infestados. Já são relatados *R. microplus* parasitando seres humanos na Argentina (GUGLIELMONE et al., 1991), Cuba e China (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999) e outras localidades como Bolívia, Peru, Colômbia, Venezuela e Brasil (GUGLIELMONE et al., 2006). *Dermacentor nitens* é um ectoparasita de equídeos e alguns ruminantes (YUNKER et al., 1986) está amplamente distribuído, inclusive no Brasil (BORGES et al., 2000) e há relatos de parasitismo em humanos na Colômbia, Bolívia e Brasil, no Estado do Pará (SERRA-FREIRE, 2010) e Rondônia (GUGLIELMONE et al., 2006).

Em relação à espécie *A. auricularium* é um carrapato Neotropical com relatos na região neártica. Hospedeiros primários são tatus (GUGLIELMONE et al., 2003), porém já foi encontrado parasitando outras espécies como gambás, suínos e diversos outros hospedeiros.

Entretanto, não é considerado parasita comum para humanos (LORD; DAY, 2000), assim sendo as três ninfas encontradas podem ser consideradas como parasitismo acidental.

Sabe-se que no local da picada dos carrapatos, tanto em humanos como em animais, uma série de reações inflamatórias são desenvolvidas. No entanto, tais reações variaram entre os indivíduos hospedeiros, ocorrendo desde reação inflamatória com intenso prurido e rubor persistindo durante dias (um caso de primo infestação) à reações imperceptíveis, o que foi relatado também por Szabó et al. (2006) nos humanos parasitados.

Além de problemas de pele, a grande preocupação com relação às infestações por carrapatos é a transmissão de doenças. No presente trabalho, para as espécies de carrapatos encontradas parasitando humanos, a única espécie que transmite para humanos agente de patogenicidade conhecida no Brasil é o *A. sculptum* (vetor da *R. rickettsii*), e de patogenicidade desconhecida *A. sculptum* (vetor da *R. amblyommii*) e *A. parvum* (vetor da *Candidatus R. andeanae* e *R. bellii*).

Dentre os agentes infecciosos transmitidos por carrapatos, as riquetsias se revestem elevada importância por causarem doenças severas em humanos. Para contribuir com o conhecimento da ocorrência deste agente em Biomas do Brasil, foi realizada a pesquisa de *Rickettsia* em carrapatos coletados, através do isolamento. Foram obtidos 5 isolados de *R. parker* e 4 isolados de *R. bellii*. Outras duas espécies de riquetsias foram encontradas em carrapatos, por técnicas moleculares; *Candidatus R. andeanae* em *A. parvum* e *R. amblyommii* em *A. sculptum*.

R. parkeri é uma bactéria transmitida por carrapatos, primeiramente descrita em 1937 e isolada de *A. maculatum* em 1939, foi considerada não patogênica até 2004, quando foi relatada pela primeira vez causando enfermidade em humanos (PADDOCK et al., 2004). Esta bactéria foi anteriormente identificada infectando *A. triste* no Uruguai (VENZAL et al., 2004b; PACHECO et al., 2006) e Brasil (SILVEIRA et al., 2007; MELO et al., 2015). Em nossos resultados encontramos 8/100 (8%) *A. triste* infectados por *R. parkeri*.

R. bellii não pertence ao grupo da febre maculosa e sua patogenicidade é ainda desconhecida. Ela é a riquetsia descrita no maior número de espécies de carrapatos (LABRUNA et al., 2011a). Encontramos em nosso trabalho 7/100 (7%) dos carrapatos *A. parvum* infectados por esta riquetsia.

Candidatus R. andeanae foi primeiramente detectada em *A. maculatum* e *I. boliviensis* do Peru (BLAIR et al., 2004) e desde então mais estudos estão sendo conduzidos para a maior compreensão deste agente e seus hospedeiros. Este mesmo agente foi encontrado anteriormente infectando *A. parvum* na Argentina (PACHECO et al., 2007), então

denominada *Rickettsia* sp. cepa Argentina. No Brasil, foi relatada pela primeira vez por Nieri-Bastos et al. (2014) em carrapatos *A. parvum* coletados de duas regiões de Cerrado. Em nosso estudo encontramos 5/92 (5,4%) dos *A. parvum* submetidos às técnicas moleculares infectados por este agente de patogenicidade ainda desconhecida.

R. amblyommii pertence ao grupo da febre maculosa, porém sua patogenicidade ainda é desconhecida. No Brasil foi descrita infectando *A. cajennense* e *A. coelebs* (LABRUNA et al., 2004b, SOARES et al., 2015), *A. auricularium* (SARAIVA et al., 2013) e *A. sculptum* (NUNES et al., 2015). Encontramos em nossos resultados apenas 1/200 (0,5%) *A. sculptum* infectado por esta riquetsia.

Os resultados encontrados nos mostram uma diversidade considerável de *Rickettsia* spp presente em diferentes espécies de carrapatos circulando no parque e, embora apenas uma delas seja considerada patogênica até o momento, não se pode descartar a importância das outras três espécies encontradas, uma vez que a patogenicidade delas ainda não é conhecida e carece de mais estudos.

