FLÁVIO APARECIDO TERASSINI

**LEVANTAMENTO DE CARRAPATOS,
SEUS HOSPEDEIROS E AGENTES INFECCIOSOS
ASSOCIADOS, NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA SAMUEL,
RONDÔNIA, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Departamento de
Parasitologia do Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo,
para obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

**São Paulo
2010**

FLÁVIO APARECIDO TERASSINI

**LEVANTAMENTO DE CARRAPATOS, SEUS HOSPEDEIROS E
AGENTES INFECCIOSOS ASSOCIADOS, NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA
SAMUEL, RONDÔNIA, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Departamento de
Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências.

Área de concentração: Biologia da Relação Patógeno-
Hospedeiro

Orientador: Prof. Dr. Luís Marcelo Aranha Camargo

**São Paulo
2010**

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Terassini, Flávio Aparecido.

Levantamento de carrapatos, seus hospedeiros e agentes infecciosos associados, na Estação Ecológica Samuel, Rondônia, Brasil / Flávio Aparecido Terassini. -- São Paulo, 2010.

Orientador: Luís Marcelo Aranha Camargo.

Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Parasitologia. Área de concentração: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro. Linha de pesquisa: Patógenos e ectoparasitas.

Versão do título para o inglês: Survey of ticks, their hosts and agents associated infectious, Ecological Station of Samuel, Rondonia, Brazil.

Descritores: 1. Carrapatos 2. Vertebrados 3. Rickettsiose 4. Floresta Amazônica 5. Rondônia I. Camargo, Luís Marcelo Aranha II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro III. Título.

ICB/SBIB0197/2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Flávio Aparecido Terassini.

Título da Dissertação: Levantamento de carrapatos, seus hospedeiros e agentes infecciosos associados, na Estação Ecológica Samuel, Rondônia, Brasil.

Orientador(a): Luís Marcelo Aranha Camargo.

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da **Dissertação de Mestrado**,
em sessão pública realizada a/...../.....,

() **Aprovado(a)**

() **Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Examinador(a): Assinatura:
Nome:
Instituição:

Presidente: Assinatura:
Nome:
Instituição:

Programa: **BIOLOGIA DA RELAÇÃO PATOGENO-HOSPEDEIRO**

Interessado(a): **FLAVIO APARECIDO TERASSINI**

Assunto: Pedido para aceitação de parecer emitido pela CEEA da FMVZ/USP em substituição ao emitido pela CEEA do ICB

INFORMAÇÃO

=====

A CPG/ICB, em **17 de novembro p.p.**, após análise das justificativas apresentadas pelo Prof. Dr. Luiz Marcelo Aranha Camargo, bem como o parecer emitido pelo Coordenador da CEEA/ICB, Prof. Dr. Wothan Tavares de Lima, aprovou em **caráter extritamente excepcional** o pedido para aceite do parecer emitido pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da FMVZ/USP em substituição ao parecer emitido pela CEEA deste Instituto, devendo o interessado anexar cópia ao exemplares da Dissertação.

Na oportunidade, solicita que a Coordenadoria do Programa, bem como os orientadores, **atentem para as normas e prazos estabelecidos** pela Comissão de Pós-Graduação e Comissões de Ética em Animais e Humanos deste Instituto.

Encaminhe-se à Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em **Biologia da Relação Patogeno-Hospedeiro** para ciência dos interessados e ao Coordenador da CEEA/ICB.

CPG/ICB, 19 de novembro de 2009

Prof. Dr. JOSÉ CIPOLLA NETO
Presidente

Aos meus pais Antônio Terassini e Dirce
Brazão Terassini, minha irmã Francielli
Brazão Terassini e todos os meus
familiares, que sempre me apoiaram e
me incentivaram em minha formação.

Obrigado!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, por me dar forças e fé para continuar sempre em frente, mesmo nos momentos mais turbulentos, difíceis e até mesmo quando pensamos em desistir de conquistar nossos objetivos.

Ao meu Orientador, Prof. Luís Marcelo Aranha Camargo, que sempre confiou em meu potencial e me orientou no caminho correto a seguir por mais de uma década até os dias de hoje, muito obrigado “Professor” e vamos juntos fazer “ciência” na Amazônia brasileira.

Ao Prof. Marcelo Bahia Labruna (FMVZ/USP), que me ensinou e orientou no caminho dos Ixodídeos, também por mais de uma década, com paciência e dedicação sempre me cobrou e exigiu o melhor na execução das atividades de campo, laboratorial e na confecção dos trabalhos, assim, meu muito obrigado “Prof. Labruna”.

Ao Prof. Erney P. F. de Camargo, que logo no início da criação do campus da USP no interior de Rondônia (ano de 2000) confiou e acreditou em meu potencial, aconselhando-me a seguir sempre estudando e buscando novos conhecimentos. O senhor foi inspirador e referência em minha caminhada e sempre será “Prof. Erney”.

A Dra Maria Eliza Aguiar e Silva, pelo incentivo e por me fazer acreditar que é possível fazer um mundo melhor, investindo hoje em aprendizado e ensino, contribuindo para o enriquecimento do conhecimento amanhã. Obrigado “Dra Eliza” por acreditar em meu potencial.

Ao grande amigo Msc Saymon de Albuquerque, que auxiliou em várias etapas da execução deste estudo, desde as atividades de campo até sugestões pertinentes para a concretização deste trabalho e por sempre estar disposto a ajudar, muito obrigado “Albuquerque”.

Aos acadêmicos de Ciências Biológicas da Faculdade São Lucas, que auxiliaram diretamente em todas as etapas de campo, em destaque: Sérgio Augusto, Aurélio Paz da Luz, Marlon Grégori e a Kaynara D. Zaqueo. E também a Bióloga da UNIR Kayena D. Zaqueo e a todos que de certa forma contribuíram indiretamente com dicas, sugestões e atividades.

Aos amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, que me auxiliaram nas etapas de processamento das amostras, em especial a Aliny, Fernanda, João Fábio, Maria, Mariana, Jonas, Thiago, Mathias, muito obrigado.

Aos amigos e companheiros de profissão que de forma direta e indireta sempre me ajudaram e me aconselharam a nunca desistir: Dr Pedro Ismael, Dr Rogério Bertani, Dr Wilson Fernandes, Dr Fabrício Calvo, Prof. Ana Cristina e a Bióloga Lucinara Camargo, muito obrigado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (nº 2007/53309-8) sem o qual não seria possível a realização deste estudo.

Ao CNPq pelo apoio com a bolsa de iniciação científica PIBICJr, (nº: 11.7874/2007-8), no qual contribuiu significativamente para a concretização de parte deste estudo.

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) pela autorização de coleta, captura, transporte e processamento dos animais deste projeto (nº: 11455-1).

A Centrais Elétricas do Norte do Brasil S/A (ELETRONORTE-RO) pela autorização para a realização deste projeto na Estação Ecológica Samuel.

Aos Laboratórios do Instituto de Ciências Biomédicas 5-USP, Monte Negro-RO, pelo apoio logístico com material e veículos durante a execução das atividades de campo.

A Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ/USP), pelo apoio com laboratórios, e insumos para a realização deste trabalho.

A Faculdade São Lucas, pelo incentivo e apoio durante todas as etapas deste projeto. Muito obrigado à diretoria geral desta instituição, que se preocupa e incentiva o crescimento científico, sem o qual, eu jamais teria concluído este estudo.

Ao Batalhão da Polícia Ambiental (BPA-RO), pelo apoio logístico durante a execução das atividades de campo.

“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mas o que melhor se adapta às mudanças”

Charles Darwin

RESUMO

TERASSINI, F. A. **Levantamento de carrapatos, seus hospedeiros e agentes infecciosos associados, na Estação Ecológica Samuel, Rondônia, Brasil.** 2010. 78 f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

Este estudo avaliou a ocorrência de carrapatos de vida livre e em parasitismo em pequenos mamíferos, anfíbios, répteis e aves silvestres na Estação Ecológica Samuel, uma área de floresta ombrófila densa da Amazônia no Estado de Rondônia. Em adição, pesquisou-se a existência patógenos bacterianos dos gêneros *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Borrelia* em carrapatos e em pequenos mamíferos. De outubro/2007 a setembro/2008, foram realizadas capturas mensais de aves por redes de neblina, de pequenos mamíferos, répteis e anfíbios por técnicas de armadilhamento terrestre, e de carrapatos de vida livre pelos métodos de busca visual e arraste de flanela na vegetação. Amostras de carrapatos foram testadas através de técnicas de reação em cadeia pela polimerase (PCR) para presença de patógenos bacterianos dos gêneros *Rickettsia*, *Ehrlichia* e *Anaplasma*. Semelhantemente, amostras de fígado dos mamíferos foram também processadas por PCR para esses três gêneros de bactérias, além de *Borrelia* spp. Amostras de soro sanguíneo de mamíferos foram processadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando-se antígenos de *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri*, *R. felis*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii* e *R. bellii*. Foram coletadas 60 aves, 36 mamíferos, 14 répteis e 11 anfíbios ao longo de 12 meses. De todos os animais capturados, apenas 5 (14%) dos 36 mamíferos e 2 (16,7%) dos 12 anfíbios foram encontrados parasitados por carrapatos das seguintes espécies: *Amblyomma coelebs*, *A. latepunctatum*, *A. scalpturatum*, *A. naponense*, *A. oblongoguttatum*, *A. rotundatum*, *Ixodes fuscipes* e *Haemaphysalis juxtakochi*. Em vida livre, foram coletados 265 carrapatos adultos de quatro espécies, sendo elas: *Amblyomma scalpturatum* (81), *A. latepunctatum* (84), *A. oblongoguttatum* (18), *A. naponense* (69) e 597 ninfas de *Amblyomma* spp. Nenhuma amostra de carrapato ou fígado de mamífero se mostrou positiva nas reações de PCR para bactérias transmitidas por carrapatos. Por outro lado, algumas amostras de soro de mamíferos marsupiais e roedores caviídeos demonstraram a presença de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do grupo da febre maculosa, indicando que esses animais foram expostos a agentes deste gênero de bactéria. Neste estudo, são relatados os primeiros registros de ninfas de *A. naponense* e *A. latepunctatum* em pequenos mamíferos. A área de floresta amazônica da Estação Ecológica Samuel alberga uma fauna de carrapatos predominantemente composta por espécies de *Amblyomma* relacionadas primariamente a mamíferos de médio e grande porte, contrastando com outras áreas de

floresta amazônica do Estado de Rondônia, onde outras espécies de *Amblyomma*, tal como *A. ovale*, que dependem de pequenos roedores para seu estabelecimento, também estão presentes e abundantes.

Palavras-chaves: Carrapatos. Vertebrados. Rickettsiose. Floresta Amazônica. Rondônia.

ABSTRACT

TERASSINI, F. A. **Survey of ticks, their hosts and agents associated infectious, Ecological Station of Samuel, Rondonia, Brazil.** 2010. 78 p. Master Thesis (Parasitology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

This study evaluated the occurrence of free-living ticks on vegetation, and ticks parasitizing small mammals, amphibians, reptiles, and wild birds in the Samuel Ecological Station, a dense Amazon forest area in the state of Rondonia, Brazil. Additionally, tick-borne bacterial agents of the genera *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* and *Borrelia* were searched in ticks and small mammals. From October/2007 to September/2008, monthly captures of birds were performed by mist nets, while small mammals, reptile and amphibians were captured by different terrestrial traps, and free-living ticks were captured on vegetation by dragging and by the visual search method. Tick samples were tested by different protocols of polymerase chain reaction (PCR) for the presence of bacterial agents of the genera *Rickettsia*, *Ehrlichia* and *Anaplasma*. Similarly, samples of liver from the small mammals were tested by PCR for these three bacterial genera, plus *Borrelia* spp. Mammal blood sera were tested by the indirect immunofluorescence assay (IFA), using antigens of *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri*, *R. felis*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii* and *R. bellii*. A total of 60 birds, 36 mammals, 14 reptiles and 11 amphibians were captured throughout 12 months. From these animals, only 5 (14%) out of 36 mammals and 2 (16.7%) out of 12 amphibians were found parasitized by ticks of the following species: *Amblyomma coelebs*, *A. latepunctatum*, *A. scalpturatum*, *A. naponense*, *A. oblongoguttatum*, *A. rotundatum*, *Ixodes fuscipes* and *Haemaphysalis juxtakochi*. On the vegetation, 265 adult ticks were collected encompassing four species: *Amblyomma scalpturatum* (81), *A. latepunctatum* (84), *A. oblongoguttatum* (18), *A. naponense* (69); plus 597 *Amblyomma* spp. nymphs. By PCR, none tick or liver sample was found to contain tick-borne bacterium. On the other hand, some sera samples from marsupials and cavid rodents showed to contain antibodies against spotted fever group *Rickettsia* spp., indicating that these animals were exposed to agents of this bacterial genus. This study provides the first reports of *A. naponense* and *A. latepunctatum* nymphs on small mammals. The Amazon forest area of the Samuel Ecological Station bears a tick fauna composed mostly by *Amblyomma* species primarily associated with medium and large-sized mammals, in contrast to other Amazon Forest areas of the state of Rondônia, where other *Ambolyomma* species, such as *A. ovale*, which depend on small rodents for feeding, are also present and abundant.

