

**MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
ICMBio**

PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA



**BOLETIM
NÚMERO
13**

**Caracterização de Ambientes com Potencial
para Ocorrência de Carrapatos
Transmissores de Agentes Patogênicos para
Humanos**

**ANDREA KILL SILVEIRA
ADEVAIR HENRIQUE DA FONSECA**



2011

Ministério do Meio Ambiente
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
Parque Nacional do Itatiaia

Boletim
do
PARNA ITATIAIA

Número
13

CARACTERIZAÇÃO DE AMBIENTES COM POTENCIAL
PARA OCORRÊNCIA DE CARRAPATOS TRANSMISSORES
DE AGENTES PATOGÊNICOS PARA HUMANOS

Andrea Kill Silveira
Adevair Henrique da Fonseca

2011

Andrea Kill Silveira
Adevair Henrique da Fonseca

CARACTERIZAÇÃO DE AMBIENTES COM POTENCIAL
PARA OCORRÊNCIA DE CARRAPATOS TRANSMISSORES
DE AGENTES PATOGÊNICOS PARA HUMANOS

2011

Pesquisa apresentada como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Editorial

Em 1949, o incansável Chefe do PNI, Wanderbilt Duarte de Barros, lançava o primeiro Boletim de Pesquisa do Parque Nacional do Itatiaia e escolheu um dos maiores entomologistas do país, na época, J.F. Zikán, que era naturalista desta UC.

Zikán publicou o gênero *Mischocyttarus saussure* (Hymenoptera: Braconidae), com a descrição de 82 espécies novas.

Wanderbilt continuou apoiando, editando e lançando os seguintes boletins:

- BOLETIM Nº2 - "Estudo dendrológico de essências florestais do Parque Nacional do Itatiaia e os caracteres anatômicos de seus lenhos". - Eduardo Cunha Mello-1950.
- BOLETIM Nº3 - "Aves do Itatiaia"- Olivério Pinto-1950.
- BOLETIM Nº4 - "Contribuições para Flora do Itatiaia - P.K.H. Dusen-1955.
- BOLETIM Nº5 - "A Flora do Parque Nacional" -A.C. Brade-1956.
- BOLETIM Nº6 - "A Fauna do Parque Nacional do Itatiaia" - Rudolf Barth-1957.
- 1959-1960 - O Chefe do PNI, Raimundo Girard Barros da

Silva, editava e lançava o Boletim N°7 - "Órgãos odoríferos dos Lepidópteros" - Rudolf Barth.

- 1965 - O Chefe do PNI, Antonio Garcia, lançava o Boletim N°8 - "Catálogo das Pteridofitas – A. Castellanos, H.F. Martins, M.C. Vianna e J.P.P. Carauta.

- 1999 - O Chefe do PNI, Carlos Eduardo Zikan, lançava o Boletim N°9 - "Mamíferos do Parque Nacional do Itatiaia"- Fernando Dias de Ávila Pires e Elio Gouvêa.

- 2002 - O Chefe do PNI, Léo Nascimento, lançava o Boletim N° 10 - "Estrutura, Dinâmica e Biogeografia das Ilhas de Vegetação Sobre Rocha do Planalto do Itatiaia” - Kátia Torres Ribeiro e Branca Opazo Medina.

- 2003 - O Chefe do PNI, Léo Nascimento, lançava o Boletim N°11- "Tradição e modernidade no percurso do Arquiteto Ângelo Murguel: Parque Nacional do Itatiaia e Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, dois projetos urbanísticos" - Fábio José Martins de Souza.

- 2006 - O Chefe do PNI, Walter Behr, e o Coordenador de Pesquisa, Léo Nascimento, lançavam o Boletim N°12 -"Resumos de 24 pesquisas realizadas no Parna do Itatiaia".

- E, hoje, dia 15/novembro/2011, Walter Behr e Léo Nascimento, respectivamente, Chefe e Coordenador de Pesquisa do PNI lançam, em digital, a pesquisa realizada

nesta UC:

- "Caracterização de Ambientes com Potencial para Ocorrência de Carrapatos Transmissores de Agentes Patogênicos para Humanos" - Andrea Kill Silveira, aluna do Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias e Adevair Henrique da Fonseca, professor do Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

A tradição do Parque Nacional do Itatiaia, o primeiro do país (14/junho/1937), é mantida, ao longo desses 74 anos, preservando a natureza e reconhecendo e agradecendo seus cientistas, funcionários, gestores e os 100.000 visitantes/ano que frequentam sua mata atlântica e seus campos de altitude.

EM, 15/NOVEMBRO/2011

LÉO NASCIMENTO - COORDENADOR DE PESQUISA DO PNI.

WALTER BEHR - CHEFE DO PNI.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e, em especial, ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias e ao Departamento de Parasitologia Animal, por disponibilizarem recursos indispensáveis ao desenvolvimento deste projeto.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, pelas autorizações e apoio necessário para as coletas de ixodídeos, na Floresta Nacional Mário Xavier e no Parque Nacional do Itatiaia.

Ao Parque Nacional do Itatiaia, especialmente, ao Dr. Léo Nascimento, que incentivou e viabilizou a divulgação desta pesquisa, neste Boletim.

Ao Prof. Dr. Roberto de Xerez, coordenador do convênio entre a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e o Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia, que, com muita tranquilidade, viabilizou a realização das coletas.

Ao Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia da Marinha do Brasil e ao Depósito Central de Munição do Exército Brasileiro, pelas autorizações e apoio às coletas de

ixodídeos.

À professora Maria Júlia Salim Pereira, pela leitura crítica do manuscrito.

Ao Prof. Dr. Cláudio Lízias Mafra de Siqueira e à sua equipe, Thiago Malta, Higo Nasser e Nayra Fernandes Santos, que colaboraram na análise molecular dos ixodídeos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de Mestrado.

RESUMO

As atividades antrópicas podem modificar o ambiente e propiciar a interação entre animais domésticos, silvestres e humanos, assim, facilitando a dispersão de carrapatos e patógenos. Este estudo teve como objetivos a identificação da fauna de carrapatos ixodídeos coletados em diferentes ambientes e conhecer sua distribuição temporal e por armadilhas, além da detecção da presença de *Rickettsia* spp. nos carrapatos e a caracterização descritiva dos ambientes de ocorrência de *Rickettsia* spp. e carrapatos. Foram realizadas quatro coletas em cinco áreas, no estado do Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e Floresta Nacional Mário Xavier (FLONA), ambas no município de Seropédica; Parque Nacional do Itatiaia (PNI), em Itatiaia; Depósito Central de Munição (DCMun), em Paracambi; e Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia (CAIM), município de Mangaratiba. Carrapatos foram coletados em seis pontos amostrais, em cada uma das áreas. Nas coletas, foram utilizados arrasto de flanela, armadilha química de CO₂ e catação manual sobre as vestimentas e corpos dos pesquisadores. Os carrapatos

coletados foram identificados e submetidos a PCR e a nested-PCR, utilizando os iniciadores 17k-5, 17k-3, 17kD2 e 17kD1. Foram coletados 5.464 ixodídeos, sendo 2.313 na UFRRJ, 1.614 no CAIM, 1.039 no DCMun, 493 na FLONA e apenas 5 no PNI. Do total de carrapatos coletados, 4.268 foram identificados como larvas e 790 como ninfas de *Amblyomma* spp. Os adultos foram identificados como *Amblyomma cajennense* (92) capturados em todas as áreas, exceto no PNI. *Amblyomma brasiliense* (3) foram coletados apenas no PNI e *Amblyomma dubitatum* (1) na FLONA. Também, foram recuperadas 247 larvas de *Rhipicephalus microplus* na FLONA e 63 no DCMUN. A abundância de carrapatos do gênero *Amblyomma* e da espécie *A. cajennense* aumentou com a elevação do grau de atividade humana. A presença da espécie *R. microplus* esteve associada à presença de seus hospedeiros principais, que são os bovinos. A espécie *A. dubitatum* foi coletada em área de reflorestamento e com atividades constantes de capivara. Em área com pouca pressão antrópica, só foi recuperado *A. brasiliense*. O padrão de distribuição dos estádios evolutivos coletados está dentro do esperado para os carrapatos encontrados, sendo que as pequenas diferenças podem ser em

decorrência da frequência de coleta. Entre as cinco áreas pesquisadas, nas duas áreas militares, foram encontrados carrapatos positivos para *Rickettsia* spp. A presença de riquetsia em ecossistemas de interação entre animais domésticos, silvestres e humanos indica a necessidade da continuação e intensificação de estudos desta natureza e que medidas de profilaxia e controle sejam incorporadas nas atividades de rotina dos agentes de saúde das unidades militares.

Palavras-chave: Ixodídeos, Ecossistemas, *Rickettsia*.

ABSTRACT

Human activities can change the environment and increase the interaction among domestic animals, wildlife and humans allowing the dispersal of ticks and pathogens. This study aimed to characterize the tick fauna collected in environments with different degrees of human activity and the presence of *Rickettsia* spp. in these ticks, as well as characterize the environment profile and the distribution of the ixodids and rickettsiae. The work was developed in five areas of the Rio de Janeiro state: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Floresta Nacional Mário Xavier (FLONA), both in the Seropédica municipality, Parque Nacional do Itatiaia (PNI), in Itatiaia municipality, Depósito Central de Munição (DCMun) in Paracambi municipality, and the Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia (CAIM), in Mangaratiba municipality. Ticks were collected in six sites of each area. Collection was performed using drag sampling, CO₂-baited traps and manual collecting on the researcher clothes and body. The ticks collected were identified and submitted to PCR and nested-PCR utilizing primers 17k-5 and 17k-3, 17kD2 and 17kD1. Thus, 5,464 ticks were collected, being 2,313 in UFRRJ, 1,614 in CAIM, 1,039 in DCMun, 493 in FLONA and only 5 in PNI. Of the total number of ticks collected 4,268 were identified as larvae and 790 as

nymphs of *Amblyomma* spp. The adults were identified as *Amblyomma cajennense* (92) captured in all areas, except in PNI. *Amblyomma brasiliense* (3) were collected only in PNI and *Amblyomma dubitatum* (1) only in FLONA. Were also recovered 247 larvae of *Rhipicephalus microplus* in FLONA and 63 in DCMUN. The abundance of ticks of the genera *Amblyomma* and of the species *A. cajennense* increased in areas with high human activity. The presence of *R. microplus* was associated to the presence of bovines, its principal host. The species *A. dubitatum* was recovered in reforestation with capybaras activity, while *A. brasiliense* was found in areas under low anthropic pressure. The distribution pattern of developmental stages of the captured ticks was as expected, and the little differences may be due to the limited frequency of collection. Of the five sites studied, two military areas presented ticks positives for *Rickettsia* spp. The presence of *Rickettsia* in ticks collected in the ecosystem where occurred interaction among livestock, wildlife and humans indicates the need for continuation and intensification of studies of this nature and that prevention measures and control must be incorporated in the routine activities of health workers in military units.

Key Words: Ticks, Ecosystems, *Rickettsia*.

LISTA DE ABREVIACÕES

UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
PESAGRO	Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro
FLONA	Floresta Nacional Mário Xavier
PNI	Parque Nacional do Itatiaia
DCMun	Depósito Central de Munição
CAIM	Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
CO ₂	Gás carbônico
C ₃ H ₆ O ₃	Ácido láctico
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
NaCl	Cloreto de sódio
Tris-HCL	Tampão de lise
EDTA	Ácido etileno-diamino-tetracético
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pb	Pares de bases
FMB	Febre Maculosa Brasileira
IFI	Imunofluorescência indireta
kDa	Kilodalton
gltA	Gene citrato cintase
OmpA	Outer protein membrane

OmpB	Outer protein membrane
g	Força gravitacional
GFM	Grupo da Febre Maculosa
UTM	Projeção Universal Transversal de Mercator

SUMÁRIO

	Pág
INTRODUÇÃO.....	1
Alterações Ambientais e as Doenças Infecciosas.....	2
Carrapatos e Aspectos Ecológicos.....	4
Riquetsias e Febre Maculosa Brasileira.....	12
Diagnóstico e Detecção de Riquetsias.....	16
MATERIAL E MÉTODOS.....	19
Caracterização das Áreas de Coleta.....	21
Coleta e Identificação dos Ixodídeos.....	26
Extração de DNA.....	32
Amplificação de DNA por PCR para Identificação da Presença de <i>Rickettsia</i> spp.....	34
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
Distribuição de Carrapatos por Área Amostral.....	35
Distribuição de Carrapatos por Estação do Ano.....	65
Distribuição de Carrapatos por Armadilha.....	67
Biologia Molecular.....	70
CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Armadilha química de CO ₂ modificada de Cançcado et al. (2008).....	28
Figura 2. Esquema representativo do arrasto de flanela sobre a vegetação.....	30
Figura 3. <i>Amblyomma cajennense</i> , face dorsal, a. macho, b. fêmea.....	37
Figura 4. <i>Amblyomma brasiliense</i> , face dorsal, a. macho, b. fêmea.....	38
Figura 5. <i>Amblyomma dubitatum</i> , fêmea, a. face dorsal, b. face ventral.....	39
Figura 6. Vista parcial da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, do Campus de Seropédica, RJ. Em destaque os pontos de coletas.....	39
Figura 7. Vista parcial da Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica, RJ. Em destaque os pontos de coletas.....	44
Figura 8. Vista parcial do Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia, RJ. Em destaque os pontos de coletas.....	49
Figura 9. Vista parcial do Depósito Central de Munições do Exército Brasileiro, Paracambi, RJ. Em destaque os pontos de coletas.....	53
Figura 10. Vista parcial do Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia da Marinha do Brasil, Mangaratiba, RJ. Em destaque os pontos de coletas.....	58
Figura 11. Número de ixodídeos, por estágio de desenvolvimento e estação do ano, coletados	

em cinco áreas, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro..... 66

Figura 12. Número de ixodídeos por armadilha e estágio de desenvolvimento, coletados em cinco áreas, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.. 68

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado nas cinco áreas, entre outubro de 2008 e agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.....	36
Tabela 2. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.....	41
Tabela 3. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ, no período de dezembro de 2008 a junho de 2009.....	45
Tabela 4. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado no Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia-RJ, no período outubro de 2008 a agosto de 2009.....	50
Tabela 5. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na área do Depósito Central de Munição, Paracambi-RJ, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.....	54
Tabela 6. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na área do Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia, Mangaratiba-RJ, no período de dezembro de 2008 a agosto de 2009.....	59

INTRODUÇÃO

A expansão humana causa alterações importantes nas comunidades biológicas, pois a exploração dos recursos naturais gera fragmentação de hábitat e mudanças profundas nos padrões físicos, biológicos e químicos do ambiente. Mudanças climáticas, perda da diversidade biológica com extinção de espécies e mudanças nas interações tróficas são alguns exemplos de interferência humana. Além dos problemas ambientais, a expansão humana vem acompanhada de problemas socioeconômicos, como a inadequada distribuição de renda, desemprego e fome. Tais fatos podem aumentar o número de indivíduos suscetíveis a determinadas infecções.

Nesse quadro de mudanças, algumas doenças infecciosas tiveram sua emergência e reemergência. Também, surgiram novos patógenos e vetores, e hospedeiros tornaram-se mais suscetíveis. Nesse contexto, os carrapatos, pela importância como vetores de microrganismos, incluindo protozoários, bactérias e vírus, cada vez mais, oferecem riscos, especialmente, pelo aumento do contingente humano em contato com a natureza, em atividades de caráter ocupacional e de lazer. Isso leva os humanos a uma interação direta com o ambiente, possibilitando a infestação por carrapatos e, conseqüentemente, a infecção por agentes patogênicos, potencialmente veiculados

por estes ixodídeos.

Alterações Ambientais e as Doenças Infecciosas

A evolução tecnológica dos conceitos ambientais e de vida tem propiciado mudanças e ampliado a forma de contato entre as populações de vetores, humanos e de animais domésticos e silvestres, dessa maneira, facilitando a dispersão de agentes patogênicos entre o gradiente urbano, periurbano e rural (BRADLEY; ALTIZER, 2006).