A exposição de animais da área de estudo à riquetsias foi avaliada através de exames sorológicos. Dos pequenos mamíferos capturados, 64 amostras de soro foram analisadas pela sorologia, e apenas 20 (31,25%) sororeagiram para algum dos seis antígenos testados. Os resultados obtidos demonstram uma baixa porcentagem de animais reagentes à *R. rickettsii* (15,62%) pela RIFI quando comparados com dados observados por Lemos et al. (1996), Horta et al.(2004) e Horta et al.(2007); em áreas endêmicas para FMB do interior de São Paulo. Os baixos títulos observados no presente trabalho são semelhantes aos encontrados por Cardoso et al. (2006) em Minas Gerais e por Silveira et al. (2015) em uma área de cerrado do Estado de São Paulo, sendo locais considerados de baixo nível de transmissão para doença.

Ficou demonstrado, pelos resultados da sorologia das amostras de pequenos mamíferos, que a sororeação para riquetsias do grupo da febre maculosa está significativamente associada aos pequenos mamíferos de áreas alagadas, como as veredas do ponto 2 e 3, e também, provavelmente, aos carrapatos que estavam parasitando esses animais, principalmente naqueles que apresentaram uma sororeação provável para *R. parkeri*, como demonstrado por Silveira et al.(2007), onde foi isolado em cultivo celular *R. parkeri* de carrapato da espécie *A. triste*.

Estudos prévios mostraram que soros que apresentaram títulos para uma espécie de *Rickettsia* quatro vezes maiores do que os observados para as outras espécies podem ser considerados homólogos à primeira espécie de *Rickettsia* ou à outra muito próxima (HORTA et al., 2004; SAITO et al., 2008; PIRANDA et al., 2008; PACHECO et al., 2011). Sendo

assim, é possível que a sororeação encontrada neste estudo seja em decorrência de uma exposição prévia a carrapatos infectados por *R. parkeri*, uma vez que em quatro mamíferos (dois *O. delator* e dois *C. tener*) dos Ponto 2 e 3 foram verificados títulos quatro vezes maiores para *R. parkeri* do que para outros antígenos. De fato, espécimes de *O. delator* estavam infestados por ninfas de *A. triste*, carrapato vetor da *R. parkeri* (Silveira et al., 2007). A infestação registrada de *C. tener* foi por larvas de *Amblyomma* spp, necessitando de observações adicionais para definir parasitismo por *A. triste*. Portanto, esses quatro animais encontrados com título mais elevado foram possivelmente infectados por *R. parkeri*.

O presente trabalho evidenciou diversas interações entre hospedeiros, carrapatos, riquétsias e ambiente no Cerrado. Embora os resultados sejam parciais perante a complexidade das interações, definiu parâmetros para comparação em outros trabalhos e para a epidemiologia de doenças transmitidas por carrapatos no Brasil. Por exemplo, foi claramente demonstrado que a *R. parkeri*, associado à áreas alagadiças em outros Biomas no Brasil e América do Sul pode estar presente focalmente mesmo em Cerrado, considerado uma savana com períodos extremamente secos e inadequados para o vetor *A. triste*. As diversas fitofisionomias do Cerrado albergam espécies de carrapatos e riquétsias distintas separadas pelos extremos de condições abióticas representados em nosso trabalho pelas veredas e o carrasco. Há porém uma certa sobreposição destas espécies nas áreas limítrofes assim como por espécies adaptadas a condições intermediárias, como é o caso do *A. sculptum* e que definem um fluxo, pelo menos de alguns microorganismos entre as fitofisionomias.

Merece ainda menção que a biodiversidade da reserva não se restringe à flora e animais maiores mas também à microbiota, no caso representado por quatro espécies de riquétsias encontradas por isolamento e/ou técnicas moleculares. Em verdade podemos supor que outras espécies de riquétsias possam estar presentes circulando em carrapatos e/ou microambientes não amostrados. Considerando a interferência que a exposição de um hospedeiro a uma espécie de riquétsia pode ter sobre a infecção por outra espécie (RIVAS et al., 2015) percebe-se que a biodiversidade deste agente em áreas naturais pode ter um papel tampão sobre a prevalência de outras. Tais parâmetros podem ser importantes para a compreensão das riquetsioses nas áreas antropizadas.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nos mostram a riqueza de espécies de pequenos mamíferos, aves, carrapatos e riquetsias encontrados, considerando a pequena área estudada no Parque Nacional Grande Sertão Veredas. Desta forma, o presente estudo contribui de maneira consistente para o conhecimento da ecologia dos carrapatos e riquetsias na área do parque, uma vez que este é o primeiro estudo realizado.

Podemos concluir que, com a abertura à visitação turística, deve-se ter em mente não apenas o risco de infestação por carrapatos, mas também a infecção por bactérias do gênero *Rickettsia* encontradas durante a pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p. 403-410, 1990.
- ANTUNES A.Z. Alterações na composição da comunidade de aves ao longo do tempo em um fragmento florestal no sudeste do Brasil. **Ararajuba**, v. 13, n. 1, p. 47-61, 2005.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias do Instituto. Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759-843, 1936.
- ARTHUR, D. R. Ticks: a monograph of the Ixodoidea. Part V: on the genera Dermacentor, Anocentor, Cosmiomma, Boophilus & Margaropus. **University Press**, Cambridge, 1960, 251p.
- 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/ICTTD-3**, Butantan, 223 p., 2006.
- BATALHA, M.A. The Brazilian cerrado is not a biome. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 11, n.1, p. 21-24, 2011.
- BATISTA, I. F.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A. M.; FARIA, F.; SIMONS, S. M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; LEÃO, L. I.; HO, P. L.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L. Expressed sequence tags (ESTs) from the salivary glands of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Toxicon**, v. 51, n. 5, p. 823-34, 2008.
- BEATI, L.; NAVA, S.; BURKMAN, E. J.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; GUGLIELMONE, A. A.; CÁCERES, A. G.; GUZMÁN-CORNEJO, C.; LEÓN, R.; DURDEN, L. A.; FACCINI, J. L. H. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, n. 267, p. 1-20, 2013.
- BLAIR, P. J.; JIANG, J.; SCHOELER, G. B.; MORON, C.; ANAYA, E.; CESPEDES, M.; CRUZ, C.; FELICES, V.; GUEVARA, C.; MENDOZA, L.; VILLASECA, P.; SUMNER, J. W.; RICHARDS, A. L.; OLSON, J. G. Characterization of Spotted Fever Group Rickettsiae in Flea and Tick Specimens from Northern Peru. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 11, p. 4961-4967, 2004.

