



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas



**FAUNA, SAZONALIDADE E RIQUETSIAS DE CARRAPATOS EM ÁREA DO
CERRADO GOIANO**

MARIA MARLENE MARTINS

UBERLÂNDIA
JULHO DE 2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

M386f
2016 Martins, Maria Marlene, 1973
Fauna, sazonalidade e riquetsias de carrapatos em área do Cerrado
goiano / Maria Marlene Martins. - 2016.
84 f. : il.

Orientador: Matias Pablo Juan Szabó.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa
de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.
Inclui bibliografia.

1. Imunologia - Teses. 2. Carrapato - Teses. 3. Rickettsia - Teses. 4.
Fauna dos cerrados - Teses. I. Szabó, Matias Pablo Juan. II.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU: 612.017



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas



Maria Marlene Martins

“FAUNA, SAZONALIDADE E RIQUETSÍAS DE CARRAPATOS EM ÁREA DO CERRADO GOIANO”

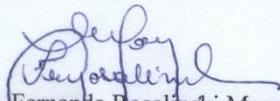
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Doutor(a).

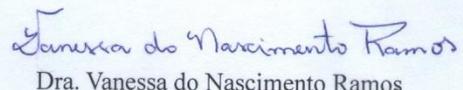
Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

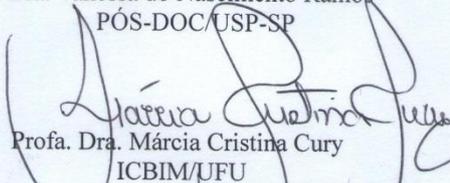
Banca Examinadora:

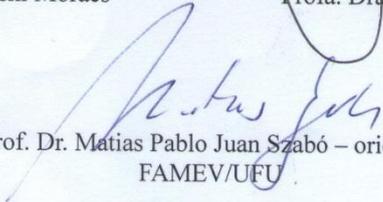
Uberlândia, 17 de agosto de 2016.


Prof. Dr. Adriano Pinter dos Santos
SUCEN/SP


Profa. Dra. Fernanda Rosalinski Moraes
FAMEV/UFU


Dra. Vanessa do Nascimento Ramos
PÓS-DOC/USP-SP


Profa. Dra. Márcia Cristina Cury
ICBIM/UFU


Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó – orientador
FAMEV/UFU

DEDICATÓRIA

“A ti não necessitaria escrever; seriam seus a dedicatória, as linhas, os pontos finais, vírgulas, acentos e o resto. O todo. Pois sem ti não haveria o verbo, Amor”

Paulo Gustavo.

Ao meu filho Filipe Martins Olegário, que me proporcionou a imensa alegria de ser mãe e avó, minha continuidade. Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meus primeiros mestres na vida, meu incentivo constante. Agradeço pelo apoio incondicional. A toda minha família que sempre estiveram ao meu lado.

Ao pesquisador Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, que confiou essa pesquisa à nossa equipe.

Ao Prof. Dr. Jonny Yokosawa do Laboratório de Virologia, por ceder espaço para essa pesquisa, estar sempre disponível quando precisei e por contribuir com esse trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Matias P. J. Szabó, por sempre ensinar com seriedade e dedicação. Obrigada pela orientação, e amizade.

Aos meus amigos do Laboratório de Ixodologia, por fazer parte dessa pesquisa. Pela maneira descontraída e bem-humorada de trabalhar, transformado esse estudo em um passatempo agradável.

Aos órgãos de fomento, CNPq e CAPES, por financiar essa pesquisa.

E a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigada.

LISTA DE TABELAS

- Tabela.1.** Localização dos pontos, respectivas altitudes e caracterização dos ambientes dos locais de coleta de carrapatos de vida livre da fazenda Moenda da Serra, Município de Araguapaz, Goiás, 2013-2014. **29**
- Tabela.2.** Primers designados para caracterização molecular de *Rickettsia* em carrapatos **38**
- Tabela.3.** Total de carrapatos coletados em ambiente, animais e humanos nas Fazendas Moenda da Serra, Maranata, Cabeceira do Alagadinho, e em dois assentamentos adjacentes a esses locais, no município de Araguapaz, Goiás, 2012 a 2015. **43**
- Tabela.4.** Número bruto de carrapatos de cada espécie coletados em vida livre em diversos pontos em Araguapaz, Goiás de 2012 a 2015. **44**
- Tabela.5.** Número de animais e vistorias de cães, bovinos e equinos e número de carrapatos parasitando estes hospedeiros em Araguapaz, Goiás 2012-2015. **48**
- Tabela.6.** Parâmetros de infestação em espécies de aves silvestres capturadas na Fazenda Moenda da Serra, Araguapaz, Goiás, 2013 a 2104. **50**
- Tabela.7.** Parâmetros de infestações de pequenos mamíferos capturados em Araguapaz, Goiás no período de 2013 e 2014. **51**
- Tabela. 8.** Espécies de *Rickettsia* em carrapatos coletados no ambiente em Araguapaz, Goiás, entre 2012 a 2015. **55**
- Tabela. 9.** Espécies de riquetsias em carrapatos coletados de animais e humanos em Araguapaz, Goiás, entre 2012 a 2015. **55**
- Tabela.10.** Identidade de nucleotídeos e aminoácidos com *Rickettsia* sp. De *Ornithodoros* sp. **56**

Tabela.11. Sororeatividade para cinco espécies de riquetsias em pequenos mamíferos 57
capturados em Araguapaz, Goiás, no período de 2013 a 2015.

Tabela.12. Sororeatividade e títulos para cinco espécies de riquetsias de cães em Araguapaz, 57
Goiás, no período de 2013 a 2015.

Tabela.13. Sororeatividade e títulos para cinco espécies de riquetsias equídeos em 58
Araguapaz, Goiás, no período de 2013 a 2015.

Tabela. 14. Número de amostras coletadas e resultado da RIFI para cada espécie de riquetsia 58
pesquisada, 2012 a 2015.

LISTA DE FIGURAS

- Figura.1.** Localização do Estado de Goiás no território Brasileiro e a Mesoregião 17
Noroeste do Estado onde está localizado o município de Araguapaz-GO.
- Figura.2.** Vista aérea da Fazenda Moenda da Serra, indicando os três pontos utilizados 28
para coleta de carrapatos padronizada no Município de Araguapaz, Goiás, Brasil.
- Figura.3.** Vista aérea dos pontos de coleta não padronizadas de carrapatos em 31
ambiente da Fazenda Moenda da Serra e de seus arredores no município de Araguapaz,
Goiás, Brasil.
- Figura.4.** Locais de coletas de carrapatos em animais domésticos, no município de 32
Araguapaz, Goiás, no período de 2012 a 2015.
- Figura.5.** Local de captura de roedores do gênero *Cavia aperea* e *Trichomys* sp. com 34
carrapatos do gênero *Ornithodoros* sp.
- Figura.6.** Números de carrapatos (adultos e ninfas) coletados nas coletas padronizadas 45
em três áreas com diferentes fitofisionomias em Araguapaz, Goiás, 2013 e 2014.
- Figura.7.** Porcentagens de diferentes espécies adultas de carrapatos coletados de 45
ambiente em Araguapaz-GO, 2012-2015.
- Figura.8.** Porcentagens de diferentes espécies de ninfas de carrapatos coletados de 46

ambiente em Araguapaz-GO, 2012-2015.

Figura.9. Dinâmica sazonal de adultos e ninfas de carrapatos coletados do ambiente 46
em três pontos na Fazenda Moenda da Serra em Araguapaz-GO, 2013-2014.

Figura.10. Dinâmica sazonal de larvas de carrapatos coletados do ambiente em três 47
pontos na Fazenda Moenda da Serra em Araguapaz-GO, 2013-2014.

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO	15
1.1-O cerrado	15
1.2-Estado de Goiás	16
1.3- Município de Araguapaz, Goiás	19
1.4- Fazenda Moenda Da Serra	20
1.5- Carrapatos	20
1-6- Hospedeiros de carrapatos e riquetsias	23
2-OBJETIVO GERAL	26
2.1. Objetivos Específicos	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1. Área de estudo	27
3.2. Período do estudo	27
3.3. Coleta de carrapatos no ambiente	27
3.3.1. Coletas para definir a dinâmica sazonal de carrapatos	28
3.3.2. Coletas ambientais aleatórias	30
3.4. Coletas de carrapatos em humanos	31

3.5. Coletas de carrapatos em animais domésticos	31
3.6. Coletas de carrapatos de aves selvagens	32
3.7. Coleta de carrapatos em pequenos mamíferos	33
3.8. Coletas de carrapatos do gênero <i>Ornithodoros</i> sp.	33
3.9. Colônia de <i>Ornithodoros</i> sp.	34
3.10. Armazenamento e Identificação dos carrapatos	35
3.11. Pesquisa de riquetsias nos carrapatos	36
3.11.1. Teste de Hemolinfa	36
3.11.2. Extração de DNA para pesquisa de riquetsias nos carrapatos	36
3.11.3. Reação em cadeia da polimerase para pesquisa de riquetsias nos carrapatos	37
3.11.4. Análise dos produtos amplificados	39
3.11.5. Sequenciamento	39
3.11.6. Tentativa de Isolamento e detecção das <i>Rickettsias</i> e Flavivírus em células Vero	40
3.11.7. Exposição de cães, equinos e pequenos mamíferos a riquetsias	40

3.12. Autorizações	42
4. RESULTADOS	42
4.1. Total de carrapatos coletados	42
4.2. Carrapatos no ambiente	43
4.3. Coleta em animais	47
4.3.1. Carrapatos em animais domésticos	47
4.3.2. Carrapatos em aves silvestres	49
4.3.3. Carrapatos em roedores silvestres	50
4.4. <i>Ornithodoros</i> sp. uma nova espécie de argasídeo (Acari: Argasidae)	51
4.5. Capturas fortuitas de carrapatos	53
4.6. Teste de Hemolinfa	53
4.7. Isolamento de riquetsias e Flavivírus	54
4.8. Identificação molecular de DNA de riquetsias em carrapatos	54
4.9. Pesquisa de anticorpos anti-riquetsias em animais	56
5. DISCUSSÃO	59
6. CONCLUSÃO	67

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS **68**

ANEXO I **81**

Aprovação do Comissão de Ética na Utilização de Animais

ANEXO II **82**

Aprovação do Ministério do Meio Ambiente

RESUMO

Visando contribuir com a descrição da diversidade e ecologia de carrapatos e riquetsias no Cerrado brasileiro, este estudo foi conduzido em uma fazenda particular e suas imediações em Araguapaz, Goiás. O trabalho foi realizado durante quatro anos em 11 coletas, sendo oito em estações consecutivas em três fitofisionomias distintas. Coletou-se carrapatos do ambiente, de animais domésticos, aves e pequenos mamíferos silvestres e, em uma amostra destes, procurou-se por DNA de riquetsias. No ambiente foram coletados *Amblyomma sculptum*, *A. ovale*, *A. parvum*, *A. naponense*, *A. rotundatum* e *Ornithodoros* sp. O ambiente com infestação mais intensa e diversa foi a Mata de Galeria e o carrapato *A. sculptum* exibiu uma distribuição sazonal bem definida com larvas e ninfas prevalecendo nas estações mais secas e adultos nas mais úmidas. Em cães foram encontrados *A. sculptum*, *A. ovale*, *A. parvum* e *Rhipicephalus sanguineus*; em equídeos *A. sculptum*, *Dermacentor nitens* e *R.(Boophilus) microplus*; em bovinos *R. (Boophilus) microplus* e *A. sculptum*. Nas aves silvestres foram coletadas ninfas de *A. sculptum* e *A. nodosum*. Nos pequenos roedores coletou ninfas de *A. parvum*, larvas de *Amblyomma* spp e larvas de *Ornithodoros* sp. Coletas fortuitas em répteis, resultaram em ninfas e adultos de *A. rotundatum* e larvas de *Amblyomma* sp. Duas espécies de riquetsias do grupo da febre maculosa foram identificadas *R. amblyommii* e candidato *R. andeanae* ambas em *A. parvum* e *R. bellii* em *A. rotundatum*. O carrapato *Ornithodoros* sp encontrado diverge morfológicamente e geneticamente das espécies conhecidas constituindo-se em uma nova espécie. De forma global ficou evidente que os animais na área estudada são expostos a uma diversidade maior de macroparasitos (carrapatos) e microparasitos (bactérias) do que em áreas muito mais antropizadas. O papel desta diversidade maior no desenvolvimento de doenças, na prevenção destas, merece investigações adicionais.

Palavras-chave: Carrapatos, *Rickettsia*, Cerrado, Araguapaz, diversidade

ABSTRACT

Aiming contributing to the description of species and of the ecology of ticks and *Rickettsia* in the Cerrado (savannah) this research was conducted in private farm and surroundings in Araguapaz county, Goiás. Overall eleven samplings, eight in consecutive seasons in three phytofisiognomies, were done along four years. Ticks were collected from the environment, domestic animals, birds and small mammals and *Rickettsia* DNA was searched for in a sample of this ectoparasites. *Amblyomma sculptum*, *A. ovale*, *A. parvum*, *A. naponense*, *A. rotundatum* and *Ornithodoros* sp. were collected from the environment and gallery forests exhibited the overall highest infestation and tick species diversity. *A. sculptum* ticks exhibited a seasonal pattern with larvae and nymphs prevailing in the driest seasons and adults in most humid ones. Dogs were parasitized by *A. sculptum*, *A. ovale*, *A. parvum* and *Rhipicephalus sanguineus*; horses by *A. sculptum*, *Dermacentor nitens* and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*; cattle by *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, and *A. sculptum*. *A. sculptum* and *A. nodosum* nymphs were collected from birds and *A. parvum* nymphs, *Amblyomma* sp. and *Ornithodoros* sp. larvae from small mammals. Unplanned tick collections from reptiles yielded *A. rotundatum* nymphs and adults as well as *Amblyomma* sp. larvae. Two spotted fever *Rickettsia* species were identified; *R. amblyommii* and *R. andeanae* both in *A. parvum* as well as *R. bellii* in *A. rotundatum*. The *Ornithodoros* sp. tick found diverge both morphologically and genetically from known species and a new tick species may be supposed. Broadly it is evident that in the studied area animals are exposed to a higher macroparasite (ticks) and microparasites (bacteria) than those from more anthropized areas. The role of such higher parasite diversity in the development or prevention of diseases should be further investigated.

Key words: ticks, *Rickettsia*, Cerrado Araguapaz, diversity

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

1.1. O Cerrado

O Cerrado constitui o segundo maior bioma do Brasil, com uma área de aproximadamente 2 milhões de km² que representa cerca de 23% da área total do país (RATTER, et al., 2003). Este bioma é uma savana tropical, considerada um dos “hot spots” da biodiversidade global, ou seja, área rica em espécies endêmicas e particularmente ameaçada pelas atividades humanas (CINCOTTA, 2000). Nos últimos 35 anos mais da metade dos 2 milhões de km² de Biomas originais foram cultivados com pastagens plantadas e culturas anuais. As taxas de desmatamento no Cerrado têm sido historicamente superiores às da floresta Amazônica, apenas 20% desse bioma permanecem inalterados e somente 2,2% da área do Cerrado se encontra legalmente protegida (MITTERMEIER, et al., 1999).

A flora está entre a mais ricas do mundo com mais de 7.000 espécies de plantas herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós (MENDONÇA, et al., 1998). Quarenta e quatro por cento da flora é endêmico e nesse sentido, o Cerrado é a mais diversificada savana tropical do mundo. Existe uma grande diversidade de habitats e alternância de espécies (RATTER et al., 2003). A mais recente revisão da fauna de mamíferos aponta um número de espécies maior do que as compilações anteriores com cerca de 199 espécies para o bioma Cerrado (AGUIAR, 2000, MARINHO-FILHO, et al., 2002). Os mamíferos estão principalmente associados ou restritos aos fragmentos florestais ou matas de galeria (REDFORD e FONSECA, 1986). A avifauna é rica (> 830 espécies), mas o nível de endemismo é baixo (3,4%). Os invertebrados são muito pouco conhecidos, mas estimativas sugerem uma riqueza em torno de 90.000 espécies (DIAS, 1992). Diversas espécies animais e vegetais estão ameaçadas de extinção e estima-se

que 20% das espécies ameaçadas ou endêmicas não ocorram nas áreas legalmente protegidas (KLINK, et al, 2005).

A biodiversidade do Cerrado é elevada, porém geralmente menosprezada. As transformações ocorridas no Cerrado trouxeram grandes danos ambientais fragmentação de habitats, extinção da biodiversidade, invasão de espécies exóticas, degradação de ecossistemas, e possivelmente modificações climáticas regionais. (KLINK e MOREIRA, 2002).

Infelizmente as informações disponíveis sobre Cerrado são ainda restritas, particularmente sobre espécies de invertebrados. Entre outras, informações sobre carrapatos deste bioma são bastante escassas, pontuais (KNIGHT, 1992; CAMPOS PEREIRA, et al., 2000). Veronez et al., (2010) descreveram um grande predomínio de *Amblyomma sculptum* (do complexo *Amblyomma cajennense*) na região de Cerrado em Minas Gerais. Outros trabalhos, como os de Szabó et al., (2007) e Ramos, et al., (2014b) também descreveram a presença de carrapatos no bioma cerrado, inclusive com relatos de picadas em humanos (SZABÓ, et al. 2007; RAMOS, et al. 2014b). Sabe-se que carrapatos são vetores de vários patógenos causadores de doenças em animais e seres humanos. Assim, faz-se necessário que os estudos sobre esses ixodídeos sejam mais aprofundados, no que diz respeito a biologia, ecologia, sazonalidade e doenças transmitidas.