Key words: Ticks. Vertebrates. Rickettsiosis. Amazon Forest. Rondonia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Localização esquemática da área de estudo. [A: Mapa do Brasil; B: Rondônia e C: área da Usina Hidrelétrica de Samuel e da Estação Ecológica onde foram executadas as atividades de campo].....	27
Figura 2 - Área de vegetação ombrófila densa da Estação Ecológica de Samuel.....	27
Figura 3 - Logística de campo para obtenção e captura dos animais. [A: ponto de apoio; B: acampamento improvisado; C: local para higiene pessoal e lavagem do material de campo (armadilhas); D: registro fotográfico e anotações dos animais capturados].....	28
Figura 4 - Armadilhas para coleta de aves. (Detalhe em destaque pelas setas, mostrando as redes de neblina estendidas para coleta às margens da floresta).....	29
Figura 5 - Esquema mapeado e utilizado para montagem das armadilhas “Shermann” e “Tomahawk” na floresta da Estação Ecológica de Samuel para armadilhamento de pequenos mamíferos.....	31
Figura 6 – Armadilhamento para coleta de animais [A: Armadilhas sendo preparadas na área de coleta; B: disposição das armadilhas no solo da floresta; C: armadilha “Shermann” armada próximo a uma palmeira e D: armadilha “Tomahawk” com um marsupial capturado].....	32
Figura 7 - Técnica de arraste de flanela para captura de carrapatos de vida livre sendo executada na estrada dentro da Estação Ecológica de Samuel.....	33
Figura 8 – “Pitfall-traps” - armadilhas de interceptação e queda em quatro pistas na Estação Ecológica de Samuel.....	35
Figura 9 – “Pitfall-traps” – montagem das armadilhas de interceptação e queda duas pistas. Nota-se a presença “esquemática” de uma grande árvore que inativou um dos baldes logo no início das atividades.....	36
Figura 10 - Armadilha “Pitfall-traps” com cerca guia de lona e balde de 60 ou 100 litros para coleta dos mamíferos disposta na floresta da Estação Ecológica de Samuel.....	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição atual das famílias, gêneros e espécies de carrapatos no Brasil, Argasidae (carrapatos moles) e Ixodidae (carrapatos duros)	21
Tabela 2 - Marcadores utilizados na PCR para detecção de patógenos bacterianos em carrapatos.....	39
Tabela 3 - Aves coletadas e capturadas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	42
Tabela 4 - Anfíbios encontrados na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	43
Tabela 5 - Répteis encontrados sobre a vegetação ou dentro das armadilhas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	43
Tabela 6 - Mamíferos capturados nas armadilhas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008	44
Tabela 7 - Carrapatos encontrados nos animais capturados e seus estágios de desenvolvimento na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	45
Tabela 8 - Resultados de análise de fragmentos de DNA em carrapatos adultos colhidos em vida livre capturados na Estação Ecológica Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	46
Tabela 9 – Resultados de análise de fragmentos de DNA em amostras de carrapatos adultos e estágios imaturos colhidos parasitando animais capturados na Estação Ecológica Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	47
Tabela 10 - Resultados de análise de fragmentos de DNA por PCR direcionado a microorganismos associados a carrapatos em amostras de fígado de mamíferos capturados na Estação Ecológica Samuel, no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	48
Tabela 11 - Sorologia através de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para presença de anticorpos anti- <i>Rickettsia</i> spp. em mamíferos capturados na Estação Ecológica Samuel capturados na Estação Ecológica Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	49

LISTA DE GRÁFICO

Gráfico 1 - Distribuição dos vertebrados capturados neste estudo para obtenção de ectoparasitas e amostras biológicas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.....	41
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BR – Rodovias Federais Brasileiras

°C - Graus Celsius

CCZ/SP – Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo

cm – Centímetro(s)

DNA – ácido desoxirribonucleico

etc. – Et cetera (e as demais coisas)

FMB - Febre Maculosa Brasileira

FMVZ - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

gltA - Gene citrato sintase

h – Hora(s)

ha – Hequitare(s)

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

km – Quilômetro(s)

km² – Quilômetro(s) quadrado(s)

m – Metro(s)

m² – Metro(s) quadrado(s)

min - Minutos

mm – Milímetro(s)

Nº - Número(s)

PB – Pares de base

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

rRNA - RNA ribossômico

RO – Rondônia

sp. – Espécie

spp. - Espécies

UHS - Usina Hidrelétrica Samuel

USP – Universidade de São Paulo

VPS - Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

VPZ/USP - Veterinária Preventiva e Zootecnia – Universidade de São Paulo

♀ - Fêmea

♂ - Macho

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REFERÊNCIAL TEÓRICO.....	20
1.1 Estação ecológica e hidrelétrica de Samuel	20
1.2 Carrapatos.....	20
1.3 Parasitismo por carrapatos.....	22
1.4 Patógenos associados a carrapatos	23
2 OBJETIVOS	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 Área do estudo	26
3.2 Captura de aves silvestres	28
3.3 Captura de pequenos roedores e marsupiais	29
3.4 Técnicas de coleta de carrapatos de vida livre.....	32
3.5 Captura por armadilha de interceptação e queda “Pitfall-traps”	33
3.6 Identificação taxonômica de carrapatos.....	37
3.7 Pesquisa de infecção por patógenos nos carrapatos	38
3.8 Pesquisa de infecção por patógenos nos animais	39
4 RESULTADOS	41
4.1 Vertebrados e carrapatos capturados na Estação Ecológica de Samuel.....	41
4.2 Carrapatos de vida livre.....	46
4.3 Pesquisa de patógenos em carrapatos e mamíferos através de PCR.....	46
4.4 Sorologia de mamíferos para <i>Rickettsia</i> spp.....	49
5 DISCUSSÃO	50
5.1 Espécies de carrapatos encontrados na Estação Ecológica de Samuel.....	50
5.2 Espécies de vertebrados e invertebrados capturados e a influência da Obra da Usina Hidrelétrica de Samuel sobre a fauna local.....	54
5.3 Infecção dos carrapatos e animais por <i>Rickettsia</i> spp. e outros patógenos	56

6 CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS	59
ANEXOS	67
ANEXO A - Certificado da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.....	69
ANEXO B - Ficha de coleta de campo.....	69
APÊNDICES.....	70
APÊNDICE A - Fêmea e macho de <i>Amblyomma sculpturatum</i>	71
APÊNDICE B - Fêmea e macho de <i>A. latepunctatum</i>	71
APÊNDICE C - Fêmea e macho de <i>A. naponense</i>	72
APÊNDICE D - Fêmea e macho de <i>A. oblongoguttatum</i>	72
APÊNDICE E - Ninfas de <i>Amblyomma</i> spp.	73
APÊNDICE F - Ninfas de <i>Amblyomma</i> spp. sobre a folhagem em espera na Estação Ecológica de Samuel.....	73
APÊNDICE G - Fêmea (maior) e ninfa ingurgitada de <i>Amblyomma rotundatum</i> parasitando anfíbio <i>Rhinella marina</i> (sapo cururu) na Estação Ecológica de Samuel	74
APÊNDICE H - Técnica de armadilhamento para aves (rede de neblina) ao longo da estrada de acesso próximo a floresta, sendo inspecionada para retirada das aves na Estação Ecológica de Samuel.....	74
APÊNDICE I - Serpente <i>Spilotes pullatus</i> (caninana) capturada em 11/08/2008 sobre a vegetação, inspecionada, fotografada e solta na Estação Ecológica de Samuel.....	75
APÊNDICE J - Morcego (<i>Carollia</i> sp.) capturado nas armadilhas de rede de neblina em 11/08/2008 na Estação Ecológica de Samuel.....	75
APÊNDICE K - Animal que recebeu o código MA: 14 (<i>Didelphys marsupialis</i>) capturada na armadilha “Pitfall-traps” na Estação Ecológica de Samuel em janeiro de 2008.....	76
APÊNDICE L - Roedor <i>Oligoryzomys</i> sp. capturado na Estação Ecológica de Samuel inspecionado e pronto para envio a taxidermização.....	76

APÊNDICE M - Cutia (*Dasyprocta variegata*) capturada em armadilha “Tomahawk” na Estação Ecológica de Samuel, registrada sob número MA: 6 com presença de ninfas de *Amblyomma* sp. que foram levadas para laboratório e criadas até estágio adulto.....77

1 INTRODUÇÃO E REFERÊNCIAL TEÓRICO

1.1 Estação ecológica e hidrelétrica de Samuel

Estação Ecológica é uma unidade de conservação construída com o objetivo de preservar a natureza e propiciar a realização de pesquisas científicas. É proibida a visitação pública, exceto com objetivo educacional e pesquisa científica, dependendo de autorização prévia do órgão responsável. Na última década houve um grande desenvolvimento do processo de licenciamento ambiental, particularmente de grandes empreendimentos impactantes, destacando-se, entre estes, as hidrelétricas e atividades mineradoras (MESSIAS, 2005).

A implantação da Usina Hidrelétrica de Samuel (UHS), nas adjacências da extensão da Flona do Jamarí, que formou um reservatório de 540 km² no Estado de Rondônia, fornece lições para tomada de decisões sobre desenvolvimento em toda a Amazônia e em outras áreas tropicais. Esta área situada no município de Itapuã do Oeste é uma Unidade de Conservação Federal de Uso Sustentável (SZKLAROWSKY, 2002; KOESTER, et al., 2008). Criada em 1989 pelo Governo do Estado, a área possui cerca de 70 mil ha, tem como objetivo a proteção representativa dos ecossistemas naturais da bacia do Rio Jamari. Essa unidade de conservação foi criada como compensação pela formação do reservatório da Usina Hidrelétrica Samuel, para preservar sua biodiversidade (FEARNSIDE, 2004). Assim, a Estação Ecológica de Samuel fica dentro da área do empreendimento da Hidrelétrica de Samuel sob responsabilidade e cuidados da ELETRONORTE/SA.

1.2 Carrapatos

Entre todos os vetores invertebrados, os carrapatos são o segundo grupo de artrópodes ectoparasitos, depois dos mosquitos, a transmitirem maior variedade de patógenos aos seres humanos, e ocupam o primeiro lugar em relação ao número de patógenos transmitidos aos animais domésticos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004; OGRZEWSKA, 2010).

São membros da classe Arachnida, totalizando 896 espécies divididas em três famílias, conforme descrito a seguir: Ixodidae (carrapatos duros) é a família mais importante do ponto

de vista da ameaça aos seres humanos e abrange 702 espécies; Argasidae (carrapatos moles), com cerca de 193 espécies; e uma última família, Nuttalliellidae, com apenas uma espécie representante, encontrada na África (GUGLIELMONE et al., 2003; JONGEJAN; UILENBERG, 2004; GUGLIELMONE et al., 2009; LABRUNA e VENZAL, 2009; NAVA et al., 2009; OGRZEWALSKA, 2010),.

No Brasil, foram identificados até o momento 62 espécies de carrapatos (Tabela 1), divididas em cinco gêneros e 44 espécies da família Ixodidae e cinco gêneros e 18 espécies da família Argasidae (ARAGÃO e FONSECA, 1961; GUIMARÃES et al., 2001; DANTAS-TORRES et al., 2009; MARTINS et al., 2010; NAVA et al., 2010). Segundo Dantas-Torres, et al. (2009) no Brasil há 30 das 130 espécies do gênero *Amblyomma*, que contém os carrapatos maiores, mais ornamentados e mais importantes por vincular diversos tipos de patógenos para o ser humano e animais (KEIRANS, 1992; CAMICAS et al., 1998; HORAK et al., 2002) e classificados dentro do grupo dos carrapatos “duros” (MARTINS et al., 2010). Este é o gênero de maior importância médica, já que inclui as principais espécies que parasitam humanos neste país. Dentre elas, destacam-se *A. aureolatum*, *A. cajennense* e *A. triste*, que são incriminados na transmissão da febre maculosa e outras riquetsioses para humanos no Brasil (LABRUNA et al., 2004; GUEDES et al., 2005; PINTER; LABRUNA, 2004a; LABRUNA, 2004b; SILVEIRA et al., 2007; LABRUNA, 2009a).

Tabela 1 - Distribuição atual das famílias, gêneros e espécies de carrapatos no Brasil, Argasidae (carrapatos moles) e Ixodidae (carrapatos duros).

Famílias	Gêneros	Espécies
ARGASIDAE	<i>Argas</i>	1
	<i>Ornithodoros</i>	3
	<i>Antricola</i>	3
	<i>Nothoaspis</i>	1
	<i>Carios</i>	10
IXODIDAE	<i>Ixodes</i>	8
	<i>Amblyomma</i>	30
	<i>Haemaphysalis</i>	3
	<i>Dermacentor</i>	1
	<i>Rhipicephalus</i>	2

Fonte: (LABRUNA et al., 2005e; BARROS-BATTESTI et al., 2006; DANTAS-TORRES et al., 2009; NAVA et al., 2010; MARTINS et al., 2010).

Em Rondônia após, a estudo da fauna Ixodológica entre os anos de 2000 e 2004 por Labruna et al. (2005e), foram relatados neste estudo 22 espécies de carrapatos divididos em seis gêneros (*Amblyomma*, *Boophilus*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Haemaphysalis* e

Rhipicephalus), coletados sobre a vegetação, parasitando animais silvestres, domésticos e inclusive seres humanos. Terassini et al. (2006) relataram a presença de Argasidae, do gênero *Argas* (*Persicargas*) sp. em urubu (*Coragyps atratus*) na Vila Princesa no município de Porto Velho RO, sendo este o primeiro relato deste gênero para a região. Em outro trabalho de Labruna et al. (2008) foram relatados a presença de mais 3 espécies da família Argasidae, sendo duas com novas distribuição geográfica (*Antricola guglielmonei* e *A. delacruzii*) e uma espécie nova para a literatura científica (*Carios rondoniense*). Labruna et al. (2010) relataram pela primeira vez em Rondônia, a espécie *Amblyomma romitii* e Nava et al. (2010) descreveram outra espécie nova, proveniente de Porto Velho, denominada de *Nothoaspis amazoniense*. Por fim, existe o registro de *Ornithodoros setosus* para Rondônia décadas atrás, por Kohls et al. (1969).

Assim sendo, a área geográfica do Estado de Rondônia, que é de apenas 2,8% do território brasileiro, possui uma fauna de carrapatos atualmente com 28 espécies registradas, ou seja, compõem 47% da fauna nacional destes ectoparasitas.

1.3 Parasitismos por carrapatos

Das 61 espécies de carrapatos relatadas para o Brasil (DANTAS-TORRES et al., 2009), cerca de 18 espécies de cinco gêneros têm sido relatas parasitando aves selvagens em diferentes biomas além da floresta amazônica (ARAGÃO, 1911, 1936; ARZUA; BARROS-BATTESTI, 1999; EVANS et al., 2000; BARROS-BATTESTI et al., 2003; ARZUA et al., 2003, 2005; TERASSINI et al., 2006; LABRUNA et al., 2007; 2010; SZABÓ et al., 2008; OGRZEWALSKA et al., 2008, 2009, 2010) principalmente os carrapatos dos gêneros *Haemaphysalis* e *Amblyomma*. Este último gênero é encontrado raramente em estágio adulto parasitando aves, mas frequentemente são hospedeiros para as formas imaturas de algumas espécies (LABRUNA et al., 2007). No entanto, o estágio adulto desses carrapatos parasitam preferencialmente mamíferos.

Os demais gêneros parasitam uma grande variedade de hospedeiros compreendendo a maioria das ordens de mamíferos, no entanto, *Amblyomma*, tem sido relatado parasitando um grande espectro de animais, além dos mamíferos de pequeno, médio e grande porte. Já foram relatados em anfíbios e répteis que também estão entre os hospedeiros de algumas espécies

deste gênero, principalmente os Lacertílios, Ofídios e Quelônios (VIEIRA, 2004; LABRUNA et al., 2005; ONOFRIO et al., 2006b; MARTINS et al., 2010).