BORGES, L. M. F.; OLIVEIRA, P. R.; RIBEIRO, M. F. B. Seasonal dynamics of *Anocentor nitens* on horses in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 89, p. 165-171, 2000.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Fundação pró-natureza. **Plano de Manejo**: Parque Nacional Grande Sertão Veredas. Brasília, DF, MMA, FUNATURA, IBAMA, 2003. 428 p.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa – OPAS/OMS, 2008. 120 p, (Série de Manuais Técnicos, 11).

BURGDORFER, W. Hemolymph test. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 19, n. 6, p. 1010-1014, 1970.

CAMPOS PEREIRA, M.; SZABÓ, M. P. J.; BECHARA, G. H.; MATUSHIMA, E. R.; DUARTE, J. M. B.; RECHAV, Y.; FIELDEN, L.; KEIRANS, J. E. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 6, p. 979-983, 2000.

CANÇADO, P. H. D.; PIRANDA, E. M.; MOURÃO, G. M.; FACCINI, J. L. H. Spatial distribution and impact of cattle-raising on ticks in the Pantanal region of Brazil by using the CO₂ tick trap. **Parasitology Research**, v. 103, p. 371–377, 2008.

CARDOSO, L. D.; FREITAS, R. N.; MAFRA, C. L.; NEVES, C. V. B.; FIGUEIRA, F. C. B.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M. Caracterização de *Rickettsia* spp circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 22, n. 3, p. 495-501, 2006.

CHOMKZYNSKI, P. A. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue samples. **Biotechniques**, v. 15, n. 3, p. 532-537, 1993.

CINCOTTA, R. P.; WISNEWSKI, J.; ENGELMAN, R. Human population in the biodiversity hotspots. **Nature**, v. 404, p. 990-992, 2000.

COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS (CBRO). **Listas das aves do Brasil**. 11.ed. [s. l.]: 2014.

COUTINHO, M. L., 1978. O conceito de cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 1, p. 17-23, 1978.

COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, n. 1, p. 1-11, 2006.

DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic & Applied Acarology**, v. 14, p. 30–46, 2009.

DANTAS-TORRES, F.; VENZAL, J. M.; BERNARDI, L. F.; FERREIRA, R. L.; ONOFRIO, V. C.; MARCILI, A.; BERMUDEZ, S. E.; RIBEIRO, A. F.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Description of a new species of bat-associated argasid tick (Acari: Argasidae) from Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 1, p. 36-45, 2012.

DE LA FUENTE, J.; ESTRADA-PENA, A.; VENZAL, J. M.; KOCAN, K. M.; SONENSHINE, D. E. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Frontiers in Bioscience**, v. 13, p. 6938-46, 2008.

ESTRADA-PEÑA, A.; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of the records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. **Experimental Applied Acarology**, v. 23, p. 685-715, 1999.

ESTRADA-PEÑA, A.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. The distribution and ecological ‘preferences’ of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 98, n. 3, p. 283–292, 2004.

ESTRADA-PEÑA, A.; TARRAGONA, E. L.; VESCO, H.; MENEGHI, D.; MASTROPAOLO, M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Divergent environmental preferences and areas of sympatry of tick species in the *Amblyomma cajennense* complex (Ixodidae). **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 1081-1089, 2014.

FONSECA, L. M.; MARTINS, A. V. Febre maculosa: Revisão da literatura. **Saúde e Ambiente em Revista**, v. 2, n. 1, p. 01-20, 2007.

FOURNIER, P. E.; ROUX, V.; RAOULT, D. Phylogenetic analysis of the spotted fever rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 48, p. 839-849, 1998.

GALVÃO, M. A. M. Febre Maculosa em Minas Gerais: um estudo sobre a distribuição da doença no Estado e seu comportamento em áreas de foco periurbano. 1996. 114 f. **Tese (Doutorado em Medicina Tropical)**. Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Belo Horizonte, Belo Horizonte, 1996.

GIMÉNEZ, D. F. Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. **Stain Technology**, v. 39, p. 135-140, 1964.

GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A.; VIÑABAL, A. E. Ticks (Ixodidae) parasitizing humans in four provinces of the north-western Argentina. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 85, p. 539-542, 1991.

GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J.; LUCIANI, C. E.; VIÑABAL, A. E. *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) in relation to phytogeography of central-northern Argentina with note on hosts and seasonal distribution. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, p. 983-989, 2000.

GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PÉÑA, A.; LUCIANI, C. A.; MANGOLD, A. J.; KEIRANS, J. E. Hosts and distribution of *Amblyomma auricularium* (Conil 1878) and *Amblyomma pseudoconcolor* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 29, p. 131-139, 2003a.

GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PÉÑA, A.; KEIRANS, J. E.; ROBBINS, R. G. Ticks (Acari: Ixodidae) of the Neotropical zoogeographic region. **International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-2)**. Atlanta. Houten, The Netherlands. 2003b, 173 p.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; ESTRADA-PÉÑA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 83-100, 2006.

IBGE- **Mapas de Biomas e de Vegetação**. 2004. Disponível: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php.html>. Acesso em: 30 abr. 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE (ICMBio); Ministério do Meio Ambiente. **Unidades de Conservação**. 2004. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/unidades-de-conservacao/biomas-brasileiros/cerrado/unidades-de-conservacao-cerrado/2099-parna-grande-sertao-veredas.html>>. Acesso em: 01 out. 2015.

HOOGSTRAAL, H.; AESCHLIMANN, A. Ticks-host specificity. **Bulletin de la société entomologique Suisse**, v. 55, p. 5-32, 1982.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, V.; SCHUMAKER, T. T. S.; WALKER, D. H. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever-endemic area in the State of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.**, v. 71, p. 93–97, 2004.

HORTA, M. C.; CHIEBAO, D. P.; SOUZA, D. B.; FERREIRA, F.; PINHEIRO, S. R.; LABRUNA, M. B.; SCHUMAKER, T. T. S. Prevalence of *Rickettsia felis* in the fleas *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* from two Indian villages in São Paulo Municipality, Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 361–363, 2006.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793–801, 2007.

HORTA, M. C.; NASCIMENTO, G. F.; MARTINS, T. F.; LABRUNA, M. B.; MACHADO, L. C. P.; NICOLA, P. A. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing free-living wild animals in the caatinga biome in the State of Pernambuco, northeastern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 16, n. 3, p. 207–211, 2011.

JONES, E. K.; CLIFFORD, C. M.; KEIRANS, J. E. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western Hemisphere. **Brigham Young University Science Bulletin**. Biological Series, v. 17, n. 5, p. 1–40, 1972.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. S3–14, oct 2004.

KNIGHT, J. C. Observations on potential tick vectors of human disease in the cerrado region of central Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 25, p. 45–146, 1992.

KOHL, G. M.; CLIFFORD, C. M.; JONES, E. K. The Systematics of the Subfamily Ornithodorinae (Acarina: Argasidae). IV. Eight New Species of *Ornithodoros* from the Western Hemisphere. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 62, n. 5, p. 1035–1043, 1969.

KRAWCZAK, F. S.; MARTINS, T. F.; OLIVEIRA, C. S.; BINDER, L. C.; COSTA, F. B.; NUNES, P. H.; GREGORI, F.; LABRUNA, M. B. *Amblyomma yucumense* n. sp. (Acari:

Ixodidae), a Parasite of Wild Mammals in Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 1, p. 28-37, 2015.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A. M.; GHAGAS, N. Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: Serological survey of dogs and horses in an endemic area in the state of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, n. 6, p. 427- 430, 1996.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; SCHUMAKER, T. T. S.; CAMARGO, E. P. Parasitism of Domestic Swine (*Sus scrofa*) by *Amblyomma* Ticks (Acari: Ixodidae) on a Farm at Monte Negro, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 1, p. 241-243, 2002.

LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; BOUYER, D. H.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Molecular evidence for a Spotted Fever Group *Rickettsia* species in the ticks *Amblyomma longirostre* in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 533-537, 2004a.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. L.; CAMARGO, M. A.; CAMARGO, E. P.; POPOV, V.; WALKER, D. H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 1073-1081, 2004b.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H. *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**, v. 42, p. 90-98, 2004c.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; TERRASSINI, F. A.; FERREIRA, F.; SCHUMAKER, T. T. S.; CAMARGO, E. P. Ticks (Acari: Ixodidae) from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 10, p. 17-32, 2005a.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A.; JÁCOMO, A. T. A.; KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; FERRO, C.; PEREZ, S. A.; SILVEIRA, L.; SANTOS JR., T. S.; MARQUES, S. R.; MORATO, R. G.; NAVA, A.; ADANIA, C. H.; TEIXEIRA, R. H. F.; GOMES, A. A. B.; CONFORTI, V. A.; AZEVEDO, F. C. C.; PRADA, C. S.; SILVA, J. C. R.; BATISTA, A. F.; MARVULO, M. F. V.; MORATO, R. L. G.; ALHO, C. J. R.; PINTER, A.; FERREIRA, P. M.; FERREIRA, F.; BARROS-BATTESTI, D. M. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 149-163, 2005b.

LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; CAVALCANTE, D. M. G. T.; PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M. A. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and

rural areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, p. 249-256, 2007a.

LABRUNA, M. B.; PACHECO, R.C.; NAVA, S.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; GUGLIELMONE, A. A. Infection by *Rickettsia bellii* and Candidatus "*Rickettsia amblyommii*" in *Amblyomma neumanni* ticks from Argentina. **Microbial Ecology**, v. 54, p. 126-133, 2007b.

LABRUNA, M. B.; SANFILIPPO, L. F.; DEMETRIO, C.; MENEZES, A. C.; PINTER, A.; GUGLIELMONE, A. A.; SILVEIRA, L. F. Ticks collected from birds in the state of São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.43, p. 147-160, 2007c.

LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1166, p. 156-166, 2009.

LABRUNA, M. B.; MATTAR, S.; NAVA, S.;BERMUDEZ, S.;VENZAL, J. M.; DOLZ, G.; ABARCA, K.;ROMERO, L.; DE SOUSA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO, J. *Rickettsioses* in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 2, p. 2435-2457, 2011a.

LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; TERASSINI, F. A.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M.; CAMARGO, L. M.; VENZAL, J. M. Description of adults and nymph, and redescription of the larva, of *Ornithodoros marinkellei* (Acari: Argasidae), with data on its phylogenetic position. **Journal of Parasitology**, v.97, n. 2, p. 207-17, 2011b.

LABRUNA, M. B.; VENZAL, J. M. *Carios fonsecaisp.* nov. (Acari: Argasidae) a bat tick from the central-western region of Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 54, p. 355-363, 2009.

LABRUNA, M. B.; MARCILI, A.; OGRZEWALSKA, M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; DANTAS-TORRES, F.; FERNANDES, A. A.; LEITE, R. C.; VENZAL, J. M. New records and human parasitism by *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 1, p. 283-7, 2014.

LORD, C. C.; DAY, J. F. First record of *Amblyomma auricularium* (Acari: Ixodidae) in the United States. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 6, p. 977-978, 2000.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; LANDULFO, G. A.; BERTO, B. P.; FERREIRA, I. Bird ticks in an area of the cerrado of Minas Gerais State, southeast Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, p. 89-99, 2012.

MANGOLD, A. J.; BARGUES, M. D.; MAS-COMA, S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastrata (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 84, p. 478-484, 1998.

MARINHO-FILHO, J. S.; RODRIGUES, F. H. G. & JUAREZ, K. M. The Cerrado Mammals: diversity, ecology and natural history. In: OLIVEIRA, P. S.; MARQUIS, R. J. **The cerrados of Brazil: ecology and natural history of neotropical savanna**. Yrvington, NY, USA: Columbia University Press, 2002. p. 266-284.

MARRIS, E. The forgotten ecosystem. **Nature**, v. 13, p. 944-945, 2005.

MARTINS, T. F.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, n. 2, p. 75-99, 2010.

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. New ticks records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, p. 121-128, 2014.

MARTINS, T. F.; ARRAIS, R. C.; ROCHA, F. L.; SANTOS, J. P.; MAY JUNIOR, J. A.; AZEVEDO, F. C.; DE PAULA, R. C.; MORATO, R. G.; RODRIGUES, F. H. G.; LABRUNA, M. B. Carrapatos (Acari: Ixodidae) em mamíferos silvestres do Parque Nacional da Serra da Canastra e arredores, Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 45, n. 2, p. 288-291, fev. 2015.

MELO, A. L. T.; ALVES, A. S.; NIERI-BASTOS, F.; MARTINS, T. F.; WITTER, R.; PACHECO, T. A.; SOARES, H. S.; MARCILI, A.; CHITARRA, C. S.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; AGUIAR, D. M. *Rickettsia parkeri* infecting free-living *Amblyomma triste* ticks in the Brazilian Pantanal. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, n. 3, 2015.

MINAS GERAIS (Estado). Gabinete Militar do Governador; Coordenadoria Estadual de Defesa Civil. **Plano de Convivência com a Seca - 2015**. Belo Horizonte - Cedec/MG, Minas Gerais: GMG, 2015. 85 p.

MORAES-FILHO, J.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C.; MAEDA, M. M.; GALANO, A.; OLIVEIRA, M. L.; YAI, L. E. O.; LABRUNA, M. B. Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em equinos do Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/S P). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 2, p. 85-91, 2009.

NAVA, S.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. The natural hosts for larvae and nymphs of *Amblyomma neumanni* and *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 123–131, 2006.

NAVA, S.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; MANGOLD, A. J.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B. Description of a New Argasid Tick (Acari: Ixodida) from bat caves in Brazilian Amazon. **Journal of Parasitology**, v. 96, n.6, p.1089-1101, 2010a.

NAVA, S.; VENZAL, J. M.; LABRUNA, M. B.; MASTROPAOLO, M.; GONZÁLEZ, E. M.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 51, p. 335–351, 2010b.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M. B.; CACERES, A. G.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE.. 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 Disease**, v. 5, p. 252-276, 2014.

NIERI-BASTOS, F. A.; LOPES, M. G.; CANÇADO, P. H. D.; ROSSA, G. A. R.; FACCINI, J. L. H.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. Candidatus *Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agente infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, p. 1-3, 2014.

NUNES, E. C.; VIZZONI, V. F.; NAVARRO, D. L.; IANI, F. C. M.; DURÃES, L. S.; DAMON, E.; SOARES, C. A. G.; GAZETA, G. S. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, p. 1-4, 2015.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R. C.; UEZU, A.; RICHTZENHAIN, L. J.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) Infesting Birds in an Atlantic Rain Forest Region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1225-1229, 2009a.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R. C.; UEZU, A.; RICHTZENHAIN, L. J.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in *Amblyomma nodosum* ticks (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 103, n. 5, p. 413-25, Jul. 2009b.

OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M. F.; LOPES, C. M. L.; LEITE, R. C. 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**, v. 92, p. 295–301, 2000.

OLIVER JR., J. H. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 20, p. 397–430, 1989.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. **Conservation Biology**, v. 14, p. 722–728, 1999.

PACHECO, R. C.; VENZAL, J. M.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 11, Nov. 2006.

PACHECO, R. C.; MORAES-FILHO, J.; NAVA, S.; BRANDÃO, P. E.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. Detection of a novel spotted fever group rickettsia in *Amblyomma parvum* ticks (Acari: Ixodidae) from Argentina. **Experimental and Applied Acarology**, v. 43, p. 63–71, 2007.