1.2. Estado de Goiás

O Estado de Goiás possui área de 340.165,9 km², divididos em 246 municípios. Se localiza na região Centro-Oeste do Brasil e se estende entre os paralelos 13°00' e 19°00'S e os meridianos 46°00' e 53°00'W (NASCIMENTO, 1991). Ocupa 21% do

território nacional e é considerado a última fronteira agrícola do planeta (BORLAUG, 2002).

Os limites do Estado são Tocantins ao Norte, Minas Gerais ao Sul e Leste, Mato Grosso ao Oeste, Bahia ao Nordeste, Mato Grosso do Sul ao Sudoeste e o Distrito Federal (Figura.1). Possui relevo bastante variado, com planaltos, chapadas, vales e depressões.

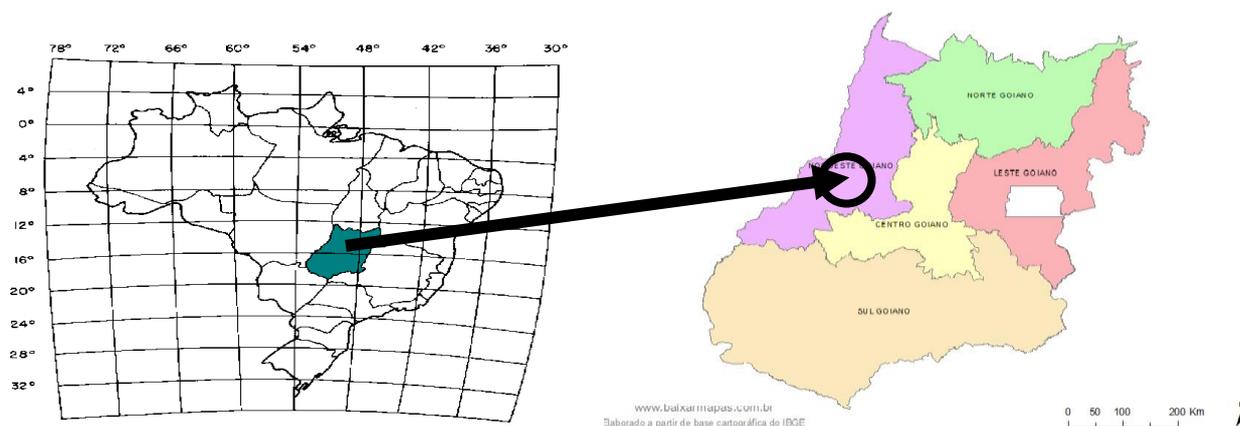


Figura.1-Localização do estado de Goiás no território brasileiro e a Mesoregião Noroeste do estado onde está localizado o município de Araguapaz, Goiás.

O clima do estado é tropical semi-úmido, com temperatura média anual de 23°C. Apesar de haver quatro estações no ano, duas são bem definidas, das chuvas, de outubro a abril, quando as temperaturas são altas, principalmente nas regiões oeste e norte. Entre setembro e abril, as temperaturas podem chegar a até 39°C. As duas estações do ano que se destacam por possuírem características bastante definidas são inverno e verão. No inverno é mais seco e este dura de maio a setembro quando a umidade relativa do ar permanece abaixo de 70%. O verão ocorre de novembro a março quando ocorre o maior índice de pluviosidade, em torno de 80% das chuvas caem durante essa época do ano, segundo Nimer (1972). Os rios que cortam o estado pertencem a três bacias hidrográficas, do São Francisco, do Tocantins e do Rio Paraná. Os principais rios são

Aporé, Paranaíba, Araguaia, Corumbá, Maranhão, São Marcos, Paranã e rio Claro (Disponível em: <http://www.brasilrepublica.com/goias.htm>. Acesso em 15/04/2016).

A vegetação predominante do estado de Goiás é o Cerrado *lato sensu* (OLIVEIRA-FILHO e RATTER, 2002) cujas principais características são os grandes arbustos e as árvores esparsas, de galhos retorcidos e raízes profundas. Na região sul do estado são encontradas pequenas faixas de Mata Atlântica, principalmente nas margens dos rios e nas serras. No que diz respeito a flora, o Estado de Goiás encontra-se destituído da vegetação original em grande parte de seu território. A monocultura e a pecuária ocupam o lugar do Cerrado em grandes extensões. A vegetação de Floresta Estacional Semidecidual aparece localmente, em pequenas áreas descontínuas ao longo do vale do Araguaia. Um estudo concluiu que 55% do Cerrado foram desmatados ou transformados pela ação humana (MACHADO et al., 2004a), o que equivale a uma área de 880.000km², ou seja, quase três vezes a área desmatada na Amazônia brasileira (KLINK, e MACHADO, 2005)

A fauna é rica, sendo encontradas onças pardas (*Puma concolor*), pintada (*Panthera onca*), lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), tatus como o tatu-peba (*Euphractus sexcinctus*), tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*), tatu-canastra (*Priodontes maximus*), entre outros. Veados como o campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*), o veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*) e em algumas localidades o cervo do pantanal (*Blastocerus dichotomus*). Macaco-prego (*Cebus apella*), o macaco-bugio (*Alouatta caraya*) tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduás-mirim (*Tamandua tetradactyla*), pacas (*Cuniculus paca*), capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), antas (*Tapirus terrestres*), emas (*Rhea americana*), seriemas (*Cariama cristata*) algumas são espécies típicas do cerrado e outras estão associadas às margens dos rios. Segundo Klink e Machado, 2005 várias dessas espécies estão ameaçadas de

extinção, devido ao desmatamento, as queimadas, ao uso de agrotóxico e da caça predatória na região (HOFFMANN e MOREIRA, 2002).

O clima, em grande parte do estado pode ser classificado como quente e subúmido com quatro a cinco meses bastante secos. Com características marcantes, 80% das chuvas caem de novembro a março, enquanto que de maio a setembro, a umidade relativa do ar permanece abaixo de 70% conforme Nimer (1972).

1.3. Município de Araguapaz, Goiás

Araguapaz é um município brasileiro do interior do Estado de Goiás, Região Centro-Oeste do país. Está localizado na Microrregião do Rio Vermelho que é um afluente do Rio Araguaia e à Mesoregião Noroeste do Estado. Sua área está compreendida entre os paralelos 14° e 15° de latitude sul e os meridianos 50° e 51° de longitude leste de Greenwich. Ocupa uma extensão de 2.127,65 km², encontra-se no centro da região do Vale do Araguaia (<https://pt.wikipedia.org/wiki/Araguapaz>).

Grande parte da área do município encontra-se no que se denominam Planícies do Araguaia, onde o relevo apresenta uma topografia suavemente ondulada. (<http://www.araguapaz.go.gov.br/informacoes/20-historia-da-cidade.html>)

A rede hidrográfica compreende a mini bacia do Rio do Peixe que é afluente na Bacia do Rio Araguaia. A rede de drenagem apresenta os leitos dos rios pouco cavado devido à forma de relevo (suavemente ondulada). Os principais cursos de água são os rios Peixe e Tesouras e os ribeirões Isabel Paes, Cavalão Queimado, Alagado, Alagadinho, Lagoinha e Roncador, além de vários outros córregos que drenam o município (<https://pt.wikipedia.org/wiki/Araguapaz>).

1.4. Fazenda Moenda da Serra

As poucas informações sobre carrapatos, e circulação de riquetísias nos motivou a investigar melhor essa região. Outro estudo havia sido conduzido nessa área (SZABÓ, et al., 2007), quando foi descrito a ixodofauna da região. Este estudo veio incorporar e complementar dados sobre uma área no cerrado de Goiás.

A Fazenda Moenda da Serra (sede 15° 4' 19.54"S 50° 25' 4.10"O, 336 m de altitude), está situada no município de Araguapaz, em Goiás. Esta fazenda mantém 60% da sua área de reserva permanente, possuiu um relevo mais acidentado com serras que variam de 348 a 471 m. O clima do local é característico da região centro oeste, com verão chuvoso e inverno seco. A principal atividade econômica é a criação comercial de cágados (*Podocnemis expansa*), mas a propriedade possui outros animais como bovinos de corte (nelore), equídeos e cães sem raça definida.

Conforme os funcionários da fazenda os seguintes animais silvestres fazem parte da fauna local: anta (*Tapirus terrestris*), cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*), capivara (*Hydrochaeri hydrochaeris*), ema (*Rhea americana*), catetos (*Pecari tajacu*), queixada (*Tayassu pecari*), macaco-prego (*Cebus apella*), onça-parda (*Felis concolor*), onça-pintada (*Leo onca onca*), tamanduá bandeira (*Tamandua tetradactyla*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*). A presença de alguns destes pôde ser comprovada pela equipe de coleta por contato visual, pela presença de fezes, pegadas e tocas construídas na vegetação.

1.5. Carrapatos

Os carrapatos pertencem à ordem Acari, dentro da classe Arachinida. No mundo estão descritas aproximadamente 867 espécies, divididas em três famílias: Ixodidae (683), Argasidae (183) e Nutallialidae (uma espécie), segundo Horak et al, 2002.

Aixodofauna brasileira possui pelo menos 67 espécies (KRAWCZAK, et al., 2015). O gênero *Amblyomma* inclui aproximadamente 129 espécies de carrapatos (NAVA et al, 2009), dos quais 30% estão no Brasil (ARAGÃO, FONSECA 1961a.; GUIMARÃES et al., 2001).

Carrapatos pertencentes à família ixodidae são chamados de carrapatos duros, normalmente permanecem anexados por dois a treze dias para completar uma refeição de sangue e só se alimentam uma vez durante cada estágio (larval, ninfas e adultos). Possuem predominantemente hábitos de espreita e de ataque (SONENSHINE, et al., 2002). Estes são ectoparasitos obrigatórios e o hábito hematofágico destes os transforma em vetores de vários agentes infecciosos, como protozoários, vírus, bactérias e riquetsias, tanto para humanos como para animais (CUPP, 1991). É interessante mencionar que os carrapatos só perdem para os mosquitos como transmissores de agentes infecciosos para humanos (HOSKINS, CUPP, 1988). Dentre as várias enfermidades infecciosas transmitidas ao homem e aos animais incluem-se a borreliose de Lyme, a febre maculosa, diversas encefalites virais, a erliquiose, a anaplasnose, a babesiose e a teileriose (ESTRADA-PEÑA, JONGEJAN, 1999; JONGEJAN; UILENBERG, 2004.; PAROLA et al., 2005).

No que diz respeito aos Argasídeos, recentemente, o número de espécies aumentou para 198 em todo o mundo, e 85 delas estão presentes na região Neotropical (GUGLIELMONE, et al., 2003; LABRUNA e VENZAL 2009; GUGLIELMONE et al., 2010; NAVA et al., 2010; DANTAS- TORRE et al., 2012; VENZAL et al., 2012). Estudos recentes de morfologia e moleculares realizados na região Neotropical têm sugerido que a riqueza de Argasidae é provavelmente subestimada nesta região (ESTRADA -PEÑA et al., 2003; LABRUNA et al., 2008; VENZAL et al., 2008;

LABRUNA e VENZAL, 2009; NAVA et al., 2010; DANTAS-TORRES et al., 2012; VENZAL et al., 2012).

O gênero *Ornithodoros* pertence à família Argasidae. Estes carrapatos são chamados de carrapatos moles, pois não possuem escudo dorsal, seu hábito alimentar distingue-se dos ixodídeos pois ninfas e adultos se alimentam em seus hospedeiros de 10 a 30 min até no máximo uma hora (FELSENFELD, 1971). Além disso, estes carrapatos exibem em sua maioria um comportamento nidícola, isto é, permanecem no ninho ou toca dos animais os quais parasita (POSPELOVA-SHTROM, 1969), e podem viver se alimentando em roedores por cerca de 20 anos (FELSENFELD, 1971; PAVLOVSKII e SKRYNNIK 1945).

Devido a sua especialização para microhabitats em cavernas, abrigos de animais e seus períodos curtos de alimentação sua presença não é muito notada de tal modo que o seu papel na saúde humana e animal é menos conhecido (HOOGSTRAAL, 1985). No entanto, eles pode causar intoxicação, paralisia, irritação, alergias e sangria, e podem desempenhar papel importante como vetores e reservatórios de patógenos (JONJEGAN e UILENBERG, 2004).

Alguns estudos indicam que o gênero *Ornithodoros* é capaz de se infectar e transmitir vírus do grupo flavivirus a mamíferos (BHAT e GOVERDHAN, 1973; TURELL et al., 2004), bem como outros agentes patogênicos (FELSENFELD, 1971). Devido à sua longa vida útil e alimentações repetidas, eles podem permanecer infectados durante um período de tempo prolongado. Por exemplo, o *Ornithodoros tholozani* transmite *Borrelia persica* (o agente causador da febre recorrente) durante pelo menos 13 anos após uma única exposição (PAVLOVSKII e SKRYNNIK, 1945). O carrapato *O. turicata* foi capaz de transmitir *B. recurrentis* durante pelo menos seis anos e meio (FRANCIS, 1938).

Considerando a importância dos carrapatos o conhecimento disponível globalmente e no Brasil são escassas. De forma geral, as pesquisas se restringem a espécies que parasitam animais domésticos. Esta escassez de informação é proeminente em áreas naturais, levando à lacuna de conhecimentos, quando se trata de carrapatos de animais selvagens (SONENSHINE, 2002).

1.6. Hospedeiros de Carrapatos e Riquétsias

Bactérias do gênero *Rickettsia* são intracelulares obrigatórias, possuem hastes curtas que retêm fucsina básica quando coradas pelo método Gimenez (GIMENEZ, 1964). Devido essa característica, são detectadas no teste de hemolinfa (BURGDORFER, 1970), crescem em associação com células eucarióticas e vivem livres dentro delas, multiplicam por divisão binária dentro da célula, e podem causar doenças em hospedeiros vertebrados e invertebrados (TEYSSEIRE et al., 1995; BURGDORFER et al., 1968).

Os principais vetores destas bactérias são carrapatos, que são também considerados os seus reservatórios (LABRUNA et al., 2009). Alguns membros do gênero *Rickettsia* são reconhecidos como patógenos humanos, outros devem ser considerados como espécies ou estirpes de patogenicidade desconhecida (MERHEJ, et al., 2014), especialmente quando associados com artrópodes capazes de picar humanos (PAROLA, et al., 2005). A transmissão da riquétsia se dá pela picada do carrapato em qualquer uma de suas fases (larva, ninfa e adulto) (DEL FIOLE et al., 2010).

No Brasil, até o ano 2001, a bactéria *Rickettsia rickettsii* (agente etiológico da febre maculosa brasileira) era considerado o único agente patogênico para o homem transmitido por carrapatos. Estudos mais recentes no Brasil detectaram novas espécies de riquétsias em carrapatos, algumas patogênicas ao homem como a Cepa Mata

Atlântica/Cepa Bahia (SPOLIDORIO et al., 2010, SILVA et al., 2011) e outras de patogenicidade desconhecida (LABRUNA, 2009). Neste sentido, os carrapatos de ambientes silvestres vêm assumindo importância cada vez maior em decorrência de descobertas de novas espécies de riquetsias.

Carrapatos parasitam todos os grupos de vertebrados terrestres (LABRUNA, 2004). No caso dos animais domésticos, carrapatos de cães são importantes, não só porque são animais de companhia, mas porque possuem uma distribuição em todo o mundo e seus movimentos são irrestritos, ou seja, tem a facilidade de acesso a vários ambientes. Nesse sentido, os cães poderiam levar carrapatos infectados para uma área preservada, ou trazer carrapatos com patógenos para um estreito contato com o homem. Por exemplo, carrapatos que parasitam cães têm associados à transmissão da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente da Febre das Montanhas Rochosas, aos seres humanos (DEMMA et al., 2005) e Febre Maculosa Brasileira (PINTER e LABRUNA, 2006). Assim, o conhecimento sobre a infestação de carrapatos de cães pode ser uma informação crucial para saúde pública e animal e também, muitas vezes para a conservação da vida selvagem.

Dentre outros animais domésticos, os equídeos também são muito relevantes como sentinelas da circulação de *R. rickettsii* agente no Brasil, da Febre Maculosa Brasileira. Estes animais são hospedeiros primários do vetor *A. sculptum* e ao percorrerem grandes distâncias entram em contato com populações diversas do vetor (LEMOS, et al., 1994; SANGIONI et al., 2005; FERRAZ, 2007) .

O papel de animais selvagens como hospedeiros de carrapatos é muito variável. As aves, por exemplo, são hospedeiras essenciais de vários ectoparasitas, incluindo os carrapatos os quais são artrópodes vetores de muitos patógenos responsáveis por doenças que ocorrem em seres humanos e animais (CUPP, 1991). A grande maioria das

aves no Brasil são infestadas por estágios imaturos (larvas e ninfas) de carrapatos do gênero *Amblyomma* (ARZUA et al, 2003, SCHARF, 2004).

Outros animais, frequentemente infestados por carrapatos são os pequenos mamíferos (NAVA, et al., 2008; GUGLIELMONE, NAVA, 2010) que em alguns casos estão envolvidos na infecção destes vetores com patógenos para humanos como a *Borrelia burgdorferi*, responsável pela doença de Lyme (FONSECA, et al., 2005). No Brasil estes animais são mais frequentemente infestados por larvas e/ou ninfas (MARTINS et al., 2016) e já foi sugerida sua participação na infecção de vetores com riquetsia patogênica ao homem (SZABÓ et al., 2013a). Os pequenos mamíferos têm um provável papel de hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii* para *A. aureolatum* (LABRUNA, 2009). A *R. rickettsii* foi isolada a partir de vários pequenos mamíferos, e alguns, inclusive ratazanas, desenvolvem riquetsemia de suficiente magnitude e duração que infectam carrapatos criados em laboratório (PAROLA et al., 2005).