1.4 Patógenos associados a carrapatos

Os carrapatos são importantes para a saúde pública por transmitirem agentes infecciosos e causarem injúrias a seus hospedeiros durante a hematofagia (BARROS-BATTESTI et al., 2006). A variedade de patógenos transmitidos por eles no mundo é maior do que em qualquer outro grupo de vetores (PIESMAN et al., 1987; OLIVER, 1989), sendo responsáveis pela transmissão de vírus, como o da encefalite, bactérias, como as Riquetsias, Anaplasmas, Borrélias e protozoários como a Babesia. No homem e em alguns animais, as infestações por carrapatos podem ainda causar um quadro de dermatite pruriginosa dada às reações alérgicas desencadeadas pela saliva do artrópode no local da picada. Este quadro se caracteriza por intenso prurido, que pode se estender por dias ou semanas após a retirada da pele, além de infecções bacterianas secundárias que podem ocorrer no local (LABRUNA, 2004b; MARTINS et al., 2010).

A febre maculosa brasileira (FMB), Riquetsiose mais relevante transmitida por carrapatos no Brasil (LABRUNA, 2009a) é causada pela bactéria gram-negativa *Rickettsia rickettsii*. Com afinidade por células endoteliais, é mantida na natureza por vetores artrópodes, sendo relatados numerosos casos de doenças e mortes em seres humanos nas Américas (Estados Unidos, Colômbia, México, Canadá, Panamá, Costa Rica e Argentina), incluindo o Brasil (PAROLA et al., 2005). São capazes de infectar vários grupos distintos de vertebrados, o que, por sua vez, permite a infecção de novas linhas de vetores através desses hospedeiros. Porém, o papel do ser humano no ciclo natural das riquetsias é secundário, exceto para uma única espécie com distribuição mundial, a *R. prowazekii* transmitidas por piolhos (RAOULT; ROUX, 1997).

Atualmente, *R. rickettsii*, com transmissão através da saliva contaminada de carrapatos Ixodídeos, principalmente das espécies *A. cajennense* e o *A. aureolatum* (PADDOCK et al., 2008; LABRUNA, 2009a) são responsáveis por 32% de óbitos em pacientes tratados e até 80% dos não tratados no Brasil, sendo esta a principal espécie responsável pelos quadros clínicos de rickettsioses no Brasil.

Foram encontradas, isoladas e relatadas em estados como Espírito Santo, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo outras espécies de *Rickettsia* spp. como a *R. parkeri* (patogênica para humanos), *R. bellii*, *R. amblyommii*, *R. rhipicephali* e *R. felis* (LABRUNA et al., 2004b, 2005, 2007; PINTER; LABRUNA, 2006; SILVEIRA et al., 2007; OGRZEWALSKA et al., 2008; LABRUNA, 2009a; SPOLIDORIO et al., 2010). Várias outras espécies de *Rickettsia* são amplamente distribuídas pelo mundo, onde são mantidas na natureza por vetores artrópodes (carrapatos, piolhos, pulgas e ácaros) através da transmissão transovariana (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005) e se contaminando em reservatórios silvestres. Porém, sua correlação aos hospedeiros associados a estes agentes é pouco conhecida no Brasil, uma vez que os estudos se restringem apenas aos vetores artrópodes.

Diante do exposto, o presente estudo visou avaliar a presença de carrapatos de vida livre e em parasitismo, a infestação de vertebrados por carrapatos e patógenos associados (*Rickettsia* spp. e Anaplasmataceae) nos invertebrados e vertebrados, utilizando-se as técnicas de reação em cadeia pela polimerase (PCR) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

2 OBJETIVOS

Descrever a ocorrência de carrapatos de vida livre e em parasitismo em pequenos mamíferos, anfíbios, répteis e aves silvestres, provenientes de uma área de floresta ombrófila densa da Amazônica no Estado de Rondônia.

Pesquisar a existência patógenos bacterianos dos gêneros *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Ehrlichia* e *Borrelia* em carrapatos e em vertebrados silvestres provenientes de uma área de floresta amazônica no Estado de Rondônia.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área do estudo

A UHS fica localizada nas coordenadas S 8°54'04.86" e O 63°13'21.74" e dista 52 km da cidade de Porto Velho, pela rodovia BR-364, localizada no município de Candeias do Jamari. Possui uma estação ecológica (Figura 1) que foi criada pelo decreto 4.247, de 18 de julho de 1989, do Governo do Estado de Rondônia, com o objetivo de preservar amostras representativas dos ecossistemas inundados e como medida compensatória apresentando uma área de 20.865 ha (CENTRAIS ELÉTRICAS DO NORTE DO BRASIL S.A, 2010).

Nesta estação a formação vegetal que prevalece nestas áreas é a Floresta Ombrófila Densa/Aberta das terras baixas, com fascinações de Floresta de Baixo (Figura 2). Esta formação vegetal recobre áreas de 70 a 160m de altitude (INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, 2005). Possui uma estrada que percorre cerca de 15 km selva e uma casa de apoio abandonada (Figura 3) que serviu de acampamento. Seu entorno sofre pressões antrópicas, porém, por ser uma área de preservação permanente, acaba coibindo a ação humana para desmatamento, queimadas, pesca, caça ou mesmo extrativismo. O local é banhado pelas bacias dos rios Jacundá, Jamari e Preto do Crespo. Esta Unidade resguarda amostras da flora características da Amazônia sul ocidental, região submetida a altas taxas de desmatamento. Juntamente com a Floresta Nacional do Jacundá (220.644 ha) e o Imóvel Manoa (73.079 ha), a Floresta Nacional do Jamari faz parte de uma área contínua bastante significativa de Floresta Amazônica (Floresta Tropical) no estado de Rondônia, Brasil.

A região possui clima do tipo tropical chuvoso, com período seco bem definido durante o inverno onde a média anual de precipitação pluvial varia de 2.200 e 2.600 mm por ano e a temperatura média anual fica entre 24 e 26 °C (KOESTER et al., 2008).

Figura 1 - Localização esquemática da área de estudo. [A: mapa do Brasil; B: Rondônia e C: Área da Usina Hidrelétrica de Samuel e da Estação Ecológica de Samuel onde foram executadas as atividades de campo].
Fonte: Secretaria Estadual de Desenvolvimento Ambiental - Rondônia (2009).

Figura 2 - Área de vegetação ombrófila densa da Estação Ecológica de Samuel.

Figura 3 - Logística de campo para obtenção e captura dos animais. A: ponto de apoio; B: acampamento improvisado; C: local para higiene pessoal e lavagem do material de campo (armadilhas); D: registro fotográfico e anotações dos animais capturados.

3.2 Captura de aves silvestres

As coletas das aves foram mensais, durante quatro dias por mês, sempre na primeira semana de cada mês, por um período de 12 meses entre outubro de 2007 a setembro de 2008, utilizando cinco redes de neblina 7 x 2,5 m, com malha de 36mm (Figura 4). As redes foram dispostas em locais previamente selecionados da estação e definidas no ponto A e ponto B, entre os horários das 6h e 18h, a uma altura de 20 cm do solo, e vistoriadas a cada 40 minutos por um período de 4 dias por mês. As aves capturadas eram inspecionadas minuciosamente para a presença de ectoparasitas.

Todas as aves capturadas eram fotografadas com câmera digital de alta resolução, registradas com número guia e após análise foram soltas. Totalizou-se um esforço amostral de 576 horas (12h por dia x 4 dias por mês x número de meses) ou 50.400m² de horas (tamanho da rede 7 x 2,5 = 17,5; 17,5 x 5) quantidade de redes = 87,5 x 576h = 50.400h, sendo realizados, portanto, 48 dias de amostragem distribuídos ao longo de 12 meses.

Figura 4 - Armadilhas para coleta de aves. (Detalhe em destaque pelas setas, mostrando as redes de neblina estendidas para coleta às margens da floresta).

3.3 Captura de pequenos roedores e marsupiais

As capturas de pequenos mamíferos e marsupiais foram realizadas utilizando-se 50 armadilhas do tipo live trap “Tomahawk” (20 x 20 x 40 cm) tendo como isca, bacon e banana para marsupiais e 45 armadilhas do tipo “Shermann” (33 x 9 x 8 cm) com milho, farinha, mortadela e pasta de amendoim para pequenos roedores (Figura 5) totalizando 95 pontos de captura. Todas as armadilhas foram montadas e ficaram armadas no período entre 18h00 e 09h00 do dia seguinte, durante 5 noites consecutivas de cada mês, pelo mesmo período de 12 meses das capturas de aves silvestres e dispostas linearmente em dez trilhas com aproximadamente 10 armadilhas (no chão e algumas em arbustos ou árvores de até 2 m do solo) em cada trilha com distâncias de aproximadamente 20 metros entre si e 40 metros entre uma trilha e outra dependendo das dificuldades do terreno (Figura 6) com um esforço amostral de 5.700 armadilhas-noite (95 armadilhas x 5 dias por mês x 12 meses).

Após a captura dos marsupiais e roedores, procedeu-se a sedação dos mesmos utilizando quetamina (10mg/kg) e xilazina (1mg/kg) (FONTES, 1995; CATENACCI et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2006), colheita de sangue pela via endo-cardíaca e procura minuciosa

de ectoparasitas (NOWAKI, 1991). Logo, eram enumerados, fotografados, enviados para taxidermização, e posteriormente encaminhados para o Museu de Zoologia da USP. Foi solicitada uma autorização do IBAMA (número: 11455-1) para captura, manipulação e sacrifício dos animais silvestres nesse experimento, assim como a utilização de seus ectoparasitos e materiais biológicos.

Os carrapatos colhidos de cada mamífero foram armazenados em frascos plásticos (individualizados para cada exemplar de mamífero) com isopropanol e transportados para o laboratório. As amostras de sangue colhidas de cada animal sem anti-coagulante foram transportadas sob refrigeração para o laboratório. Tanto o soro quanto o coágulo de cada animal, foi congelado a -20 °C.

Dos animais que foram sacrificados para identificação taxonômica, foram colhidos, além do sangue, amostras de baços, fígado e pulmão os quais eram imediatamente acondicionados em tubos separados, enumerados, refrigerados em nitrogênio líquido para transporte e mantidos congelados a -20 °C para processamento.

Figura 5 – Mapa utilizado para montagem das armadilhas “Shermann” e “Tomahawk” na floresta da Estação Ecológica de Samuel ao longo da estrada para armadilhamento de pequenos mamíferos.

Figura 6 – Armadilhamento para coleta de animais [A: Armadilhas sendo preparadas na área de coleta; B: disposição das armadilhas no solo da floresta; C: armadilha “Shermann” armada próximo a uma palmeira e D: armadilha “Tomahawk” com um marsupial capturado.

3.4 Técnicas de coleta de carrapatos de vida livre

Foi utilizada no interior da mata da Estação Ecológica de Samuel a técnica de coleta de carrapatos com arraste de flanela (1x1m) sendo inspecionada a cada dez passos por períodos de 60 min. padronizados por um coletor/hora (Figura 6). Outra técnica empregada em conjunto foi a “busca visual” utilizada há muitos anos na região para coleta de carrapatos de vida livre e descrita recentemente por Terassini et al. (2010) onde os carrapatos eram colhidos manualmente sobre a vegetação da trilha e armazenados individualmente em frascos contendo isopropanol.

No período de outubro de 2007 a setembro de 2008 foram realizadas 80 coletas de carrapatos, utilizando os dois métodos (arraste de flanela e técnica visual, sendo o primeiro eficaz para estágios imaturos e o último eficaz para estágio adulto). Foram percorridos pela floresta densa e com poucas trilhas um total de 39.600 m em cerca de 2.640min (44h/total), registrando 900 m a cada 60min de atividades.

Devido à estação chuvosa em pelo menos oito meses no período de execução das atividades dificultando as coletas, foram realizadas capturas de no mínimo 30min e no máximo 120min não sendo possível estabelecer um período fixo padrão para estas coletas.

Figura 7 - Técnica de arraste de flanela para captura de carrapatos de vida livre sendo executada na estrada dentro da Estação Ecológica de Samuel.

3.5 Captura por armadilha de interceptação e queda “Pitfall-traps”

Neste método de armadilhas de interceptação e queda foram utilizados 20 tambores plásticos de 60 litros e 20 tambores de 100 litros totalizando 40 armadilhas. Estes foram enterrados a cada 5 metros e ligadas entre si por uma cerca guia de lona de um metro de altura. Foram construídas seis seqüências de armadilhas com quatro tambores e uma cerca sendo divididas em estações “A e B”, sendo que na estação “A” foram 3 blocos de 5 tambores com 30 m entre si e 1 bloco de 10 tambores com total de 60 m, e a estação “B” 1 bloco de 5 com 30 m e 1 bloco de 10 tambores de 60 m (Figuras 7, 8 e 9). Todos os conjuntos foram colocados a 20 m da estrada e permaneceram abertos por 5 dias, sendo inspecionadas pela manhã e tarde durante um ano (CAMPBELL; CHRISTMAN, 1982; FITCH, 1987; CECHIN; MARTINS, 2000; BERNARDE, 2006; MACEDO et al., 2008), totalizando um esforço amostral de 680 baldes-dia (5 dias por mês x número de meses x 40 baldes) ou 57.600 horas-

balde (24h x 5 dias = 120h por mês; 120h x 40 baldes = 4.800; 4.800h x 12 meses = 57.600 hora-balde em um ano).

Nos tambores foram feitos pequenos furos no fundo para que os mesmos não armazenassem água das chuvas, evitando que os animais se afogassem. Além disso, baseando-se no trabalho de Bernarde (2006) foi colocado dentro de cada tambor, um pedaço de isopor, para que os animais pudessem permanecer sobre ele, caso armazenasse água. As armadilhas foram colocadas em duas regiões dentro de mata, distante entre si 5 km e 300 m. Elas permaneceram abertas ininterruptamente durante 4 dias e 5 noites por um período de um ano (outubro 2007 a setembro 2008) e foram monitoradas logo ao amanhecer e ao entardecer.

Os mamíferos capturados foram retirados com luva de couro de dentro dos tambores e acondicionados em caixas apropriadas para o tamanho de cada animal, enquanto os demais (aranhas, anfíbios, lagartos, serpentes, etc.) foram retirados com uma pequena peneira fixada na ponta de um bastão de madeira, registrados fotograficamente e soltos.

Figura 8 – “Pitfall-traps” - armadilhas de interceptação e queda em quatro pistas na Estação Ecológica de Samuel.

Figura 9 – “Pitfall-traps” – montagem das armadilhas de interceptação e queda das atividades. Nota-se a presença “esquemática” de um grande árvore que inativou um dos baldes logo no início das atividades.

Figura 10 - Armadilha “Pitfall-traps” com cerca guia de lona e balde de 60 ou 100 litros para coleta dos mamíferos disposta na floresta da Estação Ecológica de Samuel.