As alterações ambientais podem modificar o balanço entre predadores, competidores e presas e ajudar na manutenção de pragas e patógenos, com isso, contribuindo para o surgimento e ressurgimento de surtos de algumas doenças infecciosas. Pequenas mudanças na composição dos diversos cenários da natureza interferem na interação patógeno-hospedeiro e, conseqüentemente, trazem impactos para saúde e para a economia global (EPSTEIN, 2005; ZESSIN, 2006; CARVER et al., 2010).

Entre 1940 e 2004, foi reportado aumento na emergência de 335 doenças infecciosas. Esse evento está relacionado à exacerbação de cepas de patógenos resistentes, ao aparecimento de novos patógenos e também ao aumento na incidência de alguns patógenos, bem-estabelecidos em determinada população

e local. O perfil dessas enfermidades pode ser caracterizado como, principalmente, de origem zoonótica, geralmente, associado a animais silvestres e transmissão por vetores. Além disso, em sua maioria, são enfermidades causadas por bactérias (JONES et al., 2008).

Nas últimas décadas, tem aumentado muito a incidência de doenças transmitidas por vetores, tanto nas regiões tropicais quanto nas regiões temperadas. Provavelmente, as alterações na temperatura são fatores fundamentais que interferem na dinâmica das enfermidades mediadas por vetores. As dinâmicas temporal e espacial de patógenos, vetores e hospedeiros sofrem influência direta das mudanças climáticas que estão ocorrendo. Exemplo disso é o aumento da temperatura, que pode diminuir o tempo de incubação de agentes patogênicos transmitidos por artrópodes. No caso dos carrapatos, o tempo de desenvolvimento dos estádios de vida livre pode ser diminuído, reduzindo o período necessário para completar uma geração (RANDOLPH, 2004a).

Para entender a ecologia de vetores e hospedeiros de agentes de doenças infecciosas é necessário fazer uma análise integrada das interações entre as mudanças nos ecossistemas e clima, uso da terra e do comportamento humano (LAMBIN et al., 2010; VANWAMBEKE et al., 2010).

Carrapatos e Aspectos Ecológicos

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos nos estádios de vida pós-embrionários que parasitam uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo espécies de anfíbios, répteis, aves e mamíferos e estão distribuídos por todos os continentes (BARROS-BATTESTI et al., 2006). Além de atuar como vetores de agentes patogênicos, tais como protozoários, vírus, bactérias e fungos, os carrapatos exercem diversos efeitos deletérios ao organismo do hospedeiro. Tais efeitos podem ser diretos, causados pelo hematofagismo ou pela inoculação de toxinas, ainda, podendo ocasionar reações inflamatórias e/ou alérgicas; ou indiretos, sucedendo-se os mais importantes na pecuária, então, provocando perdas econômicas advindas da depreciação do couro e da diminuição da produção animal (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

O ciclo de vida dos carrapatos pertencentes à família Ixodidae compreende quatro estádios evolutivos, sendo: ovo, larva, ninfa e adultos, machos e fêmeas, necessitando, entre cada mudança de estágio evolutivo, a realização de repasto sanguíneo, o qual pode variar na duração, entre horas ou dias. Nos carrapatos com mais de um hospedeiro, em geral, após o

repasto sanguíneo, o carrapato ingurgitado cai ao solo e sofre a ecdise. Frequentemente, são necessários três hospedeiros para realização do ciclo de vida, mas algumas espécies utilizam dois ou apenas um hospedeiro. No caso dos carrapatos com um hospedeiro, a alimentação e as mudas ocorrem sobre o hospedeiro, com a fêmea caindo ao solo para realizar a oviposição (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006).

Os fatores de destaque no ciclo de vida dos carrapatos são os relacionados à estrutura do hábitat, ao clima e à disponibilidade de hospedeiros. Estudos discutem as interações dos ixodídeos com o ambiente e suas relações com os hospedeiros, evidenciando a dependência mútua. As características biológicas de cada espécie dependem desses fatores e de como ocorrem as interações entre os mesmos (ESTRADA-PEÑA, 2003; RANDOLPH, 2004b, ENNEN; QUALLS, 2011).

No Brasil, Dantas-Torres et al. (2009) relacionam 61 espécies de carrapatos, distribuídas em nove gêneros: *Ixodes*, *Ornithodoros*, *Haemaphysalis*, *Antricola*, *Argas*, *Carios*, *Dermacentor* e *Rhipicephalus*. Tendo o gênero *Amblyomma* 30 espécies descritas.

A espécie *Amblyomma cajennense* é conhecida popularmente, no Brasil, como carrapato-estrela ou carrapato-

rodoleiro na fase adulta e micuim na fase larval. As ninfas são chamadas de carrapatinho (ARAGÃO, 1936). Possui baixa especificidade nas fases imaturas, parasitando diversas espécies de animais domésticos e silvestres, bem como os humanos. Na fase adulta, tem preferência por animais de médio e grande porte, como equinos, bovinos, antas e capivaras (GUGLIELMONE et al., 2006).

Amblyomma brasiliense foi descrito no Brasil, Argentina e Paraguai. Seu ciclo de vida é mantido principalmente em mamíferos silvestres, de pequeno e médio porte, como pacas, cutias e queixadas. Mas, nos estádios imaturos, foram encontrados parasitando animais domésticos e humanos (ONOFRIO et al., 2006; GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2006). Essa espécie é citada em áreas de mata do sul e sudeste brasileiro, já foi encontrada no Parque Nacional do Itatiaia, estado do Rio de Janeiro e, também, em outras áreas de proteção ambiental (GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2009, SABATINI et al., 2010).

A espécie *A. dubitatum* é encontrada no Brasil e Uruguai. É parasito de roedores silvestres, tem sido frequentemente observada parasitando capivaras e já foi também encontrada fixada em morcegos, antas, gambás e em humanos, podendo ser detectada em áreas de mata e locais abertos e antropizados

(ONOFRIO et al., 2006; PEREZ et al., 2008; SZABÓ et al., 2009).

Rhipicephalus microplus é uma espécie exótica, introduzida no Brasil e em outros países latino-americanos, como: Argentina, Bolívia, Colômbia, Venezuela e Peru, durante a colonização europeia, juntamente com bovinos, que são seus principais hospedeiros. Esta espécie foi encontrada parasitando cães, cavalos, cervídeos, capivaras, onças e humanos (FIGUEIREDO et al., 1999; LABRUNA et al., 2001; LABRUNA et al., 2005; GUGLIELMONE et al., 2006).

Em estudos sobre a ocorrência estacional e comportamento de ixodídeos em pastagens, localizadas em áreas do município de Itaguaí, atualmente, pertencente ao município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, foi observado o padrão populacional típico da região sudeste do país, com uma geração por ano e com proporção maior de larvas de *A. cajennense* na época mais seca e fria do ano, sobretudo nos meses de julho e agosto (SOUZA; SERRA-FREIRE, 1994a). Souza e Serra-Freire (1994a) evidenciaram picos populacionais de ninfas de *A. cajennense* no inverno e na primavera, com preponderância em setembro e outubro, enquanto os adultos predominaram entre fevereiro e abril (verão e outono). Houve alta similaridade da dinâmica populacional de ixodídeos em estudo conduzido no

município de Paracambi-RJ, limítrofe à Seropédica (SOUZA; SERRA-FREIRE, 1994b).

No município de Pedreira, estado de São Paulo, *A. cajennense* coletados na vegetação apresentaram padrões sazonais com maior número de adultos durante o verão, com picos em fevereiro e março, de ninfas entre os meses de junho a setembro e de larvas em março e agosto (LEMOS, et al., 1997).

Em área pastejada por equinos, em Minas Gerais, *A. cajennense* apresenta a maior proporção de larvas entre os meses de abril a outubro, com pico populacional em maio; as ninfas foram encontradas em maior abundância entre junho a setembro, com picos em julho; e os adultos coletados em maior número de agosto a maio, com picos em janeiro e fevereiro (OLIVEIRA et al., 2000).

No estado de São Paulo, a dinâmica populacional de *A. cajennense*, sobre equinos, também, apresenta diferentes picos de atividade. Picos de larvas foram observados no período de abril a julho, registrando o maior número no mês de maio, não sendo observados no período de outubro a fevereiro. Alta abundância de ninfas foi registrada entre junho a outubro, no entanto não havendo registro entre janeiro e abril. Os adultos foram detectados durante todo o ano, com maior proporção entre outubro a março, sobretudo em fevereiro, com redução entre

abril e setembro (LABRUNA et al., 2002).

Portanto os estádios imaturos de *A. cajennense* ocorrem em maior abundância em períodos de menor precipitação e temperatura, já os adultos são verificados em épocas de maior temperatura e precipitação (LABRUNA et al., 2002; VERONEZ et al., 2010).

Em região de mata ciliar, em São Paulo, o pico de ocorrência de adultos de *A. dubitatum* é de agosto a fevereiro e de *A. cajennense* é de outubro a abril. As ninfas são mais abundantes de julho a dezembro, com larvas ocorrendo praticamente durante todos os meses do ano (SOUZA et al., 2006). Estes autores consideraram que o comportamento de distribuição das larvas esteve associado à coexistência das duas espécies em alta abundância, num mesmo local.

Em Piracicaba, no campus da Escola Superior Agronomia Luiz de Queiroz da Universidade de São Paulo, Perez et al. (2008) analisaram a prevalência e intensidade da infestação de carrapatos do gênero *Amblyomma* em 158 aves e 52 mamíferos. Os carrapatos adultos encontrados foram identificados como *A. cajennense* e *A. dubitatum*, que parasitavam capivaras e gambás. Os estádios imaturos foram encontrados em pequenos mamíferos e nas aves, mas os principais hospedeiros foram gambás, capivaras e urubus. Os

autores destacaram a importância dos gambás na dispersão destes carrapatos, tanto nos estádios imaturos quanto nos adultos, e observaram que os urubus podem ser úteis na distribuição dos estádios imaturos de *Amblyomma* spp. devido à sua grande capacidade de voo, o que pode facilitar a colonização desses carrapatos em diversas áreas.

Na Europa, o pico populacional de carrapatos *Ixodes hirsti*, parasitos de aves, varia com as condições climáticas e com a disponibilidade de hospedeiros. O pico de *I. hirsti* coincide com a época de alta umidade e com o período reprodutivo das aves, quando há um aumento populacional dos hospedeiros e também uma baixa no sistema imunológico, deixando estes animais mais susceptíveis à infestação por carrapatos (OOREBEEK; KLEINDORFER, 2008).

Em fazendas que têm como atividade principal a equinocultura, a presença de *A. cajennense* é significativamente maior naquelas que utilizam pastagens não-manejadas e com plantas arbustivas invasoras, em contraposição àquelas que utilizam rodízio de pastagens (LABRUNA et al., 2001). Os autores relataram também a presença de *R. microplus* em propriedades que utilizam pastagens simultâneas para bovinos e equinos.

No Pantanal do estado do Mato Grosso do Sul, a

distribuição espacial e o impacto de fazendas de gado sobre carrapatos foram estudados por Cançado et al. (2008), que observaram mais abundância de *A. cajennense* em área de pasto em comparação com a área de proteção ambiental. Os autores consideram que atividades antrópicas naquele bioma podem favorecer o aumento populacional de carrapatos, principalmente, da espécie *A. cajennense*. Além disso, consideram que as alterações microclimáticas, como mudanças na temperatura e umidade, podem influenciar indiretamente a população de hospedeiros e de predadores naturais, favorecendo o aumento populacional dos ixodídeos. Neste sentido, Szabó et al. (2009) afirmam que a abundância de carrapatos está diretamente relacionada à de seus hospedeiros.

Os aspectos ecológicos de carrapatos, em fase de vida livre, foram estudados por Szabó et al. (2009). Esses pesquisadores descreveram diversas características comportamentais de ixodídeos coletados em trilhas de uma área de proteção ambiental no bioma Mata Atlântica, na região sudeste do estado de São Paulo. Eles relataram, por observação *in loco*, que a maioria dos carrapatos *Amblyomma* spp. e *Haemaphysalis juxtakochi* aguardam pelo hospedeiro sobre a vegetação, predominantemente, na altura de 30-50cm em relação ao solo. Verificaram, também, que a presença de *A.*

cajennense esteve associada apenas a locais que sofreram maior pressão antrópica, normalmente, em áreas descampadas e com menor diversidade de espécies vegetais. Além disso, apresentaram evidências de que a espécie *A. brasiliense*, encontrada predominantemente nas trilhas, está relacionada ao hospedeiro queixada e outros mamíferos silvestres, enquanto a espécie *A. dubitatum* está frequentemente presente nas áreas modificadas, provavelmente, associadas à presença de capivaras. Ademais, registraram seis espécies de *Amblyomma* coletadas sobre a vegetação ou por meio de armadilhas de CO₂, nas trilhas estudadas, identificando pelo menos 20 espécies de mamíferos de médio e grande porte, além de aves e répteis.

Amblyomma cajennense e outras espécies de carrapatos são responsáveis por transmitir vários agentes causadores de enfermidades, entre elas, as riquetsioses, que são doenças causadas por bactérias gram-negativas, obrigatoriamente, intracelulares, da família Rickettsiaceae, que é composta pelos gêneros, *Rickettsia*, *Orientia*, *Coxiella*, *Bartonella*, *Ehrlichia* e *Anaplasma* (SCOLA; RAOULT, 1997).

Riquetsias e Febre Maculosa Brasileira

As espécies do gênero *Rickettsia* são cosmopolitas e

causam agravo à saúde humana, sendo mantidas na natureza por artrópodes e por vertebrados amplificadores, podendo se apresentar em focos endêmicos, surtos esporádicos e sazonais e, ainda, na forma epidêmica (PAROLA; RAOULT, 2001).

Estes microrganismos são divididos em dois grupos, considerando a patogenicidade e algumas características fenotípicas. O grupo do Tifo (GT), que é composto pelas espécies *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, cujos vetores são o piolho humano e pulgas, respectivamente. Também o grupo da Febre Maculosa (GFM), que inclui as espécies *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia africae*, *Rickettsia honei*, *Rickettsia japonica*, *Rickettsia australis*, *Rickettsia felis* e *Rickettsia akari*, que está associado principalmente a carrapatos e, no caso das duas últimas espécies, a pulgas e pequenos ácaros, respectivamente. As espécies *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis* divergem de ambos os grupos (FOURNIER; RAOULT, 2009).

A febre maculosa é uma enfermidade de caráter endêmico, febril e aguda, com casos relatados no Brasil, no oeste do Canadá, Colômbia, Costa Rica, Estados Unidos, México e Panamá. No Brasil, o agente etiológico mais importante é a espécie *R. rickettsii*. Esta é transmitida pela picada de carrapatos ixodídeos, principalmente *A. cajennense*.

Os carrapatos são considerados reservatórios, uma vez que são capazes de manter e repassar a infecção entre os estádios evolutivos, além de transmitirem o agente para diversos animais vertebrados, sendo o homem um hospedeiro acidental (RAOULT; ROUX, 1997; COSTA et al., 2002; GALVÃO et al., 2005).

Na América Latina, a incidência da Febre Maculosa aumentou nos últimos 20 anos. No Brasil, a febre maculosa, aqui denominada febre maculosa brasileira (FMB), foi diagnosticada pela primeira vez, no final da década de 1920, com casos em São Paulo e outros estados do sudeste. Entretanto, após um longo período sem relatos clínicos ou laboratoriais, novos casos voltaram a ser descritos no estado de Minas Gerais, na década de 80. Possivelmente, a doença retornou devido à invasão dos focos naturais e sua disseminação ocorreu em razão de ações antrópicas, modificando a estrutura de ambientes naturais (SILVA; GALVÃO, 2004).