PACHECO, R. C.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A.; RICHTZENHAIN, L. J.; SZABÓ, M. P.; CATROXO, M. H.; BOUYER, D. H.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia monteiroi* sp. nov. infecting the tick *Amblyomma incisum* in Brazil. **Applied Environmental Microbiology**, v. 77, p. 5207–5211, 2011.

PADDOCK, C. D.; SUMNER, J. W.; COMER, J. A.; ZAKI, S. R.; GOLDSMITH, C. S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S. L. F.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A. *Rickettsia parkeri*: A Newly Recognized Cause of Spotted Fever Rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 805–11, 2004.

PARKER, T. A. III; STOTZ, D. F.; FITZPATRICK, J. W. Ecological and distributional databases. In: STOTZ, D. F.; FITZPATRICK, J. W.; PARKER III, T. A.; MOSKOVITS, D. K. **Neotropical Birds. Ecology and Conservation**. Chicago: University of Chicago Press. 1996. p. 113–436.

PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Veterinary Research**, v. 36, p. 469–492, 2005.

PASCOAL, J. O.; AMORIM, M. P.; MARTINS, M. M.; MELO, C.; SILVA JÚNIOR, E. L.; OGRZEWSKA, M.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J. Ticks on birds in a savana (Cerrado) reserve on the outskirts of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 46–52, jan.-mar. 2013.

PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 523-529, 2006.

PINTER, A.; PACHECO, R. C.; HORTA, M. C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B. Seroevaluation on dogs and humans from a Spotted Fever endemic area in the State of Sao Paulo, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 247-252, 2008.

PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L.; PINTER, A.; SAITO, T. B.; PACHECO, R. C.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 103, p. 696-701, 2008.

PRANCE, G. T. Islands in Amazonia. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, v. 351, p. 823-833, 1996.

RAMOS, V. N.; OSAVA, C. F.; PIOVEZAN, U.; SZABÓ, M. P. J. Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. Jaboticabal, v. 23, n. 4, p. 516-521, oct-dec. 2014a.

RAMOS, V. N.; OSAVA, C. F.; PIOVEZAN, U.; SZABÓ, M. P. J. Ticks on humans in the Pantanal wetlands, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, p. 497-499, 2014b.

RAMOS, D. G. S.; MELO, A. L. T.; MARTINS, T. F.; ALVES, A. S.; PACHECO, T. A.; PINTO, L. B.; PINHO, J. B.; LABRUNA, M. B.; DUTRA, V.; AGUIAR, D. M.; PACHECO, R. C. Rickettsial infection in ticks from wild birds from Cerrado and the Pantanal region of Mato Grosso, midwestern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, p. 836-842, 2015.

RAOULT, D.; FOURNIER, P. E.; EREMEEVA, M.; GRAVES, S.; KELLY, P. J.; OTEO, J. A.; SEKEYOVA, Z.; TAMURA, A.; TARASEVICH, I.; ZHANG, L. Naming of Rickettsiae and rickettsial diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1063, p. 1-12, 2005.

REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. Genotypic identification of Rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 5, p. 1576-1589, 1991.

REIS, F. S.; BARROS, M. C.; FRAGA, E. C.; PENHA, T. A.; TEIXEIRA, W. C.; SANTOS, A. C. G.; GUERRA, R. M. S. N. C. Ectoparasitos de pequenos mamíferos silvestres de áreas adjacentes ao rio Itapecuru e área de preservação ambiental do Inhamum, Estado do

Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, Supl. 1, p. 69-74, 2008.

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T. Fitofisionomias do bioma Cerrado. *In* Cerrado: ambiente e flora (S.M. Sano & S.P. Almeida, eds.). **Embrapa-Cerrados**, Planaltina, 1998, p.89-166.

RIBEIRO, J. M.; ALARCON-CHAIDEZ, F.; FRANCISCHETTI, I. M.; MANS, B. J.; MATHER, T. N.; VALENZUELA, J. G.; WIKEL, S. K. An annotated catalog of salivary gland transcripts from *Ixodes scapularis* ticks. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 36, n. 2, p. 111–129, 2006.

RIVAS, J. J.; MOREIRA-SOTO, A.; ALVARADO, G.; TAYLOR, L.; CALDERÓN-ARGUEDAS, O.; HUN, L.; CORRALES-AGUILAR, E.; MORALES, J. A.; TROYO, A. Pathogenic potential of a Costa Rican strain of 'Candidatus *Rickettsia amblyommii*' in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and protective immunity against *Rickettsia rickettsii*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 6, n. 6, p. 805-811, 2015.

ROJAS, R.; MARINI, M. A.; COUTINHO, M. T. Z. Wild Birds as Hosts of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 3, p. 315-322, 1999.

ROOS, A. L. Capturando aves. *In*: VON MATTER, S.; STRAUBE, F. C.; PIACENTINI, V. Q.; ACCORDI, I. A.; CÂNDIDO, JR.; J. F. **Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2010. p 77-104.

ROUX, V.; FOURNIER, P. E.; RAOULT, D. Differentiation of spotted fever group rickettsiae by sequencing and analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified DNA of the gene encoding the protein rOmpA. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, p. 2058-2065, 1996.

ROUX, V., D. RAOULT. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer membrane protein rOmpB (*ompB*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 1449-1455, 2000.

SABATINI, G. S.; PINTER, A.; NIERI-BASTOS, F. A.; MARCILI, A.; LABRUNA, M. B. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 5, p. 913-16, Sep. 2010.

SAHNI, S. K.; RYDKINA, E. Host-cell interactions with pathogenic *Rickettsia* species. **Future Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 323-339, 2009.