No conjunto, estas observações científicas recentes alertam para a possibilidade de emergência de novas zoonoses transmitidas por carrapatos, conseqüente as severas alterações de caráter antrópico em ambientes naturais, assim como foi visto com a emergência da doença de Lyme, anaplasnose, erliquiose e babesiose humana nos Estados Unidos e Europa nos últimos 40 anos (OSTFELD, 2009). Desta forma, o estudo de patógenos transmitidos por carrapatos é extremamente importante, seja em ambientes alterados ou em ambientes preservados.

Diante da problemática envolvida e exposta acima, destaca-se aqui que o município de Araguapaz em Goiás foi alvo de pesquisa sobre levantamento de carrapatos (SZABÓ et al., 2007). Neste estudo, além de outras espécies de carrapatos, percebeu-se um elevado número de carrapatos da espécie *A. sculptum* e *Amblyomma parvum*, tanto em ambiente natural preservado, quanto em pastagens, animais

domésticos e seres humanos. Este estudo evidenciou a extensa interface entre áreas naturais e áreas antropizadas rurais, mas as amostragens foram de caráter pontual e sem a pesquisa por patógenos. Sendo assim, pretendeu-se nesse trabalho expandir a anterior com uma avaliação sistemática e sazonal da infestação ambiental por carrapatos em áreas mais preservadas e aquelas mais antropizadas desta região. Além das anteriores, pretendeu-se descrever melhor a ixodofauna incluindo uma avaliação da infestação de aves, pequenos mamíferos e animais domésticos. Por último, diversidade de riquetsias em carrapatos da região foi também pesquisada pela primeira vez assim como a exposição dos animais a estes microorganismos.

2. OBJETIVO GERAL

Identificar as espécies de riquetsias e de carrapatos, sazonalidade destes e exposição de hospedeiros ao vetor e à bactéria na fazenda Moenda da Serra e fazendas adjacentes em Araguapaz, Goiás.

2.1. Objetivos Específicos

- *Identificar carrapatos e suas riquetsias do ambiente, em animais domésticos, pequenos mamíferos e aves silvestres;
- *Determinar a sazonalidade do ciclo de vida de carrapatos na região;
- *Detectar e identificar riquetsias, por Teste de Hemolinfa, e Análise Molecular em carrapatos coletados dos animais e ambiente;
- *Avaliar a exposição dos hospedeiros a riquetsias por sorologia.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O estudo foi conduzido na Fazenda Moenda da Serra e propriedades vizinhas localizadas no Município de Araguapaz (15° 4'19.54"S 50°25'4.10"O, 336 m de altitude), no Estado de Goiás.

A principal atividade comercial da fazenda é a criação de quelônios (tartaruga da Amazônia) para abate. A propriedade possui ainda gado de corte, de leite (em número menor), equídeos, suínos, aves domésticas e cães e gatos. Esta fazenda tem 960 hectares e possui, aproximadamente, 60% da área preservada (Figura 2). A vegetação nativa dominante é cerrado *senso stricto* denso, às vezes formando mosaicos com cerrado aberto, cerrado rupestre e pastagens nativas. O terreno é constituído de serras, e planícies. O clima da região, é característico de região de cerrado, ou seja, verão chuvoso e inverno muito seco.

3.2. Período do estudo

Amostras de carrapatos foram coletadas do ambiente, em animais presentes nas fazendas e humanos em dez campanhas, sendo oito em dois anos e em estações consecutivas (verão, outono, inverno e primavera) (agosto de 2012, março, maio, agosto e outubro de 2013, março, maio, setembro, novembro de 2014 e setembro de 2015).

3.3. Coleta de carrapatos no ambiente

As coletas de carrapato do ambiente foram realizadas para determinar a ixodofauna local e a possível distribuição sazonal de carrapatos. Para a composição da

ixodofauna foram consideradas as coletas ambientais para estudo da sazonalidade e outras aleatórias, além das espécies obtidas dos animais.

3.3.1. Coletas para definir a Dinâmica Sazonal de Carrapatos

Para avaliação da dinâmica sazonal foram consideradas coletas ambientais padronizadas quanto ao local de coleta, esforço de captura e intervalo entre capturas. Para esse fim foram realizadas coletas em quatro estações (verão, outono, inverno, primavera) ao longo de dois anos consecutivos (março de 2013 a novembro de 2014). A cada estação carrapatos foram coletados em três pontos definidos, com fitofisionomias diferentes; Mata de Galeria, Área Antropizada e Cerrado Rupestre. Nestes locais, carrapatos foram coletados com armadilhas gelo seco (CO₂) e arraste de pano conforme já descrito anteriormente (SZABÓ et al., 2007; RAMOS et al., 2014c). Em cada coleta a cada estação foram utilizados 10 armadilhas de CO₂ e realizada uma hora de arraste de flanela em cada fitofisionomia. A localização e caracterização ambiental dos três pontos amostrados para determinação da dinâmica sazonal estão apresentados na Figura 2 e Tabela 1.



Figura. 2. Vista aérea da Fazenda Moenda da Serra, indicando os três pontos utilizados para coleta de carrapatos padronizada no Município de Araguapaz, Goiás, Brasil. Pto-01 Mata de Galeria; Pto-02 Área Antropizada; Pto-03 Cerrado Rupestre. (Fonte Google Earth: acesso em 6/5/2015).

Tabela 1. Localização dos pontos, respectivas altitudes e caracterização dos ambientes dos locais de coleta de carrapatos de vida livre da fazenda Moenda da Serra, Município de Araguapaz, Goiás, 2013-2014.

PONTOS	LOCALIZAÇÃO	ALTITUDE	FITOFISIONOMIA
1	15° 03' 53,1" S 50° 24' 83" W	339 m	Mata de Galeria*
2	15° 04' 24,28 96" S 50° 24' 56,3'	325 m	Área Antropizada**
3	15° 03'42,8" S 50° 24' 49" W	346 m	Cerrado Rupestre***

*Ponto 01- Mata de galeria: Composta por uma faixa estreita de vegetação característica de Floresta Estacional Semidecidual, com muitas espécies perdendo as folhas durante a estação seca, gerando uma camada de folhiço sobre o solo. Essas árvores margeiam e cobrem um pequeno curso d'água que seca por completo no período de estiagem.

** Ponto 02- Área Antropizada: Composta por vegetação alterada, principalmente remanescentes de mata de galeria (ao longo de um pequeno riacho) cercada por pastagem com capim introduzido *Urochloa decumbens*. Área próxima à sede da fazenda, com circulação de animais domésticos, como bovinos, equinos e cães, além de pequenos piquetes para criação de porcos domésticos.

*** Ponto 03- Cerrado Rupestre: Composta predominantemente por afloramentos rochosos e vegetação de cerrado sentido restrito, com estrato lenhoso esparso e grande incidência de radiação solar sobre o solo e a vegetação herbáceo-arbustiva. É circundada por áreas de mata e outras fisionomias de cerrado sentido restrito. Área de acesso difícil por se localizar no topo de um morro (346 m), sem evidências de presença de animais domésticos e circulação de pessoas.

3.3.2. Coletas ambientais aleatórias

Coletas de carrapatos foram realizadas em fevereiro de 2012 maio e outubro de 2013, maio e novembro de 2014. Essas foram realizadas em cinco locais, os quais os moradores indicaram como sendo frequentados por animais selvagens e infestados por carrapatos. Para as coletas, utilizou-se, por conveniência, armadilhas de gelo seco e arraste de flanela com a finalidade de expandir a amostragem de espécies da região. Quatro destes locais (pontos 4, 5, 6 e Fazenda Maranata (Figura 3) eram constituídos pela fitofisionomia Cerradão, o qual se caracteriza por formação florestal com aspectos xeromórficos (resistência à seca), também conhecidos por "Floresta Xeromorfa", tipificado como "uma mata mais rala e fraca", (RIZZINI, 1963). Nesta fitofisionomia caracteriza-se pela presença de espécies que ocorrem no cerrado sentido restrito e também por espécies de mata. O Cerradão apresenta dossel predominantemente contínuo e sua cobertura arbórea que pode oscilar entre 50 a 90%. A altura média do estrato arbóreo varia de 8 a 15 metros, proporcionando condições de luminosidade que favorecem a formação de estratos arbustivos e herbáceos diferenciados (MEIÓ et al., 2003). Um quinto local é constituído de mata de galeria, caracterizada por faixa estreita de vegetação característica de Floresta Estacional Semidecidual, com muitas espécies perdendo as folhas durante a estação seca, gerando uma camada de folhiço sobre o solo.



Figura 3. Vista aérea dos pontos de coleta de carrapatos não padronizadas em ambiente da Fazenda Moenda da Serra e arredores no município de Araguapaz, Goiás, Brasil. (Fonte Google Earth: acesso em 11/05/2016)

3.4. Coletas de carrapatos em humanos

Os carrapatos encontrados nas roupas ou/e fixados aos pesquisadores ao longo do projeto foram coletados com intuito de avaliar o risco local de infestação humana. Distinguiu-se carrapatos fixados de não fixados.

3.5. Coletas de carrapatos em animais domésticos

Carrapatos presentes em cães, equídeos, bovinos e aves domésticas foram coletados nas Fazendas Moenda da Serra, Cabeceira do Alagadinho, Maranhata, e em dois Assentamentos (Figura 4) em todas as campanhas. Para este fim, os animais foram contidos fisicamente e os carrapatos retirados com auxílio de pinças apropriadas. No caso de equídeos e bovinos a coleta se restringiu a uma amostra de carrapatos e nos outros animais a coleta foi total.



Figura 4. Locais de coletas de carrapatos em animais domésticos, no município de Araguapaz, Goiás, no período de 2012 a 2015 (Fonte Google Earth: acesso em 11/05/2016).

3.6. Coletas de carrapatos de aves selvagens

Aves selvagens foram capturadas em quatro das campanhas, ocorrendo duas vezes na estação seca e duas vezes na estação chuvosa (março e agosto de 2013 março setembro de 2014) utilizando-se os mesmos locais da coleta sazonal de carrapatos (pontos 01, 02, e 03). Para tal foram montadas nove redes de neblina de 12 x 2,6 metros, dispostas ao longo de transectos em cada local. As redes foram abertas ao nascer do sol, fechadas por volta de 10:30 da manhã, reabertas novamente no meio da tarde, e fechadas ao final do dia, durante dois dias consecutivos em cada área. As aves capturadas foram cuidadosamente inspecionadas e seus carrapatos coletados, posteriormente foram mensuradas e receberam uma anilha metálica de identificação cedida pelo CEMAVE/ICMBio e soltas ao final dos procedimentos. A identificação das

espécies de aves foi realizada com auxílio de literatura especializada como Ridgely e Tudor, 1989, 1994; Souza, 1998; Sigrist, 2005.

3.7. Coletas de carrapatos de pequenos mamíferos

As coletas de carrapatos em pequenos mamíferos ocorreram conjuntamente com a das aves selvagens e nas mesmas datas. Em cada campanha foram utilizadas 40 armadilhas tipo Sherman, e cinco Tomahawk em cada fitofisionomia (Mata de Galeria, Área Antropizado e Cerrado Rupestre). Nestes locais as armadilhas foram dispostas em transectos lineares com 20 estações de captura equidistantes (10 m entre eles). Cada estação foi composta por duas armadilhas, sendo uma colocada sobre o solo e outra fixada em uma árvore, com alternância entre o tipo de isca usado na armadilha em cada substrato da estação. Como isca, foram utilizadas duas misturas: uma de banana com paçoca de amendoim triturada e outra de sardinha em conserva com fubá de milho. Durante a checagem das armadilhas, que ocorria sempre no início da manhã, as iscas eram repostas. As armadilhas permaneceram armadas durante três noites consecutivas em cada campanha, totalizando um esforço de captura de 1440 armadilhas-noite.

3.8. Coleta e manutenção de carrapatos do gênero *Ornithodoros* sp.

Em uma das campanhas (setembro de 2014) notou-se diversos preás (*Cavia aperea*) nas proximidades das represas dos quelônios. Estes animais utilizavam como refúgio e/ou tocas o muro de pedras que separava as represas. Nesse local e nesta campanha foram instaladas 15 armadilhas do tipo Tomahawk iscadas com pedaços de cenoura e maçã. Devido à exposição ao sol, as armadilhas neste local foram checadas três vezes ao dia. A captura como descrita anteriormente, foi repetida em setembro de 2015 a qual foi desencadeada pela detecção de infestação por *Ornithodoros* nos animais

capturados (*Cavia aperea*) ao redor do lago dos quelônios, esse carrapato foi encontrado também em *Trichomys* capturados no cerrado rupestre.

Considerando que carrapatos do gênero *Ornithodoros* sp. são constituídos por espécies nidícolas, pesquisou-se por carrapatos nas tocas dos preás nos muros de das represas (Figura 6) e no Cerrado rupestre. Para esse fim, nos locais prováveis de infestação; ninhos em fendas e cavidades entre pedras, foram montadas armadilhas de gelo seco (n= 20) além da coleta e peneiramento do solo das cavidades. Estas atividades foram realizadas em duas campanhas (novembro de 2014 e setembro de 2015).

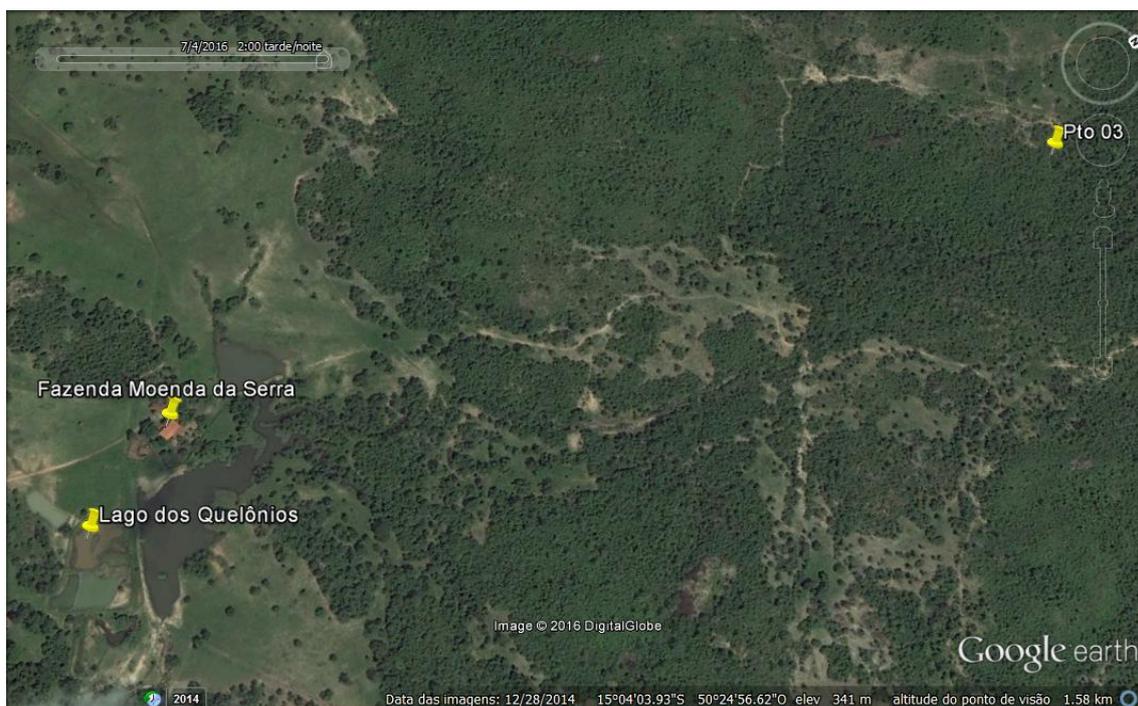


Figura 5. Local de captura de roedores *Cavia aperea* e *Trichomys* sp. com carrapatos do gênero *Ornithodoros* sp.

3.9. Colônia de *Ornithodoros* sp.

Dezesseis larvas ingurgitadas de *Ornithodoros* sp. coletadas em *Trichomys* sp. e em *Cavia aperea* foram mantidas no Laboratório de Ixodologia da Universidade Federal

de Uberlândia em estufa BOD a temperatura de 29°C e com 80% de umidade para realizarem ecdise. Dezoito larvas adicionais foram para o Laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sendo mantidas a 25°C e 80% de umidade. Além dessas larvas, uma ninfa ingurgitada e duas sem ingurgitar, coletadas do ambiente, também foram utilizadas para iniciar uma colônia desse carrapato com o intuito de utilizar os descendentes para caracterização morfológica dessa espécie. Utilizou-se três cobaias (porquinhos da índia) para alimentar esses carrapatos. Esses animais foram mantidos em gaiolas no Laboratório de Ixodologia na Universidade Federal de Uberlândia. As mesmas receberam água e ração à vontade. Em resumo, as cobaias foram contidas manualmente, colocando o carrapato sobre a orelha da cobaia, para recuperação do carrapato esperou-se o tempo necessário para ingurgitamento deste antes de recolhê-lo.