Entre 2007 e 2010, foram confirmados 434 casos de FMB, distribuídos por 14 estados brasileiros de todas as regiões. O maior número está no Sudeste e Sul, com 67% e 31%, respectivamente. No estado do Rio de Janeiro, 18 municípios têm casos confirmados neste período, Itaperuna, Barra do Piraí, Japeri, Petrópolis, Piraí, Parati, Nova Friburgo, Angra dos Reis,

Valença e a própria capital são alguns exemplos (BRASIL, 2009). Este número pode ser maior pela provável existência de subnotificações.

A ocorrência de FMB em humanos está condicionada à coexistência entre ixodídeos reservatórios e hospedeiros vertebrados, incluindo animais domésticos e silvestres. Os equinos e os cães estão próximos do homem e de áreas naturais, assim, desempenhando um papel importante na cadeia epidemiológica da FMB, por conseguinte, podendo atuar como sentinelas na vigilância epidemiológica desta doença (CARDOSO et al., 2006). Em inquérito sorológico realizado no ano de 1992, no município de Caratinga-MG, 53% dos equinos, 25% dos cães e 2% de humanos apresentavam sorologia positiva para *R. rickettsii* (GALVÃO, 1996). Em escolares no município de Novo Cruzeiro-MG, dos alunos investigados, 10% foram sororreativo para *R. rickettsii* (GALVÃO et al., 2002).

Diversos mamíferos auxiliam na manutenção do ciclo da doença, participando como hospedeiros primários ou acidentais. Admite-se que capivaras e gambás tenham grande importância no ciclo silvestre das riquetsias e que sejam o elo entre os ciclos enzoótico e zoonótico da doença (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004; HORTA et al., 2009). No ambiente silvestre, as capivaras podem desempenhar um papel importante

na transmissão das riquétsias, pois apresentam sorologias positivas, podendo atuar como hospedeiros amplificadores da população de carrapatos (SOUZA et al., 2009).

Recentemente, Pacheco et al. (2011) indicaram *Rhipicephalus sanguineus* como o potencial transmissor de *R. rickettsii* para humanos. Os autores coletaram carrapatos de cães e verificaram, pela técnica de PCR, que 13,1% dos carrapatos estavam infectados pela bactéria.

A importância do contato com animais silvestres, principalmente, mamíferos como as capivaras e veados que vivem próximos a bovinos, equinos e cães, compartilhando com estes as mesmas espécies, foi destacada por Figueiredo et al. (1999) devido à possibilidade do elo de transmissão zoonótica.

Angerami et al. (2006) alertaram sobre a importância das capivaras e de animais domésticos, cães e equinos como reservatórios de carrapatos e na epidemiologia da FMB. Esses autores relataram que, no estado de São Paulo, o processo de urbanização e o aumento da exposição aos carrapatos por meio de atividades de recreação têm levado ao aumento de casos de FMB em todos os grupos etários.

Diagnóstico e Detecção de Riquétsias

O diagnóstico laboratorial de enfermidades ocasionadas por riquetsias, por exemplo, a FMB, pode ser realizado por imunofluorescência indireta (IFI), imunohistoquímica, isolamento microbiológico e pela reação em cadeia da polimerase (PCR). No entanto os resultados da IFI devem ser interpretados dentro de um contexto clínico e epidemiológico, uma vez que o resultado positivo na ausência de quadro clínico pode ser devido a outras riquetsias não-patogênicas, sendo, portanto, produto de reação cruzada (BRASIL, 2010).

A detecção de riquetsias nos artrópodes é de grande importância epidemiológica, bem como para a elaboração de estratégias de controle. Esta detecção pode ser realizada com o uso de ferramentas moleculares, como a PCR, por meio de iniciadores oligonucleotídeos específicos promovendo a identificação de riquetsias patogênicas em hospedeiros infectados. Um gene de interesse neste tipo de estudo é o gene *htrA* codificador de um antígeno de 17 kilodalton (17-kDa), que é uma proteína de superfície comum às riquetsias do grupo do tifo e da febre maculosa (ANDERSON et al., 1987; AZAD et al., 1990; WEBB et al., 1990). Além deste, outros genes também podem ser utilizados, tais como o *gltA*, *ompA* e *ompB* (LABRUNA et al., 2004).

No Brasil, a identificação molecular de *R. rickettsii* foi

procedida em *A. cajennense*, coletados em pastagens e em equinos (GUEDES et al., 2005; CARDOSO et al., 2006), em *R. sanguineus* coletados em cães (CUNHA et al., 2009; PACHECO et al., 2011), *Haemaphysalis leporispalustris* alimentados em coelhos (FREITAS et al., 2009). Experimentalmente, Souza et al. (2009) comprovaram que capivaras atuam como hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* para *A. cajennense*.

Outras espécies de riquetsias identificadas em carrapatos foram: *Rickettsia rhipicephali* em *Haemaphysalis juxtakochi* coletados na vegetação de Mata Atlântica e em cervos (LABRUNA et al., 2007). *Rickettsia bellii* foi encontrada em *Amblyomma ovale*, *Amblyomma scapturatum* e *Amblyomma oblongoguttatum*, *Amblyomma incisum* coletados sobre a vegetação (LABRUNA et al., 2004; SABATINI et al., 2010), em *A. cajennense* e *A. dubitatum* recuperados da vegetação (ESTRADA et al., 2006) e, também, em *Ixodes loricatus* e *A. dubitatum* coletados de gambás (HORTA et al., 2007). A presença de *Rickettsia felis* foi verificada em *R. sanguineus* coletados no ambiente, em cães e equinos (CARDOSO et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2008) e em *A. cajennense* coletados em equinos (CARDOSO et al., 2006).

O risco para a saúde humana está diretamente relacionado a diversos fatores, como o grau de inter-relação do

homem com o ambiente, animais domésticos e silvestres, artrópodes e patógenos, passando pela elaboração e adoção de medidas profiláticas e de controle, mediante adequado conhecimento da epidemiologia dos agentes envolvidos no processo saúde e doença das populações.

A identificação das espécies de ixodídeos e dos agentes patogênicos transmitidos, bem como a caracterização dos ambientes de interação entre humanos, animais domésticos, silvestres e carrapatos, é um requisito importante para a adoção de medidas de profilaxia e controle de zoonoses.

Neste sentido, este estudo teve como objetivos a identificação da fauna de carrapatos ixodídeos coletados em diferentes ambientes e conhecer sua distribuição temporal e por armadilhas. Teve ainda como objetivo a detecção da presença de *Rickettsia* spp. nos carrapatos e a caracterização descritiva dos ambientes de ocorrência de *Rickettsia* spp. e carrapatos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em cinco áreas amostrais, a saber: área 1 - Campus da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(Embrapa)/Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO); Área 2 - Floresta Nacional Mário Xavier (FLONA); Área 3 - Parque Nacional do Itatiaia (PNI); Área 4 - Depósito Central de Munição do Exército Brasileiro (DCMun); Área 5 - Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia da Marinha do Brasil (CAIM).

As atividades de identificação e preparação dos lotes de ixodídeos foram desenvolvidas no Laboratório de Ixodologia, os carrapatos foram armazenados em *freezer* -20°C, no Laboratório Multiusuário de Biologia Molecular, ambos os laboratórios pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Parasitologia e Epidemiologia Molecular do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, estado de Minas Gerais.

As coletas no Parque Nacional do Itatiaia e na Floresta Nacional Mario Xavier foram autorizadas pelo SISBIO: 16622-1, emitido em 22/07/2008. As atividades nas áreas militares, Marinha do Brasil e Exército Brasileiro foram autorizadas pelos seus respectivos comandos.

Caracterização das Áreas de Coleta

A caracterização das áreas e pontos amostrais foi realizada por fotointerpretação e observação do ambiente.

Área 1 – Formada por área pertencente à UFRRJ/Embrapa/PESAGRO-RIO, localizada no Km 07 da BR 465, município de Seropédica. Nesta área, há circulação de alunos de graduação e pós-graduação, participantes de eventos, professores, pesquisadores, servidores destas instituições e seus familiares, integrantes das comunidades do entorno e fornecedores de serviços e produtos para estas instituições. As pessoas circulam, principalmente, nas vias pavimentadas e trilhas de terra batida que cortam as áreas gramadas.

A vegetação da área é secundária. As proximidades das vias e prédios principais são constituídas de grama, periodicamente aparada por roçadeira. As pastagens, em sua maioria, são nativas, os fragmentos de matas e capoeiras são constituídos por espécies nativas e introduzidas, e áreas de reflorestamento, com diferentes espécies de eucalipto. O solo predominante é do tipo latossolo e podzólico, sendo o relevo considerado como de planície litorânea (VELOSO et al., 1991).

Nestas instituições são manejados a campo, rebanhos de equinos, bovinos, caprinos e ovinos destinados a atividades de

pesquisa. Apesar de os animais serem manejados em áreas específicas, o contato entre as diversas espécies é frequente. Existe, ainda, confinamento de bovinos, aves e coelhos. Animais domésticos, como cães errantes, foram observados principalmente próximos aos prédios, bem como bovinos e equinos, presos ou soltos, pastejando nos gramados.

A fauna silvestre, observada durante as coletas, foi de aves diversas, além de capivaras e seus vestígios, fezes e pegadas, observadas próximo aos lagos Açú e Mirim, no Campus da UFRRJ.

A Área 2 – A FLONA, localiza-se às margens das BRs 465 e 116, no município de Seropédica-RJ. O crescimento dos núcleos urbanos do entorno e a construção do arco metropolitano do Rio de Janeiro, que divide a unidade, têm aumentado a ação antrópica sobre a mesma.

Diariamente, as vias que cortam a unidade são utilizadas pelos moradores do entorno para caminhadas, bem como para acesso ao Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) e Unidade do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA), que recebem e mantêm animais silvestres apreendidos em posses ilegais e os capturados em situações adversas.

As espécies vegetais mais encontradas nesta área são eucaliptos, sabiás e andirobas (FERNANDES et al., 2006). As

espécies animais observadas foram micos, capivaras e aves, além de animais domésticos como cães, gatos, bovinos e equinos, introduzidos pela população do entorno.

A Área 3 – O PNI, é uma área de proteção ambiental, localizada na Serra da Mantiqueira, divisa entre os estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais, nos municípios de Itatiaia e Resende, no Rio de Janeiro e Itamonte e Bocaina de Minas, em Minas Gerais.

O tipo de vegetação e a fauna encontrada no PNI variam de acordo com a altitude, pois a área apresenta relevo muito acidentado. Na parte baixa do Parque, que é a área com intensa atividade turística, a vegetação é típica da Mata Atlântica, em acentuado processo de recuperação. Intensa atividade de aves foi registrada durante as coletas, com marcante variação entre as estações do ano e pontos de coletas. Mamíferos silvestres: primatas, esquilos e quatis, assim como trilhas e rastro de paca, queixada e cateto foram registrados em diferentes locais próximos aos pontos de coleta. Na região do Planalto do Itatiaia, encontram-se os campos de altitude, com predominância de capim, arbustos, bambus e árvores de pequeno porte, estas, em geral, formando pequenos bosques nas encostas, onde estão as nascentes de pequenos cursos d'água que integram as bacias hidrográficas do rio Paraíba do Sul e do Rio Grande (SANTOS;

ZIKAN, 2000).

O PNI recebe cerca de 100.000 visitantes ao longo de todo o ano. A maioria dos visitantes é originária do estado do Rio de Janeiro, além de uma pequena parcela constituída por estrangeiros (MAGRO; VIEIRA, 2000).

A Área 4 – O DCMun, é cortada pela rodovia RJ-127, contornada pelo rio Ribeirão das Lages e por serras. A vegetação predominante é de mata secundária e pastagens. Nesta área, foram individuados, durante as coletas, animais domésticos, como cães, equinos, bovinos e também animais silvestres: capivaras e aves, além de trilhas e terra removida, sugestiva de atividade de tatus.

O DCMun tem um efetivo de militares de carreira que exerce atividades administrativas e de preparo, conservação e guarda de munições. Anualmente, recebe duas turmas de recrutas, as quais realizam atividades de treinamento militar nas áreas de pastagem e matas, bem como circulam diariamente em missão de patrulhamento. Além deste efetivo, regularmente, são realizadas atividades militares de outros batalhões envolvendo acampamento com treinamento em campo e missões encarregadas de transporte que frequentam a área dos paióis.

Os equinos são mantidos em piquetes de pastagem nativa com alta densidade de plantas arbustivas invasoras. Os equinos e

os cães, que permanecem em canis individuais, são utilizados na segurança do local, principalmente nas áreas dos paióis, onde, segundo relatos dos militares, há intensa atividade de capivaras nas vias de acesso.

A Área 5, – O CAIM, fica na península da Marambaia, no município de Mangaratiba, e é formada, a leste, por uma estreita faixa arenosa, com cerca de 40km de comprimento. A extremidade oeste da restinga é conhecida como Ilha da Marambaia, onde predomina encosta montanhosa. A face norte da restinga está voltada para a Baía de Sepetiba e sua face sul é banhada pelo Oceano Atlântico (MENEZES; ARAÚJO, 2005). O fitossistema da Marambaia tem estrutura complexa, com características de manguezais, restinga e floresta atlântica de encosta (CONDE et al., 2005).

Atualmente, a população humana nativa da Ilha da Marambaia é de cerca de 400 pessoas, que habitam a face norte e oeste, cuja atividade principal é a pesca artesanal. Nas proximidades das residências, existem cultivos de subsistência, tais como bananeiras, cana, mandioca e frutíferas. Nas instalações da Marinha, residem militares e seus familiares, além de uma população flutuante de militares, professores e prestadores de serviços que chegam pela manhã e retornam ao continente no final do expediente. Na área do CAIM, onde se

encontram as edificações e vias de circulação de viaturas, a vegetação é constituída por grama, periodicamente, aparada por roçadeira. Várias pesquisas científicas estão sendo desenvolvidas no CAIM, por meio de convênios com Universidades e Institutos de Pesquisa (CONDE et al., 2005), o local ainda recebe recrutas, que realizam atividades de treinamento militar nas áreas de restinga e encosta. Outras unidades da Marinha do Brasil e eventualmente de países sul-americanos usam a área para treinamento.

Rastros e trilhas e, às vezes, bandos de animais silvestres, como primatas, capivaras, pequenos mamíferos, aves e répteis, foram regularmente individuados, principalmente na área arenosa e encosta leste. Animais domésticos, em sua maioria, cães, equinos e aves, foram encontrados na região de ocupação humana. Equinos, presos ou soltos, são observados pastando nos gramados próximos às edificações.

Coleta e Identificação dos Ixodídeos

As coletas foram realizadas entre os meses de outubro de 2008 e agosto de 2009, sendo quatro coletas de ixodídeos, uma em cada estação do ano. Em cada área, seis pontos amostrais foram escolhidos, considerando características como: presença

de humanos e animais domésticos e/ou silvestres. Foram utilizadas três técnicas diferentes de recuperação de carrapatos do ambiente, conforme descrito a seguir.

A armadilha química de CO₂, descrita por Cançado et al. (2008), com modificações adotadas para este estudo, tem como princípio a atração de carrapatos pelo CO₂, que é produzido pela reação de ácido láctico (C₃H₆O₃), diluído a 20% com carbonato de cálcio PA (CaCO₃). As modificações da armadilha deram-se, fundamentalmente, no sistema de gotejamento, que objetivou aumentar a precisão no fluxo do ácido láctico. Para isso, utilizou-se um equipo para infusões endovenosas e um frasco de acondicionamento de soro hospitalar. Também houve modificações no tamanho do recipiente utilizado para acondicionar o CaCO₃ (Figura 1).

A armadilha constitui-se de um recipiente plástico, redondo, com tampa e capacidade de 1500ml. Nas laterais do pote, foram feitas 11 aberturas circulares de 5,0mm de diâmetro, com 4,5cm de distância entre si e a 1,0cm da borda superior, para a liberação do CO₂. Na tampa, foram feitas duas aberturas similares para a introdução do conector macho do equipo, sendo uma no centro e outra deslocada a aproximadamente 6,0cm deste.