SAITO, T. B.; CUNHA-FILHO, N. A.; PACHECO, R. C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F. G.; FARIAS, N. A.; LARSSON, C. E.; LABRUNA, M. B. Canine infection by rickettsiae and ehrlichiae in southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, p. 102-108, 2008.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2ed, Michigan, Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1989.

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A. M., et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, p. 265-269, 2005.

SARAIVA, D. G.; FOURNIER, G. F. S. R.; MARTINS, T. F.; LEAL, K. P. G.; VIEIRA, F. N.; CÂMARA, E. M. V. C.; COSTA, C. G.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with small terrestrial mammals in the state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, p. 159-166, 2012.

SARAIVA, D. G.; NIERI-BASTOS, F. A.; HORTA, M. C.; SOARES, H. S.; NICOLA, P. A.; PEREIRA, L. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma auricularium* ticks in Pernambuco, northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission, and transstadial perpetuation. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v. 13, p. 615-618, 2013.

SERRA-FREIRE, N. M. Occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on human hosts, in three municipalities in the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 3, p. 141-147, jul.-set. 2010.

SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; SZABÓ, M. P. J.; RAMOS, H. G. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 1111-1113, 2007.

SILVEIRA, I.; MARTINS, T. F.; OLEGÁRIO, M. M.; PETERKA, C.; GUEDES, E.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in animals, humans and ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 62, p. 525-533, 2015.

SLOAN, S.; JENKINS, C. N.; JOPPA, L. N.; GAVEAU, D. L. A.; LAURENCE, W. F. Remaining natural vegetation in the global biodiversity hotspots. **Biological Conservation**, v. 177, p. 12-24, 2014.

SOARES, H. S.; BARBIERI, A. R. M.; MARTINS, T. F.; MINERVINO, A. H. H.; LIMA, J. T. R.; MARCILI, M.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, p. 125–140, 2015.

SPOLIDORIO, M. G.; LABRUNA, M. B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P. E.; RICHTZENHAIN, L. J.; YOSHINARI, N. H. Novel spotted fever group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n. 3, p. 521-523, 2010.

SPONCHIADO, J.; MELO, G. L.; MARTINS, T. F.; KRAWCZAK, F. S.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, N. C. Association patterns of ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae, Argasidae) of small mammals in cerrado fragments, wetern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, p. 389-401, 2015.

SZABO, M. P. J.; LABRUNA, M. B.; CASTAGNOLI, K. C.; GARCIA, M. V.; PINTER, A.; VERONEZ, V. A.; MAGALHÃES, G. M.; CASTRO, M. B.; VOGLIOTTI, A. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in as Atlantic rainforest reserve of Southeastern Brazil with notes on host suitability. **Experimental and Applied Acarology**, v. 39, p. 339-346, 2006.

SZABÓ, M. P. J.; OLEGÁRIO, M. M. M.; SANTOS, A. L. Q. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. **Experimental and Applied Acarology**, v. 43, n. 1, p. 73-84, sep. 2007a.

SZABÓ, M. P.J.; CASTRO, M. B.; RAMOS, H. G. C.; GARCIA, M. V.; CASTAGNOLLI, K. C.; PINTER, A.; VERONEZ, V. A.; MAGALHÃES, G. M.; DUARTE, J. M. B.; LABRUNA, M. B. 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**, v. 143, p. 147–154, 2007b.

SZABÓ, M. P.; LABRUNA, M. B.; GARCIA, M. V.; PINTER, A.; CASTAGNOLLI, K. C.; PACHECO, R. C.; CASTRO, M. B.; VERONEZ, V.A.; MAGALHÃES, G. M.; VOGLIOTTI, A.; DUARTE, J. M. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. **Annals of Tropical and Medicine and Parasitology**, v. 103, n. 1, p. 57-72, 2009.

SZABÓ, M. P. J.; NIERI-BASTOS, F. A.; SPOLIDORIO, M. G.; MARTINS, T. F.; BARBIERI, A. M.; LABRUNA, M. B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest Rickettsia, the causative agent of a novel spotted fever rikettsiosis in Brazil. **Parasitology**, Cambridge, v. 140, p. 719-728, 2013.

TERASSINI, F. A.; BARBIERI, F. S.; ALBUQUERQUE, S.; SZABÓ, M. P.; CAMARGO, L. M.; LABRUNA, M. B. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest. **Ticks and Tick Borne Diseases**, v.1, n. 4, p. 194-96, Dec. 2010.

TOLESANO-PASCOLI, G. V.; TORGA, K.; FRANCHIN, A. G.; OGRZEWALSKA, M.; GERARDI, M.; OLEGÁRIO, M. M. M.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; MARÇAL JÚNIOR, O. Ticks on birds in a forest fragment of the Brazilian cerrado (savanna) in the municipality of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 4, p. 244-248, out.-dez. 2010.

TORGA, K.; TOLESANO-PASCOLI, G.; VASQUEZ, J. B.; SILVA JUNIOR, E. L.; LABRUNA, M. B.; MARTINS, T. F.; OGRZEWALSKA, M.; SZABÓ, M. P. J. Ticks on birds from Cerrado forest patches along the Uberabinha river in the Triângulo Mineiro region of Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 43, n. 10, p. 1852-1857, out. 2013.

VENZAL, J. M.; AUTINO, A. G.; NAVA, S.; GUGLIELMONE, A. A. *Ornithodoros mimon* Kohls, Clifford & Jones, 1969 (Acari: Argasidae) on Argentinean bats, and new records from Uruguay. **Systematic and Applied Acarology**, v. 9, p. 37-39, 2004a.