3.6 Identificação taxonômica de carrapatos

Os carrapatos coletados tanto em vida livre quanto em parasitismo foram transportados para o laboratório de Zoologia da Faculdade São Lucas, posteriormente, para o ICB5 USP e para o Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP em tubos plásticos contendo isopropanol, onde os exemplares adultos foram identificados taxonomicamente seguindo diversas fontes taxonômicas, segundo Aragão (1911, 1936), Aragão e Fonseca (1961), Jones, Clifford e Keirans (1972), Guimarães et al. (2001), Barros-Battesti, Arzua e Bechara (2006) e os estágios imaturos segundo Martins et al. (2010), com auxílio de uma lupa estereoscópica e/ou microscópios e posteriormente depositados na coleção zoológica da FMVZ-USP.

Uma parcela de 10% dos carrapatos capturados em vida livre e 80% dos carrapatos encontrados em parasitismo foi separada e examinada quanto à presença de *Rickettsia* spp., Anaplasmataceae e outros patógenos.

3.7 Pesquisa de infecção por patógenos nos carrapatos

Uma parcela de 10% do total de carrapatos coletados de vida livre de diferentes espécies e diferentes períodos do ano foi selecionada para teste de infecção por patógenos bacterianos (*Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Borrelia* spp). De cada espécie de carrapato colhida, 90% foram depositadas na coleção zoológica da FMVZ-USP.

Cada carrapato foi selecionado individualmente e processado para extração de DNA pelo método de isotiocianato de guanidina, conforme descrito por Sangioni et al. (2005). O DNA extraído foi submetido individualmente a quatro protocolos independentes de PCR, utilizando-se os pares de primers da (Tabela 2), conforme descrito a seguir.

Na PCR para *Rickettsia* spp. foi inicialmente utilizado um par de primers (CS-78 e CS-323) que amplificava o gene citrato sintase (*gltA*), um fragmento de 398 pb presente em todas as espécies do gênero *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2004a, 2004b). Como controle positivo da PCR, foi utilizado DNA de carrapato *A. triste* naturalmente infectado por *R. parkeri*.

Para *Anaplasma* spp e *Ehrlichia* spp. (família Anaplasmataceae), cada amostra de DNA foi testada com um par de primers (GE2 e HE3) que amplificava um fragmento de 360pb do gene 16S rRNA de praticamente todos os membros da família *Anaplasmataceae*, incluindo as espécies conhecidas de *Anaplasma* e *Ehrlichia* (ANDERSON et al., 1992; BREITSCHWERDT et al., 1998; AGUIAR et al., 2008). Em paralelo, as amostras foram também testadas por um par de primers (DSB-330 e DSB-728) que amplifica um fragmento de 409pb do gene *dsb* de *Ehrlichia* spp, conforme protocolo descrito por Aguiar et al. (2007). Este par de primers mostrou-se eficaz para amplificação de DNA de todas as espécies conhecidas atualmente do gênero *Ehrlichia* (LABRUNA et al., 2007). Como controle positivo desses dois protocolos de PCR, foi utilizado DNA de sangue canino naturalmente infectado com *Ehrlichia canis*.

Para *Borrelia* spp., utilizou-se a técnica de *nested*-PCR empregando-se os primers FLA LL e FLA RL na primeira reação, seguido pelos primers FLA RS e FLA LS na segunda reação, conforme previamente descrito (STROMDAHL et al., 2003). Como controle positivo, utilizou-se DNA de *Borrelia anserina*. Em todas as reações de PCR deste trabalho, utilizou-se como controle negativo a mesma água utilizada para preparar a solução de reagentes da própria reação.

Os carrapatos que fossem negativos nas reações de PCR para patógenos bacterianos foram posteriormente testados para um protocolo de PCR que amplifica um fragmento de 460pb do gene mitocondrial 16S rRNA de todas as espécies de carrapatos, conforme previamente descrito (Labruna et al. 2008). Caso uma amostra de DNA fosse negativa neste PCR para o gene 16S rRNA de carrapato, era indicativo de que a extração de DNA não foi adequada, portanto, a amostra era desconsiderada do presente trabalho.

Tabela 2 - Marcadores utilizados na PCR para detecção de patógenos bacterianos em carrapatos.

Primers	Região do primers (5' → 3')	Alvo	Referências
CS-78 CS-323	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT GCTTCCTTAAATTCATAAATCAGGAT	401pb do gene <i>gltA</i> de <i>Rickettsia</i> spp.	Labruna et al. (2004a;b)
DSB-330 DSB-728	GATGATGTCTGAAGATATGAAACAAAT CTGCTCGTCTATTTACTTCTTAAAGT	409pbdo gene <i>dsb</i> de <i>Ehrlichia</i> spp.	Aguiar et al. (2007); Labruna et al. (2007)
GE2 HE3	GTTAGTGGCAGACGGGTGAGT TATAGGTACCGTCATTATCTTCCCTAT	360pb do gene 16S rRNA de <i>Anaplasma</i> spp. e <i>Ehrlichia</i> spp.	Anderson et al. (1992); Breitschwerdt et al. (1998); Aguiar et al. (2008).
FlaLL FlaRL	ACATATTGAGATGCAGACAGAGGT GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT	665pb do gene <i>fla</i> de <i>Borrelia</i> spp.	Stromdahl et al. (2003)
FlaLS FlaRS	AACAGCTGAAGAGCTTGGAAATG CTTGATCACTTATCATTCTAATAGC	354pb do gene <i>fla</i> de <i>Borrelia</i> spp.	Stromdahl et al. (2003)

3.8 Pesquisa de infecção por patógenos nos animais

A pesquisa de infecção por *Rickettsia* spp. em animais vertebrados foi feita de forma sistemática apenas nas amostras de mamíferos, uma vez que as aves deste estudo não apresentaram parasitismo por carrapatos e por isso foram registradas e soltas. Cada amostra de fígado foi submetida separadamente à extração de DNA utilizando-se o kit comercial DNAeasy Tissue Kit (Qiagen Incorporation), conforme instruções do fabricante. As amostras de DNA foram testadas pelos mesmos protocolos de PCR descritos no item 3.7 (vide Tabela 2), visando à detecção de DNA de *Rickettsia* spp, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp. e *Borrelia* spp.

Os soros dos mamíferos foram testados por RIFI, utilizando seis antígenos diferentes: *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. felis*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii* e *R. bellii*, conforme descrito por Horta et al. (2004) e Labruna et al. (2007).

Para os soros de marsupiais, foi utilizado conjugado anti-*Didelphis* spp. (CCZ/SP, São Paulo). Como controles positivo e negativo, foram adicionados em cada lâmina um soro de um gambá *D. aurita* experimentalmente infectado com *R. rickettsii* e um soro de um gambá negativo, respectivamente, conforme previamente estabelecido (HORTA et al., 2009).

Para soro de roedores Cricetidae, foi utilizado conjugado anti-*Rattus norvegicus* (Sigma, USA). Como controles positivo e negativo, foram adicionados em cada lâmina um soro de roedor Cricetidae (*Calomys callosus*) experimentalmente infectado com *R. parkeri* e um soro de um *C. callosus* negativo, respectivamente, conforme previamente estabelecido no laboratório de Doenças Parasitárias da FMVZ/USP.

Para soros de roedores Caviomorpha, foi utilizado conjugado anti-*Cavia porcellus* (CCZ/SP, São Paulo). Como controles positivo e negativo foram adicionados em cada lâmina um soro de uma cobaia experimentalmente infectada com *R. rickettsii* e um soro de uma cobaia negativa, respectivamente, estabelecido previamente estabelecido (HORTA et al., 2009).

4 RESULTADOS

4.1 Vertebrados e carrapatos capturados na Estação Ecológica de Samuel

Foram realizadas campanhas mensais de captura durante 12 meses consecutivos, de outubro/ 2007 (campanha 1) a setembro/2008 (campanha 12) na Estação Ecológica de Samuel. Foram analisados diversos vertebrados (Gráfico 1), os quais foram todos inspecionados para presença de carrapatos.

Pela técnica de rede de neblina foram coletadas e capturadas 60 aves de 19 espécies, os quais foram inspecionadas para presença de ectoparasitas, fotografadas e soltas (Tabela 3). Ocasionalmente, foram capturados nas armadilhas “Pitfall-traps” um total de 12 anfíbios de 4 espécies diferentes (Tabela 4), 14 répteis de 12 espécies (Tabela 5) e 36 mamíferos de 14 espécies distintas (Tabela 6). Com exceção dos mamíferos, todos os demais vertebrados foram soltos após serem registrados fotograficamente. Os mamíferos foram sedados para coleta de sangue por via intra-cardíaca, e posteriormente foram sacrificados por dose excessiva de anestésico, procedendo-se a coleta de órgãos internos. A carcaça de cada animal foi enviada para taxidermização e identificada segundo Reis et al. (2006) e Bonvicino et al. (2008), e tombada na coleção Nacional do Museu de Zoologia da USP.

Gráfico 1 - Distribuição dos vertebrados capturados neste estudo para obtenção de ectoparasitas e amostras biológicas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Tabela 3 - Aves coletadas e capturadas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

(continua)

Código	Campanha	Ordem	Família	Gênero / espécie
AV - 2	2	Passeriformes	Emberizidae	<i>Poroaria gularis</i>
AV - 3	2	Passeriformes	Thraupidae	<i>Ramphocelus carbo</i>
AV - 4	2	Passeriformes	Thraupidae	<i>R. carbo</i>
AV - 5	2	Passeriformes	Thraupidae	<i>R. carbo</i>
AV - 6	2	Passeriformes	Emberizidae	<i>P. gularis</i>
AV - 9	2	Passeriformes	Pipridae	<i>Pipra</i> sp.
AV - 10	2	Cuculiformes	Cuculidae	<i>Crotophaga ani</i>
AV - 11	2	Passeriformes	Thraupidae	<i>R. carbo</i>
AV - 12	2	Passeriformes	Thraupidae	<i>R. carbo</i>
AV - 13	2	Passeriformes	Tyrannidae	<i>Tyrannulus elatus</i>
AV - 14	2	Passeriformes	Tyrannidae	<i>T. elatus</i>
AV - 15	3	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	<i>Nyctidromus albicollis</i>
AV - 16	3	Passeriformes	Thraupidae	<i>R. carbo</i>
AV - 17	3	Columbiformes	Columbidae	<i>Claravis pretiosa</i>
AV - 18	3	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	<i>N. albicollis</i>
AV - 20	4	Passeriformes	Tyrannidae	<i>Phaeomyias murina</i>
AV - 21	4	Passeriformes	Icteridae	<i>Sturnella superciliaris</i>
AV - 22	4	Passeriformes	Tyrannidae	<i>Tyrannulus</i> sp.
AV - 23	4	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	<i>N. albicollis</i>
AV - 24	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 25	4	Columbiformes	Columbidae	<i>Columbina talpacoti</i>
AV - 26	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 27	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 28	4	Passeriformes	Tyrannidae	<i>P. murina</i>
AV - 29	4	Passeriformes	Tyrannidae	<i>Tyrannus</i> sp.
AV - 30	4	Passeriformes	Tyrannidae	<i>P. murina</i>
AV - 31	4	Columbiformes	Columbidae	<i>C. talpacoti</i>
AV - 32	4	Passeriformes	Hirundinidae	<i>Progne chalybea</i>
AV - 33	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 34	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 35	4	Passeriformes	Hirundinidae	<i>Progne chalybea</i>
AV - 36	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 37	4	Passeriformes	Emberizidae	<i>Sicalis columbiana</i>
AV - 38	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 39	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 40	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 41	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 42	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 43	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 44	4	Columbiformes	Columbidae	<i>C. talpacoti</i>
AV - 45	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 46	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 47	4	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>
AV - 48	6	Passeriformes	Dendrocolaptidae	<i>Xiphorhynchus</i> sp.
AV - 49	6	Columbiformes	Columbidae	<i>C. talpacoti</i>
AV - 50	8	Passeriformes	Tyrannidae	<i>Pitangus sulphuratus</i>

Tabela 3 - Aves coletadas e capturadas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

(conclusão)

AV - 51	8	Passeriformes	Thraupidae	<i>R.carbo</i>
AV - 52	8	Passeriformes	Thraupidae	<i>R. carbo</i>
AV - 53	8	Psittaciformes	Psittacidae	<i>Pyrrhura picta</i>
AV - 54	8	Psittaciformes	Psittacidae	<i>P. picta</i>
AV - 56	8	Passeriformes	Tyrannidae	<i>Myiarchus</i> sp.
AV - 57	8	Passeriformes	Hirundinidae	<i>Tachycineta</i> sp.
AV - 58	8	Coraciiformes	Alcedinidae	<i>Megaceryle torquata</i>
AV - 59	9	Cuculiformes	Cuculidae	<i>C. ani</i>
AV - 60	10	Passeriformes	Icteridae	<i>S. superciliaris</i>

Tabela 4 - Anfíbios encontrados na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código	Campanha	Nome popular	Gênero / espécie
AN-1	2	Sapo (bufo)	<i>Rhinella marina</i>
AN-2	2	Sapo	<i>Rhinella</i> gr <i>granulosus</i>
AN-3	3	Sapo de chifre	<i>Ceratophrys cornuta</i>
AN-4	3	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>
AN-5	3	Rã	<i>Leptodactylus mystaceus</i>
AN-6	4	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>
AN-7	4	Rã	<i>L.mystaceus</i>
AN-8	4	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>
AN-9	5	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>
AN-10	5	Rã	<i>L. mystaceus</i>
AN-11	5	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>
AN-12	7	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>

Tabela 5 - Répteis encontrados sobre a vegetação ou mesmo dentro das armadilhas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código	Campanha	Nome popular	Gênero / espécie
RE - 1	2	Cobra da terra	<i>Typhlos reticulatus</i>
RE - 2	2	Cobra cipó	<i>Xenoxibelis argenteus</i>
RE - 3	2	Cobra coral falsa	<i>Atractus</i> aff, <i>latifrons</i>
RE - 4	2	Cobra cipó	<i>Chironius multiventris</i>
RE - 5	3	Cobra verde	<i>Lyophis typlhus</i>
RE - 6	3	Cobra dormideira	<i>Leptodeira anulatta</i>
RE - 7	3	Jararaca	<i>Bothrops atrox</i>
RE - 8	3	Cobra dormideira	<i>Atractus</i> sp.
RE - 9	4	Cobra verde	<i>Leptophys ahaetula</i>
RE - 10	4	Caninana	<i>Spilotes pullatus</i>
RE - 11	4	Lagarto	<i>Plica</i> sp.
RE - 12	5	Lagarto (calango)	<i>Ameiva ameiva</i>
RE - 13	5	Lagarto (calango)	<i>A. ameiva</i>
RE - 14	7	Jararaca	<i>B. atrox</i>