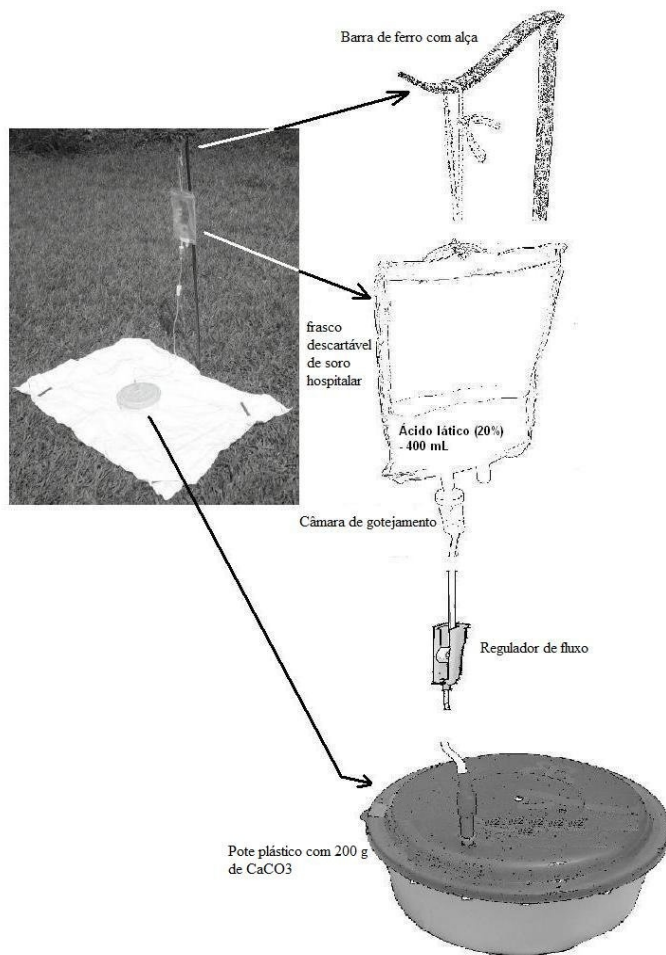


Figura 1. Armadilha química de CO_2 modificada de Cançado et al. (2008).

Para o sistema de gotejamento do ácido láctico, foi usado um frasco descartável de soro hospitalar, com capacidade de 500ml e um equipo para infusões endovenosas, com regulador de fluxo e câmara de gotejamento. Para introduzir o ácido láctico no frasco de soro foi utilizado um funil com diâmetro adequado.

Como suporte para o frasco com ácido láctico, utilizou-se uma barra de ferro com $\frac{1}{2}$ polegada de diâmetro e 1,2m de comprimento, com uma das extremidades pontiaguda, para facilitar a fixação ao solo e a outra, superior, provida de alça.

O recipiente plástico com CaCO_3 foi colocado sobre uma flanela branca de $1,0\text{m}^2$, estendida sobre o solo, junto ao suporte do frasco com ácido láctico. Próximo às bordas da flanela, foi passada uma fita de dupla-face para retenção dos carrapatos. Para evitar o deslocamento da flanela, pesos foram colocados nas extremidades. A cada 15 minutos, a armadilha foi inspecionada, os carrapatos não aderidos à fita foram recolhidos para uma seringa hospitalar adaptada. A velocidade do fluxo de gotejamento foi ajustada quando necessário, e o ponto de gotejamento trocado a cada 15 minutos para permitir o consumo homogêneo e total do CaCO_3 .

Para cada coleta de duas horas foram utilizados 200g de CaCO_3 e 400ml de ácido láctico a 20%. O fluxo de gotejamento do ácido láctico foi de aproximadamente de 3,3ml/min.

Para a remoção mecânica das fases de vida livre da vegetação utilizou-se o arrasto de flanela, adaptado de Oliveira et al. (2000). Uma flanela branca de $1,0\text{m}^2$, com pesos nas extremidades, foi arrastada sobre a vegetação, onde estava a armadilha de CO_2 , e, imediatamente após a sua retirada, com uso de uma trena, foi delimitado um quadrado de $4 \times 4\text{m}$, no qual a flanela foi arrastada seguindo as linhas delimitadas e também nas duas diagonais, correspondendo a uma área de aproximadamente 28m^2 (Figura 2).

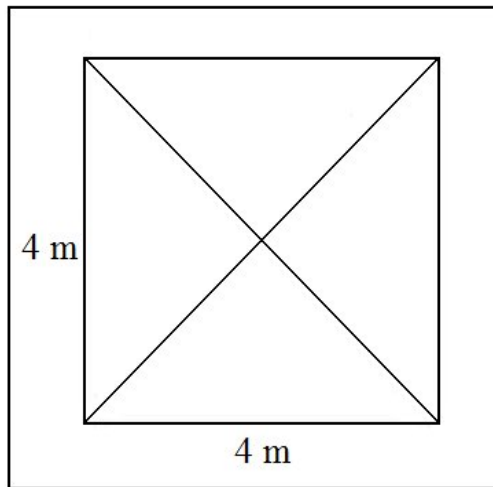


Figura 2. Esquema representativo do arrasto de flanela sobre a vegetação.

Os carrapatos recolhidos, por catação mecânica, sobre as

vestimentas e corpos dos pesquisadores que participaram das coletas, compuseram uma terceira amostra do ponto. Os componentes da equipe utilizaram roupas claras para facilitar a visualização dos carrapatos.

Os carrapatos visualizados nas armadilhas durante as atividades de campo foram colocados em seringas adaptadas, identificadas por área, ponto e data da coleta. As amostras de carrapatos coletadas das vestimentas e corpos dos pesquisadores, após transitarem por mais de um ponto, foram identificadas pela área.

Em pontos onde a vegetação era muito densa, não foi possível passar o arrasto de flanela, os carrapatos foram coletados apenas com a utilização do CO₂ e no pesquisador.

As flanelas utilizadas foram colocadas individualmente em sacos plásticos, identificados conforme área, local, data e tipo de armadilha, sendo, a seguir, lacrados e levados ao laboratório para retirada dos carrapatos.

Os carrapatos adultos foram identificados até espécie, com auxílio de microscópio estereoscópico, seguindo as descrições de Aragão e Fonseca (1961) e Barros-Battesti et al. (2006), e os estádios imaturos identificados até gênero. Os ixodídeos foram separados em lotes de acordo com a área, ponto, época de coleta e estágio evolutivo. As larvas foram

separadas em lotes de até, no máximo, 50 espécimes. As ninfas, em lotes, com, no máximo, 20; e adultos individualmente. Os lotes formados e identificados foram acondicionados em tubos tipo Eppendorf e congelados a -20 °C, até a extração de DNA.

Para a verificação da presença de *Rickettsia* spp., os carrapatos foram macerados e submetidos às técnicas de extração de DNA, PCR e eletroforese.

Extração de DNA

Para a extração de DNA foi utilizado o método de fenol/clorofórmio, seguindo os preceitos de Billings et al. (1998), com modificações. Essas modificações deram-se principalmente na lavagem dos carrapatos coletados, no tempo de incubação da proteinase K e nos tempos de centrifugação e força gravitacional.

Os lotes de carrapatos foram descongelados, lavados com água sanitária (2%) por 5 minutos, etanol (70%) por 5 minutos e, a seguir, com água ultrapura, duas vezes, por 5-10 minutos.

Após a remoção da água, adicionou-se, a cada amostra, 100µL de tampão de lise preparado na hora (NaCl 0,1 M, Tris-HCl 0,21 M ph 8,0, EDTA 0,05 M e SDS 0,5%), seguido de

maceração realizada com auxílio de uma ponteira descartável. Em seguida, foram incubados em banho-maria, a 37°C, por 30 minutos, homogeneizados e centrifugados a 4000g, durante 12 minutos, sendo o sobrenadante transferido para tubos novos, nos quais se adicionou 0,5µL proteinase K, incubando-se em banho-maria, por uma hora, a 56°C.

A purificação do DNA foi realizada com duas passagens sucessivas em 200µL de solução fenol: clorofórmio (1:1), seguida de uma passagem em 100µL de clorofórmio. A cada lavagem, as amostras foram centrifugadas por 12 minutos, a 4000g e o sobrenadante foi transferido para um tubo novo.

Para a precipitação do DNA foram adicionados 10µL de NaCl e 100µL de isopropanol, homogeneizando-se e mantendo-se a -20°C, por período mínimo de 12 horas.

Após a precipitação, as amostras foram retiradas do *freezer*, descongeladas à temperatura ambiente, centrifugadas a 4000g, por 15 minutos. Em seguida, a solução NaCl/Isopropanol foi removida, adicionando-se 200µL de álcool a 70%, cuidadosamente, sem ressuspender o precipitado, centrifugando-se a seguir a 4000g, por 12 minutos, para a remoção do álcool.

O sedimento obtido foi lentamente ressuspensionado em 30µL de água ultrapura, depois, congelado a -20°C, até a realização da PCR.

Amplificação de DNA por PCR para Identificação da Presença de *Rickettsia* spp.

As amostras de DNA anteriormente extraídas foram agrupadas com, no máximo, sete amostras. De cada amostra de DNA, foi retirada uma alíquota de 5µL de solução de DNA para a formação de grupos. Estes grupos foram submetidos à amplificação por meio da técnica de PCR, utilizando a metodologia descrita por Mullis et al. (1986). Quando o grupo apresentou bandas com pesos moleculares sugestivos de *Rickettsia* spp., este foi desmembrado e submetido novamente a PCR e eletroforese para a identificação da amostra positiva.

Na amplificação da porção de 549pb do gene *htrA*, foram utilizados os iniciadores 17k-5 e 17k-3, seguindo as condições descritas por Azad et al. (1990) e Webb et al. (1990). Nesta reação, o molde utilizado foi de 5µL de cada grupo de DNA. O produto da PCR foi congelado a -20°C, até a realização da eletroforese em gel agarose.

Para evidenciação da banda de 549pb, uma alíquota de cada produto amplificado foi submetida à eletroforese em gel de agarose a 1,2%, utilizando-se: brometo de etídeo, marcador de 100bp, 1,0µL de água ultrapura para o controle negativo e para

o controle positivo 1,0µL de DNA de *R. rickettsii* purificado. A visualização foi realizada em transiluminador e o registro fotográfico procedido por meio eletrônico.

As amostras negativas do produto da primeira amplificação foram reamplificadas utilizando os iniciadores 17k-D2 e 17k-D1 (AZAD et al., 1990; SCHRIEFER et al., 1994), que amplificam uma porção 434pb do gene *htrA*. Este método é uma PCR de maior sensibilidade (nested-PCR), uma vez que a porção 434pb é mais interna e, na segunda reação, utiliza-se como molde, além do DNA genômico da amostra, o produto amplificado na primeira reação. Nesta reação, o molde utilizado foi de 2µL do produto da primeira reação diluído pelo fator 10^{-1} .

O produto da nested-PCR foi congelado a -20°C , até a realização da eletroforese. Para a evidenciação da banda de 434pb, uma alíquota do produto amplificado foi submetida à eletroforese como descrito anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Distribuição de Carrapatos por Área Amostral

Ixodídeos foram coletados em todas as áreas, num total de 5.464 espécimes. Os carrapatos do gênero *Amblyomma* foram os mais abundantes, correspondendo a 94% (n= 5154), coletados em todos os estádios de desenvolvimento, sendo 83% de larvas, 15% ninfas e 2% adultos. Foram coletadas apenas 310 larvas de *R. microplus*, das quais, 80% na FLONA e 20% no DCMun. A UFRRJ teve o maior número de carrapatos coletados (42,3%) e o PNI o menor (0,1%) (Tabela 1).

Tabela 1. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado nas cinco áreas amostrais, entre outubro de 2008 e agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.

Áreas	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécie								Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	Ab_f	Ab_m	Ad_f	Rm_l	
UFRRJ	2034	257	8	14	0	0	0	0	2313
FLONA	82	156	2	5	0	0	1	247	493
PNI	0	2	0	0	2	1	0	0	5
DCMun	922	31	11	12	0	0	0	63	1039
CAIM	1230	344	24	16	0	0	0	0	1614
Total	4268	790	47	45	2	1	1	310	5464

UFRRJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; FLONA: Floresta Nacional Mário Xavier; PNI: Parque Nacional do Itatiaia; DCMun: Depósito Central de Munição; CAIM: Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia; A_l: larvas de *Amblyomma* spp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* spp.; Ac_f: fêmea *Amblyomma cajennense*; Ac_m: macho *Amblyomma cajennense*; Ab_f: fêmea *Amblyomma brasiliense*; Ab_m: macho *Amblyomma brasiliense*; Ad_f: fêmea *Amblyomma dubitatum*; Rm_l: larvas de *Rhipicephalus microplus*.

A maioria dos adultos (96%) foi identificada como A.

cajennense (Figura 3). Destes, 43% foram coletados na área do CAIM, 25% no DCMun, 24% na UFRRJ e 8% na FLONA. Espécime de *A. cajennense* não foi coletada no PNI. *Amblyomma brasiliense* (Figura 4) foi coletada apenas no PNI (3%), enquanto *Amblyomma dubitatum* (Figura 5), somente, na FLONA (1%). Das larvas de *Amblyomma* spp., 48% foram coletadas na UFRRJ, 29% no CAIM, 21% no DCMun e 2% na FLONA. Das ninfas coletadas, 43,5% foram no CAIM, 32,5% na UFRRJ, 19,8% na FLONA, 3,9% no DCMun e 0,3% no PNI.



Figura 3. *Amblyomma cajennense*, face dorsal, a. macho, b. Fêmea.

Na área 1 - UFRRJ (Figura 6), as coletas foram realizadas nos meses de dezembro de 2008, janeiro, maio e junho/julho de 2009, com recuperação de carrapatos em todos os

pontos amostrais (Tabela 2). Não foi possível identificar o ponto de coleta de 0,4% dos carrapatos, que foram recuperados das vestimentas/corpos dos pesquisadores, após transitarem por mais de um ponto.

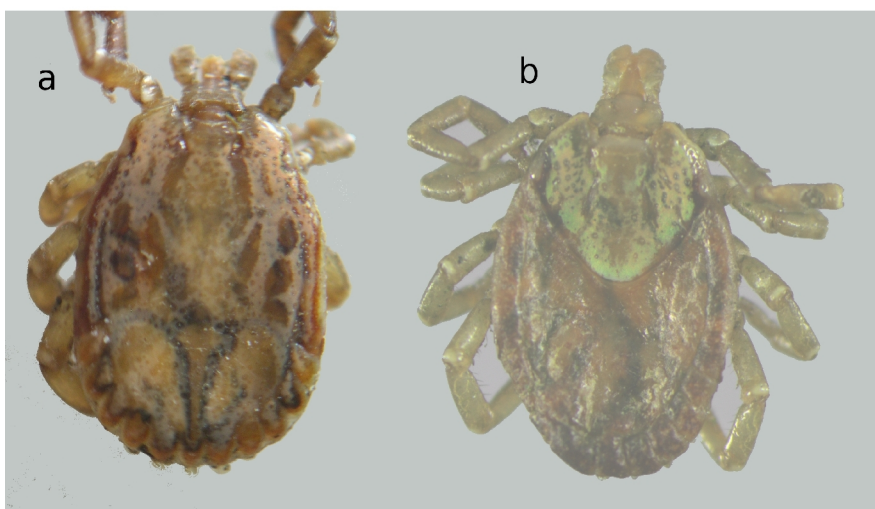


Figura 4. *Amblyomma brasiliense*, face dorsal, a. macho, b. fêmea.

O ponto 1 (campo de futebol localizado na projeção Universal Transversal de Mercator (UTM): Zona 23K, 7.482.270, 635.581, 51m de altitude), localiza-se nas proximidades das instalações da Embrapa-Agrobiologia e do bairro residencial Ecologia, no qual residem professores, pesquisadores e funcionários.