3.10. Armazenamento e Identificação dos carrapatos

Os carrapatos adultos coletados foram armazenados vivos em frascos de acrílico devidamente identificados, e levados para o Laboratório de Ixodologia da Universidade Federal de Uberlândia para identificação. Ninfas e larvas foram armazenadas em frasco contendo álcool 70%. Todos os carrapatos foram identificados conforme chaves dicotômicas, Barros Battesti, et al, (2006) para adultos e Martins et al. (2010) para as ninfas. Larvas foram identificadas quanto ao gênero.

3.11. Pesquisa de riquetsias nos carrapatos

3.11.1. Teste de Hemolinfa

Este teste é um método de triagem que permite identificar carrapatos adultos que estejam infectados por organismos morfológicamente compatíveis com o gênero *Rickettsia* (BURGDORFER, 1970). Todos os carrapatos que chegaram vivos ao laboratório, foram incubados em estufa por 24 horas a 36° C para favorecer a multiplicação das riquetsias. Após esse período, a porção distal de uma das patas dianteiras de cada carrapato foi seccionada com uma tesoura, e uma a duas gotas de hemolinfa instilada sobre lâmina de vidro, limpa e desengordurada. Os carrapatos ainda vivos foram acondicionados individualmente em microtubos (Eppendorf®) de 1,5 ml e armazenados em freezer a – 80° C para manter vivas possíveis riquetsias infectantes para tentativa de isolamento em cultivo celular. As lâminas com a hemolinfa foram fixadas a temperatura ambiente por 24 horas, coradas pelo método de Giménez (1964) e examinadas ao microscópio óptico (1000x) em óleo de imersão para pesquisa de riquetsias.

3.11.2. Extração de DNA para pesquisa de riquetsias nos carrapatos

O DNA dos carrapatos foi extraído seguindo a técnica do isotiocianato de guanidina–fenol (GT) segundo uma adaptação do protocolo descrito por Chomekzynski (1993), e adotado por Sangioni et al. (2005) para pesquisa de riquetsias em carrapatos. Cada carrapato foi triturado em microtubo de 1,5 ml com auxílio de uma agulha 40x12 ou um micropistilo. A cada tubo foram adicionados 150 µl de tampão TE pH 8,0 (10 mM TRIS HCL pH 8,0; 1 mM) seguindo-se de homogeneização no vórtex e centrifugação (Eppendorf® e Centrifatuge 5415D) por seis segundos. Acrescentou 450 µl de GT (5,0 ml de TRIS HCL pH 7,5; 10 ml de EDTA 0,5 M, pH 8,0; 60g de

isotiocianato de guanidina) e esta mistura foi homogeneizada no vórtex a cada dois minutos e meio até o tempo total de 10 minutos. Foram acrescentados 10 µl de clorofórmio e os tubos centrifugados a 12.000 rpm, durante cinco minutos. Após a retirada da fase aquosa superior, o tudo com o carrapato foi descartado e o líquido recolhido foi colocado em um novo microtubo ao qual foi adicionado 400 µl de propanol e colocado em freezer (-20° C) para descanso mínimo de duas horas. Após o repouso a amostra foi centrifugada (Eppendorf® Centrifuge 5804R) refrigerada a 4° C a 12.000 rpm, durante 15 minutos, o sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspensionado em 800 µl de etanol 70%, centrifugado refrigerado (4°C) 12.000 rpm, durante 15 minutos. O líquido foi descartado e o sedimento final ressuspensionado em 40 µl de TE pH 8,0, colocado em banho-maria a 56° C durante 15 minutos, para facilitar a dissolução do DNA previamente precipitado. O DNA extraído foi congelado (-20°C) até sua utilização na reação de cadeia pela polimerase (PCR).

3.11.3. Reação em cadeia da polimerase (PCR) para pesquisa de riquetsias e *Borrelia* sp. nos carrapatos

Todas as amostras extraídas foram inicialmente submetidas à PCR com os primers 16S-F e 16S-R (MANGOLD et al., 1998) que amplificam um fragmento de 460 pares de base do gene 16S de carrapatos. Confirmada a presença de DNA nas amostras, uma bateria de PCRs foi conduzida com primers que amplificam um fragmento de 401 pares de bases do gene citrato sintase do gênero *Rickettsia*. Havendo amplificação deste gene, outros primers (Tabela 2) para genes de riquetsias do grupo da febre maculosa (OmpA1, OmpA2 e OmpB) foram empregados conforme necessário. Utilizou-se como controle positivo nas reações DNA de *Rickettsia parkeri* gentilmente cedido por Marcelo Bahia Labruna, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da

Universidade de São Paulo (FMVZ – USP). Para cada reação de PCR foi acrescentado 2 µl de amostra de DNA extraídos e 23 µl de reagentes da reação de PCR, de acordo com o gene utilizado. Ao acréscimo do DNA, cada reação de PCR foi levada ao aparelho de termociclador (Applied Biosystems) para ser processada segundo o protocolo específico para cada gene.

Tabela 2. Primers designados para caracterização molecular de *Rickettsia* em carrapatos

Gene	Primer	Sequência de Nucleotídeos	Nº de pares de bases	Referências
16S	16S-F	CCG GTC TGA ACT CAG ATC AAG T	460	Mangold <i>et al.</i> , 1998
	16-R	GCT CAA TGA TTT TTT AAA TTG CTG T		
CS2	CS2-78	GCA AGT ATC GGT GAG GAT GTA AT	401	Labruna <i>et al.</i> , 2004.
	CS2-323	GCT TCC TTA AAA TTC AAT AAA TCA GGA T		
OmpA 1	190.701	TCCGTTAATGGCAGCATCT	632	Eremeeva <i>et al.</i> 2006
	Rr 190.70p	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA		
OmpA 2 (nested)	Rr 190.70p	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA	532	Regnery <i>et al.</i> 1991
	Rr 190.602n	AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT		
OmpB	120-M59	CCGCAGGGTTGGTAACTGC	862	Roux and Raoult 2000
	120-807	CCTTTTAGATTACCGCCTAA		

Nove "pools" de larvas, contendo 30 larvas em cada pool, foram enviados para empresa que realiza sequenciamento com primers específicos para DNA de carrapatos (primers 16 S-F e 16S-R), descritos anteriormente.

Três espécimes de carrapatos do gênero *Ornithodoros* sp. foram testados para detecção de *Borrelia* sp. Para tal, a técnica de Nested-Pcr foi realizada conforme descrito por Barbour *et al.*, (1996). Foram utilizados, na primeira reação, os primers FlaLL (5'-ACA TAT TCA GAT GCA GAC GGT-3') e FLA RL (5'-GCA ATC GCC ATT GCA TGT-3') e para a segunda reação, os primers FLA RS (5'-CTT TGA TCA

CTT ATC ATT CTA ATA GC-3'). A primeira reação amplifica um fragmento de 665 pares de base, enquanto que a segunda reação amplifica 354-pb de gene FLA.

3.11.4. Análise dos produtos amplificados

Os produtos amplificados da reação de PCR foram visualizados em aparelho de eletroforese em gel de agarose a 1,2% (50 ml de TBE 0,5%, e 0,6g de agarose UltraPure™ Agarose Invitrogen™, 1µl de Brometo de Etídio), em cuba horizontal e tampão TBE 0,5x (0,045 M Tris-borato; 0,001 M EDTA pH 8,0) submetida a voltagem 100 V durante 30 minutos. A revelação ocorreu em solução de brometo de etídio 1µl em 50 ml de TBE e, a visualização das bandas em transiluminador ultravioleta.

3.11.5. Sequenciamento

Amostras de produtos amplificados na PCR foram submetidas a sequenciamento para identificação das riquetsias. Para tal, as amostras foram purificadas com Kit comercial, Gene Jet PCR Purification Kit, #K0701 Lot 00172416 Thermo Scientific Molecular Biology. Efetuada a purificação, precipitação e secagem, as amostras foram enviadas para o Laboratório ACTGene Análises Moleculares, a qual realiza sequenciamentos de DNA utilizando o equipamento ABI-Prism 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

3.11.6. Tentativa de Isolamento e detecção das riquetsias e Flavivírus em células Vero

A tentativa de isolamento de riquetsias e vírus foi realizado em células Vero. Para esse fim amostras de carrapatos adultos positivos ou negativos no teste de hemolinfa mantidas a -80°C foram descongeladas e tratadas com 500 μL de álcool-iodado durante 15 minutos, para desinfecção. Em seguida foram lavadas com PBS (500 μL) (esse procedimento foi repetido por 2 vezes). Os carrapatos foram divididos em três fragmentos com uma lâmina estéril e descartável. Um fragmento menor foi submetido à extração de DNA e PCRs para bactérias, conforme descrito anteriormente. Os outros dois fragmentos maiores foram submetidos ao procedimento discriminado a seguir:

Células da linhagem Vero foram cultivadas em placas de cultura celular de 24 poços em meio DMEM contendo soro fetal bovino (SFB) 10%, penicilina 100 U/ml, estreptomicina 0,1 mg/ml, anfotericina B 2,5 $\mu\text{g/ml}$ a 37°C e CO_2 5%. Estas placas foram inoculadas com a suspensão do macerado de carrapatos, utilizando o meio descrito acima, porém com SFB 2%. A placa foi incubada a 37°C por sete dias e as células observadas em microscópio óptico para possível observação de efeito citopático (ECP) causado por flavivírus. Para detecção de riquetsias, uma alíquota do meio de cultura foi centrifugada e o sedimento depositado sobre uma lâmina de vidro para microscopia, corado pela técnica de Gimenez (1964) e observado em microscópio óptico.

3.11.7. Exposição de cães, equinos e pequenos mamíferos a riquetsias

A exposição de animais a riquetsias foi avaliada pela sororeatividade para cinco espécies de riquetsias. Para esse fim amostras de sangue foram coletadas sem

anticoagulante, o soro separado após a retração do coágulo e armazenado a -20°C . Para todos os animais utilizou-se seringas e agulhas estéreis. Em equinos as amostras de sangue foram colhidas por punção na veia jugular, em cães na veia cefálica e em pequenos mamíferos na veia caudal ou intra-cardíaca. No Laboratório de Ixodologia, os soros foram descongelados e as amostras processadas pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando antígenos brutos isolados de cinco espécies de riquetsias brasileiras (*R. rickettsii*, *R. belii*, *R. amblyommii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*) gentilmente cedidas pelo Prof. Marcelo Bahia Labruna, FMVZ - USP. Para a sorologia, uma alíquota de soro foi diluída com PBS (0,1 M, pH 7,2) a uma diluição inicial de 1/64 e depositada sobre lâminas contendo os antígenos. Após incubação (37°C por 30 minutos), as lâminas foram lavadas com PBS, foram mantidas em cuba durante 20 minutos na mesma solução e após essas lâminas ficaram em repouso até sua secagem total. A cada lâmina foi adicionado o conjugado específico nas seguintes diluições: 1/80 anti-ratos, 1/200 anti-cães e anti-equinos, 1/400 anti-marsupiais, 1/800 anti-capivara. Seguiu-se uma nova incubação e lavagem, com a secagem feita em câmara escura. Após completamente secas, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada e lamínula para posterior leitura em microscópio equipado com luz ultravioleta (Olympus BX60, Japan) com objetiva de 40X.

Em cada lâmina utilizou soro sabidamente negativo (controle negativo) e outro de animal confirmado positivo (controle positivo). Foram considerados animais reagentes aqueles com marcação específica em diluição de 1:64 para qualquer uma das cinco riquetsias. Os soros dos animais positivos foram submetidos novamente à RIFI em diluições crescentes para determinar a maior diluição ainda reagente.

3.12. Autorizações

A captura e manuseio de animais selvagens foi autorizada pelo Ministério do Meio Ambiente-MMA-Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade-ICMBio, Nº 36413-1. Os protocolos de captura e manuseio dos animais foi aprovado pelo Comissão de Ética na Utilização de Animais da Universidade Federal de Uberlândia, análise final 03713 (em anexo).

4. RESULTADOS

4.1. Total de carrapatos coletados

Foram coletados de ambiente, dos animais, e humanos, um total de 3417 carrapatos de dez espécies e quatro gêneros diferentes (Tabela 3). *Amblyomma sculptum* foi a espécie mais frequente com 2682 indivíduos em ambiente, animais e humanos, (78,5% do total de carrapatos), seguido por carrapatos de animais, o carrapato do complexo *Rhipicephalus sanguineus* com 287 (8,39%), *Dermacentor nitens* com 132 (3,86%), uma espécie ainda não descrita do gênero *Ornithodoros* com 121 (3,58%), *Amblyomma ovale* com 32 (0,93%), *Amblyomma parvum* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* com 29 cada (0,84%), *Amblyomma rotundatum* com 13 (0,38%), *Amblyomma naponense* com 04 (0,11%), o *Amblyomma nodosum* com 02 (0,05%) e larvas não identificadas do gênero *Amblyomma* com 90 (2,63%). Neste último caso cada agregado de larvas foi considerado uma unidade.

Tabela. 3. Total de carrapatos coletados em ambiente, animais e humanos nas Fazendas Moenda da Serra, Maranata, Cabeceira do Alagadinho, e em dois assentamentos adjacentes a esses locais, no município de Araguapaz, Goiás, 2012 a 2015.

Coleta	<i>Amblyomma</i> sp.	<i>A. nodosum</i>	<i>A. sculptum</i>	<i>A. parvum</i>		<i>A. naponense</i>		<i>A. rotundatum</i>		<i>A. ovale</i>		<i>R. sanguineus</i>		<i>R. microplus</i>		<i>D. nitens</i>		<i>Ornithodoros</i> sp.		Total de carrapatos
	L	N	N	A	N	A	N	A	N	A	A	N	A	N	A	N	A	L	N	
Ambiente	34 Agregados*	0	666	1628	1	2	2	2	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	3	2343
Aves silvestres	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
Roedores silvestres	3	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	118	124
Lagarto	19	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22
Cobra	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
Quati	0	0	16	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	17
Cães	34	0	277	0	4	15	0	0	0	0	28	11	276	0	1	0	0	0	0	646
Bovinos	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	23	0	0	0	0	26
Equinos	0	0	1	63	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5	127	0	0	198
Gato	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Galinha'angola	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Humanos	0	0	17	6	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25
Total/Espécie	34 Agregados* 56larvas	2	983	1699	8	19	2	2	7	6	32	11	276	3	26	5	127	118	3	3417

L-Larvas; N-Ninfas; A-Adultos; **Cada agregado de larva foi considerado uma unidade sendo constituído de dezenas a centenas de larvas correspondente a progênes de uma fêmea.

4.2. Carrapatos no ambiente

Todas as coletas ambientais (padronizadas e aleatórias) resultaram em um total de 2320 carrapatos (Tabela 4), destes 1628 (70,2%) eram adultos de *A. sculptum* (614 machos 615 fêmeas), 13 (0,56%) de *A. parvum* (8 machos e 5 fêmeas), três adultos (0,12%), de *A. ovale* (um macho e duas fêmeas), duas fêmeas de *A. naponense* (0,08%), e duas fêmeas de *A. rotundatum* (0,08%) (Figura 8). Das 672 ninfas coletadas, 666

(99,1%) eram *A. sculptum*, três (0,44%) *Ornithodoros* sp, duas (0,29%) de *A. naponense* e uma (0,14%) de *A. parvum* (Figura 9). Coletou-se ainda 34 agregados de larvas *Amblyomma* sp. cada agregado considerado uma unidade.

Considerando apenas as coletas padronizadas nas três fitofisionomias observou-se que a mata de galeria foi responsável pela maior diversidade com cinco espécies e o maior número de carrapatos com um total de 1070 (68,2%), seguido da área antropizada 278 (25,9%) e por último o campo rupestre 221 (14,1%) (Tabela 4 e Figura 7). Três espécies foram obtidas nas coletas aleatórias com ampla prevalência de *A. sculptum* (97,6% dos carrapatos destas coletas).

Tabela.4- Número bruto de carrapatos de cada espécie coletados em vida livre em diversos pontos em Araguapaz, Goiás, de 2012 a 2015.

Espécies de carrapatos	Fitofisionomia			
	Mata de Galeria*	Área Antropizada*	Campo Rupestre*	Coletas Aleatórias
<i>Amblyomma</i> sp.	4L**	8L	5L	10L
<i>A. sculptum</i>	881A /174N	123A/138N	84A /128N	311A /256N
<i>A. parvum</i>	5A	5A	3A	1A /1N
<i>A. ovale</i>	2A	00	00	00
<i>A. naponense</i>	1A /2N	2N	00	1A /1N
<i>A. rotundatum</i>	1A	00	1A	00
Total	4L / 890A / 176N	8L /130A / 140N	5L/ 128N	88A / 10L/ 313A / 258N

L- Larvas; A- Adultos; N- Ninfas; *Coletas padronizadas; ** cada agregado constituído por dezenas a centenas de larvas foi considerado uma unidade

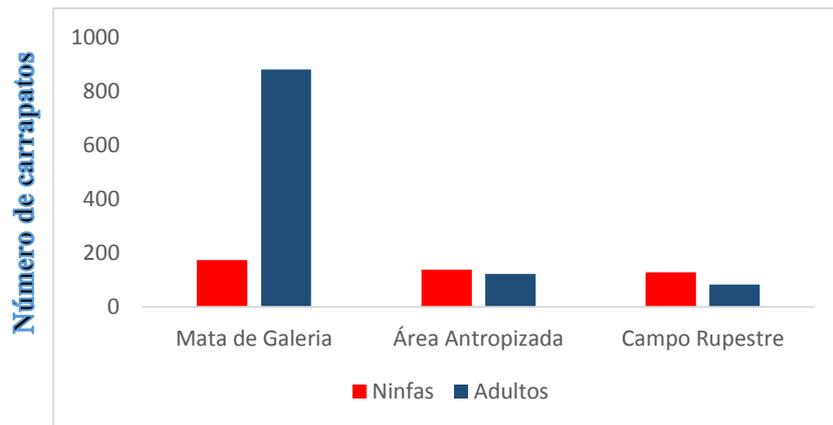


Figura 7. Número bruto de carrapatos (adultos e ninfas) resultantes as coletas padronizadas em três áreas com diferentes fitofisionomias em Araguapaz, Goiás em 2013 e 2014.