Tabela 6 - Mamíferos capturados nas armadilhas na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código	Campanha	Nome popular	Gênero / espécie
MA - 1	1	Roedor	<i>Micoureus demerarae</i>
MA - 2	1	Roedor	<i>M. demerarae</i>
MA - 3	1	Roedor	<i>M. demerarae</i>
MA - 4	1	Roedor	<i>M. demerarae</i>
MA - 5	2	Cuíca	<i>M. demerarae</i>
MA - 6	2	Cutia	<i>Dasyprocta variegata</i>
MA - 7	3	Roedor silvestre	<i>Rhipidomys leucodactylus</i>
MA - 8	3	Marmosa	<i>Marmosops bishopi</i>
MA - 9	3	Rato silvestre	<i>M. demerarae</i>
MA - 10	3	Rato silvestre	<i>R. leucodactylus</i>
MA - 11	4	Morcego	<i>Carollia</i> sp.
MA - 12	4	Roedor silvestre	<i>R. leucodactylus</i>
MA - 13	4	Rato silvestre	<i>Mesomys hispidus</i>
MA - 14a	4	Mucura	<i>Didelphis marsupialis</i> (mãe)
MA - 14b	4	Mucura	<i>D. marsupialis</i> (filhote)
MA - 15	4	Morcego	<i>Artibeus</i> sp.
MA - 16	4	Morcego	sem identificação*
MA - 17	4	Morcego	sem identificação*
MA - 18	4	Morcego	sem identificação*
MA - 19	4	Morcego	<i>Artibeus</i> sp.
MA - 20	4	Morcego	<i>M. macconelli</i>
MA - 21	5	Morcego albino	<i>Proechimys</i> sp.
MA - 22	5	Roedor - preá	<i>Proechimys</i> sp.
MA - 23	5	Roedor - preá	<i>M. demerarae</i>
MA - 24	6	Marmosa-cuíca	<i>M. bishopi</i>
MA - 25	6	Cuíca - marmosa	<i>Proechimys</i> sp.
MA - 26	6	Rato do banhado	<i>R. leucodactylus</i>
MA - 27	6	Roedor	<i>Oligoryzomys</i> cf. <i>microtis</i>
MA - 28	6	Roedor	<i>O. cf. microtis</i>
MA - 29	6	Roedor	<i>Gracilinanus</i> sp.
MA - 30	6	Cuíca	<i>Marmosa murina</i>
MA - 31	6	Cuíca de cara preta	<i>O. cf. microtis</i>
MA - 32	7	Roedor	<i>Proechimys</i> sp.
MA - 33	8	Rato do banhado	<i>Proechimys</i> sp.
MA - 34	8	Roedor	<i>M. demerarae</i>
MA - 35	9	Cuíca	<i>Proechimys</i> sp.
MA - 36	9	Roedor	<i>Proechimys</i> sp.

*sem identificação: por motivos de conservação, não sendo possível a identificação destes espécimes.

De todos os animais capturados, apenas 5 (14%) dos 36 mamíferos e 2 (16,7%) dos 12 anfíbios foram encontrados parasitados por carrapatos sendo, um total de 46 carrapatos colhidos de 7 animais. Foram identificadas oito espécies diferentes de carrapatos (*Amblyomma coelebs*, *A. latepunctatum*, *A. sculpturatum*, *A. naponense*, *A. oblongoguttatum*, *A. rotundatum*, *Ixodes fuscipes* e *Haemaphysalis juxtakochi*) (Tabela 7).

Surpreendentemente, nenhuma das 60 aves capturadas e inspecionadas estava parasitada por carrapatos.

Tabela 7 - Carrapatos encontrados nos animais capturados e seus estágios de desenvolvimento na Estação Ecológica de Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código	Campanha	Nome comum	Nome científico	Carrapatos encontrados
AN - 1	2	Sapo (bufo)	<i>Rhinella marina</i>	9 larvas de <i>Amblyomma</i> spp.
AN - 9	5	Sapo (bufo)	<i>R. marina</i>	1 larva de <i>Amblyomma</i> spp. 2 fêmeas de <i>A. rotundatum</i>
MA - 6	2	Cutia	<i>Dasyprocta variegata</i>	2 ninfas de <i>A. latepunctatum</i> (mudou para 1♀ e 1♂ em laboratório). 1 ninfa de <i>A. naponense</i> (mudou para 1♂ em laboratório). 1 ninfa de <i>A. oblongoguttatum</i> 1 ninfa de <i>A. naponense</i> 3 ninfas de <i>A. latepunctatum</i> 2 ninfas de <i>A. sculpturatum</i> 4 larvas de <i>Amblyomma</i> spp. 1 ninfa de <i>Haemaphysalis juxtakochi</i>
MA- 14a	4	Mucura	<i>Didelphis marsupialis</i>	3 larvas de <i>A. coelebs</i> (criadas até adultos em laboratório) 5 ninfas de <i>A. latepunctatum</i> (2 dessas ninfas mudaram para 1♂, 1♀ em laboratório). 5 ninfas de <i>A. coelebs</i> (1 dessas ninfas mudou para 1♂ em laboratório).
MA - 21	5	Roedor Echimidae	<i>Proechimys</i> sp.	5 ninfas de <i>Ixodes fuscipes</i> .
MA - 22	5	Roedor Echimidae	<i>Proechimys</i> sp.	5 larvas e 1 ninfa de <i>I. fuscipes</i>
MA - 24	6	Cuíca	<i>Marmosops bishopi</i>	2 larvas de <i>Amblyomma</i> spp.

4.2 Carrapatos de vida livre

Foram coletados, identificados e acondicionados em álcool isopropílico absoluto no período de 12 meses (cinco dias/mês) no percurso de coleta de 39.600 m em 2.640 min (44 horas/total) um total de 272 carrapatos adultos de quatro espécies diferentes, sendo elas: *A. scalpturatum* (90 espécimes), *A. latepunctatum* (88), *A. oblongoguttatum* (19) e *A. naponense* (75). Também foram identificadas 605 ninfas de *Amblyomma* spp., totalizando 877 carrapatos capturados em 12 meses.

4.3 Pesquisa de patógenos em carrapatos e mamíferos através de PCR

Todas as amostras de carrapatos testados, seja em vida livre (Tabela 8) ou em parasitismo (Tabela 9), assim como todas as amostras de fígado de mamíferos (Tabela 10) se mostraram negativas a todos os protocolos de PCR utilizados para detecção de patógenos bacterianos, seja para *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp. ou *Borrelia* spp. Este último gênero foi pesquisado apenas nas amostras de fígado, não sendo testado em carrapatos. Em todas as baterias de PCR efetuadas, houve amplificação clara de produto de tamanho esperado das amostras utilizadas como controle positivo, sendo que nenhum produto amplificado foi observado nos controles negativos. Todos os carrapatos testados foram positivos no PCR para o gene mitocondrial 16S rRNA de carrapatos, exceto uma ninfa e duas fêmeas de *A. rotundatum*, colhidos do anfíbio AN-12 e 2 fêmeas de *A. rotundatum* colhidas do anfíbio AN-9. Por esta razão, esses cinco carrapatos não foram incluídos na amostragem final de carrapatos testados por PCR para patógenos no presente trabalho (Tabela 10).

Tabela 8 - Resultados de análise de fragmentos de DNA em carrapatos adultos colhidos em vida livre capturados na Estação Ecológica Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Espécie de carrapato	Nº de amostras testadas por PCR	No. de amostras positivas para <i>Rickettsia</i> spp., <i>Anaplasma</i> spp. ou <i>Ehrlichia</i> spp.
<i>A. scalpturatum</i>	47	0
<i>A. latepunctatum</i>	43	0
<i>A. naponense</i>	34	0
<i>A. oblongoguttatum</i>	16	0
Total	140	0

Tabela 9 - Resultados de análise de fragmentos de DNA em amostras de carrapatos adultos e estágios imaturos colhidos parasitando animais capturados na Estação Ecológica Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código do mamífero hospedeiro	Código do carrapato	Estágio	Espécies de carrapato	No. de amostras positivas para <i>Rickettsia</i> spp., <i>Anaplasma</i> spp. ou <i>Ehrlichia</i> spp..
MA-14	1.1	♀	<i>Amblyomma coelebs</i>	-
MA-14	1.2	♂	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	1.3	♂	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	2.1	♀	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-14	2.2	♀	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	2.3	♂	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	2.4	♂	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-14	2.5	♀	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	3.1	ninfa	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-14	3.2	ninfa	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-14	4.1	ninfa	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	4.2	ninfa	<i>A. coelebs</i>	-
MA-14	4.3	ninfa	<i>A. coelebs</i>	-
MA-21	6.1	ninfa	<i>Ixodes fuscipes</i>	-
MA-21	6.2	ninfa	<i>I. fuscipes</i>	-
MA-6	7.1	♂	<i>A. naponense</i>	-
MA-6	7.2	♀	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-6	9.1	ninfa	<i>A. oblongoguttatum</i>	-
MA-37	10.1	ninfa	<i>A. naponense</i>	-
MA-6	11.1	ninfa	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-6	11.2	ninfa	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-6	11.3	ninfa	<i>A. latepunctatum</i>	-
MA-6	12.1	ninfa	<i>A. scalpturatum</i>	-
MA-6	12.2	ninfa	<i>A. scalpturatum</i>	-

Tabela 10 - Resultados de análise de fragmentos de DNA por PCR direcionado a microorganismos associados a carrapatos em amostras de fígado de mamíferos capturados na Estação Ecológica Samuel, no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código do animal	Nome científico	Resultado de PCR em amostras de fígado			
		<i>Rickettsia</i>	<i>Anaplasma/Ehrlichia</i> (16S rRNA)	<i>Ehrlichia</i> (<i>dsb</i>)	<i>Borrelia</i>
MA - 1	<i>Micoureus demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 2	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 3	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 4	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 5	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 6	<i>Dasyprocta variegata</i>	-	-	-	-
MA - 7	<i>Rhipidomys leucodactylus</i>	-	-	-	-
MA - 8	<i>Marmosops bishopi</i>	-	-	-	-
MA - 9	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 10	<i>R. leucodactylus</i>	-	-	-	-
MA - 11	<i>Carollia</i> sp.	-	-	-	-
MA - 12	<i>R. leucodactylus</i>	-	-	-	-
MA - 13	<i>Mesomys hispidus</i>	-	-	-	-
MA - 14a	<i>Didelphis marsupialis</i> (mãe)	-	-	-	-
	<i>D. marsupialis</i> (filho)	-	-	-	-
MA - 15	<i>Artibeus</i> sp.	-	-	-	-
MA - 16	Morcego	-	-	-	-
MA - 17	Morcego	-	-	-	-
MA - 18	Morcego	-	-	-	-
MA - 19	<i>Artibeus</i> sp.	-	-	-	-
MA - 20	<i>M. macconelli</i>	-	-	-	-
MA - 21	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-
MA - 22	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-
MA - 23	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 24	<i>M. bishopi</i>	-	-	-	-
MA - 25	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-
MA - 26	<i>R. leucodactylus</i>	-	-	-	-
MA - 27	<i>Oligoryzomys</i> cf. <i>microtis</i>	-	-	-	-
MA - 28	<i>O. cf. microtis</i>	-	-	-	-
MA - 29	<i>Gracilinanus</i> sp.	-	-	-	-
MA - 30	<i>Marmosa murina</i>	-	-	-	-
MA - 31	<i>O. cf. microtis</i>	-	-	-	-
MA - 32	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-
MA - 33	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-
MA - 34	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-
MA - 35	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-
MA - 36	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-

4.4 Sorologia de mamíferos para *Rickettsia* spp.

Amostras de soro extraídas do sangue colhidos dos mamíferos foram testadas pela reação de imunofluorescência indireta frente a antígenos de *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommii*, *R. rhipicephali*, *R. bellii* e *R. felis* (Tabela 11). Nenhum roedor Cricetidae se mostrou reativo a *Rickettsia* spp. na diluição de triagem (1:64). Dentre seis roedores Cavidae testados, a metade se mostrou reativa a *Rickettsia* spp. com títulos finais variando de 64 a 512. Dentre os sete marsupiais testados, três reagiram sorologicamente a *Rickettsia* spp. com títulos finais variando de 64 a 2048.

O padrão de reação entre os animais positivos mostrou uma tendência de títulos mais altos para *R. parkeri*, *R. amblyommii* e *R. rhipicephali*, no entanto, devido aos títulos semelhantes para essas 3 espécies (diferença menor que 4 vezes), não foi possível concluir qual espécie de *Rickettsia* possivelmente infectou os animais positivos (Tabela 11).

Tabela 11 - Sorologia através de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para presença de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em mamíferos capturados na Estação Ecológica Samuel capturados na Estação Ecológica Samuel no período de outubro de 2007 a setembro de 2008.

Código do animal	FAMÍLIA / Nome científico	Título sorológico final para antígenos das seguintes espécies de <i>Rickettsia</i>					
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. felis</i>	<i>R. bellii</i>
	CRICETIDAE						
M-10	<i>R. leucodactylus</i>	-	-	-	-	-	-
M-12	<i>R. leucodactylus</i>	-	-	-	-	-	-
M-26	<i>R. leucodactylus</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>Oligoryzomys</i> cf.						
M-27	<i>microtis</i>	-	-	-	-	-	-
M-28	<i>O. cf. microtis</i>	-	-	-	-	-	-
M-31	<i>O. cf. microtis</i>	-	-	-	-	-	-
M-36	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-	-	-
	CAVIDAE						
M-13	<i>Mesomys hispidus</i>	-	-	-	-	-	-
M-21	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-	-	-
M-22	<i>Proechimys</i> sp.	256	512	128	256	256	128
M-25	<i>M. hispidus</i>	64	64	128	64	-	64
M-33	<i>Proechimys</i> sp.	64	128	-	-	-	-
M-35	<i>Proechimys</i> sp.	-	-	-	-	-	-
	MARSUPIALIA						
M-23	<i>Micoureus demerarae</i>	-	-	-	-	-	-
M-24	<i>Marmosops bishopi</i>	64	128	-	-	128	64
M-29	<i>Gracilinanus</i> sp.	64	128	-	64	64	64
M-30	<i>Marmosa murina</i>	-	-	-	-	-	-
M-34	<i>M. demerarae</i>	-	-	-	-	-	-
M-14a (mãe)	<i>D. marsupialis</i>	256	1024	2048	1024	256	256
M-14b (filho)	<i>D. marsupialis</i>	-	-	-	-	-	-

- : Resultado negativo (soro não reagente na diluição de corte 1/64).