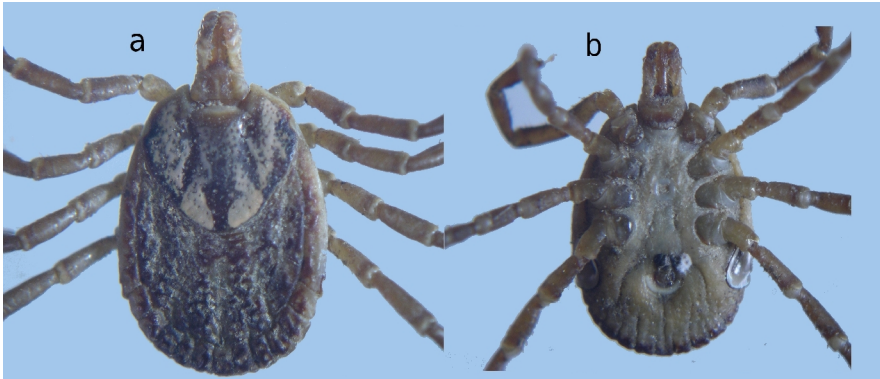


Figura 5. *Amblyomma dubitatum*, fêmea, a. face dorsal, b. face ventral.



Figura 6. Vista parcial da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, do Campus de Seropédica, RJ. Em destaque, os pontos de coletas.
Fonte: GOOGLE EARTH (2011).

Nas proximidades também estão o alojamento para alunos de Pós-graduação da UFRRJ e da escola Estadual Presidente Dutra. A população deste local utiliza a área para

recreação e para pastoreio de equinos, cuja cobertura vegetal predominante é de gramíneas. O campo é contornado por árvores que propiciam sombra durante as primeiras horas da manhã e no final da tarde. O ponto amostral está a aproximadamente 20 metros de um curso d'água e separado deste por vegetação secundária. O solo dessa área é argiloso e úmido, porém, durante as coletas, não foi constatado afloramento de água. No decurso das coletas, detectou-se a presença de fezes de equinos e a visualização de cães e equinos no ponto e entorno. Neste ponto, foram coletados 0,2% dos carrapatos da área UFRRJ, correspondendo a 0,1% das larvas de *Amblyomma* sp. e 14% dos machos de *A. cajennense*.

O ponto 2 (lago Embrapa, localizado UTM: Zona 23K, 7.482.338, 635.398, 38m de altitude), localiza-se nas margens (5m) de um lago que fica próximo aos prédios da EMBRAPA-Agrobiologia e à rua que dá acesso ao bairro Ecologia. O local é todo gramado e a área é descampada, com predominância de sol. Poucas árvores estão no entorno do lago e, nas proximidades, há um fragmento de vegetação secundária distante 50m do ponto. O solo é arenoso e seco, e o local é utilizado pelos residentes do entorno para o pastoreio de equinos. Durante as coletas, foram observadas a presença de fezes de equinos e a visualização de cães e equinos no ponto e no entorno. As atividades humanas

principais são de pesca e caminhadas de lazer. Apenas 0,1% dos carrapatos, da UFRRJ, foi coletado neste ponto, sendo 12% das fêmeas e 14% dos machos de *A. cajennense*.

Tabela 2. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécie				Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	
UFRRJ	2	7	0	0	9
Campo	2	0	0	2	4
Lago Embrapa	0	0	1	2	3
Lago Açú	0	3	0	1	4
Lago Mirim	2	3	0	0	5
FAIZ	1728	27	4	6	1765
Equino	300	217	3	3	523
Total	2034	257	8	14	2313

A_l: larvas de *Amblyomma* sp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* sp.; Ac_f: fêmeas *Amblyomma cajennense*; Ac_m: macho *Amblyomma cajennense*; UFRRJ: carrapatos recuperados sobre os corpos e vestimentas dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

O ponto 3 (lago Açú, nas coordenadas UTM: Zona 23K, 7482436, 634.269, 30m de altitude), nas proximidades do lago Açú (10m), o local e o entorno apresentam gramínea rasteira, com poucas espécies arbustivas ou arbóreas. Há um fragmento de vegetação secundária a aproximadamente 50 metros do ponto amostral. O solo neste ponto é arenoso e esteve úmido durante as coletas. Fezes de capivaras e equinos foram individuadas e

também a presença constante de cães e pessoas circulando no entorno. Observou-se também a presença intensa de aves. É uma área de lazer utilizada por moradores e estudantes, onde, eventualmente, é promovida uma temporada de pesca, pela UFRRJ. Dos carrapatos coletados na UFRRJ, 0,2% foram neste ponto, sendo 1% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 7% dos machos de *A. cajennense*.

O ponto 4 (lago Mirim, localização UTM: Zona 23K, 7.482.528, 634.434, 42m de altitude), fica nas proximidades (5m) do lago. O local e entorno do ponto possuíam gramínea baixa, com poucas espécies arbustivas ou arbóreas. O solo é arenoso e muito úmido, encharcado nas coletas de primavera, verão e outono. Durante as coletas, foram observadas pelo menos 15 capivaras, assim como a circulação de cães e humanos e intensa atividade de aves aquáticas. Neste ponto, foi coletado 0,2% dos carrapatos da área da UFRRJ, correspondendo a 0,1% das larvas e 1,2% das ninfas de *Amblyomma* sp., as quais foram coletadas no inverno, ocasião em que o solo do local apresentou-se seco.

O ponto 5 (FAIZ, localizado, UTM: Zona 23K, 7.482.390, 633.115, 30m de altitude) é um pasto localizado no setor de bovinocultura de leite da UFRRJ. O local é constantemente utilizado por equinos e eventualmente por

bovinos, que são introduzidos para pastorear por um ou dois dias. No ponto de coleta, predominava a vegetação composta por gramíneas mantidas baixa por pastejo dos equinos. No entorno, predominava capim, em geral, alto e pouca vegetação arbustiva. Aproximadamente 20 metros do ponto, há uma área alagada, com vegetação herbácea diversa e distante cerca de 150m de reflorestamento de eucaliptos. O solo é arenoso e seco. Trilhas de animais e pegadas de capivaras foram observadas somente na coleta da primavera de 2008. Neste ponto, foram coletados 76% dos carrapatos da área da UFRRJ, sendo 85% de larvas e 11% das ninfas de *Amblyomma* sp., 43% dos machos e 50% das fêmeas de *A. cajennense*.

O ponto 6 (Pasto de Equinos localizado, UTM: Zona 23K, 7.480.802, 635258, 25m de altitude) é um local onde se mantém parte do plantel de equinos da UFRRJ. O ponto de coleta fica nas proximidades (20m) de um lago e o pasto apresentava gramínea alta em todas as coletas. O entorno é formado por vegetação herbácea e arbustiva. O solo é arenoso e úmido. Equinos e aves aquáticas foram observadas em todas as coletas. Vestígios de atividades humanas relacionadas à pesca foram observados no local. Neste ponto foram coletadas 23% do total de carrapatos da UFRRJ, sendo 15% das larvas, 84% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 37% e 21% das fêmeas e machos de

A. cajennense, respectivamente.

Na área 2 (FLONA) (Figura 7), as coletas foram realizadas nos meses de dezembro de 2008 e fevereiro, maio e junho de 2009. Ixodídeos foram coletados em quatro, dos seis pontos. Por terem sido coletados sobre vestimentas/corpos dos pesquisadores, após transitarem por mais de um ponto, 1% dos carrapatos coletados foi avaliado pela área de coleta e não pelos pontos amostrais, correspondendo a 3% das ninfas coletadas nesta área (Tabela 3).



Figura 7. Vista parcial da Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica, RJ. Em destaque os pontos de coletas.
Fonte: GOOGLE EARTH (2011).

No ponto 1 (Campo de futebol localizado, UTM: Zona 23K, 7.486.369, 632.811, 40m de altitude), em local com gramínea rasteira, o solo é seco e bem-drenado. No entorno, há

vegetação arbustiva e herbácea secundária e floresta de eucaliptos. Verificaram-se também vestígios de animais como equinos e bovinos, além da presença de humanos que usam o local com frequência para jogos de futebol. Neste ponto não foram coletados carrapatos.

Tabela 3. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ, no período de dezembro de 2008 a junho de 2009.

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécie						Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	Ad_f	Rm_l	
FLONA	0	5	0	0	0	0	5
Campo	0	0	0	0	0	0	0
CETAS	0	0	0	0	0	0	0
ADM	1	9	0	0	0	15	25
Entrada	0	0	0	0	0	232	232
Mata	5	28	0	2	1	0	36
BR 465	76	114	2	3	0	0	195
Total	82	156	2	5	1	247	493

A_l: larvas de *Amblyomma* spp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* spp.; Ac_f: fêmeas de *Amblyomma cajennense*; Ac_m: machos de *Amblyomma cajennense*; Ad_f: fêmea de *Amblyomma dubitatum*; Rm_l: larvas de *Rhipicephalus microplus*. FLONA: carrapatos recuperados sobre os corpos e vestimentas dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

O ponto 2 (CETAS, com localização UTM: Zona 23K, 7.486.497, 632.432, 76m de altitude) situa-se na área do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). A armadilha foi colocada entre árvores, na gramínea baixa, onde o solo é

arenoso e seco. No entorno, há fragmento de vegetação secundária e monocultura de eucaliptos. O CETAS conta com uma área para abrigar animais silvestres, principalmente, aves, mamíferos e répteis. Além dos animais silvestres abrigados, observou-se a presença de micos livres que frequentam o local à procura de alimentos, ocorrendo contato entre esses grupos de animais. A circulação humana é frequente, não só dos funcionários responsáveis pela manutenção do local, bem como os que trabalham no posto da polícia ambiental. Neste ponto também não foram encontrados ixodídeos.

O ponto 3 (ADM, localizado na UTM: Zona 23K, 7485450, 632.712, 51m de altitude) é um local com gramíneas, situado próximo da sede administrativa da FLONA. O solo é arenoso, seco e bem-drenado. O entorno é formado por vegetação arbórea secundária e de eucaliptos, que propicia sombra no ponto amostral, principalmente, pela manhã e à tarde. Observaram-se fezes de bovinos e presença de cães e há relato de o local ser pastejado por equino. Neste ponto, coletaram-se 5% do total de carrapatos desta área, sendo 1% das larvas e 6% das ninfas de *Amblyomma* spp., além de 6% das larvas de *R. microplus*.

O ponto 4 (Entrada da FLONA, com localização, UTM: Zona 23K, 7.485.115, 632.719, 48m de altitude), situado a 30m

da entrada principal da FLONA, é um local entre árvores de eucaliptos, que proporciona sombra parcial ao ponto. O solo estava seco no momento das coletas, com matéria orgânica constituída de folhas e casca de árvores, e recoberto por gramíneas. O entorno apresentava, além de uma vegetação arbustiva e herbácea, um pequeno fragmento de vegetação secundária. Observaram-se fezes de bovinos e que o local é frequentemente pastejado por estes animais. Neste ponto, foram coletadas apenas larvas de *R. microplus* (94%), o que corresponde a 47% de todos os ixodídeos coletados na área da FLONA.

No ponto 5 (Mata, localizada na UTM: Zona 23K, 7.486.000, 631.951, 28m de altitude), não foi possível passar o arrasto de flanela e a armadilha química de CO₂ foi instalada na sombra, numa mata ciliar formada junto a um lago artificial, que se originou pela ausência de limpeza preventiva nos valões de drenagem. Neste local, não havia vegetação rasteira e seu entorno possuía espécies arbustivas, lianas e eucaliptos. O solo é arenoso e úmido, com bastante matéria orgânica. Foram observadas pegadas de capivaras e o terreno batido, indicando a frequência destes animais naquela área. Não foi observada a presença de equinos. A presença humana é eventual. Neste ponto, foram coletadas larvas (6%) e ninfas (18%) de

Amblyomma spp., além de 40% dos machos de *A. cajennense* e o único exemplar fêmea de *A. dubitatum*. A quantidade de carrapatos coletados neste ponto correspondeu 7% do total de carrapatos da FLONA.

O ponto 6 (BR 465, com localização nas coordenadas UTM: Zona 23K, 7.485.934, 631.848, 36m de altitude), localiza-se a aproximadamente 100m da BR 465, na margem do lago, em posição oposta ao ponto 5. O solo é seco e arenoso, com cobertura vegetal predominante de gramínea. No entorno, há vegetação arbórea, herbácea, arbustiva e bambuzal. Foram individuadas pegadas de capivaras e também presença de pequenos animais silvestres, como coelhos e pequenos roedores, além de fezes de equinos e bovinos. Há também evidências de que humanos visitam a área com frequência. Neste ponto foram capturados 40% do total de ixodídeos coletados na FLONA, sendo o maior número de carrapatos do gênero *Amblyomma* (79%). Este número correspondeu a 93% das larvas, 73% das ninfas, 100% das fêmeas e 60% dos machos de *A. cajennense*.

Na área 3 (PNI) (Figura 8), as coletas foram realizadas nos meses de outubro de 2008, fevereiro/março, maio e agosto de 2009. Cinco exemplares de ixodídeos foram coletados. Destes, 2 eram ninfas de *Amblyomma* sp. e 3 adultos de *A. brasiliense* (Tabela 4). Uma ninfa foi coletada ao se alimentar

em um dos pesquisadores e um adulto macho sobre suas vestimentas, não sendo possível identificar o ponto de coleta para estes. No ponto trilha, foram coletadas uma ninfa e duas fêmeas.

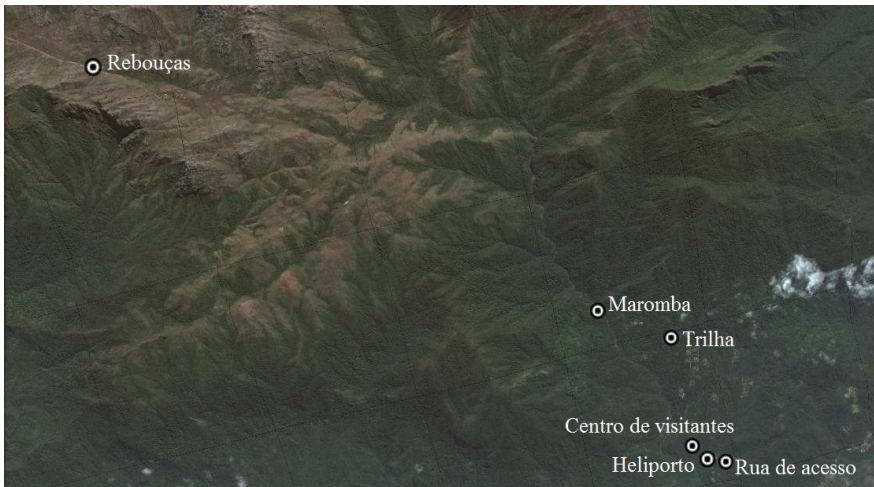


Figura 8. Vista parcial do Parque Nacional do Itatiaia. Em destaque, os pontos de coletas, Itatiaia, RJ.
Fonte: GOOGLE EARTH (2011).

No ponto 1 (Maromba, localizado na coordenada UTM: Zona 23K, 7.519.641, 539.129, 1096m de altitude), localizado no estacionamento da área de visitação turística, denominado Cachoeira do Maromba, cerca de 50 metros desta cachoeira, a vegetação do entorno é arbórea densa, proporcionando sombra pela manhã e à tarde. A área é muito frequentada por turistas. Nas proximidades, há evidências da circulação de animais

silvestres. A armadilha foi colocada sobre gramado baixo, solo pedregoso e seco.

Tabela 4. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie coletado no Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia-RJ, no período outubro de 2008 e agosto de 2009.