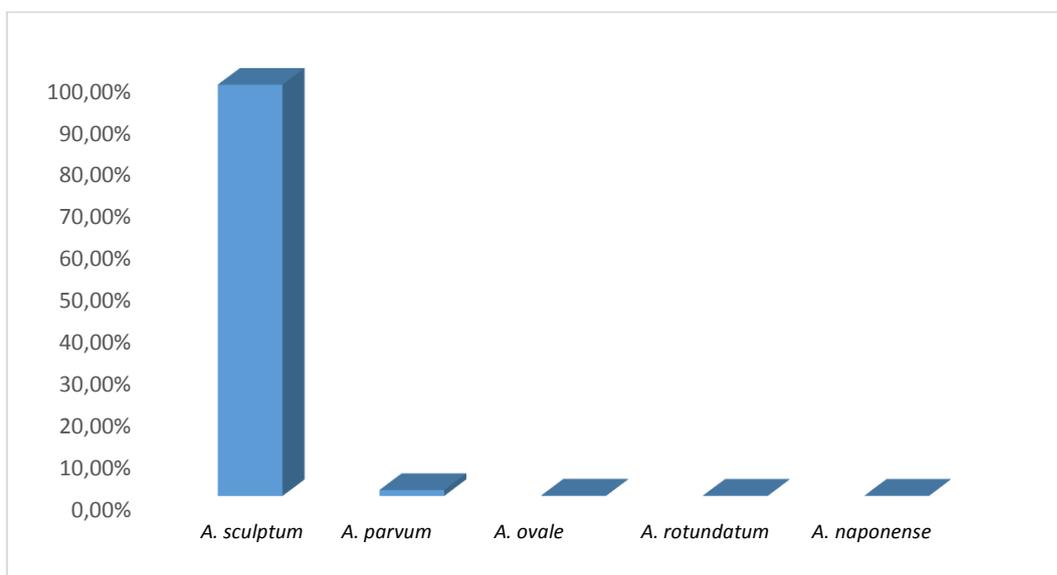


Figura 8. Porcentagens de diferentes espécies adultas de carrapatos coletados de ambiente em Araguapaz-GO, 2012-2015.

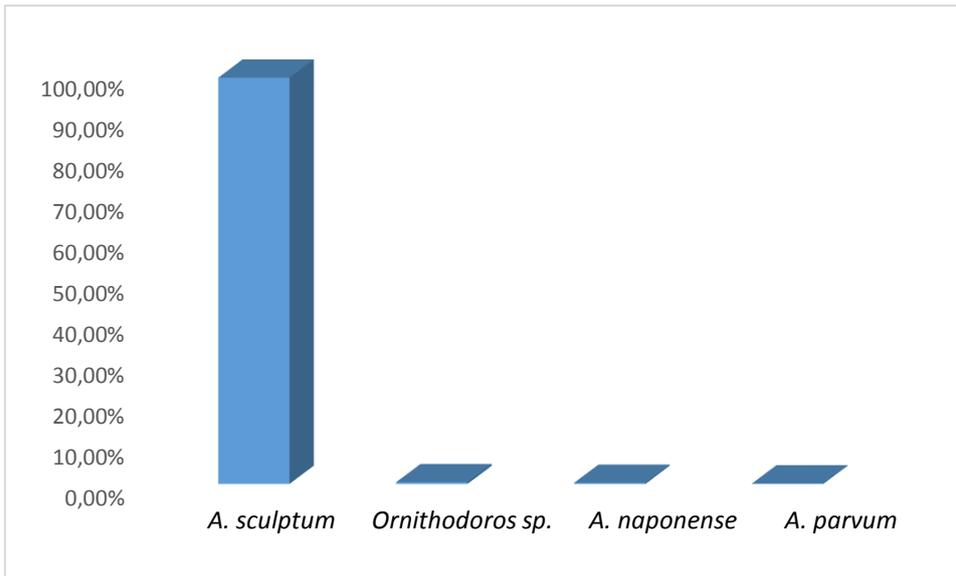


Figura 9. Porcentagens de diferentes espécies de ninfas de carrapatos coletados de ambiente em Araguapaz-GO, 2012-2015.

Com o estudo realizado, pôde-se inferir a sazonalidade apenas de *A. sculptum*, espécie mais abundante e com coleta em todas as expedições realizadas. Foi observado que adultos ocorrem o ano todo, enquanto as ninfas no outono, primavera e inverno (Figura 10). Os agregados de larvas de *Amblyomma* sp. (alguns *A. sculptum*, comprovados por PCR, descrito à frente) ocorreram no outono e inverno (Figura 11).

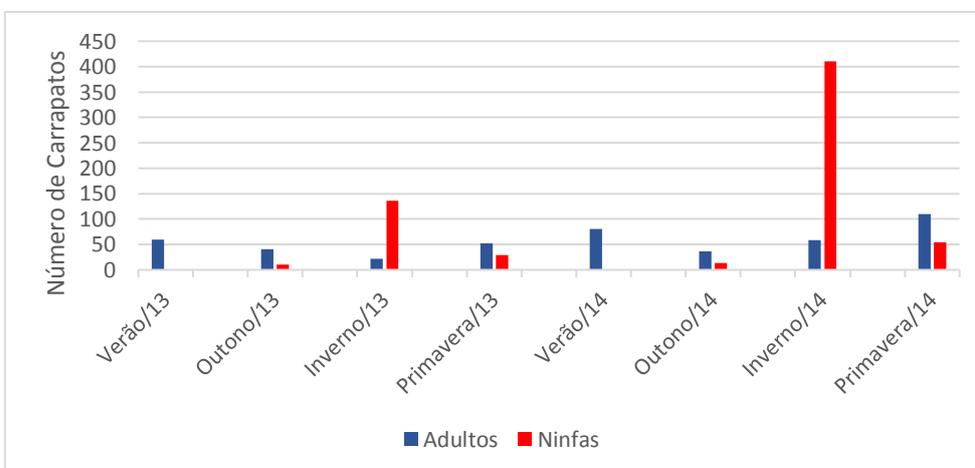


Figura.10. Dinâmica sazonal de adultos e ninfas de carrapatos coletados do ambiente em três pontos na Fazenda Moenda da Serra em Araguapaz-GO, 2013-2014.

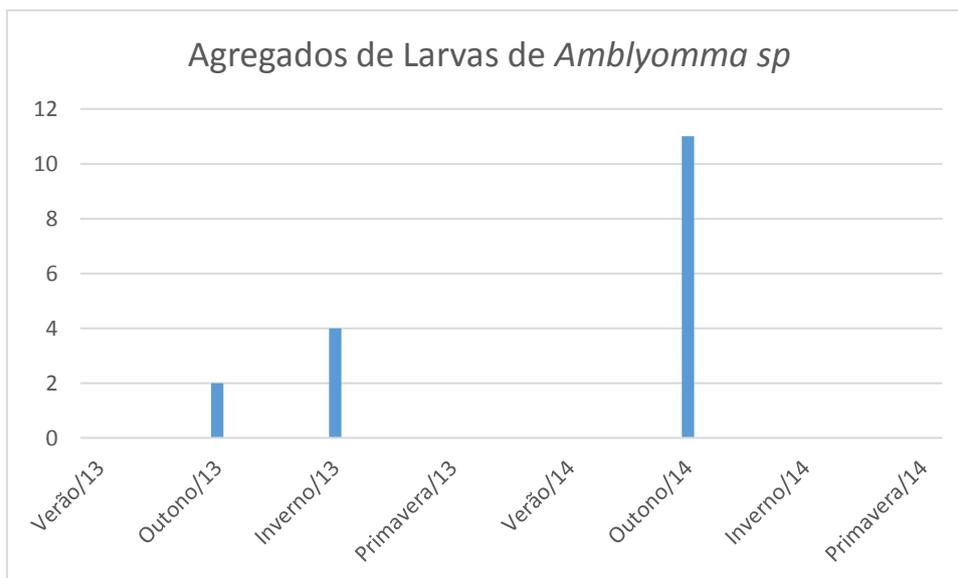


Figura 11. Dinâmica sazonal de larvas de carrapatos coletados do ambiente em três pontos na Fazenda Moenda da Serra em Araguapaz, Goiás, 2013-2014.

4.3. Coleta em Animais

4.3.1. Carrapatos em animais domésticos

Cada animal doméstico foi vistoriado uma única vez em cada campanha, mas muitos foram examinados repetidamente ao longo das campanhas conforme a disponibilidade. O número total de carrapatos por espécie de hospedeiro e de carrapatos está apresentado na Tabela 5.

Tabela 5. Número de animais e vistorias de cães, bovinos e equinos e número de carrapatos parasitando estes hospedeiros em Araguapaz, Goiás 2012-2015.

Carrapatos	Nº Cães (35)	Nº Bovinos (5)	Nº Equinos (40)
	Nº vistorias (61)	Nº vistorias (9)	Nº vistorias (56)
<i>Amblyomma</i> sp.	34L	-	-
<i>A.ovale</i>	28A	-	-
<i>A.parvum</i>	15A/4N	-	-
<i>A.sculptum</i>	277N	2A/1N	63A/1N
<i>D.nitens</i>	-	-	127A/2N
<i>R.microplus</i>	1A	23A/3N	2
<i>R. sanguineus</i>	276A/11N	-	-

No total de 61 avaliações em 35 cães, em 33 havia infestação de carrapatos (prevalência de infestação de 94,3%, intensidade média de infestação de 19,6 carrapatos).

Dentre os 276 adultos de *Rhipicephalus sanguineus* encontrados, 163 eram machos, 113 fêmeas e onze ninfas, estas últimas estavam ingurgitadas. Dos 15 adultos de *A. parvum*, oito eram fêmeas e sete machos. Ainda em cães das 277 ninfas de *A. sculptum*, 193 estavam semi-ingurgitadas.

Todos os bovinos vistoriados estavam infestados (prevalência de 100%). Como não foram coletados todos os carrapatos dos animais a intensidade média de infestação não foi calculada. Dos 23 *R. microplus* coletados neste hospedeiro, 19 eram fêmeas e 4 machos.

Carrapatos foram encontrados em 36 dos 40 equídeos vistoriados (prevalência de infestação de 90%). Como não foram coletados todos os carrapatos dos cavalos

infestados a intensidade média de infestação não foi calculada. Dos 63 adultos de *A. sculptum* coletados, 36 eram machos e 27 fêmeas, dos 127 carrapatos da espécie *D. nitens*, 100 machos e 27 fêmeas. Todos os adultos de *R. microplus* eram fêmeas.

4.3.2. Carrapatos em aves silvestres

Foram capturadas, no total, 44 aves de 26 espécies e 14 famílias (Emberizidae, Parulidae, Tyrannidae, Alcedinidae, Furnariidae, Galbulidae, Thraupidae, Dendrocolaptidae, Columbidae, Trochilidae, Momotidae, Turdidae, Picidae, Thamnophilidae). Das 44 aves examinadas, apenas três estavam infestadas com um total de quatro carrapatos: duas ninfas ingurgitadas de *A. nodosum* (sofreram muda para adultos no laboratório) em *Snallaxis scutata*, e uma ninfa de *A. sculptum* em cada um de dois indivíduos da espécie *Poecilatriccus latirostris*. Os parâmetros de infestação estão na Tabela 6.

Tabela 6. Parâmetros de infestação por carrapatos em espécies de aves silvestres capturadas na Fazenda Moenda da Serra, Araguapaz, Goiás de 2013 a 2104.

Famílias	Espécies	Total examinados	Total infestados	Espécies de carrapatos		Total ticks	Intensidade média	Prevalência (%)	Abundância Média
				<i>A. sculptum</i> (N)	<i>A. nodosum</i> (N)				
Emberizidae	<i>Arremon taciturnus</i>	5	0	0	0	0	0	0	0
Parulidae	<i>Basileuterus flaveolus</i>	3	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Basileuterus hypoleucus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Capsiempis flaveola</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Casiornis rufus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Lathrotriccus eulerei</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
Tyrannidae	<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Myiarchus ferox</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Poecilotriccus latirostris</i>	2	2	2	0	2	1	100	1
	<i>Chloroceryle americana</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
Alcedinidae	<i>Chloroceryle inda</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Furnarius rufus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
Galbulidae	<i>Galbula ruficauda</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Lanio penicillatus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
Dendrocolaptidae	<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
Columbidae	<i>Leptotila verreauxi</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Momotus momota</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
Momotidae	<i>Monasa nigrifrons</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
Trochilidae	<i>Phetornis pretrei</i>	3	0	0	0	0	0	0	0
Thraupidae	<i>Saltator maximus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Saltator similis</i>	1	1	0	1	1	1	100	1
Furnariidae	<i>Synallaxis scutata</i>	2	1	0	2	2	2	50	1
Thamnophilidae	<i>Thamnophilus pelzelni</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
Turdidae	<i>Turdus leucomelas</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
Picidae	<i>Veniliornis passerinus</i>	2	0	0	0	0	0	0	0
14	26	44	4	2	2	4	1.25	9,090	11,380

Intensidade média-Número total de ticks/número de hospedeiros infestados; **Prevalência**- Número de hospedeiros infestados/Número de hospedeiros vistoriados; **Abundância**- Número total de carrapatos/Número de hospedeiros vistoriados

4.3.3. Carrapatos em roedores silvestres

Foram capturados no total 50 pequenos mamíferos de oito gêneros, 35 roedores e 15 marsupiais. As seguintes espécies/gêneros foram capturados: um *Calomys* sp. dois *Rhipidomys* sp., 14 *Thrichomys* sp. três *Hylaeamys* sp. 13 *Cavia aperea*, nove *Gracilinanus* sp. dois *Monodelphis domestica*, dois *Didelphis albiventris* e dois *Caluromys* sp. Dois *Gracilinanus* sp. estavam infestados com três larvas de *Amblyomma* sp. e duas ninfas de *A. parvum*, oito *Thrichomys* sp. estavam infestados com uma ninfa de *A. parvum* e 83 larvas de *Ornithodoros* sp. quatro *Cavia aperea* infestadas com 35

larvas de *Ornithodoros* sp. A intensidade média, a abundância média e a prevalência de infestação estão apresentados na Tabela 7.

Tabela.7. Parâmetros de infestações de pequenos mamíferos capturados em Araguapaz, Goiás no período de 2013 e 2014.

Gêneros/Espécies de Pequenos Mamíferos	Nº examinados/ Nº infestados	Prevalência (%)	Intensidade média	Abundância média	Espécies de carrapatos			Total
					<i>Amblyomma</i> sp (L)	<i>A. parvum</i> (N)	<i>Ornithodoros</i> sp (L)	
<i>Rhipidomys</i> sp.	02/02	100	2.5	2.5	3	2	0	5
<i>Calomys</i> sp.	01/0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thrichomys</i> sp.	14/8	57.14	10.5	6	0	1	83	84
<i>Hilaeamys</i> sp.	3/0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Cavia aperea</i>	13/4	30.77	8.75	2.69	0	0	35	35
<i>Gracilinanus agilis</i>	9/0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Monodelphis domestica</i>	2/0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Didelphis albiventris</i>	2/0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Caluromys</i> sp.	2/0	0	0	0	0	0	0	0
Total	48/14	29.2	8.85	2.6	3	3	118	124

L-larva; N-ninfa; **Intensidade média**-Número total de ticks/número de hospedeiros infestados; **Prevalência**- Número de hospedeiros infestados/Número de hospedeiros vistoriados; **Abundância**- Número total da carrapatos/Número de hospedeiros vistoriados.

4.4. *Ornithodoros* sp. uma nova espécie de argasídeo (Acari: Argasidae)

A taxonomia de argasídeos Neotropicais é ainda em parte desconhecida e motivo de debates. Exemplares das larvas do gênero *Ornithodoros* sp. encontrados parasitando *Thrichomys* e *C. aperea* foram enviados para o especialista em argasídeos, José Manuel Venzal do Laboratorio de Vectores y Enfermedades transmitidas Facultad de Veterinaria Universidad de la República, Salto, Uruguai. Análise molecular do gene 16 S inferiu uma divergência de 13% (340/393-pb, 87% de semelhança) com *Ornithodoros guaporensis* que é a espécie mais próxima morfológicamente. Esta

diferença molecular é corroborada também porque o carrapato do gênero *Ornithodoros* sp encontrado nesse estudo

possui uma morfologia que difere de *O. guaporensis*, acima citado, pois apresenta um hipostômio mais curto e uma cerda pósterio lateral a menos. Esses exames preliminares demonstraram ser uma espécie nova, porém próxima à espécies de um grupo taxonômico em descrição pelos autores. Com esta informação uma expedição foi realizada em setembro de 2015 especificamente para coletas adicionais e procura por ninfas e adultos que, no caso de argasídeos, em sua maioria nidícolas, são encontrados nas tocas dos hospedeiros (SONENSHINE, 1993). Nesta expedição contamos com a colaboração de um especialista em argasídeos, o Msc. Sebastián Alejandro Muñoz Leal, Doutorando no programa de Epidemiologia Experimental Aplicada as Zoonoses, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Após procura nos substratos da toca dos roedores localizou-se três ninfas. No laboratório, com larvas ingurgitadas nos roedores e as ninfas iniciou-se uma colônia para se obter todas as fases evolutivas até o adulto e permitir a descrição da espécie. Para esse fim cobaias (porquinhos da índia) sem contato anterior com carrapatos foram usadas como hospedeiros. A alimentação de cada carrapato variou de 30 minutos a uma hora e dez minutos. O intervalo da refeição sanguínea foi mais reduzido quando se aumentou a temperatura do ambiente para 29,5°C. Esse aumento de temperatura foi realizado, quando uma luz foi incidida sobre o animal. Com as alimentações e as ecdises realizadas, observou-se até o momento cinco estádios ninfais e obteve-se cinco adultos (3 machos e 2 fêmeas) já colocadas para copular. Em suma, três informações interessantes já foram observadas: 1- Ninfa N1 muda para N2 sem se alimentar; 2- Ninfas passam por cinco estágios até chegarem em adultos; 3- temperaturas mais elevadas auxiliam na alimentação desse carrapato. Alguns procedimentos estão em

andamento assim como a caracterização de uma *Rickettsia* associada a esta nova espécie de carrapato (descrito adiante).