5 DISCUSSÃO

5.1 Espécies de carrapatos encontrados na Estação Ecológica de Samuel

Neste estudo foi registrado a presença de oito espécies de carrapatos, seis do gênero *Amblyomma* e uma de cada um dos gêneros *Ixodes* e *Haemaphysalis*. A espécie mais abundante foi *A. scalpturatum*, que ocorre na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana, Guina Francesa, Peru, Suriname e Venezuela, (JONES et al., 1972; NEED et al., 1991; ONOFRIO, 2006a; BARROS-BATTESTI, 2006). No Brasil, segundo relatos de Labruna et al. (2005e) os registros de parasitismo desta espécie se restringem à região Norte e ao Estado do Mato Grosso (PEREIRA et al., 2000). O estágio adulto de *A. scalpturatum* parasita preferencialmente mamíferos da ordem Perissodactyla (anta) e família Taiasuidae (cateto, queixada), podendo eventualmente ser encontrado em outras espécies, tais como porco doméstico, cão e tamanduá (JONES et al., 1972). Ninfas ingurgitadas em cães foram relatadas em Rondônia (LABRUNA et al., 2005a). Embora não tenha sido coletado esta espécie parasitando humanos neste estudo, há vários registros em humanos, inclusive por estágios imaturos no Estado de Rondônia (ARAGÃO; FONSECA, 1961; JONES et al., 1972; LABRUNA et al., 2005e).

A espécie *A. latepunctatum* ocorre em áreas de floresta amazônica do Brasil, Equador, Guiana, Guina Francesa, Peru e Venezuela e parasita grandes mamíferos como *Tapirus terrestris* (anta). Segundo Labruna et al. (2005a), que reescreveram esta espécies e sua relação próxima com *A. incisum* e *A. scalpturatum*, a espécie *A. latepunctatum* é abundante em áreas de floresta amazônica no Estado de Rondônia. O presente estudo relata pela primeira vez o encontro de ninfas de *A. latepunctatum* em cutia (*Dasyprocta variegata*) e mucura (*Didelphis marsupialis*).

A. rotundatum ocorre na Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Grenada, Guadalupe, Guatemala, Guina Francesa, Jamaica, Martinica, sul do México, Panamá, Peru, Suriname, Trindad e Tobago e Venezuela. Também ocorre na Florida, Estados Unidos, onde foi acidentalmente introduzido juntamente com sapos vindos da América Latina (GUIMARÃES, 2001; BARROS-BATTESTI, 2006). Esta espécie se reproduz partenogeneticamente, embora haja relatos de dois machos, um registrado por Keirans (1993a) e outro encontrado em um lacertílio (*Tropidurus* sp.) em Rondônia por Labruna et al.

(2005b). Todos os estágios parasitários de *A. rotundatum* parasitam comumente animais de sangue frio, como répteis e anfíbios.

A. oblongoguttatum ocorre na Bolívia, Belize, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Guatemala, Guiana, Guina Francesa, sul do México, Nicarágua, Panamá, Suriname e Venezuela. Parasita um grande número de hospedeiros silvestres, domésticos ou mesmo bovinos, sendo relatado também, no ser humano (BARROS-BATTESTI, 2006). Neste estudo foi registrada apenas uma ninfa em cutia (*D. variegata*) que foi criada até o estágio adulto e ao menos 19 exemplares foram coletados em vida livre.

A. naponense ocorre na Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Equador, Guiana, Guina Francesa, Panamá, Peru, Suriname e Venezuela, parasitam mamíferos da ordem Artiodactyla, principalmente *Tayassu* spp. e *Xenarthra* (GUIMARÃES, 2001; BARROS-BATTESTI, 2006). Houve um registro da ninfa dessa espécie parasitando humano no Brasil (LABRUNA et al., 2005c). Em Rondônia esta espécie e mais três (*A. oblongoguttatum*, *A. scalpturatum* e *A. ovale*) foram relacionadas pela primeira vez em parasitismo em porco doméstico (*Sus scrofa*) criado solto em área de pastagem próximo a floresta (LABRUNA et al., 2002). Neste estudo foi registrada uma ninfa em cutia (*Dasyprocta variegata*), sendo este o primeiro registro do estágio ninfal de *A. naponense* nesta espécie de hospedeiro.

A. coelebs ocorre na Argentina, Belize, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Guatemala, Guiana, Guina Francesa, Honduras, sul do México, Nicaraguá, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname, Venezuela e já foi relatado na região Neártica. O estágio adulto parasita principalmente mamíferos da ordem Perissodactyla, preferencialmente *T. terrestris*. Pouco se sabe sobre o parasitismo em estágios imaturos (ROBINSON, 1926; GUIMARÃES, 2001; BARROS-BATTESTI, 2006). Segundo Labruna et al. (2005e) esta espécie já foi relatada também em cavalo (*Equus caballus*) no estado de Rondônia. Neste estudo registrou-se o primeiro relato de parasitismo de 3 larvas e uma ninfa de *A. coelebs* no marsupial conhecido como “mucura” ou “gambá-do-norte” (*Didelphis marsupialis*).

Ixodes fuscipes ocorre no Brasil, Colômbia, Panamá e Peru. Parasita mamíferos da ordem Rodentia, preferencialmente do gênero *Dasyprocta* (cutias) (ARAGÃO, 1936; NEED et al., 1991; GUIMARÃES, 2001; BARROS-BATTESTI, 2006). No Brasil, ela já foi relatada nos Estados do Pará, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (ARAGÃO, 1936; BARROS-BATTESTI; KNYSACK, 1999), sendo que no estudo realizado por Labruna et al. (2005e), esses autores relataram o primeiro registro desta espécie em Rondônia, através de três fêmeas parasitando cutia (*Dasyprocta* sp.) e três ninfas em roedores silvestres sem identificação.

Sendo assim, os presentes registros de 6 ninfas e 5 larvas sobre dois *Proechimys* sp. São são inéditos para esta espécie de carrapato.

Por fim, a oitava espécie de carrapato registrada foi uma ninfa de *Haemaphysalis juxtakochi*, encontrada parasitando uma cutia (*D. variegata*), sendo este um registro incomum, uma vez que esta espécie possui tropismo por cervídeos (SZABÓ et al., 2006), bovinos e aves no caso de estágios imaturos (ARZUA; ONOFRIO, 2005; VENZAL et al., 2005; BARROS-BATTESTI, 2006). No Brasil, *H. juxtakochi* está relatada nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Pernambuco e Mato Grosso (ARAGÃO, 1911, 1936), no entanto sua ocorrência vai da Argentina ao México (JONES, 1972), sendo registrada uma única vez nos Estados Unidos por Keirans e Restifo (1993b), parasitando a orelha de um veado (GUIMARÃES, 2001). Segundo, Labruna et al. (2005e) o carrapato *H. juxtakochi* é primariamente um carrapato de cervídeos, mas que eventualmente pode parasitar outras espécies de mamíferos e humanos, principalmente nos estágios de larva e ninfa, sendo registrados três achados deste carrapato em cães em Rondônia e uma fêmea completamente ingurgitada colhida de cão no estado de São Paulo observada na Coleção Nacional de Carrapatos CNC-FMVZ. Estas informações sugerem que cães poderiam atuar como hospedeiros favoráveis a *H. juxtakochi* dentro de sua área de ocorrência. Neste estudo registrou-se uma ninfa parasitando o roedor de médio porte (*D. variegata*), sendo este o primeiro relato da literatura para esta relação. Todos os carrapatos coletados neste trabalho, que não foram processados para extração de DNA, foram depositados na Coleção Nacional de Carrapatos (CNC) da FMVZ-USP.

Neste estudo, destaca-se a ausência da espécie de carrapato *Amblyomma ovale* na área amostrada, uma vez que esta espécie tem sido uma das mais comuns em outras áreas de floresta amazônica do estado de Rondônia (LABRUNA et al., 2005e). Embora alguns dos hospedeiros preferenciais do estágio adulto de *A. ovale* sejam os mesmos para *A. sculpturatum*, *A. latepunctatum*, *A. oblongoguttatum* e *A. naponense* (anta, cateto, queixada), os estágios imaturos de *A. ovale* se diferenciam por parasitarem preferencialmente pequenos mamíferos, tais como roedores Cricetidae, ao passo que os imaturos de *A. sculpturatum*, *A. latepunctatum*, *A. oblongoguttatum* e *A. naponense* são comumente encontrados nos mesmos hospedeiros do estágio adulto (LABRUNA et al., 2005c,e). Desta forma, o não achado de *A. ovale* na área do presente estudo pode estar relacionado à baixa diversidade ou mesmo ausência de algumas espécies de pequenos roedores. Tal suposição vai de acordo com o baixíssimo sucesso de captura de roedores no presente trabalho, levantando a hipótese sobre

um possível impacto depreciativo nas populações de pequenos mamíferos, que a construção da UHS pode ter causado através do enchimento do lago.

Desde a primeira campanha, realizaram-se em paralelo, capturas de carrapatos de vida livre na mata ao redor das armadilhas. Esses carrapatos foram colhidos pelo “método visual” e arraste de flanela, conforme realizado previamente em outras áreas do estado de Rondônia (LABRUNA et al., 2005e). Somando-se todo o esforço de captura de carrapatos (272 carrapatos adultos e 605 ninfas) de vida livre, mais os 46 espécimes coletados parasitando vertebrados, foram coletados poucos carrapatos, em comparação proporcional ao esforço amostral e a outras áreas de floresta amazônica do mesmo estado, descritas no trabalho de Labruna et al. (2005e). No estudo de Labruna et al. (2005e), carrapatos de vida livre foram coletados em áreas de floresta amazônica de diversos pontos do estado de Rondônia. Em todas elas, considerando-se carrapatos adultos, *A. ovale* foi a espécie mais comum, com 2.401 exemplares colhidos em vida livre na vegetação de áreas de floresta e em vertebrados de médio e grande portes. A única exceção foi exatamente a área de floresta amazônica da Estação Ecológica de Samuel, onde Labruna et al. (2005e) não encontraram qualquer forma de vida livre de *A. ovale*. Infelizmente, não existem relatos de captura de carrapatos na área da Usina Samuel antes de seu enchimento, a partir do final da década de 1980, e tão pouco se conhece sobre sua fauna de vertebrados naquela época, segundo informações fornecidas pela própria Eletronorte. De qualquer forma, os resultados do presente trabalho, tanto no tocante ao baixíssimo sucesso de captura de pequenos mamíferos, quanto à ausência de *A. ovale*, evidenciam uma baixa biodiversidade de pequenos mamíferos na área estudada.

De forma surpreendente, o presente estudo reporta um único exemplar de cutia (*Dasyprocta variegata*), parasitado simultaneamente por cinco diferentes espécies de carrapatos: uma ninfa de *A. oblongoguttatum*, uma ninfa de *A. naponense*, três ninfas de *A. latepunctatum*, duas ninfas de *A. sculpturatum*, todas identificadas conforme Martins et al. (2010), e duas ninfas de *A. latepunctatum* que mudaram em laboratório para 1♀ e 1♂, uma ninfa de *A. naponense* que também mudou em laboratório para 1♂, quatro larvas de *Amblyomma* spp. e uma ninfa de *H. juxtakochi*. Sem dúvida, o encontro de cinco espécies de carrapatos em um único hospedeiro é um achado raro, em se tratando da região Neotropical, onde uma variedade de espécies desta magnitude tem sido relatada apenas para antas (*Tapirus* spp.) (LABRUNA; GUGLIELMONE, 2009).

Em trabalhos recentes realizados por Ogrzewalska et al. (2009; 2010) com captura de aves na região norte (Amazônia) e sudeste (Mata Atlântica) do Brasil, esses autores

constatarem que aproximadamente 5 a 10% das aves, maioria Passeriformes, estavam parasitadas por carrapatos, principalmente por imaturos de espécies de *Amblyomma* spp. Em contraste, neste presente estudo, onde o esforço amostral de horas de rede de neblina foi muito maior que o esforço nos trabalhos de Ogrzewalska et al. (2009; 2010), não encontramos carrapatos em nenhuma das 60 aves capturadas e inspecionadas na Estação Ecológica de Samuel. As razões para essa escassez ou ausência de carrapatos em aves na UHS são desconhecidas, porém, assim como discutido acima, suspeita-se que o enchimento da usina no final de década de 1980 também tenha ocasionado um impacto na biodiversidade de pequenas aves, especialmente Passeriformes.

Se por um lado foi constatado uma baixa diversidade de aves e pequenos mamíferos na área de floresta amazônica da UHS, por outro pôde-se observar, embora não quantificado, que mamíferos de médio e grande porte, tais como cateto, queixada, anta e onça eram comuns na área de estudo, pois o local amostrado continha diversos vestígios desses animais, os quais também puderam ser visualizados por diversas vezes ao longo dos 12 meses de estudo. Tais achados vão de acordo com os carrapatos coletados em maior abundância na vegetação (*A. sculpturatum*, *A. latepunctatum*, *A. naponense*, *A. oblongoguttatum*), que utilizam esses animais tanto nas fases imaturas (larva, ninfa) e adulta, não dependendo de hospedeiros, pequenos mamíferos ou aves para se estabelecerem numa determinada área (LABRUNA et al., 2005e).

5.2 Espécies de vertebrados e invertebrados capturados e a influência da Obra da Usina Hidrelétrica de Samuel sobre a fauna local

A diversidade biológica do Brasil é ainda pouco conhecida, embora seja considerada a maior do planeta. De um modo geral, os mamíferos silvestres brasileiros dificilmente são vistos na natureza. Isto se deve principalmente ao fato de ter hábitos discretos, largamente noturnos e crepusculares na maioria das espécies, e muitas outras são de vida arbórea. A diversidade nacional de mamíferos atinge números expressivos, sendo que há pouco tempo atrás, eram conhecidas 22 ordens de mamíferos no mundo, das quais 11 encontradas no Brasil, representadas por 524 espécies (FONSECA, 1989). Atualmente são consideradas 652 espécies nativas, sendo que a floresta amazônica possui cerca de 45% com 311 espécies descritas. Dentro deste imenso grupo, as quatro ordens mais diversificadas são Rodentia,

Chiroptera, Didelphimorphia e Primates, sendo as três primeiras com a taxonomia ainda mal definida (REIS et al., 2006), porém, em Bonvicino et al. (2008) é feita uma revisão da ordem rodentia, com ênfase nos mamíferos de pequeno porte para o Brasil.

Os mamíferos de médio e grande porte apresentam grande importância ecológica, tanto no que diz respeito à estruturação de toda a comunidade de mamíferos (papel exercido pelos carnívoros predadores de topo, como os felinos), como em processos relacionados à regeneração da floresta, como a dispersão de sementes (primatas frugívoros, quirópteros, anta, entre outros) e polinização, além do papel dos predadores de sementes (TERASSINI; ALBUQUERQUE, 2008).