VENZAL, J. M.; PORTILLO, A.; ESTRADA-PEÑA, A.; CASTRO, O.; CABRERA, P. A.; OTEO, J. A. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 8, Aug. 2004b.

VERONEZ, V. A.; FREITAS, B. Z.; OLEGÁRIO, M. M. M.; CARVALHO, W. M.; TOLESANO-PASCOLI, G. V.; THORGA, K.; GARCIA, M. V.; SZABÓ, M. P. J. Ticks (Acari: Ixodidae) within various phytophysionomies of a Cerrado reserve in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, p. 169-179, 2010.

YUNKER, C. E.; KEIRANS, J. E.; CLIFFORD, C. M.; EASTON, E. R. Dermacentor ticks (Acari: Ixodoidea: Ixodidae) of the new world: a scanning electron microscope atlas. **Proceeding of the Entomological Society of Washington**, v. 88, n. 4, p. 609-627, 1986.

APÊNDICE A – Resultados da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) dos pequenos mamíferos para os seis antígenos de *Rickettsia* sp e seus prováveis antígenos no Parque Nacional Grande Sertão Veredas, 2012-2014.

(continua)

Soros	Espécies	R. <i>rickettsii</i>	R. <i>parkeri</i>	R. <i>amblyommii</i>	R. <i>hipicephalii</i>	R. <i>bellii</i>	R. <i>felis</i>
1-R1	<i>Galea spixii</i>	-	-	-	-	64	-
2-R1	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	256	-
2-R2	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
2-R3	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
2-R4	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R5	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R6	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	256	-
2-R7	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R8	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R9	<i>O. delator</i>	-	1024	128	-	-	-
2-R10	<i>O. delator</i>	256	1024	256	128	-	-
2-R11	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	128	-
2-R12	<i>O. delator</i>	1024	1024	512	1024	-	-
2-R13	<i>Calomys tener</i>	-	1024	-	-	128	-
2-R14	<i>Oligoryzomys</i> sp.	-	-	-	-	-	-
2-R15	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R17	<i>Dasyprocta</i> sp.	512	256	128	256	1	-
2-R18	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
2-R19	<i>O. delator</i>	1024	1024	512	256	512	64
2-R20	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R21	<i>Cerradomys</i> sp.	-	-	-	-	-	-
2-R22	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
2-R23	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R24	<i>O. delator</i>	64	64	-	-	-	-
2-R25	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
2-R26	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R27	<i>O. delator</i>	64	256	64	64	-	-
2-R28	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
2-R29	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R30	<i>O. delator</i>	64	128	64	64	-	-
2-R31	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
2-R32	<i>Cerradomys</i> sp	-	-	-	-	-	-
2-R33	<i>Calomys</i> sp	-	-	-	-	-	-
2-R34	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
3-R1	<i>Calomys tener</i>	-	-	-	-	-	-
3-R2	<i>O. delator</i>	1024	1024	512	-	64	-
3-R3	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
3-R4	<i>T. apereoides</i>	-	256	-	-	-	-
3-R5	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
3-R6	<i>O. delator</i>	-	-	-	-	-	-
3-R8	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
3-R10	<i>Calomys tener</i>	-	512	-	-	-	-
3-R11	<i>T. apereoides</i> (3-R8)	-	-	-	-	-	-
3-R13	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
3-R14	<i>C. marinhui</i>	-	-	-	-	-	-
3-R15	<i>Rhipidomys</i> sp	-	-	-	-	-	-
3-R16	<i>Rhipidomys</i> sp	-	-	-	-	-	-
3-R17	<i>Holochilus</i> sp	-	-	-	-	-	-
3-R18	<i>Holochilus</i> sp	512	1024	128	512	-	-
3-R19	<i>Oligorizomys</i> sp.	-	-	-	-	-	-
3-R20	<i>Rhipidomys</i> sp	-	512	-	64	256	-
3-R21	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	64	-

(conclusão)

Soros	Espécies	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephalii</i>	<i>R. bellii</i>	<i>R. felis</i>
3-R22	<i>Rhipidomys sp</i>	-	-	-	-	-	-
3-R23	<i>T. apereoides</i>	-	-	-	-	-	-
1-M1	<i>D. albiventris</i>	256	128	64	-	-	-
1-M2	<i>D. albiventris</i>	-	-	-	-	-	-
1-M3	<i>G. agilis</i>	-	-	-	-	-	-
1-M4	<i>G. agilis</i>	-	-	-	-	-	-
1-M5	<i>T. karimii</i>	-	-	-	-	-	-
1-M6	<i>T. karimii</i>	-	-	-	-	-	-
2-M1	<i>M. domestica</i>	-	-	-	-	-	-
2-M2	<i>Gracilinanus sp</i>	-	-	-	-	-	-
2-M3	<i>Gracilinanus sp</i>	-	-	-	-	-	-
3-M1	<i>D. albiventris</i>	-	-	-	-	-	-

ANEXO A – DISTRIBUIÇÃO DAS DIFERENTES FITOFISIONOMIAS NO PARNA GRANDE SERTÃO VEREDAS.

Fonte: Plano de Manejo: Parque Nacional Grande Sertão Veredas.

ANEXO B – BIOMAS ENCONTRADOS EM MINAS GERAIS.

Fonte: Defesa Civil: Plano de Convivência com a Seca – 2015 (MINAS GERAIS, 2015).