4.5. Capturas fortuitas de carrapatos

Carrapatos foram coletados em oportunidades não planejadas, fortuitamente, fornecendo dados adicionais sobre infestações na região estudada. Três lagartos (*Ameiva ameiva*) foram capturados acidentalmente nas armadilhas de roedores. Dois destes animais estavam infestados com seis ninfas de *A. rotundatum* e 19 larvas de *Amblyomma* sp. Em uma das duas cascavéis (*Crotalus durissus*) mortas pelo caseiro da fazenda foram encontradas quatro fêmeas e uma ninfa de *A. rotundatum*. Na inspeção de 30 galinhas d'angola de uma pequena propriedade, uma estava infestada com duas ninfas de *A. sculptum*. Em um quati atropelado perto da fazenda encontramos 16 ninfas de *A. sculptum* e um macho de *A. ovale*. Uma ninfa ingurgitada de *A. sculptum* foi encontrada parasitando um gato doméstico. No período do trabalho, 25 carrapatos se fixaram sobre os pesquisadores: 17 ninfas e seis adultos de *A. sculptum* e dois adultos de *A. parvum*.

4.6. Teste de Hemolinfa

A hemolinfa de 598 carrapatos adultos coletados, do ambiente e de animais domésticos, foi avaliada quanto á presença de *Rickettsia*. Dentre estes, apenas uma fêmea de *A. ovale* coletada de um cão apresentou na hemolinfa bastonetes com características da bactéria.

4.7. Isolamento de *Rickettsia* e Flavivírus

Isolamento de *Rickettsia* e Flavivírus em células Vero foi tentada em seis carrapatos adultos (01 *R. sanguineus*; 01 *A. ovale* e 04 *A. sculptum*). Nenhuma tentativa logrou êxito, devido contaminação do material utilizado.

4.8. Identificação molecular de DNA de *Rickettsia* em carrapatos

O DNA para caracterização molecular de *Rickettsia* foi extraído com sucesso de 339 carrapatos no total. Destes, 60 amostras eram de animais domésticos (52 adultos e um pool de quatro ninfas de *R. sanguineus*, um adulto de *A. ovale*, quatro adultos de *A. parvum* de cães e dois *A. sculptum* de equinos). Dos animais silvestres, um adultos e duas ninfas de *A. rotundatum*. Do ambiente, 276 carrapatos, sendo, 46 pools de três a dez (adultos) ou 10 a 30 (ninfas e larvas, respectivamente), dos 230 restantes (217 adultos e 15 ninfas) DNA foi extraído individualmente. A prevalência de carrapatos com DNA com riquetsias foi de (9/339) 2,65%. As amostras de carrapatos por local (fitofisionomia) ou hospedeiro e espécies identificadas estão apresentadas nas Tabelas 8 e 9.

Uma amostra de DNA de *Ornithodoros* sp. de *Cavia aperea* foi positiva por PCR para o gene *gltA*. A análise da sequência nucleotídica revelou identidade mais alta com sequências de *Rickettsia raoultii*, que pertence ao grupo da febre maculosa (GFM), embora não houve amplificação por PCR para o gene *ompA* e *ompB* (Tabela 10).

Em relação à *Borrelia* sp. pesquisada em três espécimes de carrapatos do gênero *Ornithodoros* sp. não foi detectado nenhum DNA em nenhuma amostra.

Dos nove “pools” de larvas testados para o gene 16S, dois deles resultaram em uma similaridade de 98% com *A. sculptum* do Cerrado do Mato Grosso, número de acesso (KT722808.1), (WITTER, et al., 2016).

Tabela 8. Espécies de *Rickettsia* em carrapatos coletados no ambiente em Araguapaz, Goiás, entre 2012 a 2015.

Locais de Coleta	Carrapatos Testado/Positivos										Espécie de <i>Rickettsia</i> Grau de similaridade gene OmpA
	<i>A. sculputm</i>		<i>A. parvum</i>		<i>A. ovale</i>		<i>A. naponese</i>		<i>Amblyomma</i> sp.		
	A	N	A	N	A	N	A	N	L		
Mata de Galeria	60/0	3 pool(5)/0	1/0	-	1/0	-	-	-	-	3 pool (30)/0	-
Cerrado Rupestre	25/0	5 pool(3-5)/0	01/01	-	-	-	-	-	-	2 pool (30)/0	<i>R. amblyommii</i> (100%)
Área Antropizada	18/0	3 pool (5)/0	1/0	-	-	-	-	-	-	2 pool (30)/0	-
Beira Rio	51/0	-	-	-	-	-	-	-	-	2 pool (30)/0	-
Ponto 04	4/0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ponto 06	3/0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Faz. Maranata	-	5 pool (5-10)/0	-	1 pool (2)/0	-	-	-	-	-	-	-
Avulsos*	20/0	5 pool (5-10)/0	10/3	-	-	-	2/0	1/0	-	-	<i>Candidatus R. andeanae</i> (100%)

A- Adultos; N-Ninfas; L-Larvas;

Tabela 9. Espécies de riquetsias em carrapatos coletados de animais e humanos em Araguapaz, Goiás, entre 2012 a 2015.

Hospedeiros	Carrapatos Testado/Positivos													Espécie de <i>Rickettsia</i> Grau de similaridade gene OmpA/CS2		
	<i>A. sculputm</i>		<i>R. sanguineus</i>		<i>D. nitens</i>		<i>A. parvum</i>		<i>A. ovale</i>		<i>A. rotundatum</i>		<i>A. nodosum</i>		<i>Ornithodoros</i> spp	
	A	N	A	N	A	A	N	A	N	A	N	A	N			N
Cães	9/0	14 pool(4)/0	52/0	1 pool(4)/0	-	4/2	-	1/0	-	-	-	-	-	-	-	<i>Candidatus R. andeanae</i> (100%)
Equídeos	2/0	-	-	-	5/0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quati	-	-	-	-	-	-	1/0	3 pool (5)/0	-	-	-	-	-	-	-	-
Cobra	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1	2/0	-	-	-	-	<i>R. bellii</i> (100%)
Lagarto	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6/2	-	-	-	-	<i>R. bellii</i> (98%)
Aves Silvestres	-	2Ind/0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2/0	1/0	-	-	-
Peq. Mamíferos	-	-	-	-	-	-	4Ind/0	-	-	-	-	-	-	-	4Ind/0	-
Humano	1/0	1/0	-	-	-	1/0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A- Adultos; N-Ninfas; Ind-Carrapatos testados individualmente.

Tabela 10. Identidade de nucleotídeos e aminoácidos com *Rickettsia* sp. de *Ornithodoros* sp.

Identidade		Isolados	Local	Origem	Carrapato
nucleotídeos	aminoácidos				
98,7%	99,1%	<i>Rickettsia raoultii</i> isolado MDJ1 (JX885455)	China	Humano	<i>Dermacentor silvarum</i>
		<i>Rickettsia raoultii</i> cepa Khabarovsk (DQ365804)	Rússia	Ambiente	<i>Dermacentor silvarum</i>
		Uncultured <i>Rickettsia</i> sp. Clone G1 (JN800439)	Brasil (M. Atlântica)	Ave	<i>Amblyomma parkeri</i>
98,4%	99,1%	<i>R. endossimbionte A. nodosum</i> Paraíba (KM262195)	Brasil (Nordeste)	Ave	<i>Amblyomma nodosum</i>
98,1%		<i>Rickettsia raoultii</i> Krasnoobsk-1 (KM288489)	Rússia	Ambiente	<i>Dermacentor</i> sp.

4.9. Pesquisa de anticorpos anti-riquétsias em animais

No total, 107 soros foram testados, sendo 35 de cães, 30 de equídeos e 42 de pequenos mamíferos. Destes cães, 30 de 35 sororeagiram contra alguma riquétsia (prevalência de 85,71%). Dos 30 equídeos, 23 sororeagiram para pelo menos uma riquétsia (prevalência de 76,6%). Entre os pequenos mamíferos, 23 dos 42 sororeagiram para pelo menos uma espécie de riquétsia (prevalência de 54,7%). Os resultados estão apresentados nas Tabelas 11, 12 e 13.

Tabela 11. Sororeatividade para cinco espécies de riquetsias em pequenos mamíferos capturados em Araguapaz, Goiás, no período de 2013 a 2015.

Espécie/Gênero	Nº Sororeativos Nº Capturados %	Espécie/Titulação				
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys</i> sp.	1/2 (50)	-	-	-	1(1/64)	-
<i>Thrichomys</i> sp.	4/12 (33,3)	2 (1/64)	-	-	2(1/128)	1(1/128)
<i>Hylaeamys</i> sp.	2/2 (100)	-	-	-	1(1/64)	-
<i>Cavia aperea</i>	4/11 (36,3)	-	1(1/64)	1(1/64)	2(1/128)	-
<i>Gracilinanus</i> sp.	7/9 (77,7)	3(1/64)	-	-	2(1/256)	-
			2(1/64)	-	2(1/64)	1(1/64)
			1(1/128)	-	1(1/128)	-
			-	-	1(1/256)	-
			-	-	1(1/512)	-
<i>Didelphis albiventris</i>	0/2 (0)	-	-	-	-	-
<i>Caluromys</i> sp.	1/2 (50)	-	-	-	1(1/64)	-
<i>Calomys</i> sp.	0/1 (0)	-	-	-	-	-

Tabela 12. Sororeatividade e títulos para cinco espécies de riquetsias de cães em Araguapaz, Goiás, no período de 2013 a 2015.

Titulação dos Soros	Cães (N-35)				
	<i>R. rickettsia</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>
Não reagentes	4(11,4%)	4(11,4%)	4(11,4%)	4(11,4%)	4(11,4%)
1/64	3 (8,5%)	4(11,4%)	10 (28,5%)	6 (17,1%)	5(14,2%)
1/128	2(5,7%)	8 (22,8%)	4(11,4%)	2(5,7%)	5(14,2%)
1/256	1(2,8%)	5(14,2%)	2(5,7%)	4(11,4%)	4(11,4%)
1/512	0 (0)	4(11,4%)	4(11,4%)	2(5,7%)	0 (0)
1/1024	5(14,2%)	2(5,7%)	2(5,7%)	4(11,4%)	1 (2,8%)
1/2048	2(5,7%)	0 (0)	1 (2,8%)	0 (0)	2(5,7%)

Tabela13. Sororeatividade e títulos para cinco espécies de riquetsias equídeos em Araguapaz, Goiás, no período de 2013 a 2015.

Titulação dos Soros	Equídeos (N-30)				
	<i>R. rickettsia</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>
Não reagentes	7(23,3%)	7(23,3%)	7(23,3%)	7(23,3%)	7(23,3%)
1/64	4(13,3%)	7(23,3%)	4(13,3%)	3 (10,0%)	1(3,3%)
1/128	4(13,3%)	3 (10,0%)	1(3,3%)	2(6,6%)	5(16,6%)
1/256	4(13,3%)	1(3,3%)	0 (0)	2(6,6%)	4(13,3%)
1/512	2(6,6%)	0 (0)	2(6,6%)	0 (0)	0 (0)

Tabela 14. Número de amostras coletadas e resultado da Imunofluorescência Indireta (RIFI) para cada espécie de riquetsia pesquisada, 2012 a 2015

	Amostras Coletadas	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>
		N %	N %	N %	N %	N %
Cães	35	13 (37,1)	23 (65,7)	23 (65,7)	18 (51,4)	17 (48,5)
Equídeos	30	14 (46,6)	11 (36,6)	7 (23,3)	7 (23,3)	10 (33,3)
Peq. Mamíferos	42	6 (14,3)	4 (9,5)	1 (2,4)	15 (35,7)	2 (4,7)

5. DISCUSSÃO

A ixodofauna encontrada em Araguapaz, Goiás, composta por dez espécies e quatro gêneros se distribuiu de forma desigual entre os animais e os diversos ambientes. Algumas espécies, como o *A.sculptum*, prevaleceram no ambiente e foram também coletados em diversas espécies animais apesar de não terem sido de roedores. Outros carrapatos estiveram estritamente associados a determinados animais como foi o caso do *R. sanguineus* em cães e *Ornithodoros* sp. em roedores. Esta observação indica haver diferenças nas preferências ambientais, por hospedeiros e/ou de comportamento dos carrapatos que determinam uma distribuição desigual. O mesmo permite supor haver outras espécies de carrapatos não detectadas pelas restrições impostas pela metodologia de coleta de carrapatos adotada para este trabalho. De fato, em trabalho preliminar na mesma fazenda (SZABÓ et al., 2007) carrapatos do gênero *Ornithodoros* não foram detectados uma vez que não se realizou captura de pequenos mamíferos nem inspeção das tocas destes animais. Por outro lado, no trabalho citado acima, espécie de carrapato não encontrado em nosso trabalho, o *Amblyomma auricularium* foi encontrado parasitando tatu, um animal não inspecionado desta vez.

A distribuição dos carrapatos no ambiente foi particularmente desigual com a Mata de Galeria mantendo a infestação mais intensa e mais diversa. Este fato pode ser atribuído a fatores relacionados às condições abióticas das diversas fitofisionomias amostradas. Carrapatos são sensíveis à dessecação (BALASHOV 1972) e cobertura vegetal maior os protege da desidratação por diminuir a temperatura e a exposição à luz solar. Araguapaz, no Bioma Cerrado, é particularmente seco e quente mesmo no inverno. Nestas condições a Mata de Galeria proporciona ambiente mais úmido, com temperaturas

mais amenas. No conjunto estas condições abióticas permitem maior sobrevivência de carrapatos assim como permanência mais prolongada sobre a vegetação para procurar hospedeiros e que deverá ter resultado nas coletas mais numerosas na Mata de Galeria. Associação entre coletas mais numerosas de carrapatos e ambientes sombreados em áreas do Cerrado foram observadas em estudo na mesma área (SZABÓ et al., 2007), Uberlândia (VERONEZ et al., 2010) e Pantanal (RAMOS et al., 2014c).

A avaliação da distribuição sazonal de carrapatos só foi possível para a espécie *A. sculptum*, a única coletada repetidamente em números elevados. Esta espécie foi coletada em todas as estações do ano, mas com variações na quantidade de cada estágio indicando um padrão sazonal semelhante ao descrito por outros autores (SERRA FREIRE et al., 1982; LABRUNA et al., 2002; VERONEZ et al., 2010) com adultos predominando na primavera/verão; ninfas no inverno e larvas no outono. Cabe ressaltar que adultos ocorreram no ano inteiro, mas ninfas não foram encontrados no verão e larvas se restringiram ao outono dos dois anos e inverno do primeiro. Além disso, percebeu-se uma variação interanual pronunciada. Estas observações sugerem que interferências não detectadas na sazonalidade e/ou que as coletas realizadas uma vez por estação podem não amostrar os picos daquela estação específica. De forma ideal coletas mais frequentes, mensais, mostrariam melhor esta sequência na dinâmica populacional dos carrapatos. É interessante conhecer a sazonalidade de carrapatos, principalmente, de larvas e ninfas, pois são esses instares que pelo tamanho menor passam despercebidos por pessoas, aumentando assim a possibilidade de transmissão de patógenos. Além disso, tal informação ajuda a compreender os padrões comportamentais e estacionais dos carrapatos importantes para a adoção prevenção e controle deste artrópode, bem como das enfermidades transmissíveis por estes para humanos e animais (CARVER, et al., 2010).