Nos últimos anos, diversos estudos realizados em florestas tropicais demonstraram a existência de resposta e alterações na estrutura da comunidade de pequenos mamíferos em função da fragmentação de paisagens (GUICHON, 1998). Isso se deve ao fato da grande devastação do meio ambiente decorrente do crescimento agrícola e pecuário. A maioria das espécies é dependente de ambientes conservados ou com poucos impactos ao seu habitat para sua manutenção ecológica (TERASSINI; ALBUQUERQUE, 2008).

Chama atenção o baixo número de aves e mamíferos capturados nas coletas realizadas na área de estudo, apesar do esforço amostral. Discutiu-se os resultados com diferentes especialistas (mastozoólogos e ornitólogos da Universidade de São Paulo e do estado de Rondônia) e a explicação mais plausível para os resultados, seria que a área de estudo possui uma densidade muito baixa de aves e pequenos mamíferos, ocasionados pelo impacto decorrente do enchimento da hidrelétrica, e que ainda não se recuperou.

Geralmente, áreas de florestas extensas, bem preservadas, tendem a possuir menores densidades de aves e pequenos mamíferos (REIS et al., 2006; BONVICINO et al., 2008; FONSECA, 1989), porém, a área da Estação Ecológica de Samuel sofreu seriamente com a alocação da fauna advinda do reservatório da UHS construída na década de 80, pois, os animais eram retirados de seu habitat matriz e realocados em um novo ambiente, onde eles teriam que se adaptar, concorrer por alimentos e abrigo com as espécies já existentes no novo local, além de fugir de novos predadores. Este fato pode ter sido uma das causas de nossa baixa captura e poucos registros de carrapatos ou correlacionada a estes fatores, onde mesmo, após 30 anos, nota-se que o local ainda não se recuperou do impacto ambiental sofrido. Porém, sempre foi nosso objetivo trabalhar numa área preservada, mais afastada possível de ambientes com ocupação humana, com a finalidade de conhecer a fauna silvestre de vetores, patógenos e hospedeiros associados e assim, conhecer melhor estas interações.

Paradoxalmente, se por um lado a área da Estação Ecológica de Samuel tem sofrido pouca ou nenhuma influência antrópica no que diz respeito ao desmatamento crescente e acelerado nos últimos 20 anos em função da expansão agrícola e ocupação humana no estado de Rondônia, esta mesma área parece ter sofrido um outro tipo de ação antrópica: o enchimento da UHS, que refletiu principalmente na diversidade de pequenos mamíferos e aves, como indicado pela fauna de carrapatos do presente estudo. Neste último caso, os carrapatos serviram como bio-indicadores de diversidade de pequenos vertebrados.

5.3 Infecção dos carrapatos e animais por *Rickettsia* spp. e outros patógenos

Foram colhidos em vida livre 272 carrapatos adultos, dos quais 140 (51.5%) foram testados individualmente para presença de infecção de patógenos, juntamente com outros 24 carrapatos colhidos de mamíferos. Nenhum desses carrapatos foi encontrado infectado por bactérias dos gêneros *Rickettsia*, *Anaplasma* ou *Ehrlichia*. Estes resultados contrastam com os reportados por Labruna et al. (2004b), que ao avaliarem carrapatos de outras áreas do estado de Rondônia, encontraram *Rickettsia amblyommii* infectando 14,3 a 26,8% dos carrapatos *A. coelebs* e *A. cajennense*, *Rickettsia bellii* infectando 18,3 a 100% de carrapatos das espécies. Todos esses carrapatos infectados foram coletados nos municípios de Monte Negro, Governador Jorge Teixeira ou Cacaulândia. Interessantemente, neste mesmo estudo de Labruna et al. (2004b), nenhum dos oito carrapatos coletados na Estação Ecológica Samuel se mostrou infectado por *Rickettsia*, concordando com os achados do presente estudo.

Em contraste com os resultados de PCR dos carrapatos, os testes sorológicos realizados neste presente estudo claramente indicaram que alguns marsupiais e roedores caviídeos foram expostos a infecção por *Rickettsia* do grupo da febre maculosa, uma vez que a maioria deles demonstrou títulos finais de anticorpos maiores para antígenos de *Rickettsia* do grupo da febre maculosa, tais como *R. parkeri*, *R. amblyommii* ou *R. rhipicephali*. Como ambas *R. amblyommii* e *R. rhipicephali* já foram relatadas infectando carrapatos *A. coelebs* e *Haemaphysalis juxtakochi* no estado de Rondônia (LABRUNA et al., 2004b; 2005d), é possível que as populações dessas espécies de carrapatos da Estação Ecológica Samuel estejam infectadas por essas espécies de *Rickettsia*, porém em baixas frequências de infecção, o que impediu a sua detecção no presente trabalho, que testou por PCR apenas nove espécimes de *A. coelebs* (Tabela 9) e nenhum *H. juxtakochi*, embora este último estivesse

também presente na área do estudo (Tabela 7). Em contraste com a sorologia, nenhuma amostra de fígado de mamífero se mostrou positiva ao PCR para *Rickettsia*. Esse resultado é de certa forma esperado, uma vez que a infecção por *Rickettsia* em mamíferos tende a ser de caráter agudo, com eliminação completa do agente poucos dias ou semanas após a exposição inicial, o que torna muito difícil o diagnóstico direto do agente em estudos epidemiológicos (PAROLA et al., 2005).

No que diz respeito a infecção por *Ehrlichia* spp., os resultados do presente trabalho se assemelham aos reportados por Labruna et al. (2007), que após testarem 279 carrapatos (*A. ovale*, *A. coelebs*, *A. sculpturatum*, *A. naponense*, *A. humerale*, *A. cajennense*, *A. oblongoguttatum*) de diferentes localidades do Estado de Rondônia, não encontraram qualquer indício de infecção por alguma espécie de *Ehrlichia* sp. Esses resultados são corroborados pela ausência de infecção por *Ehrlichia* spp. nos mamíferos testados no presente trabalho. Situação similar parece ocorrer também com *Anaplasma* spp. já que nenhum dos carrapatos e mamíferos testados se mostrou positivo, assim como nenhum mamífero se mostrou positivo para *Borrelia* spp. Esses resultados são forte indicativos de que esses agentes bacterianos não estão presentes na região estudada, pois uma vez que as infecções por *Ehrlichia*, *Anaplasma* e *Borrelia* costumam ser de caráter crônico em mamíferos, muitas vezes por toda a vida (PAROLA et al., 2005), resultados de PCR negativos em amostras de fígado (um dos órgãos de eleição para diagnóstico direto por PCR) indicam realmente ausência do agente no ambiente onde vivem os animais e seus carrapatos.

6 CONCLUSÕES

- A área de floresta amazônica da Estação Ecológica Samuel alberga uma fauna de carrapatos predominantemente composta por espécies de *Amblyomma* relacionadas primariamente a mamíferos de médio e grande porte, contrastando com outras áreas de floresta amazônica do Estado de Rondônia, onde outras espécies de *Amblyomma*, tal como *A. ovale*, que dependem de pequenos roedores para seu estabelecimento, também estão presentes e abundantes.
- Pequenos mamíferos da Estação Ecológica Samuel estão expostos a infecção por *Rickettsia* do grupo da febre maculosa, porém a infecção por esses agentes em carrapatos deve ser muito baixa.
- Os pequenos mamíferos silvestres da Estação Ecológica Samuel não estão expostos a infecção por bactérias dos gêneros *Ehrlichia*, *Anaplasma* ou *Borrelia*.

REFERÊNCIAS*

- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. **Journal Med. Entomology**, v. 44, p. 126-132, 2007.
- AGUIAR, D. M.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. *In vitro* isolation and molecular characterization of an *Ehrlichia canis* strain from Sao Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 489-493, 2008.
- ANDERSON, B. E.; SUMNER, J. W.; DAWSON, J. E.; TZIANABOS, T.; GREENE, C. R.; OLSON, J. G.; FISHBEIN, D. B.; OLSEN-RASMUSSEN, M.; HOLLOWAY, B. P.; GEORGE, E. H. Detection of the etiologic agent of human ehrlichiosis by polymerase chain reaction. **Journal Clin. Microbiol.**, v. 30, p. 775-780, 1992.
- ARAGÃO, H. B. Notas sobre ixodidas brasileiros. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 3, n. 2, p. 145-195, 1911.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns Países limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759-843, 1936.
- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. VIII Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 59, p. 115-129, 1961.
- ARZUA, M.; BARROS-BATTESTI, D. M. Parasitism of *Ixodes (Multidentatus) auritulus* Neumann (Acari: Ixodidae) on birds from the city of Curitiba, State of Paraná, Southern Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 5, p. 597-603, 1999.
- ARZUA, M.; SILVA, M. A. N.; FAMADAS, K. M.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M. *Amblyomma aureolatum* and *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) on birds in southern Brazil, with notes on their ecology. **Experimental and Applied Acarology**, v. 31, n. 3-4, p. 238-296, 2003.
- ARZUA, M.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. Catalogue of the tick collection (Acari, Ixodida) of the Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 3, p. 623-632, 2005.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; KNYSACK, I. Catalogue of the Brazilian *Ixodes* (Acari: Ixodidae) material in the mite collection of Instituto Butantan, São Pulo, Brazil. **Papéis Avulsos Zool.**, v. 41, p. 49-57, 1999.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; PICHORIM, M.; KEIRANS, J. K. *Ixodes (Multidentatus) paranaensis* n. sp. (Acari: Ixodidae) a parasite of *Streptoprocne biscutata* (Sclater 1865) (Apodiformes: Apodidae) birds in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 1, p. 93-102, 2003.

*De acordo com: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: Informações e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 59

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, 2006. 223 p.

BERNARDE, P. S.; ABE, A. S. A snake community at Espigão do Oeste, Rondônia, Southwestern Amazon, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 1, n. 2, p. 102-113, 2006.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos Roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos.** Londrina, PR: Organização Pan-Americana da Saúde, PANAFTOSA - OPAS/OMS, 2008. 120 p.

BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; HANCOCK, S. I. Sequential evaluation of dogs naturally infected with *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia equi*, *Ehrlichia ewingii* or *Bartonella vinsoni*. **Journal Clin. Microbiol.**, v. 36, p. 2645-2651, 1998.

CAMICAS, J. L.; HERVY, J. P.; ADAM, F.; MOREL, P. C. **Les tiques du monde. Nomenclature, stades décrits, hôtes, répartition (Acarida, Ixodida).** Paris: Orstom, 1998. 233 p.

CAMPBELL, H. W.; CHRISTMAN, S. P. Field techniques for herpetofaunal community analysis. In: SCOTT JR, N. J. **Herpetological communities: a Symposium of the Society for the Study of Amphibians and Reptiles and the Herpetologists' League.** Local: Washington: Fish Wild Serv. Wildl. Res. Per., 1982. Cap. 13. p. 193-200.

CATENACCI, L. S.; GRIESE, J.; CRUZ, T. F.; SALGADO, V. R.; CRUZ, M.; CASTRO, L. A. P. B.; SILVA, R. C.; SAMPAIO, M. V.; AKABOSHI, J. S. C.; MEGID, J. Inquérito soropidemiológico para diferentes Zoonoses na espécie Cachorro-Do-Mato (*Cerdocyon thous*) nos Zoológicos do Estado de São Paulo. In: CONGRESSO E ENCONTRO DA ABRAVAS. 7., 12., 2003. São Pedro/SP. **Anais...** São Pedro/SP: ABRAVAS, 2003. p. 19-22.

CECHIN, S. Z.; MARTINS, M. Eficiência de armadilhas de queda (Pitfall-traps) em amostragem de anfíbios e répteis no Brasil. **Revista Bras. Zool.**, v. 17, p. 729-740, 2000.

CENTRAIS ELÉTRICAS DO NORTE DO BRASIL S.A, **Eletrobrás, Usina Hidrelétrica.** Eletronorte, Brasília/DF. Disponível em: <<http://www.eln.gov.br/meiosamu.htm>>. Acesso em: 20 abr. 2010.

DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 14, p. 30-49, 2009.

EVANS, D. E.; MARTINS, J. R.; GUGLIELMONE, A. A. A review of ticks (Acari: Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution – 1. The state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 453-470, 2000.

FEARNSIDE, P. M. A. **Hidrelétrica de Samuel: lições para as políticas de Desenvolvimento Energético e Ambiental na Amazônia.** Manaus, AM: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2004. 46 p.

FITCH, H. S. Collecting and life-history techniques. In: SEIGEL, R. A.; COLLINS, J. T. E NOVAK, S. S. (Ed.). **Snakes: ecology and evolutionary biology**. New York: MacMillan Publishing Company, 1987. p. 143-164.

FONTES, E. M. Metodos de eutanásia. **Rev. Port. Cien. Vet.**, v. 40, p. 104-109, 1995.

FONSECA, G. A. B. Small mammal species diversity in Brazilian tropical primary and secondary forests of different size. **Rev. Brasileira de Zool.**, v. 63, p. 381-422, 1989.

GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M. C. A.; PACHECO, R. C.; WALKER, D. H.; LABRUNA, M. B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian Spotted Fever-endemic area in the State of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 841-845, 2005.

GUGLIELMONE, A. A. Comments on controversial tick (Acari: Ixodida) species names and species described or resurrected from 2003 to 2008. **Experimental and Applied Acarology**, v. 48, n. 4, p. 311-327, 2009.

GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PEÑA, A.; KEIRANS, J. E.; ROBBINS, R. G. Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic **Houten, The Netherlands**. Region, Atlanta, Editora, (ICTTD-2), 2003. 173 p.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I. G.; SHAO, R.; BARKER, S. C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: A list of valid species names. **Zootaxa**. nº 2528, p. 28, 2010.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTISTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Editora Plêiade, 2001. 213 p.

GUICHON, M. L.; CASSINI, M. H. Role of diet selection in the use of habitat by pampas cavies *Cavia aperea pamparum* (Mammalia, Rodentia). **Mammalia**, v. 62, p. 23-35, 1998.

HORAK, I. G. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. **Experimental Applied Acarology**, v. 28, p. 27-54, 2002.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; 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. **Am. Journal Trop. Med. Hyg.**, v. 71, p. 93-97, 2004.

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 MC, MORAES-FILHO J, CASAGRANDE RA, SAITO TB, ROSA SC, OGRZEWSKA M, MATUSHIMA ER, LABRUNA MB. Experimental Infection of Opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and Evaluation of the Transmission of the

Infection to Ticks *Amblyomma cajennense*. **Vector Borne and Zoonotic Diseases** v.9, n.1, p.109-117, 2009

JONGEJAN, G.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 3-14, 2004.

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.