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécie			Total
	A_n	Ab_m	Ab_f	
PNI	1	1	0	2
Maromba	0	0	0	0
Rua de acesso	0	0	0	0
Centro de visitantes	0	0	0	0
Heliporto	0	0	0	0
Trilha	1	0	2	3
Abrigo Rebouças	0	0	0	0
Total	2	1	2	5

A_n: ninfas de *Amblyomma* sp.; Ab_m: macho de *Amblyomma brasiliense*; Ab_f: fêmeas de *A. brasiliense*. PNI: carrapatos recuperados sobre os corpos e vestimentas dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

No ponto 2 (Rua de acesso, localizado em UTM: Zona 23K, 7.517.027, 540.597, 809m de altitude), existem aproximadamente seis residências de temporada. Uma pulga foi coletada na armadilha de CO₂, identificada como pertencente ao gênero *Pulex*. Nas proximidades, em áreas externas aos quintais das residências, existem trilhas de animais silvestres. O ponto é coberto por grama, frequentemente, aparada. É sombreado por

vegetação arbórea típica da mata atlântica e por espécies exóticas, como eucaliptos e outras que compõem os jardins das residências. Cães circulam nos quintais e eventualmente na rua.

No ponto 3 (Centro de Visitantes, com localização em UTM: Zona 23K, 7.517.301, 540.088, 850m de altitude), observou-se grande fluxo de turistas, por ser um local provido de infraestrutura para receber e informar os visitantes, com salas temáticas, banheiros e auditórios. No ponto e entorno, o solo é seco e coberto por grama rasteira e árvores nativas da Mata Atlântica. Esquilos, jacus e outras aves circulam pela grama e vegetação arbórea. O entorno possui vegetação arbórea densa. Nos gramados é permitida a realização de piqueniques. Não se coletou carrapatos neste ponto.

O ponto 4 (Heliporto, localizado a UTM: Zona 23K, 7.517.054, 540.315, 842m de altitude) é um local gramado, cercado por vegetação arbustiva, arbórea densa com várias espécies frutíferas. A armadilha foi montada na grama, em local sombreado pela manhã e à tarde. Foram observados animais, como macacos e aves, nas árvores frutíferas. Nas proximidades deste ponto, existem trilhas de animais silvestres.

O ponto 5 (Trilha de acesso entre hotel Itatiaia e a cachoeira do Maromba, com localização UTM: Zona 23K, 7.518.845, 540.164, 1071m de altitude), o local é sombreado,

com solo úmido e o gramado coberto com folhas secas. O entorno possui árvores de grande porte, além de palmeiras, lianas e samambaias. Identificaram-se trilhas de pequenos animais silvestres que cruzam a trilha usada pelos turistas. Na coleta de outubro de 2008, foram observadas pegadas na trilha principal, apontadas como sendo de cães.

O ponto 6 (Abrigo Rebouças, localizado UTM: Zona 23K, 7.524.518, 532.983, 2376m de altitude) possui vegetação baixa, solo arenoso e úmido. No entorno, há predominância de capim entremeado por arbustos e bambu. O rio das Flores atravessa a região, há lagos nas proximidades. Fezes de bovinos foram encontradas somente na primeira coleta, porém de animal carnívoro foram detectadas em todas as coletas. É um local que recebe muitos turistas, mas a intensidade é menor se comparada com a parte baixa do parque. Não foram coletados carrapatos neste local.

Na Área 4 (DCMun) (Figura 9), as coletas foram realizadas nos meses de dezembro de 2008, fevereiro, maio e julho de 2009. Ixodídeos foram coletados em todos os pontos. Os carrapatos que foram coletados nas vestimentas/corpos dos pesquisadores corresponderam a 15% do total desta área, sendo 9% das larvas e 39% das ninfas de *Amblyomma* sp., 18% das fêmeas e 8% dos machos de *A. cajennense* e 94% das larvas de

R. microplus (Tabela 5).



Figura 9. Vista parcial do Depósito Central de Munições do Exército Brasileiro. Em destaque os pontos de coletas, Paracambi, RJ.
Fonte: GOOGLE EARTH (2011).

No ponto 1 (Bambuzal, localiza-se nas coordenadas, UTM: Zona 23K, 7.494.423, 632.083, 43m de altitude), há predominância de sombra, proporcionada pelas touceiras de bambu, com vegetação forrageira e arbustiva escassas. O solo é coberto com folhas de bambu. O local é regularmente frequentado por equinos e cães. Neste local, coletaram-se 24% do total de carrapatos da área do DCMun, correspondendo a 27% das larvas e 13% das ninfas de *Amblyomma* sp., 8% e 9% dos machos e fêmeas de *A. cajennense*, respectivamente.

O ponto 2 (Baías, com a localização, UTM: Zona 23K,

7.494.517, 632.278, 39m de altitude) constituiu-se de área delimitada para manejo de equinos e caracteriza-se pela existência de touceiras de bambu, nas proximidades, há gramíneas permanentemente rasteiras pelo pastoreio dos equinos e manejo humano, local com sombra predominante pela manhã e solo arenoso e seco. Coletaram-se, neste local, 6% dos carrapatos da área, o que correspondeu a 7% das larvas de *Amblyomma* sp.

Tabela 5. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na área do Depósito Central de Munição, Paracambi-RJ, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécie					Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	Rm_l	
DCMun	80	12	2	1	59	154
Bambuzal	248	4	1	1	0	254
Baia	60	1	0	0	0	61
Pasto	1	3	7	7	0	18
Acampamento	3	0	0	0	0	3
Riacho	25	0	0	0	4	29
Mata	505	11	1	3	0	520
Total	922	31	11	12	63	1039

A_l: larvas de *Amblyomma* sp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* sp.; Ac_f: fêmeas de *Amblyomma cajennense*; Ac_m: machos de *Amblyomma cajennense*; Rm_l: larvas de *Rhipicephalus microplus*. DCMun: carrapatos recuperados sobre os corpos e vestes dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

O ponto 3 (Pasto, localizado na UTM: Zona 23K,

7.594.513, 632.325, 34m de altitude) constituiu-se de pasto para equinos, contíguo às baías e caracteriza-se por cobertura vegetal composta por gramíneas e herbáceas diversas. No entorno do ponto, há predominância de capim colômbio e arbustos. O solo é arenoso e seco. Apenas na primeira coleta, em dezembro de 2008, foi registrada presença de equinos, depois deste período, o local não foi mais utilizado como pasto. Neste ponto foram coletados 2% dos carrapatos da área do DCMun, correspondendo a 0,1% das larvas e 10% das ninfas de *Amblyomma* sp., além de 63% e 58% das fêmeas e dos machos de *A. cajennense*, respectivamente.

O ponto 4 (Acampamento, com localização em UTM: Zona 23K, 7.494.604, 632.841, 28m de altitude) é utilizado como acampamento durante as atividades de treinamento militar, situado ao lado de uma estrada de acesso ao local. A cobertura vegetal predominante é de gramínea rasteira. O entorno é constituído por pasto de capim colômbio. Neste local estava em andamento um projeto de reflorestamento, sendo também utilizado para pastoreio de bovinos, com acompanhamento de vaqueiro montado em cavalo, responsável pelo controle da dispersão dos bovinos para áreas circunvizinhas. Neste ponto foi coletado apenas 0,3% do total dos carrapatos da área, o que correspondeu a 0,3% das larvas de

Amblyomma sp.

O ponto 5 (Riacho, localização UTM: Zona 23, 7.494.018, 633455, 22m de altitude) constituiu-se de uma área de pasto para bovinos, próximo ao curso d'água, atingida pela correnteza durante as chuvas intensas. A cobertura vegetal predominante é gramínea rasteira. No entorno, existem arbustos, árvores de pequeno porte e um pequeno fragmento de vegetação secundária. Durante as coletas, foram registrados vestígios deixados pela passagem de cães, bovinos, capivaras e outros mamíferos silvestres, não identificados. Neste ponto foram coletados 3% dos carrapatos desta área, correspondendo a 3 e 6% das larvas de *Amblyomma* sp. e *R. microplus*, respectivamente.

O ponto 6 (Mata, localizado na UTM: Zona 23, 7.494.346 632.962, 36m de altitude) é sombreado com reduzida incidência de sol, circundado por árvores de médio porte e arbustos. O solo deste local é argiloso, com declividade e bem-drenado, coberto de folhas secas. No entorno, há fragmento de vegetação secundária, pasto frequentado por bovinos, com predominância de capim colônia e uma área de reflorestamento. Foram observados vestígios de capivaras e de bovinos. Coletaram-se, neste ponto, 55% das larvas e 36% das ninfas de *Amblyomma* sp., 9% e 25% das fêmeas e dos machos

de *A. cajennense*, respectivamente. Estes totais corresponderam a 50% de todos os carrapatos coletados na área do DCMun. Nesta área não foi utilizada a armadilha de arrasto de flanela.

Na área 5 (CAIM) (Figura 10), as coletas foram realizadas no meses de dezembro de 2008, março, junho e agosto de 2009. As coletas da estação verão, nos pontos 4, 5 e 6, não puderam ser realizadas devido a treinamento militar na área e ocorrência de chuva no período autorizado para a realização das coletas. Não foram coletados ixodídeos nos pontos 1 (Sebastopol) e 6 (Trilha). Do total de carrapatos coletados nesta área, apenas uma larva de *Amblyomma* (0,1%) foi coletada sobre as vestimentas do pesquisador, sem identificação do ponto de coleta (Tabela 6).

O ponto 1 (Sebastopol, UTM: Zona 23K, 7.450.117, 604.641, 9m de altitude) é uma área de lazer da comunidade local. A cobertura vegetal predominante é de gramínea, com árvores esparsas, solo arenoso e seco, localizado a aproximadamente 300 metros da praia e a 400 metros de encosta, com vegetação densa. No entorno, existem residências ocupadas por militares e, a 300 metros da comunidade, de população nativa. Em todas as coletas foram observados cães circulando pelo local. Não se evidenciou a presença de capivaras e outros mamíferos silvestres durante o período de coleta. Já no

entorno, foi observado um equino, contido por corda. Não foram coletados carrapatos neste ponto amostral.



Figura 10. Vista parcial do Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia da Marinha do Brasil. Em destaque os pontos de coletas, Mangaratiba, RJ. Fonte: GOOGLE EARTH (2011).

O ponto 2 (Sino, localizada na UTM: Zona 23K, 7.447.200, 601.655, 8m de altitude), utilizado como pasto para equinos, há predominância de gramínea, além de herbácea e arbustos diversos. O solo é arenoso e seco. Este local situa-se a aproximadamente 50 metros da praia do Sino. O entorno é formado por árvores frutíferas, principalmente, jaqueiras, mangueiras, pitangueiras, goiabeiras e coqueiros, que são contíguas à vegetação arbórea densa. Pelo local circulam

regularmente moradores e, eventualmente, militares em treinamento e pesquisadores. Foi observada a presença de equinos e relato sobre a ocorrência de capivaras foi feito por moradores. Além disso, pegadas e fezes foram observadas na areia da praia, em uma das coletas. Neste ponto foram coletados 69% dos carrapatos do CAIM, sendo 86% das larvas e 12% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 25% e 46% dos machos e fêmeas de *A. cajennense*, respectivamente.

Tabela 6. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletado na área do Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia, Mangaratiba-RJ, no período de dezembro de 2008 a agosto de 2009.

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécie				Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	
CAIM	1	0	0	0	1
Sebastopol	0	0	0	0	0
Sino	1055	41	11	4	1111
Vacaria	43	14	13	5	75
Acampamento	1	10	0	1	12
Capivara	130	279	0	6	415
Trilha	0	0	0	0	0
Total	1230	344	24	16	1614

A_l: larvas de *Amblyomma* sp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* sp.; Ac_f: fêmeas *Amblyomma cajennense*; Ac_m: macho *Amblyomma cajennense*; CAIM: carrapatos recuperados sobre os corpos e vestimentas dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

O ponto 3 (Vacaria, localizado nas coordenadas, UTM:

Zona 23K, 7.449.006, 603.680, 1m) constituiu-se de área de pastagem para equino, com predominância de gramínea rasteira, arbustos e plantas frutíferas, como goiabeiras. O solo do local é arenoso e seco. No entorno, há vegetação arbórea densa. Observou-se a presença frequente de equinos. Pelo local circulam regularmente moradores, pesquisadores e militares em treinamento. Neste ponto foram coletados 4% das larvas e 4% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 31% dos machos e 54% das fêmeas de *A. cajennense*, o que correspondeu a 5% do total de carrapatos coletados no CAIM.

O ponto 4 (Acampamento, localizado na UTM: Zona 23K, 7.448.357, 607.893, 6m de altitude) é utilizado para acampamento de militares que realizam treinamento na região, chamado Bravo IV. Área com solo arenoso e seco e a vegetação é composta predominantemente por diversas espécies de gramíneas. Observou-se uso frequente e intenso do local. O entorno possui vegetação arbórea típica da restinga arenosa e pequena faixa de vegetação herbácea e gramíneas altas, como sapé e jaraguá. Neste entorno, verificou-se a presença de capivaras, evidenciada pelas inúmeras pegadas e fezes. Observaram-se, também, pegadas de cães, que, em algumas das coletas, foram companhia espontânea dos pesquisadores, entre o quartel e o ponto de coleta. Neste local, coletou-se 1% de

carrapatos do total do CAIM, sendo 0,1% das larvas, 3% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 6% dos machos *A. cajennense*.

No ponto 5 (Capivara, com localização, UTM: Zona 23K, 7.448.375, 607.844, 5m de altitude), o solo é arenoso com predominância de vegetação de porte médio, como sapé, jaraguá, rabo de burro; e arbustos, como maricá, araçá e maracujá, entre outros. O entorno apresenta vegetação arbórea de encosta de um lado e de restinga do outro. Várias trilhas foram observadas entre a vegetação. Estas trilhas modificaram de posição a cada coleta, possivelmente, devido à circulação de militares em treinamento e passagem de capivaras, o que determinou deslocamento do ponto de coletas, porém não mais que 10 metros. Neste ponto amostral foram coletados 26% do total de carrapatos do CAIM, representando 11% das larvas, 81% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 38% de machos *A. cajennense*. O arrasto de flanela só foi utilizado na primeira coleta.

O ponto 6 (Trilha, com a seguinte coordenada, UTM: Zona 23K, 7.449.382, 605.628, 231m de altitude) localiza-se na parte alta da Trilha da Senzala, local sombreado, com reduzida incidência de sol. O solo é argiloso e úmido, com muita matéria orgânica. O entorno é formado por floresta arbórea densa, além de bambuzal, lianas e samambaias. Este local é utilizado com

frequência para treinamento militar e também de uso regular dos pesquisadores e moradores. Na trilha, observaram-se evidências de circulação de equinos e cães. Carrapatos não foram coletados neste ponto.

Os resultados deste estudo mostram que os ecossistemas com maior ocorrência de carrapatos foram aqueles com vegetação suficientemente alta para proteger o solo da radiação solar direta, e, em geral, com presença de vegetação herbácea e/ou arbórea, que proporciona sombreamento nas horas mais quentes do dia, além do solo seco sem afloramento ou retenção de água. Geralmente, o entorno também era formado por vegetação arbustiva e/ou arbórea e com alta densidade de hospedeiros. Labruna et al. (2001) associaram a maior intensidade de *A. cajennense* a áreas de pastagem com plantas invasoras e com alta densidade de hospedeiros.

Nos pontos onde não foram coletados carrapatos ou o número foi reduzido, a cobertura do solo, comumente, não era suficientemente alta ou densa para impedir a penetração direta dos raios solares. Ainda, a ausência ou a abundância reduzida de carrapatos, observada em ecossistemas com características compatíveis com os considerados favoráveis para a ocorrência destes, pode ser explicada pela ausência de atividades frequentes de hospedeiros, pois, conforme Szabó et al. (2009), a

abundância de carrapatos está intimamente relacionada à abundância de mamíferos.

Cabe destacar que o ecossistema Lago Mirim-UFRRJ, apesar de possuir alta densidade de capivaras, teve baixa ocorrência de carrapatos. E tal fato pode estar relacionado à excessiva umidade do solo, em associação com a insolação constante, ocasionada pela baixa densidade de vegetação arbóreo-arbustiva, e pelas gramíneas constantemente baixas.