Dentre as diversas espécies de carrapatos coletados, algumas foram mais numerosas no ambiente e/ou em animais. O mais abundante no ambiente e encontrado parasitando todas as espécies de animais domésticos, galinhas d'angola e humanos foi o *A. sculptum*. Este carrapato faz parte de um complexo de seis espécies recém reconhecida e agora denominada de complexo *A. cajennense* (BEATI et al., 2013; NAVA, et al., 2014). Até a descrição do complexo todas as espécies eram consideradas como apenas uma, *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787). Dentre as seis espécies o *A. sculptum* é considerado espécie típica do Cerrado mas que se estabelece em áreas degradadas da Mata Atlântica (SZABÓ, et al., 2007; SZABÓ et al., 2009; VERONEZ, et al., 2010; NAVA et al., 2014; MARTINS et al., 2016). O ácaro em questão é o principal parasito de equídeos e de vários animais selvagens e parece ser o carrapato de maior prevalência de mamíferos de algumas regiões como o Pantanal do Mato Grosso do Sul (LABRUNA, et al., 2005a). É um carrapato muito importante, pois é um dos principais transmissores da *Rickettsia rickettsii*, o agente da febre maculosa no Brasil, uma doença de notificação obrigatória e frequentemente fatal (LABRUNA, et al., 2009). Nas avaliações deste estudo, nenhuma espécie de *Rickettsia* foi detectada nesta espécie de carrapato. No entanto, não se pode descartar a possibilidade de carrapatos *A. sculptum* infectados pela bactéria naquela região. Cães e equídeos foram muito infestados por *A. sculptum*, e 37,1%, e 46,6% dos cães e equídeos, respectivamente sororeagiram contra *R. rickettsii* com dois cães exibindo títulos especificamente altos (1/2048) e um exibindo reação homóloga (diferença de quatro títulos em relação à sororeatividade contra outras espécies de riquetsia).

A segunda espécie mais prevalente foi uma espécie do complexo *R. sanguineus*, espécie esta, com posição taxonômica e nomenclatura em debate (NAVA et al., 2015). Esta espécie foi encontrada exclusivamente sobre cães e não foi encontrada nos ambientes

amostrados. Estas observações reforçam anteriores de que este carrapato tem o cão como hospedeiro mais frequente e que não completa seu ciclo de vida na vegetação, mas nos locais de permanência do cão em edificações humanas (LABRUNA e CAMPOS PEREIRA, 2001; SZABÓ et al., 2001). O maior número de *R. sanguineus* encontrado se deve à infestação média elevada sobre seu hospedeiro. O papel deste carrapato na veiculação de riquetsias é, no Brasil, desconhecido, mas, com potencial para ocorrer pela convivência em hospedeiro infectado por outras espécies de carrapato (PACHECO, et al., 2011; SZABÓ et al., 2013). Sua capacidade de transmissão da *R. rickettsii* para humanos foi demonstrada nos Estados Unidos (DEMMA, et al., 2005). Esses autores afirmam que os cães, os animais mais próximos dos humanos, podem desempenhar importante papel na cadeia epidemiológica da febre maculosa (DEMMA, et al., 2005). Neste sentido, já foi confirmado experimentalmente, que cães podem ser hospedeiros amplificadores de *Rickettsia rickettsii* para o carrapato *R. sanguineus* (PIRANDA, et al., 2011).

Duas outras espécies de carrapatos encontrados são frequentes em animais domésticos; o *D. nitens* e *R. microplus*, parasitas de equinos e bovinos, respectivamente (BARROS-BATTESTI et al., 2006). O número destes foi subestimado pois não foi possível coletar todos os carrapatos destes hospedeiros. São carrapatos monóxenos (BARROS- BATTESTI et al., 2006) que infestam seus hospedeiros em pastos e não em matas. De fato, não foram encontradas larvas nas áreas naturais. No caso destas espécies não há a saber envolvimento na transmissão de riquetsias, fato este reforçado com as observações deste trabalho.

Outro carrapato encontrado repetidamente foi o adulto do *A. ovale*, a maioria em cães, mas também em quati e alguns no ambiente. Este carrapato Neotropical é parasito de carnívoros na forma adulta e frequentemente se alimenta em cães (LABRUNA, et al., 2005) com acesso às matas (SZABÓ, et al., 2013b), com foi o caso no presente

trabalho. De fato os animais infestados eram em sua maioria cães de caça ou acompanhavam humanos na lida com o gado. O *A. ovale* é apontado como transmissor da bactéria *R. parkeri* cepa Mata Atlântica (SPOLIDORIO, et al., 2010) do grupo da febre maculosa. Esta bactéria causa uma infecção com sintomas mais brandos e foi isolada de *A. ovale* coletado na Mata Atlântica (SPOLIDORIO, et al., 2010; SZABÓ, et al., 2013a). No presente trabalho entretanto, não foi encontrada a riquetsia acima mencionada ou qualquer outra espécie em *A. ovale*, porém apenas um carrapato foi avaliado impedindo conjecturas.

Carrapatos *A. parvum* foram coletados em número menor, porém com origem diversa; ninfas em pequenos mamíferos e adultos em cães, humanos e do ambiente. A capacidade de se alimentar em uma ampla variedade de hospedeiros, notadamente carnívoros e humanos já foi relatada anteriormente (LABRUNA, et al., 2005; GUGLIELMONE, et al., 2006; SZABÓ, et al., 2007 e RAMOS, et al., 2014b). É importante ainda ressaltar o número de registros dessa espécie de carrapato em roedores (NAVA et al., 2008; HORTA et al., 2011). Sendo assim, esse carrapato possui todos os requisitos para transmitir doenças entre animais e humanos. No carrapato supracitado 33,3%, estavam infectados com riquetsias; quatro com *Rickettsia andeanae* e um deles com *Rickettsia ambyommii*. Estas bactérias, ambas do grupo da febre maculosa, têm patogenicidade desconhecida (MERHEJ, et al., 2014) e outros estudos são necessários para avaliar a capacidade dessas em causar infecção e doença em seres humanos ou outros hospedeiros vertebrados. Independentemente da patogenicidade as duas riquetsias são as mais prováveis responsáveis pela sororeatividade a riquetsias observadas nos cães. *Rickettsia andeanae* é aquele descoberto mais recentemente, inicialmente em *Amblyomma maculatum* e *Ixodes boliviensis* coletados em cavalos domésticos do norte do Peru (BLAIR et al., 2004), em *A. parvum* e *A. pseudoconcolorna* Argentina, (PACHECO, et al., 2007) nos EUA e Chile; (PADDOCK,

et al., 2010; ABARCA, et al., 2012). Recentemente foi detectada no Brasil em *A. parvum* da vegetação no pantanal do Mato Grosso do Sul e em equinos em áreas de cerrado no Piauí (NIERI-BASTOS, et al., 2014). Este trabalho amplia sua distribuição geográfica e reforça a associação da bactéria com *A. parvum*.

Observa-se no conjunto das observações que cães foram infestados por quatro espécies de carrapatos (*A. sculptum*, *A. ovale*, *A. parvum* e *R. sanguineus*) das quais as três primeiras devem ser as responsáveis pela soroconversão contra riquetsias dos animais. Neste contexto é interessante mencionar que dos 35 cães, a maioria deles, 31 (88,5%) apresentaram anticorpos para pelo menos uma *Rickettsia*. Os quatro animais que não apresentaram anticorpos para riquetsias eram cães jovens (entre 2 a 4 meses), que, segundo seus proprietários, ainda permaneciam dentro de casa ou apenas em seus arredores, indicando a associação da soroconversão e carrapatos das matas.

Os carrapatos *A. nodosum*, *A. naponense* e *A. rotundatum* foram encontrados em número muito reduzido e associados a condições específicas. Apenas duas ninfas foram encontradas em aves silvestres do primeiro. O parasitismo de aves silvestres por formas imaturas do *A. nodosum* já é relatado na literatura (TOLESANO-PASCOLI, et al., 2010; OGRZEWALSKA, et al., 2009) e estágio adulto parasita tamanduá bandeira e (*Myrmecophaga tridactyla*) tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*) (Campos Pereira et al., 2000; Bechara et al., 2002). Trata-se de uma espécie que já foi associada a uma riquetsia filogeneticamente próxima à *R. parkeri* (OGRZEWALSKA, et al., 2009) mas o número reduzido de espécimes de nossa amostra impede considerações maiores a este respeito.

Carrapatos *A. naponense*, foram encontrados na vegetação. Este carrapato é conhecido como “carrapato amarelo do porco do mato” e tem como hospedeiros preferenciais suídeos selvagens como o porco-do-mato (*Tayassu tajaca*), queixada

(*Tayassu pecari*), embora possa parasitar outras espécies como tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) e quati (*Nasua nasua*) e suínos domésticos (JONES, 1972.; GUIMARÃES, 2001; LABRUNA, 2002a). Sugere-se que presença desta espécie de carrapato, esteja associada à presença de suídeos selvagens nas áreas estudadas. Essas informações foram confirmadas pelos moradores, presença de vestígios como pegadas e fezes.

Amblyomma rotundatum coletado no ambiente e de uma cascavel é uma espécie partenogenética comum em répteis e anfíbios, mas que acidentalmente pode parasitar hospedeiros homeotérmicos (JONES, 1972; BARROS-BATTESTI, et al., 2006). Nos Estados Unidos já foi relatado casos de paralisia em cobra pela picada dessa espécie de carrapatos (HANSON, et al, 2007). Neste estudo, carrapato dessa espécie coletado em cobra cascavel foi encontrado albergando DNA de *R. bellii*. Essa riquetsia é aquela encontrada em maior número de espécies de carrapatos, pelo menos 17 na América Latina, não está associada a infecção humana e foi recentemente encontrada em *A. rotundatum*, no caso parasitando sapos (HORTA, et al., 2015).

Uma nova espécie de carrapato do gênero *Ornithodoros* foi encontrada em dois diferentes hospedeiros. *Cavia aperea*, *Trichomys*. Este carrapato foi coletado em toca dos cavídeos e foi o mais abundante em pequenos mamíferos e um dos mais abundantes entre todos os carrapatos deste trabalho. Para a descrição desta espécie está se tentando ciclo completo do carrapato em laboratório com a finalidade de se obter todos os estágios e estádios, particularmente de larvas não alimentadas. Essas últimas são essenciais para a distinção entre espécies de argasídeos (VENZAL, et al., 2008). Recentemente diversas outras espécies de carrapatos desse gênero foram descobertas na América do Sul, na Bolívia (VENZAL, et al., 2013) na Argentina e no Chile (VENZAL, et al., 2015). Apesar das descobertas recentes a taxonomia dos argasídeos na América do Sul permanece muito incompleta e a informações sobre elas fragmentadas.

Entretanto estes carrapatos são um grupo importante; são hematófagos, fazem refeições rápidas, de 10 a 60 minutos, geralmente à noite enquanto os hospedeiros estão em repouso (ENCINAS GRANDES et al., 1999; Boinas, 1994) e foram observados parasitando humanos nos Estados de Minas Gerais, Goiás, Pernambuco, e Rio Grande do Norte (LABRUNA, et al., 2014). Além disso, em outros países algumas espécies são vetores de doenças; o *Ornithodoros erraticus* é vetor *Borrelia hispanica* para o homem, agente da febre recorrente hispano-africana (DAVID DE MORAIS et al., 2007) e pode veicular também o vírus da Peste Suína Africana em suínos (BOINAS et al., 2011). Em nosso estudo, carrapatos da nova espécie foram avaliados quanto a presença de *Borrelia* sp. mas resultado foi negativo, embora o número de carrapatos testados tenha sido muito baixo (três espécimes) impedindo maiores discussões. No entanto, a avaliação do gene sitrato sintase (gltA) de outras três espécimes de *Ornithodoros* sp, revelou uma riquetsia com similaridade bem próxima de *Rickettsia raoultii*, detectada em paciente humano no nordeste da China (JIA, et al., 2014) e em ambiente na Rússia e Europa (MEDIANNIKOV, et al., 2008). A *Rickettsia raoultii* foi detectada pela primeira vez em carrapatos do Gênero *Dermacentor* na ex-União Soviética em 1999 (RYDKINA, et al., 1999). Caso foram registados com um paciente com linfadenopatia, eritema e necrose sugerindo sua patogenicidade para humanos (MEDIANNIKOV, et al., 2008). Mais tarde, outros casos ocorreram envolvendo picadas de carrapatos e os mesmos sintomas (PAROLA, et al., 2009). No nosso estudo, são necessários mais estudos para identificar melhor essa espécie de Rickettsia.

Considerado a exposição dos animais à riquetsias avaliado pelo teste sorológico não se observou um quadro claro e os animais testados, de maneira geral, reagiram de forma errática contra as cinco espécies de riquetsias testadas. Uma explicação inicial para isso é a reação cruzada entre diversas espécies de riquetsias (PHILIP, et al., 1978). Deve-se considerar também a biodiversidade detectada de, pelo menos, três espécies desta

bactéria com a possibilidade de exposição de um hospedeiro a diversas riquetsias. Além disso, pelo menos para uma das espécies encontradas, a *R. andeanae*, não havia antígeno homólogo nos testes sorológicos. Por outro lado, o grupo dos pequenos mamíferos reagiu mais frequentemente aos antígenos de *R. rhipicephali*. Tal situação poderia ser explicada, em parte, pela menor área de vida desses animais, conseqüente exposição a uma diversidade menor de carrapatos com visto neste trabalho e talvez por isso a uma diversidade menor de riquetsias. De qualquer forma considerando os resultados de forma global fica evidente que os animais na área estudada são expostos a uma diversidade maior de macroparasitos (carrapatos) e microparasitos (bactérias) do que em áreas muito mais antropizadas. O papel desta diversidade maior no desenvolvimento de doenças ou, na prevenção destas, merece investigações adicionais.

6. CONCLUSÕES

1-A ixodofauna do ambiente e de animais encontrada em Araguapaz, Goiás, foi composta por dez espécies e quatro gêneros.

2-A Mata de Galeria foi a fitofisionomia com maior infestação ambiental.

3-A distribuição sazonal da espécie *A. sculptum*, foi caracterizada por adultos ocorrendo o ano inteiro, ninfas não foram encontrados no verão e larvas se restringiram ao outono dos dois anos e inverno do primeiro ano.

4- Pelo menos três espécies de riquetsias estão presentes em carrapatos da região; *A. parvum* albergando candidatus *Rickettsia andeanae* e *Rickettsia ambyommii* e *A. rotundatum* com *R. bellii*.

5- Uma espécie de carrapato do gênero *Ornithodoros* ainda não descrita parasita pequenos mamíferos da região.

7. REFERÊNCIAS

ABARCA, K.; LÓPEZ, J.; ACOSTA-JAMETT, G.; LEPE, P.; SOARES, J. F.; LABRUNA, M. B. A third *Amblyomma* species and the first tick-borne *Rickettsia* in Chile. **J. Med. Entomol.**, v 49, p. 219-222, 2012.

AGUIAR, L. M. S. 2000. Comunidades de morcegos do Cerrado no Brasil Central. Page 162. Departamento de Ecologia. Universidade de Brasília, Brasília.

BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals. **Miscellaneous Publications of the Entom. Soc. of Ameic.**, v 8, p. 160-376, 1972.

BARROS-BATTESTI, D. M. B., ARZUA, M. BECHARA, G. H. (2006). Carrapatos de Importância Medico-Veterinária da Região Neotropical: um Guia Ilustrado para Identificação de Espécies. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo/Brasil.

BARBOUR, M. T., J. GERRITSEN, G. E. GRIFFITH, R. FRYDENBORG, E. MCCARRON, J. S. WHITE e M. L. BASTIAN. A framework for biological criteria for Florida streams using benthic macroinvertebrates. **J. North Am. Benthol. Soc.**, v 15, p. 185-211, 1996.

BEATI, L.; NAVA, S.; BURKMAN, E. J.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; GUGLIELMONE, A. A.; CÁCERES, A. C.; GUZMÁN-CORNEJO, C. M.; LEÓN, R.; DURDEN, L. A.; FACCINI, J. L. H. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. **BMC Evol. Biol.**, v 13, p. 267, 2013.

BLAIR, P. J, JIANG, J,; SCHOELER, G. B. Characterization of spotted fever group rickettsiae in flea and tick specimens from northern Peru. **J. Clin Microbiol.**, v 42, p. 4961–4967, 2004.

BRADLEY C.A. ALTIZER S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. **Trends Ecol. Evol.**, v 22, p. 95-102, 2007.

BOINAS FS, WILSON AJ, HUTCHINGS GH, MARTINS C E DIXON L.J. The persistence of African swine fever virus in field infected *Ornithodoros erraticus* during the ASF endemic period in Portugal. **PL. ONE**, v 6, p. 203, 2011.

BOINAS, F. The role of *Ornithodoros erraticus* in the epidemiology of African Swine Fever in Portugal. Tese de Doutorado. Department of Agriculture and Horticulture, University of Reading (Reading). 1994.

BURGDORFER, W.; ANACKER, R. L.; BIRD, R. G.; BERTRAM, D. S. Intranuclear growth of *Rickettsia rickettsii*. **J. Bacteriol.** v 96, p. 1415–1418, 1968.

BURGDORFER, W. Hemolymph test. A technique for detection of *Rickettsiae* in ticks. **J. Trop. of Med. and Hyg.** v 19, p. 1010-1014, 1970.

CARLOS A. KLINK.; RICARDO B. MACHADO. A conservação do cerrado Brasileiro. **Megadiv.** v 1 nº 1, 2005.

CARVER S., KILPATRICK A.M., KUENZI A., DOUGLASS R., OSTFELD R.S. WEINSTEIN P. Environmental monitoring to enhance comprehension and control of infectious diseases. **J. Environ. Monit.** v 12, p. 2048-2055, 2010.

CINCOTTA, R.P.; WISNEWSKI, J.; ENGELMAN, R. Human populations in the biodiversity hotspots. **Nature**, v 27 p. 990-992, 2000.

DAVID DE MORAIS, J.; LOPES DE CARVALHO, I.; NÚNCIO, M.S. Febre recorrente hispano-africana em Portugal: Escorço histórico e epidémico-clínico. **Med Inter.**, v 14, p. 170-178, 2007.