KEIRANS, J. E. Systematics of the Ixodidae (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae): An overview and some problems. In: FIVAZ, B. et al. **Tick vector biology**. Medical and Veterinary Aspects. Berlin-Alemanha: Springer Verlag, 1992. p. 21.

KEIRANS, J. E.; OLIVER JR, J. H. First description of the male and redescription of the immature stages of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae), a recently discovered tick in the U.S.A. **Journal of Parasitology**, v. 79, p. 860-865, 1993a.

KEIRANS, J. E.; RESTIFO, R. A. *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley (Acari:Ixodidae), a neotropical tick species, found in Ohio. **Journal Med. Entomol.**, v. 30, p. 1074-1075, 1993b.

KOESTER, A. D.; AZEVEDO, C. R.; VOGLIOTTI, A.; DUARTE, J. M. B. Occurrence of *Atelocynus microtis* (SCLATER, 1882) in the Jamari National Forest, Rondonia State. Short-communication. **Biota Neotrop.**, v. 8, n. 4, p. 310-804, 2008

KOHL, G. M.; CLIFFORD, C. M.; and JONES, E. K. The systematics of the subfamily Ornithodorinae (Acarina: Argasidae). Eight new species of *Ornithodoros* from the Western hemisphere. **Ann. Entomol. Soc. Am.** v 4, n. 62, p. 1035-1043, 1969.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; SCHUMAKER, T. T. S.; CAMARGO, E. P. Notes of the parasitism by *Amblyomma* ticks on domestic swine (*Sus scrofa*) in a farm at Monte Negro, Western. **Journal Med. Entomol.**, v. 39, n. 1, p. 241-243, 2002.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J.; 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 Clin. Microbiol.**, v. 42, p. 90-98, 2004a.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J.; CAMARGO, L. M. A. EP PV, Walker DH *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon. **Journal Med. Entomol.**, v. 41, p. 1073–1081, 2004b.

LABRUNA, M. B.; KEIRANS, J. E.; CAMARGO, L. M. A.; RIBEIRO, A. F.; MARTINS, R. S.; CAMARGO, E. P. *Amblyomma latepunctatum*, a valid tick species (Acari: Ixodidae) long misidentified with both *Amblyomma incisum* and *Amblyomma scalpturatum*. **Journal of Parasitology**, v. 91, p. 527–541, 2005a.

LABRUNA, M. B.; TERASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M. A. First report of the male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a field-collected host. **Journal Med. Entomol.**, v. 42, n. 6, p. 945-947, 2005b.

LABRUNA, M. B.; SANA, R. J. D.; JÁCOMO, A.; KASHIVAKURA, C.; FURTADO, M.; FERRO, C.; PEREZ, S.; SILVEIRA, L.; SANTOS, J. R. T.; MARQUES, S.; MORATO, R.; NAVA, A.; ADANIA, C.; TEIXEIRA, R.; GOMES, A.; CONFORTI, V.; AZEVEDO, F.; PRADA, C.; SILVA, J.; BATISTA, A.; MARVULO, M.; MORATO, R.; ALHO, C.; PINTER, A.; FERREIRA, P.; FERREIRA, F.; BARROS-BATTESTI, D. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 151-165, 2005c.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 169-174, 2005d.

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

LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, 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 Zoonotic Dis.**, v. 7, n. 2, p. 249-255, 2007.

LABRUNA, M. B.; TERASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M. A.; BRANDAO, P. E.; RIBEIRO, A. F.; ESTRADA-PENA, A. New reports of *Antricola guglielmonei* and *Antricola delacruzi* in Brazil, and a description of a new argasid species (Acari). **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 4, p. 788-792, 2008.

LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1166, p. 156-166, 2009a.

LABRUNA, M. B.; VENZAL, J. M. *Carios fonsecai* sp. nov. (Acari, Argasidae), a bat tick from the central-western region of Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 54, n. 4, p. 355-363, 2009b.

LABRUNA, M. B.; GUGLIELMONE, A. A. Ticks of New World Tapirs. **Tapir Conservation**, v. 18, p. 21-28, 2009.

LABRUNA, M. B.; BARBIERI, F. S.; MARTINS, T. F.; BRITO, L. G.; RIBEIRO, F. D. S. New tick records in Rondônia, Western Brazilian Amazon. Jaboticabal, **Rev. Bras. Parasitol.**, v. 19, n. 3, p. 192-194, 2010.

MACEDO, L. C.; BERNARDE, P. S.; ABE, A. S. Lagartos (Squamata: Lacertilia) em áreas de floresta e de pastagem em Espigão do Oeste, Rondônia, sudoeste da Amazônia, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 1, p. 133-139, 2008.

MARTINS, T. F.; 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.

MESSIAS, M. R. **Relatório dos aspectos bióticos da área de Expansão da lavra da jazida “taboquinha” dentrítico na mina de santa bárbara, componente mastofauna de médio e grande porte**. Rondônia: Floresta Nacional do Jamari, 2005. 89 p.

NAVA, S.; MANGOLD, A. J.; MASTROPAOLO, M.; VENZAL, J. M.; OSCHEROV, E. B.; GUGLIELMONE, A. A. *Amblyomma boeroi* sp. nov. (Acari: Ixodidae), a parasite of the Chacoan peccary, *Catagonus wagneri* (Rusconi) (Artiodactyla: Tayassuidae) in Argentina. **Systematic Parasitology**, v. 73, p. 161-174, 2009.

NAVA, S.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; MANGOLD, A.; 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. 6, p. 1096-1108, 2010.

NEED, J. T.; DALE, W. E.; KEIRANS, J. M.; DASCH, G. A. Annotated list of ticks (Acari: Ixodidae: Argasidae) reported in Peru: distribution, hosts, and bibliography. **Journal Med. Entomol.**, v. 28, p. 590-597, 1991.

NOWAKI, R. M. **Walker’s Mammals of the World**. 5th ed. Baltimore: The Johns Hopkins University, 1991. v. 2. 1692 p.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R.; UEZU, A.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in an Atlantic Forest area in the state of São Paulo, Brazil, with isolation of *Rickettsia* from the tick *Amblyomma longirostre*. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 4, p. 770-774, 2008.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R.; UEZU, A.; 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, 2009.

OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the eastern Amazon, northern Brazil, with notes on Rickettsial infection in ticks. **Parasitol Res.**, v. 106, p. 809–816, 2010.

OLIVEIRA, F. S.; MARTINS, L. L.; DUQUE, J. C.; PAULONI, A. P.; VALADÃO, C. A. A. Anestesia epidural em cutias (*Dasyprocta azarae*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 34, n. 1, p. 89-91, 2006.

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

ONOFRIO, V. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F. G.; BARROS-BATTESTI, D. M. Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA M.; BECHARA, G. H. (Ed.). **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006a. p. 53.

ONOFRIO, V. C.; VENZAL, J. M.; PINTER, A.; SZABÓ, M. P. J. Família Ixodidae: características gerais, comentários e chave para gêneros.. In BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA M.; BECHARA, G. H. (Ed.). **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006b. p. 29.

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

PADDOCK, C. D.; FINLEY, R. W.; WRIGHT, C. S.; ROBINSON, H. N.; SCHRODT, B. J.; LANE, C. C.; EKENNA, O.; BLASS, M. A.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A.; MCLELLAN, S. L.; GODDARD, J.; HOLMAN, R. C.; OPENSHAW, J. J.; SUMNER, J. W.; ZAKI, S. R.; EREMEEVA, M. E. *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain Spotted fever. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, p. 1188-1196. 2008.

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

PIESMAN, J.; MATHER, T. N.; SINSKY, R. J.; SPIELMAN, A. Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission. **Journal Clin. Microbiol.**, v. 25, p. 557– 558, 1987.

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.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Plano de manejo da floresta nacional do Jamari**. Brasília: Ed. Ibama/MMA, 2005.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews.**, v. 10, p. 694-719, 1997.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L. **Mamíferos do Brasil**. Londrina: Edifurb, 2006. 437 p. 2006.

ROBINSON, L. E. **Ticks a monograph of the Ixodoidea Part IV: the genus *Amblyomma***. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1926. 302 p.

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in animals and Brazilian Spotted Fever endemicity. **Emerg Infect Dis.**, v. 11, p. 265-270, 2005.

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

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.

STROMDAHL, E. Y.; WILLIAMSON, P. C.; KOLLARS, T. M. JR; EVANS, S. R.; BARRY, R. K.; VINCE, M. A.; DOBBS, N. A. Evidence of *Borrelia lonestari* DNA in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) removed from humans. **J. Clin. Microbiol.** v. 41, p. 5557-5562, 2003.

SZKLAROWSKY, L. F. **SNUC Sistema Nacional De Unidades De Conservação da Natureza**, n. 58, Lei nº 9.985/2000. Brasília, DF: Jus Navigandi, 2002. v. 6.

SZABÓ, M. P. J.; LABRUNA, M. B.; VOGLIOTTI, A.; DUARTE, J. M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) on Small Red Brocket Deer (*Mazama bororo* Duarte) along deer trails in the Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 11, p. 41-45, 2006.

SZABÓ, M. P. J.; PASCOLI, G. V. T.; MARÇAL, O. JÚNIOR; ALEXANDRE GABRIEL FRANCHIN, A. G.; TORGA, K. Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. *sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 543-545, 2008.

TERASSINI, F. A.; ESTRADA-PENA, A.; VENZAL, J. M.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B. *Argas (Persicargas)* sp. (ACARI: ARGASIDAE) em Urubus da Vila Princesa (LIXÃO) do Município de Porto Velho RO. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 1., 2006, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa, MG: **SIBAC**, 2006. CD-ROM.

TERASSINI, F. A.; ALBUQUERQUE, S.; LUZ, A. P.; CUSTÓDIO, M. G. F. Levantamento das espécies de vertebrados (Mastofauna) da Fazenda Santa Carmem, Rondônia, Amazônia Ocidental - Brasil. **Revista Eletrônica - Saber Científico**, v. 2, n. 3, p. 296-322, 2008.

TERASSINI, F. A.; BARBIERI, F.; ALBUQUERQUE, SAYMON; CAMARGO, LUIS MARCELO ARANHA; LABRUNA, M. B. Comparison of two techniques for collection of free-living ticks in the Amazonian Forest. In: International Congress of Acarology, 13th., 2010, Recife, PE. **Anais...** Abstract Book 13th International Congress of Acarology, 2010. p. 274-275.

TONELLI-RONDELLI, M. Ixodoidea. Parte II – Contributo Allá conoscenza della fauna ixodologica Sud-Americiana. **Revista di Parasitologia**, v. 3, p. 39-55, 1939.

VENZAL, J. M.; FÉLIX, M. L.; OLMOS, A.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. A collection of ticks (Ixodidae) from wild birds in Uruguay. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 325-331, 2005.

VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABRUNA, M. B.; MAYO, R. C.; SOUZA, S. S. L.; CAMARGO-NEVES, V. L. F. **Manual de Vigilância Acarológica do Estado de São Paulo**. São Paulo: SUCEN, 2004. 62 p.

ANEXOS

ANEXO A – Certificado da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado “Pesquisa de carrapatos e patógenos em pequenos mamíferos e aves na área de Floresta Amazônica primária da Estação Ecológica Samuel, Estado de Rondônia”, protocolado sob o nº1159/2007 (serão utilizadas várias espécies de mamíferos e aves de vida livre e o número de animais dependerá do sucesso da captura), sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 19/09/07.

We certify that the Research “Survey of ticks and tick-borne pathogens in small mammals and birds in primary Amazon Forest area of Samuel Ecological Reserve, State of Rondonia”, protocol number 1159/2007, utilizing indefinite number of small mammals and birds, under the responsibility Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 09/19/07.

São Paulo, 20 de setembro de 2007

Prof. Dr. José Luis Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, nº 87 – 05508-270 – Cidade Universitária “Armando de Salles Oliveira”. Fax: (11) 3032-2224 – fones: (11) 309107676/7671 – e-mail: fm vz@edu.usp.br

ANEXO B – Ficha de coleta de campo

Projeto Carrapatos/ Estação Ecológica de Samuel – Candeias do Jamari/RO
Ficha de animal capturado – Outubro 2007/Setembro 2008

Código do Animal: _____ **No. Campanha (1 a 12)** _____

ANfíbio ☐

REptil ☐

AVe ☐

MAmífero ☐

Nome comum: _____

Gênero/Espécie _____

Data da captura – Dia _____ **Mês** _____ **Ano** _____

Método de coleta:

- ☐ Pitfall-traps
- ☐ Tomahawk
- ☐ Sherman
- ☐ Rede de neblina
- ☐ Manual
- ☐ Encontrado morto

Foram coletados:

Carrapatos: SIM ☐ NÃO ☐

Sangue: SIM ☐ NÃO ☐

Órgãos internos (baço e/ou fígado): SIM ☐ NÃO ☐

Ácaros: SIM ☐ NÃO ☐

Pulgas: SIM ☐ NÃO ☐

Animal foi enviado para taxidemização: SIM ☐ NÃO ☐

Observações relevantes:

APÊNDICES

APÊNDICE A – Espécies de carrapatos capturadas (Fêmea e macho de *Amblyomma sculpturatum*)

APÊNDICE B - Fêmea e macho de *A. latepunctatum*.

APÊNDICE C - Fêmea e macho de *A. naponense*.

APÊNDICE D - Fêmea e macho de *A. oblongoguttatum*.

APÊNDICE E - Ninfas de *Amblyomma* sp.

APÊNDICE F - Ninfas de *Amblyomma* sp. sobre a folhagem em atitude de espera.

APÊNDICE G - Fêmea (maior) e ninfa ingurgitada de *Amblyomma rotundatum* parasitando anfíbio *Rhinella marina* (sapo cururu).

APÊNDICE H - Técnica de armadilhamento para aves (rede de neblina) ao longo da estrada de acesso próximo a floresta, sendo inspecionada para retirada das aves.

APÊNDICE I - Serpente *Spilotes pullatus* (caninana) capturada em 11/08/2008 sobre a vegetação, inspecionada, fotografada e solta na Estação Ecológica de Samuel.

APÊNDICE J - Morcego (*Carollia* sp.) capturado nas armadilhas de rede de neblina em 11/08/2008.

APÊNDICE K - Animal que recebeu o código MA: 14 (*Didelphys marsupialis*) capturado na armadilha Pitfall-traps, em janeiro de 2008 na Estação Ecológica de Samuel.

APÊNDICE L - Roedor *Oligoryzomys* sp. inspecionado e pronto para envio a taxidermização.

APÊNDICE M - Cutia (*Dasyprocta variegata*) capturada na Estação Ecológica de Sameul em armadilha “Tomahawk” registrada sob número MA: 6 com presença de ninfas de *Amblyomma* spp. que foram levadas para laboratório e criadas até estágio adulto.