No presente estudo, os ecossistemas de maior ocorrência de *A. cajennense* foram os com maiores atividades antrópicas e associados à existência de equinos ou mesmo com menor grau de antropização, mas com evidências de alta atividade de capivaras. Ademais, *A. cajennense* não foi coletada em áreas conservadas. Estes resultados corroboram os de Labruna et al. (2001), e Szabó et al. (2009). Em ambientes com maior grau de antropização há aumento populacional de *A. cajennense*, em contraposição há redução populacional de outras espécies de carrapatos, que têm os animais silvestres como seus principais hospedeiros. Segundo Szabó et al. (2009), as espécies de carrapatos estão associadas também à alta abundância de hospedeiros e *A. cajennense* é parasito de vários mamíferos em diferentes biomas. No Pantanal Sul Mato-grossense, Cançado et al. (2008), também, apontaram a preferência de *A. cajennense*

por áreas com maior pressão antrópica.

As espécies *A. brasiliense* e *A. dubitatum*, por serem mais específicas e manterem o seu ciclo principalmente em animais silvestres, são encontradas em ambientes que propiciam o desenvolvimento de seus hospedeiros. Os principais hospedeiros de *A. brasiliense* são mamíferos silvestres de pequeno porte, como pacas, tatus, queixada e cutias (ONOFRIO et al., 2006; GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2006). A espécie *A. dubitatum*, que é parasito de roedores silvestres, tem sido frequentemente encontrada parasitando capivaras (ONOFRIO et al., 2006; PEREZ, et al., 2008). Os resultados do presente trabalho estão de acordo com os registrados em outros estudos, uma vez que *A. brasiliense* foi coletado apenas em pontos com mata fechada, com pouca atividade antrópica e com evidências da constante presença de animais silvestres. Apenas um exemplar de *A. dubitatum* foi coletado, em local onde se observaram evidências da presença de capivaras. Neste local, espécimes de *A. cajennense* foram coletados, ou seja, as duas espécies, *A. cajennense* e *A. dubitatum*, foram encontradas coabitando.

A espécie *R. microplus* é uma espécie que tem bovinos como hospedeiros primários (MARTINS, et al. 2006), neste estudo, larvas foram coletadas somente em ecossistemas

frequentados por bovinos.

Distribuição de Carrapatos por Estação do Ano

Na figura 11, observam-se os totais de ixodídeos coletados por estação do ano e estágio de desenvolvimento. No verão, foi coletado o menor número de ixodídeos (1%) e, no outono, o maior número (54%), correspondendo a 68% das larvas de *Amblyomma* spp. Larvas deste gênero não foram coletadas na primavera e no verão. Larvas de *R. microplus* não foram coletadas no verão, mas, na primavera, inverno e outono, foram coletadas 76%, 21% e 3%, respectivamente. Ninfas de *Amblyomma* spp. foram coletadas em todas as estações do ano, sendo 50% no inverno, 40% na primavera, 5% no verão e no inverno. Adultos de *Amblyomma* spp. também foram coletados em todas as estações do ano, com 35%, 32%, 19% e 14% coletados no outono, primavera, verão e inverno respectivamente.

Resultados semelhantes aos do presente estudo foram registrados por Souza e Serra-Freire (1994a,b), que realizaram coletas de fases de vida livre com arrasto de flanelas e de flanelas mantidas na posição horizontal e vertical, em áreas de pastos utilizados por bovinos e equinos, nos municípios de

Paracambi e Seropédica.

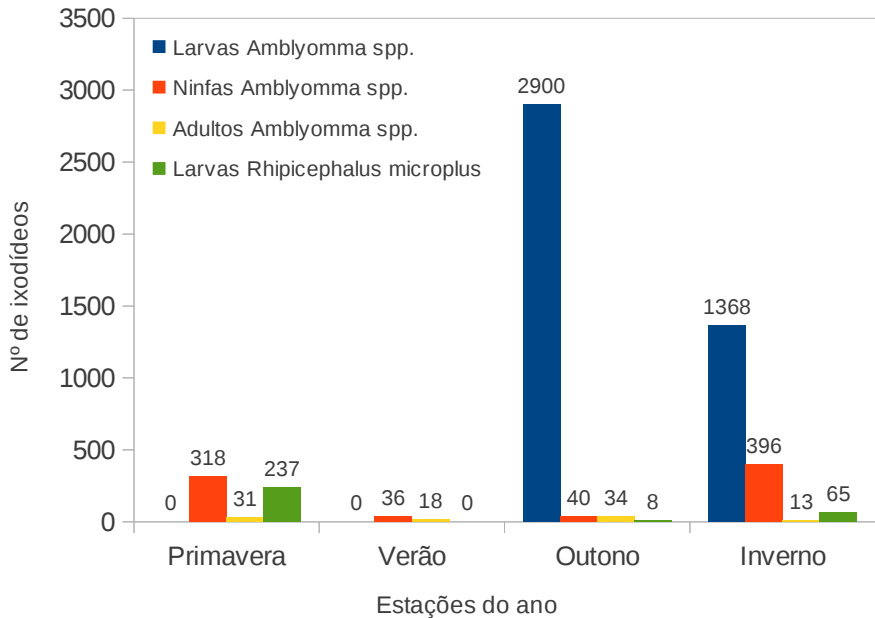


Figura 11. Número de ixodídeos, por estágio de desenvolvimento e estação do ano, coletados em cinco áreas, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.

No município de Paracambi, a maior ocorrência de larvas de *Amblyomma* sp. foi registrada entre os meses de junho a setembro. Picos de ninfas de *Amblyomma* sp. foram registrados entre os meses de julho a outubro; e de adultos de *A. cajennense*, de fevereiro a abril. Já nas áreas do município de Itaguaí, atualmente Seropédica, foram observados picos de larvas entre os meses de maio a setembro, de ninfas de julho a novembro e adultos de outubro a maio. Distribuição temporal

similar a do presente estudo, também, foi registrada em São Paulo (LEMOS et al. 1997; LABRUNA et al., 2002) e Minas Gerais (OLIVEIRA et al. 2000).

Em regiões com temperaturas médias menores, o comportamento estacional de espécies do gênero *Amblyomma* apresenta-se semelhante ao padrão da região Sudeste do Brasil, que é de uma geração por ano. Na Argentina, por exemplo, Guglielmone et al. (2000) constataram que o pico de ocorrência de *A. tigrinum* adultos foi no verão, portanto semelhante ao registrado para *A. cajennense*, no Brasil. Szabó et al. (2009) sugerem que diferentes espécies de carrapatos do gênero *Amblyomma* podem ter padrões sazonais semelhantes, uma vez que *A. brasiliense* segue o mesmo padrão sazonal da espécie *A. cajennense*, tendo uma geração por ano e picos dos estádios de vida em diferentes épocas do ano. Opondo-se a esses registros, Souza et al. (2006) observaram indícios de que os picos de adultos de *A. cajennense* e *A. dubitatum* ocorrem em épocas distintas. No presente estudo, o pequeno número de carrapatos coletados das espécies *A. brasiliense* e *A. dubitatum* não permite análises comparativas.

Distribuição de Carrapatos por Armadilha

Na figura 12, observa-se a distribuição dos ixodídeos por armadilha.

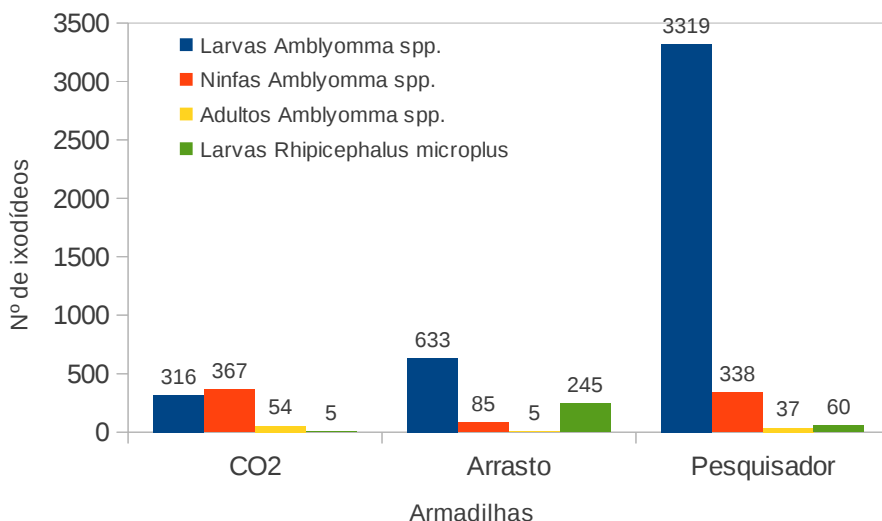


Figura 12. Número de ixodídeos por armadilha e estágio de desenvolvimento coletados em cinco áreas, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.

Do total de larvas de *Amblyomma* spp. (4269), o maior número foi coletado sobre vestimentas e corpos dos pesquisadores, correspondendo a 78%. Já, com a armadilha de arrasto, coletaram-se 15% e, com a de CO₂, 7% das larvas deste gênero. O maior número de ninfas (46%) e adultos (56%) foi coletado em armadilha de CO₂, enquanto que 43% e 38% sobre as vestimentas/corpos dos pesquisadores, respectivamente. Na armadilha de arrasto, foi coletado o menor número de ninfas

(11%) e de adultos (6%) de *Amblyomma* spp.

Larvas de *R. microplus* foram coletadas em sua maior parte com a armadilha de arrasto (79%). Já sobre as vestimentas/corpos dos pesquisadores e pela armadilha de CO₂, foram coletados 19% e 2% dessas larvas, respectivamente.

Os resultados do presente estudo estão de acordo com Wilson (1972), Oliveira et al. (2000) e Cançado et al. (2008), que constataram ser a armadilha de arrasto de flanela melhor para a captura de larvas, enquanto a armadilha atrativa de CO₂, é melhor para a coleta de ninfas e adultos. Entretanto destaca-se que a dinâmica imposta pelas atividades de coleta, ou seja, o deslocamento até o ponto de coleta e a inspeção da armadilha de CO₂, a cada 15 minutos, principalmente quando mais de uma armadilha foi controlada pelo mesmo pesquisador, em um mesmo intervalo de tempo, propiciou maior oportunidade para o contato pesquisador-ixodídeos. Adicionalmente, o manuseio da armadilha de CO₂, provavelmente, tenha possibilitado o desvio para o pesquisador dos carrapatos por ela atraídos. Outro fator a ser considerado é o provável desvio de carrapatos da armadilha de arrasto para o pesquisador, uma vez que este caminhava à frente desta, puxando-a. Cabe ainda destacar que a área amostral abrangida pelo pesquisador foi muitas vezes maior do que as das outras armadilhas.

A atração de adulto de *A. americanum* pela armadilha de gelo seco (CO₂) depende de fatores ambientais como temperatura, vento, exposição à luz solar e cobertura do solo (WILSON, 1972).

Além das condições ambientais, a disponibilidade de hospedeiro - o comportamento do carrapato, que pode ser de “ataque” ou de “caça” ao hospedeiro -, pode estar relacionada com as diferenças no potencial de armadilhas de CO₂ (SZABÓ et al., 2009). À exceção das características ambientais apresentadas e discutidas no tópico distribuição de carrapatos por área amostral, as demais variáveis sobre a atração e captura de carrapatos não foram avaliadas. O pequeno número de repetições não permitiu o uso de técnicas estatísticas.

Biologia Molecular

Todos os ixodídeos coletados foram submetidos à técnica de extração de DNA e PCR para a verificação da presença de bactérias do gênero *Rickettsia*.

Uma das amostras positivas para *Rickettsia* foi composta por larvas de *Amblyomma* sp., coletadas na área do DCMun, na estação do outono e no ponto definido como Bambuzal. Neste ponto, há predominância de sombra, proporcionada pelas

touceiras de bambu, que o circundam, com vegetação forrageira e arbustiva escassas. O solo é arenoso e coberto por serapilheira. O local é regularmente frequentado por equinos e cães. Localiza-se a aproximadamente 80 metros da rodovia, próximo a um pasto e baias, onde são mantidos os equinos, os canis e o campo de instruções. A circulação de militares é diária, em atividades de adestramento de cães de guerra.

A outra amostra positiva para *Rickettsia* foi constituída por ninfas de *Amblyomma* sp., coletadas na área do CAIM, também na estação do outono e no ponto denominado Sino. O ponto de coleta localiza-se a aproximadamente 50 metros da Praia do Sino, em área utilizada como pasto para equinos, com predominância de gramíneas e com presença de vegetação herbácea e arbustos diversos. O solo é arenoso e seco. O entorno é formado por vegetação arbórea densa. A presença humana dá-se, eventualmente, durante atividades militares, ocasiões em que há aglomeração de um número grande de pessoas, num curto espaço de tempo. Além dos militares, moradores, visitantes e equipes de pesquisas eventualmente frequentam o local.

As características em comum e mais marcantes entre os pontos de coleta, dos exemplares positivos para *Rickettsia* spp., foram a presença frequente de equinos no ponto e do registro, durante as coletas, de vestígios da presença de capivaras no

entorno do ponto amostral. Porém não foram observadas evidências de capivaras nos pontos de coleta. Em ambas as áreas, há processo de antropização, embora, no CAIM (Sino), haja uma área de mata conservada no entorno, com avançado processo de regeneração, e, no DCMun (Bambuzal), a área apresenta acentuadas modificações do ambiente.

Destaca-se que, neste estudo, a identificação das fases jovens de *Amblyomma* foi procedida até gênero. Entretanto, nos ecossistemas em que foram coletados os ixodídeos positivos para *Rickettsia* spp., somente adultos da espécie *A. cajennense* foram coletados.

No Brasil, a importância da inter-relação de carrapatos do gênero *Amblyomma* com capivara, equinos, cães, humanos e riquetsia do GFM tem sido constatada por vários autores. Em áreas endêmicas para *R. rickettsii*, Galvão (1996) relatou soroprevalência em equinos, cães e humanos. *Rickettsia rickettsii* foi identificada por meio de técnicas moleculares em *A. cajennense*, coletados em equinos e no meio ambiente (GUEDES et al., 2005; CARDOSO et al.; 2006) e, mais recentemente, Souza et al. (2009) constataram o potencial da capivara como hospedeiro e amplificador de *R. rickettsii* para a infecção de *A. cajennense*.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo evidenciam que a metodologia de atração e coleta de carrapatos, de extração e amplificação de DNA e de revelação das bandas positivas para *Rickettsia* spp. foram adequadas para os objetivos propostos.

Nos diferentes ecossistemas em que foram coletados ixodídeos, havia evidências de atividades frequentes e recentes de animais, a cobertura vegetal presente era suficiente para proteger os estádios de vida livre da insolação direta, o solo apresentava-se com pouca umidade e o entorno com vegetação capaz de manter a presença de potenciais hospedeiros.

A presença de espécies de carrapatos nos ecossistemas estudados variou com o grau de atividade humana ou de conservação observados. Assim, para carrapatos do gênero *Amblyomma* e da espécie *A. cajennense*, a abundância aumentou com a elevação do grau de atividade humana. *Rhipicephalus microplus* esteve associada à presença de seus hospedeiros principais, que são os bovinos. *Amblyomma dubitatum* foi coletada em área de reflorestamento, com pressão antrópica. Porém, espécimes de *A. brasiliense* foram coletados em áreas

preservadas e com atividades de animais silvestres. Assim, quanto maior a pressão antrópica maior o potencial de risco para a infestação por carrapatos.

O padrão estacional dos estádios evolutivos coletados está dentro do esperado para os carrapatos identificados, sendo que as pequenas diferenças podem ser em decorrência da frequência de coletas.

A identificação de riquetsias, em carrapatos coletados neste estudo, indica a necessidade de intensificar pesquisas desta natureza visando à elaboração de medidas profiláticas e de controle que amenizem os riscos de transmissão para as pessoas que frequentam esses ecossistemas. Em razão de tratar-se de área utilizada para treinamento militar, medidas de profilaxia e controle devem ser incorporadas às atividades de rotina dos agentes de saúde das unidades militares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, B.E.; REGNERY, R.L.; CARLONE, G.M.; TZIANABOS, T.; MCDADE, J.E.; FU, Z.Y.; BELLINI, W.J. Sequence analysis of the 17-kilodalton-antigen gene from *Rickettsia rickettsii*. *Journal of Bacteriology*, v. 169, n. 6, p. 2385-2390, 1987.