DEMMA, L.J.; TRAEGER, M.S.; NICHOLSON, W.L. et al. Rock Mountain spotted fever from arizona an unexpected tick vector in Arizona. **N. Engl. J. Med.**, v 353, p. 587-594, 2005

DIAS, B. F. S. 1992. Alternativas de desenvolvimento dos Cerrados: manejo e conservação dos recursos naturais renováveis. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama), Fundação Pró-Natureza (Funatura), Brasília.

GUEDES, E.; LEITE, R. C. Dinâmica Sazonal De Estádios De Vida Livre De *Amblyomma cajennense* E *Amblyomma dubitatum* (ACARI: IXODIDAE) Numa Área Endêmica Para Febre Maculosa, Na Região De Coronel Pacheco, Minas Gerais. **Rev. Bras. Paras. Vet.** v, 17, p. 78-82, 2008.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, C.E.; BARROS-BATTESTI, D.M. Ectoparasitos de Importância Veterinária. São Paulo: Editoras Plêiade/FAPESP. 2001.p. 218.

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

GRANDES, A. E.; SANCHEZ, P. R.; PÉREZ, A. *O. Ornitorosis e Ixodidosis*. In: Parasitologia Veterinária. Editores: CORDERO, M.; DEL CAMPILLO, E. F. A.; VÁZQUEZ, R. MacGraw-Hill/Interamericana de España (Madrid), 518-524, 1999.

HANSON, B. A.; FRANK, P. A.; MERTINS, J. W.; CORN, J L. Tick Paralysis of a Snake Caused by *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae). **J. Med. Entomol.** v, 44, p.155-157, 2007.

HOFFMANN, W.A. & A.G. MOREIRA. 2002. The role of fire in population dynamics of woody plants. In: P.S. Oliveira & R.J. Marquis (eds.). The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna. p. 159-177. **Columbia University Press, Nova York.**

HOOGSTRAAL H. Ticks and spirochetes. **Acta Trop.**, v 36, p. 133-136, 1979.

NA JIA, n.; ZHENG, Y. C.; MA, L.; HUO, Q. B.; NI, X. B.; JIANG, B. G.; CHU, Y. L.; JIANG, R. R.; JIANG, J. F.; CAO, W. C. Human Infections with *Rickettsia raoultii*, China. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 20, No. 5, 2014.

JONES, E. K.; CLIFFORD, C.M.; KEIRANS, J.E.; KOHLS, G.M. The thicks of Venezuela with a the species of *Amblyomma* in the Western Hemisphere. Brigham Young Univ. Biol. Series, p 1-40. 1972.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do cerrado Brasileiro. **Megadiversidade**, v 1 n° 1, 2005.

KRAWCZAK, F. S.; MARTINS, T. F.; OLIVEIRA, C. S.; BINDER, L. C.; COSTA, F. B.; NUNES, P. H.; GREGORI, F.; LABRUNA, M. B. *Amblyomma yucumense* n. sp. (Acari: Ixodidae), a Parasite of Wild Mammals in Southern Brazil. **J. Med. Entom.**, p, 28-37, 2015.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, C. M. Carrapato em cães no Brasil. **Clín. Vet.**, v 30, p 24-32, 2001.

LABRUNA M.B., KASAI N.; FERREIRA F. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v 105, p. 65-77, 2002.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; CAMARGO, E. P. Parasitismo f Domestic Swine (*Sus scrofa*) by *Amblyomma* Ticks (Acari: Ixodidae) on a Farm at Monte Negro, Western Amazon, Brazil. **J. Med. Ent.**, v 39, p 241-243, 2002a.

LABRUNA, M. B. Carta Acarológica. **Rev. Bras. Parasitol.Vet.**, v.13, suplemento 1, 2004.

LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. **Ann N Y Acad Sci.**, v 1166: p.156-166. 2009.

LABRUNA, M. B.; MARCILI, A.; OGRZEWALSKA, M.; BARROS-BATTESTI, D.M.; DANTAS-TORRES, F.; FERNANDES, A. A. LEITE, C. R.; VENZAL, J. M. New Records and Human Parasitism by *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) in Brazil. **J. Med. Ent.**, v 51, p 283-287, 2014.

MARINHO-FILHO, J., RODRIGUES, F. H. G. e JUAREZ, K. M. 2002. The Cerrado mammals: diversity, ecology, and natural history. In: P.S. Oliveira & R.J. Marquis (eds.). The Cerrados of Brazil: Ecology and natural history of a neotropical savanna. pp. 266-284. Columbia University Press, New York.

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

MARTINS, T. F.; PERESII, M. G.; COSTA, F. B.; BACCHIEGA, T. S.; APPOLINARIOI. C.; ANTUNES, J. M. A. P; VICENTEI, A. F.; MEGIDI, J.; LABRUNA, M. B. Ticks infesting wild small rodents in three areas of the state of São Paulo, Brazil. **Ciênc. Rur., Santa Maria**, v.46, n.5, p.871-875, 2016.

MEDIANNIKOV, O.; MATSUMOTO, K.; SAMOYLENKO, I.; DRANCOURT, M.; ROUX, V. R.; RYDKINA, E.; DAVOUST, B.; TARASEVICH, I.; BROUQUI, P.; FOURNIER, P. E. *Rickettsia raoultii* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with Dermacentor ticks in Europe and Russia. **Inter. J. Syst. and Evol. Microb.**, 58, 1635–1639, 2008.

MÉIO. B. B.; FREITAS. C. V.; JATOBÁ. L.; SILVA. E. F. M.; RIBEIRO. F. J.; HENRIQUES. R. P. B. Influência da flora das florestas Amazônica e Atlântica na vegetação do cerrado sensu stricto. **Revista Brasil. Bot.**, v 26, p.437-444, 2003.

MERHEJ, V.; ANGELAKIS, E.; SOCOLOVSCHI. C.; RAOULT, D. Genotyping, evolution, and epidemiological findings of *Rickettsia* species. **Infect. Genet Evol.**, v 25, p. 122-137, 2014.

NAVA S, BEATI L, LABRUNA M. B, CÁCERES A. G, MANGOLD A. J, GUGLIELMONE A. A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks Tick Borne Dis.**, v 5, p. 252–276, 2014.

NIERI-BASTOS, F. A.; LOPES, M. G.; CANÇADO, P. H. D.; ROSSA, G. A. R.; FACCINI, J. L. H.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v1, p. 3, 2014.

OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M. F.; LOPES, C. M. L.; LEITE, R. C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v 92, p. 295-30, 2000.

OGRZEWALSKA, M. Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos (Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia* spp. no Pontal do Paranapanema, SP. 2009. 106 f. Tese (Doutorado)-Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

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

PADDOCK, C. D.; FOURNIER, P. E.; SUMNER, J. W.; GODDARD, J.; ELSHENAWY, Y.; METCALFE, M. G.; LOFTIS, A. D.; VARELA-STOKESA. Isolation of *Rickettsia parkeri* and identification of a novel spotted fever group *Rickettsia* sp. from Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) in the United States. **Appl Envir. Microbiol.**, v 76, p. 2689-2696, 2010.

PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and Xea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Vet. Res.**, v 36, p. 469-492, 2005.

PAROLA, P.; ROVERY, C.; ROLAIN, J. M.; BROUQUI, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. *Rickettsia slovaca* and *R. raoultii* in Tick-borne Rickettsioses. **Emerg. Infect. Diseases.**, v 15, n. 7, 2009.

PHILIP, R.N.; CASPER, W.; BURGDORPER, W. et al. Serologic typing of rickettsiae of the spotted fever group by microimmunofluorescence. **J. Immunol.**, v 121, p. 1961-1968, 1978.

PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L. H.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; CASCADO, P. H. D.; LABRUNA, M. B. Experimental Infection of *Rhipicephalus sanguineus* Ticks with the Bacterium *Rickettsia rickettsii*, Using Experimentally Infected Dogs. **Vector-Borne And Zoo. Dis.**, v.11, n.1, p.29-36, 2011.

RATTER, J., S. BRIDGEWATER & J.F. RIBEIRO. Analysis of the floristic composition of the Brazilian Cerrado vegetation. III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. **Edinb. J. of Botany.**, v 60, p. 57-109, 2003.

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

RAMOS, V. N.; OSAVA, C. F.; PIOVEZAN, U.; SZABÓ, M.P.J. Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. **Braz. J. Vet. Parasitol**, v. 23, n. 4, p. 516-521,2014c.

RIZZINI, C.T. A flora do cerrado. Análise florística das savannas centrais. In Simpósio sobre o cerrado (M.G. Ferri, org.). Edusp, São Paulo, p.126-177, 1963.

RYDKINA, E.; ROUX, V.; FETISOVA, N.; RUDAKOV, N.; GAFAROVA, M.; TARASEVICH, I.; RAOULT, D. New Rickettsiae in Ticks Collected in Territories of the Former Soviet Union. **Emerg. Infect. Dis.**, v 5, N. 6, 1999.

SANCHES. G. S.; MARTINS, T.F.; LOPES, I.T.; COSTA, L.F.S.; NUNES, P.H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I.; LABRUNA, M. B. Ticks infesting birds in Atlantic Forest fragments in Rio Claro, State of Sao Paulo, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** v. 22, p. 6-12, 2013.

SANGIONI, L.A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C. B. Rickettsial infection in animals and brazilian spotted fever endemicity. **Emerg. Infect. Dis.**, v 11 p255–270. 2005.

SILVEIRA, A. K.; FONSECA, A. H. Distribuição, Diversidade E Sazonalidade de Carrapatos Em Ambientes Institucionais Com Diferentes Graus De Intervenção Humana No Estado Do Rio De Janeiro, Brasil. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v,35, p,1-12, 2013.

SZABÓ, M. P. J.; CUNHA, T. M.; PINTER, A.; VICENTINI, F. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. **Exp. and Appl. Acar.**, v 25, p 909-916, 2001.

SZABÓ, M. P. J.; OLEGÁRIO, M. M. M.; SANTOS, A. L. Q. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. **Exp. and Appl. Acar.**, v 43, p. 73–84. 2007.

SZABÓ M.P.J., LABRUNA M.B., GARCIA M.V., PINTER A., CAS- TAGNOLLI K.C., PACHECO R.C., CASTRO M.B., VERONEZ V.A., MAGALHÃES G.M., VOGLIOTTI A.; DUARTE J.M.B. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, 103:57-72, 2009.

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

SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cel. and Infec. Microb.**, v 3, n.27, p.1-9,2013b.

SONENSHINE D.E. Biology of ticks. **New York, Oxford University Press**, 1993.

SONENSHINE D.E. Ecology of nidicolous ticks, in: *Biology of ticks*, v 2. **Oxford University Press, New York**, 1993, 465 p.

SOUZA S.S.L., SOUZA C.E., NETO R.J.E. & PRADO A.P. Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para febre maculosa na região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Cienc. Rur.**, v 36, p. 887-891, 2006.

TEYSSEIRE, N.; BOUDIER, J. A.; RAOULT, D. Rickettsia conorii entry into Vero cells. **Infect Immun.**, v 63, p.366–374, 1995.

TOLESANO-PASCOLI. G.V.; TORGA, K.; FRANCHINI, A. G.; OGRZEWALSKA, M.; GERARDI, M.; OLEGÁRIO, M. M. M.; LABRUNA, M. B.; SZABÓ, M. P. J.; MARÇAL JÚNIOR, O. Ticks on birds in a forest fragment of Brazilian cerrado (savanna) in the unicity of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, n. 4, p. 244-248, 2010.

VENZAL, J. M.; ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A. J.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; GUGLIELMONE, A. A. The *Ornithodoros (Alectorobius) talaje* species group (Acari: Ixodida: Argasidae): Description of *Ornithodoros (Alectorobius) rioplatensis* n. sp. from Southern South America. **J Med Entomol.**, v 45, p. 832-840, 2008.

VENZAL, J. M.; NAVA, S.; TERASSINI, F. A.; OGRZEWALSKA, M.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B. **Exp. and App. Acarol.**, v 61, p. 131-141, 2013.

VENZAL, J. M.; GONZÁLEZ-ACUNÃ, D.; MUÑOZ-LEAL, S.; MANGOLD, A. J.; NAVA, S. Two new species of *Ornithodoros* (Ixodida; Argasidae) from the Southern Cone of South America. **Exp. and App. Acarol.**, v 66, p. 127-139, 2015.

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

ANEXOS I



Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail:ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

ANÁLISE FINAL Nº 03713 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 003/13

Projeto Pesquisa: "Fauna, Sazonalidade e Riquetsias de Carrapatos em Área
do Cerrado Goiano".

Pesquisador Responsável: Matias Pablo Juan Szabó

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com
animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas. Ao final da
pesquisa deverá encaminhar para a CEUA um relatório final.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO
DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE
ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

Uberlândia, 07 de Fevereiro de 2013

Prof. Dr. César Augusto Garcia
Coordenador da CEUA/UFU

ANEXO II



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 36413-1	Data da Emissão: 29/11/2012 13:38	Data para Revalidação*: 29/12/2013
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Maria Marlene Martins Olegário	CPF: 045.027.196-09
Título do Projeto: FAUNA, SAZONALIDADE E RIQUETSIAS DE CARRAPATOS EM ÁREA DO CERRADO GOIANO	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Uberlândia	CNPJ: 25.648.387/0001-18

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Viagens a campo para coleta de animais e carrapatos	10/2012	08/2013
2	Análise moleculares dos carrapatos	08/2014	08/2015
3	Análise dos resultados e redação dos artigos para publicação	08/2015	08/2016
4	Caracterização genotípica dos isolados de rickettsia	08/2015	08/2016
5	Processamento dos carrapatos em cultivo celular	08/2015	08/2016

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA n° 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio - menu Exportação.
5	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama n° 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
6	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/ogen .
9	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contatar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	As armadilhas utilizadas para captura de mamíferos deverão ser vistoriadas pelo menos duas vezes ao dia (matutino e vespertino) para minimizar a morte devido a hipotermia ou hipertermia.
2	- Conforme o Art 14 da IN 154/07 esta autorização não exime o seu titular da necessidade de atender as condicionantes previstas na IN 27/02, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento. - Como a quantidade de sangue solicitada não foi especificada, ressaltamos que a quantidade recomendada não deva passar de 1% do peso do indivíduo.

Equipe

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 11437785



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 36413-1	Data da Emissão: 29/11/2012 13:38	Data para Revalidação*: 29/12/2013
------------------------	--	---

* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

Dados do titular

Nome: Maria Marlene Martins Olegário	CPF: 045.027.196-09
Título do Projeto: FAUNA, SAZONALIDADE E RIQUETSIAS DE CARRAPATOS EM ÁREA DO CERRADO GOIANO	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Uberlândia	CNPJ: 25.649.387/0001-18

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Graziela Virginia Tolesano Pascol	Pesquisadora	039.120.306-18	28878716 ssp-SP	Brasileira
2	Mateus Pablo Juan Szabo	Coordenador	071031978-90	12293702-8 SSP-SP	Brasileira
3	Vinicius da Silva Rodrigues	Auxiliar de campo	332.441.858-26	43362120x SSP-SP	Brasileira
4	Marcelo Bahia Labruna	Coordenador	934277436-91	M8513065 SSP-MG	Brasileira
5	Vanessa do Nascimento Ramos	Pesquisadora	042.066.626-57	mg10781203 SSP-MG-MG	Brasileira
6	Rhêmela Torga dos Santos	Pesquisadora	042.562.926-08	9126663 SSP-MG	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	ARAGUAPAZ	GO	Fazenda Moenda da Serra, Araguapaz, Goiás, Brasil	Fora de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Gabuliformes, Ixodida, Galliformes, Psittaciformes, Passeriformes, Rodentia, Caprimulgiformes, Columbiformes, Trogoniformes, Didelphimorphia, Trochiliformes, Falconiformes, Cuculiformes, Tinamiformes, Piciformes, Strigiformes, Apodiformes
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Rodentia, Trogoniformes, Falconiformes, Strigiformes, Cuculiformes, Tinamiformes, Passeriformes, Apodiformes, Piciformes, Psittaciformes, Gabuliformes, Trochiliformes, Caprimulgiformes, Columbiformes, Didelphimorphia, Galliformes
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Strigiformes (Ordem: 2), Rodentia (Ordem: 2), Apodiformes (Ordem: 2), Gabuliformes (Ordem: 2), Passeriformes (Ordem: 2), Trochiliformes (Ordem: 2), Falconiformes (Ordem: 2), Psittaciformes (Ordem: 2), Trogoniformes (Ordem: 2), Galliformes (Ordem: 2), Piciformes (Ordem: 2), Columbiformes (Ordem: 2), Cuculiformes (Ordem: 2), Ixodida (Ordem: 60), Caprimulgiformes (Ordem: 2), Didelphimorphia (Ordem: 2), Tinamiformes (Ordem: 2)
4	Marcação de animais silvestres in situ	Gabuliformes, Tinamiformes, Piciformes, Trochiliformes, Columbiformes, Passeriformes, Falconiformes, Apodiformes, Cuculiformes, Trogoniformes, Strigiformes, Didelphimorphia, Galliformes, Rodentia, Psittaciformes, Caprimulgiformes

* Ordem de indivíduos por espécie/localidade/unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Ectoparasita, Sangue
2	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue, Fezes, Ectoparasita
3	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina
4	Método de captura/coleta (Invertebrados Terrestres)	Captura manual
5	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Armadilha tipo gaiola com atração por iscas ("Box Trap/ Tomahawk/Sherman")
6	Método de marcação (Aves)	Anilha de Alumínio (padrão CBMAVE)
7	Método de marcação (Outros mamíferos)	Brinco

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Universidade Federal de Uberlândia	coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 11437785



Página 2/3