ANGERAMI, R.N.; RESENDE, M.R.; FELTRIN, A.F.C.;

KATZ, G; NASCIMENTO, E.M.; STUCCHI, R.S.B.; SILVA, L.J. Brazilian Spotted Fever: A case series from an endemic area in southeastern Brazil. *Annual New York Academy of Sciences*, v. 1078, p. 170-172, 2006.

ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 31, n. 4, p. 759-844, 1936.

ARAGÃO, H.B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 2, p. 115-130, 1961.

AZAD, A.F.; WEBB, L.; CARL M.; DASCH, G.A. Detection of *Rickettsia* in arthropod vectors by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *Annals of New York Academy of Science*, v. 590, p. 557-563, 1990.

BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. *Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies*. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, p. 223.

BILLINGS, A.N.; YU, X.J.; TEEL, P.D.; WALKER, D.H. Detection of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma cajennense* (Acari Ixodidae) in South Texas. *Journal of Medical Entomology*, v. 35, n. 4, p. 474-478, 1998.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Febre Maculosa - Casos confirmados notificados no sistema de informação de agravos de notificação - Sinan*. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinan/fmaculosa/bases/febremaculosabr.def>. Acesso em: 12 ago. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Guia de vigilância epidemiológica*. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vig_epi_novo2.pdf. Acesso em: 15 jan. 2010.

BRADLEY, C.A.; ALTIZER S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 22, n. 2, p. 95-102, 2006.

CANÇADO, P.H.D.; PIRANDA, E.M.; MOURÃO, G.M.; FACCINI, J.L.H. Spatial distribution and impact of cattle-raising on ticks in the Pantanal region of Brazil by using the CO₂ tick trap. *Parasitology Research*, v. 103, n. 2, p. 371-377, 2008.

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

CARVER, S.; KILPATRICK, A.M.; KUENZI, A.; DOUGLASS, R.; OSTFELD, R.S.; WEINSTEIN, P. Environmental monitoring to enhance comprehension and control of infectious diseases. *Journal of Environmental Monitoring*, v. 12, n. 11, p. 2048-2055, 2010.

CONDE, M.M.S.; LIMA, H.R.P.; PEIXOTO, A.L. *Aspectos florísticos e vegetacionais da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil*. In: MENEZES, L.F.T.; PEIXOTO, A.L.; ARAUJO, D.S.D., (Org). História Natural da Marambaia. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005, p. 133-168.

COSTA, I.P.; BONOLDI, V.L.N.; YOSHINARI, N.H. Search for *Borrelia* sp. in ticks collected from potential reservoirs in an urban forest reserve in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil: a short report. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 97, n. 5, p. 631-635, 2002.

CUNHA, N.C.; FONSECA, A.H.; REZENDE, J.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A.R.M.; BARREIRA, J.D.; MASSARD, C.L.; LEMOS, E.R.S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 2, p. 105-108, 2009.

DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. The ticks (Acari: Ixodida: Aragasidae, Ixodidae) of Brazil. *Systematic and Applied Acarology*, v. 14, n. 1, p. 30-46, 2009.

ENNEN, J.R.; QUALLS, C.P. Distribution and habitat utilization of the gopher tortoise tick (*Amblyomma tuberculatum*) in southern Mississippi. *Journal Parasitology*, v. 97, n. 2, p. 202-206, 2011.

EPSTEIN, P.R. Climate change and human health. *The New England Journal of Medicine*, v. 353, n. 14, p. 1433-1436, 2005.

ESTRADA-PEÑA, A. The relationships between habitat topology, critical scales of connectivity and tick abundance *Ixodes ricinus* in a heterogeneous landscape in northern Spain. *Ecography*, v. 26, n. 5, p. 661-671, 2003.

ESTRADA, D.A., SCHUMAKER, T.T.S.; SOUZA, C.E.; NETO, E.J.R.; LINHARES, A.X. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. *Revista da*

Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 39, n. 1, p. 68-71, 2006.

FACCINI, J.L.H.; BARROS-BATESTI, D.M. *Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos*. In. BARROS-BATESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, p. 5-10.

FERNANDES, M.M.; PEREIRA, M.G.; MAGALHÃES, L.M.S.; CRUZ, A.R.; GIÁCOMO, R.G. Aporte e decomposição de serapilheira em áreas de floresta secundária, plantio de sabiá (*Mimosa caesalpiniaefolia* Benth.) e andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.) na Flona Mário Xavier, RJ. *Ciência Florestal*, v. 16, n. 2, p. 163-175, 2006.

FIGUEIREDO, L.T.M.; BADRA, S.J.; PEREIRA, L.E.; SZABÓ, M.P.J. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 36, n. 6, p. 613-619, 1999.

FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Current knowledge on phylogeny and taxonomy of *Rickettsia* spp. *Annual New York Academy of Sciences*, v. 1166, p. 1-11, 2009.

FREITAS, L.H.; FACCINI, J.L.H.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris*, with the bacterium *Rickettsia rickettsii*, and comparative biology of infected and uninfected tick lineages. *Experimental and Applied Acarology*, v. 47, n. 4, p. 321-345, 2009.

GALVÃO M.A.M. *Febre maculosa em Minas Gerais: um*

estudo sobre a distribuição da doença no estado e seu comportamento em área de foco peri-urbano. 1996, 114 f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

GALVÃO M.A.M.; LAMOUNIER, J.A.; BONOMO, E.; TROPIA, M.S.; REZENDE, E.G.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; MACHADO, M.C.; OTONI, M.E.A.; LEITE, R.C.; CARAM, C.; MAFRA, C.L.; WALKER, D.H. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do Estado de Minas Gerais, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, v. 18, n. 6, p.1593-1597, 2002.

GALVÃO M.A.M.; SILVA, J.L.; NASCIMENTO, E.M.M.; CALIC, S.B.; SOUSA, R.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. *Revista de Saúde Pública*, v. 39, n. 5, p. 850-856, 2005.

GOOGLE EARTH 6.0. Imagem de Satélite. Disponível em: <<http://earth.google.com/>>. Acesso em: 15 ago 2011.

GUEDES, E.; LEITE, R.C.; PRATA, M.C.A.; PACHECO, R.C.; WALKER, D.H.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the *Amblyomma cajennense* in a new brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 8, p. 841-845, 2005.

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-ACUNÃ, D.; ESTRADA-PENÃ, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Experimental and Applied Acarology*, v. 40, n. 2, p. 83-100, 2006.

GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.; LUCIANI, C.E.; VIÑABAL, A.E. *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) in relation to phytogeography of central-northern Argentina with notes on hosts and seasonal distribution. *Experimental and Applied Acarology*, v. 24, n. 12, p. 983-989, 2000.

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

HORTA, M.C.; MORAES-FILHO, J.; CASAGRANDE, R.A.; SAITO, T.B.; ROSAL, S.C.; MARTINS, T.F.; CESAR, M.O.; MATUSHIMA, E.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, v. 9, n. 1, p. 109-118, 2009.

JONES, K.E.; PATEL, N.G.; LEVY, M.A.; STOREYGARD, A.; BALK, D.; GITTMAN, J.L.; DASZAK, P. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, v. 451, n. 7181, p. 990-994, 2008.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. *Parasitology*, v. 129, n. 7, p. 3-14, 2004.

LABRUNA, M.B.; JORGE, R.S.P.; SANA, D.A.; JÁCOMO, A.T.A.; KASHIVAKURA, C.K.; FURTADO, M.M.; FERRO, C.; PEREZ, S.A.; SILVEIRA, L.; SANTOS-JR, T.S.; MARQUES, S.R.; MORATO, R.G.; NAVA, A.; ADANIA, C.H.; TEIXEIRA, R.H.F.; GOMES, A.A.B.; CONFORTI, V.A.; AZEVEDO, F.C.C.; PRADA, C.S.; SILVA, J.C.R.; BATISTA, A.F.; MARVULO, M.F.V.; MORATO, R.L.G.; ALHO, C.J.R.; PINTER, A.; FERREIRA, P.M.; FERREIRA, F.; BARROS-

BATTESTI, D.M. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, v. 36, n. 3-4, p. 149-163, 2005.

LABRUNA, M.B.; KASAI, N.; FERREIRA, F.; FACCINI, J.L.H.; GENNARI, S.M. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 105, n. 1, p. 65-77, 2002.

LABRUNA, M.B.; KERBER C.E.; FERREIRA, F.; FACCINI, J.L.H.; WAAL, D.T.; GENNARI, S.M. Risk factors to ticks infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 97, n. 1, p. 1-14, 2001.

LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C.; NAVA, S.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.V.; GUGLIELMONE, A.A. Infection by *Rickettsia bellii* and *candidatus "Rickettsia amblyommii"* in *Amblyomma neumanni* ticks from Argentina. *Microbial Ecology*, v. 54, n. 1, p. 126-133, 2007.

LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian Spotted Fever is endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 1, p. 90-98, 2004.

LAMBIN, E.F.; TRAN, A.; VANWAMBERKE, S.O.; LINARD C.; SOTI, V. Pathogenic landscapes: Interactions between land, people, disease vectors, and their animal hosts. *International Journal of Health Geographics*, v. 9, n. 54, p. 1-13, 2010.

LEMO, E.R.S.; MACHADO, R.D.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A.A.; SERRA-FREIRE, N.M.; AMORIM, M.; GAZETA, G.S. Epidemiological aspects of the Brazilian

Spotted Fever: seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 30, n. 3, p. 181-185, 1997.

MAGRO, T.C.; VIEIRA, V.M.F. *Uso público no parque nacional do Itatiaia, parte 1: caracterização do uso público*, In: O parque nacional do Itatiaia, Cadernos para o desenvolvimento sustentável, Rio de Janeiro: FBDS 3, 2000, p. 93-118.

MARTINS, J.R.S.; FURLONG, J.; LEITE, R.C. *Controle de carrapatos*. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, p. 145-153.

MENEZES, L.F.T.; ARAÚJO, D.S.D. *Formações vegetais da Restinga da Marambaia*. In: MENEZES, L.F.T.; PEIXOTO, A.L.; ARAUJO, D.S.D., (Org). História Natural da Marambaia. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005, p. 67-120.

MULLIS, K.; FALLONA, F.; SCHARF, S.J.; SAIKI, R.; HORN, G.; ERLICH, H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Journal Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology*, v. 51, n. 1, p. 263-273, 1986.

NASCIMENTO, E.M.M.; SCHUMAKER, T.T.S. Isolamento e identificação de riquetsias no Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 1, p. 193-196, 2004.

OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.A.; SILVA, A.J.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, D.H.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for

Brazilian Spotted Fever. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 103, n.2, p. 191-194, 2008.

OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 92, n. 4, p. 295-301, 2000.

ONOFRIO, V.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F.G.; BARROS-BATTESTI, D.M. *Comentários e chaves para as espécies do gênero Amblyomma*. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H., (Org.). Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, p. 53-113.

OOREBEEK, M.; KLEINDORFER, S. Climate or host availability: what determines the seasonal abundance of ticks? *Parasitology Research*, v. 103, n. 4, p. 871-875, 2008.

PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; GUEDES, E.; SILVEIRA, I.; RICHTZENHAIN, L.J.; LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. *Medical and Veterinary Entomology*, v. 25, n. 2, p. 148-155, 2011.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: An emerging infectious threat. *Clinical Infectious Disease*, v. 32, n. 6, p. 897-928, 2001.

PEREZ, C.A.; ALMEIDA, A.F.; ALMEIDA, A.; CARVALHO, V.H.B.; BALESTRIN, D.C.; GUIMARÃES, M.S.; COSTA,

J.C.; RAMOS, L.A.; ARRUDA-SANTOS, A.D.; MÁXIMO-ESPÍNDOLA, C.P.; BARROS-BATTESTI, D.M. Carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) e suas relações com os hospedeiros em área endêmica para febre maculosa no estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 4, p. 210-217, 2008.

RANDOLPH, S.E. Evidence that climate change has caused emergence of ticks-borne disease in Europe. *International Journal Medical and Microbiology*, v. 293, n. 37, p. 5-15, 2004a.

RANDOLPH, S.E. Ticks ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*, v. 129, n. 7, p. 37-65, 2004b.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. *Clinical Microbiology Review*, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.

SABATINI, G.S.; PINTER, A.; NIERI-BASTOS, F.A.; MARCILI, A.; LABRUNA, M.B. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their *Rickettsia* in an atlantic rain forest reserve in the state of São Paulo, Brazil. *Journal Medical Entomology*, v. 47, n. 5, p. 913-916, 2010.

SANTOS, A.A.; ZIKAN, C.E. *Descrição geral do parque nacional Itatiaia*. In: O parque nacional do Itatiaia, Cadernos para o desenvolvimento sustentável, Rio de Janeiro: FBDS 3, 2000, p. 21-30.

SCHRIEFER, M.E.; SACCI, J.B.; DUMLER, S.; BULLEN, M.G.; AZAD, A.F. Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnosed with murine typhus. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 32, n. 4, p. 949-954, 1994.

SCOLA, B.L.; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 35, n. 11, p. 2715-2727, 1997.

SILVA, L.J.; GALVÃO M.A.M. Epidemiologia das riquetsioses do gênero *Rickettsia* no Brasil. In. SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTISIOSES, 1, 2004, Ouro Preto. Anais... Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004. p. 197-198.

SOUZA, A.P.; SERRA-FREIRE, N.M. Variação sazonal da fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens* no município de Itaguaí, estado do Rio de Janeiro: Avaliação epidemiológica e metodológica. *Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, v. 16, p. 67-74, 1994a.

SOUZA, A.P.; SERRA-FREIRE, N.M. Variação sazonal da fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* e *Boophilus microplus* no município de Paracambi, Estado do Rio de Janeiro. *Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, v. 16, p. 57-65, 1994b.

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. *Ciência Rural*, v. 36, n. 3, p. 887-891, 2006.

SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWALSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.L.; BORBA, R.C.M.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Veterinary Parasitology*, v. 161, n. 1-2,

p. 116-121, 2009.

SZABÓ, M.P.J. LABRUNA, M.B.; CASTAGNOLLI, K.C.; GARCIA, M.V.; PINTER, A.; VERONEZ, V.A.; MAGALHÃES, G.M.; CASTRO, M.B.; VOGLIOTTI, A. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in an Atlantic rainforest reserve of Southeastern Brazil with notes on host suitability. *Experimental and Applied Acarology*, v. 39, n. 4, p. 339-346, 2006.

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

VANWAMBEKE, S.O.; UMILO, D.S., BORMANE, A.; LAMBIN, E.F.; RANDOLPH, S.R. Landscape predictors of tick-borne encephalitis in latvia: land cover, land use, and land ownership. *vector-borne and zoonotic diseases*, v. 10, n. 5, p. 497-506, 2010.

VELOSO, H.P.; RANGEL-FILHO, A.L.R.; LIMA, J.C.A. *Classificação da Vegetação Brasileira, Adaptada a um Sistema Universal*. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1991, 124 p.

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. *Experimental and Applied Acarology*, v. 50, n. 2, p. 169-179, 2010.

WEBB, L.; CARL, M.; MALLOY, D.C.; DASCH, G.A.; AZAD, A.F. Detection of murine typhus infection in fleas by using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 28, n. 3, p. 530-534, 1990.

WILSON, J.G. Chemo-attraction in the lone star tick (Acarina: Ixodidae). I. Response of different developmental stages to carbon dioxide administered via traps. *Journal Medical Entomology*, v. 9, n. 3, p. 245-252, 1972.

ZESSIN, K.H. Emerging diseases: a global and biological perspective. *Journal of Veterinary Medicine*, v. 53, n. 1, p. 7-10, 2006.