

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**CARACTERIZAÇÃO DE ECOSSISTEMAS COM POTENCIAIS DE RISCO
PARA INFESTAÇÃO POR CARRAPATOS E TRANSMISSÃO DE
RIQUÉTSIAS PARA HUMANOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Andrea Kill Silveira

2010



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**CARACTERIZAÇÃO DE ECOSISTEMAS COM POTENCIAIS DE RISCO
PARA A INFESTAÇÃO POR CARRAPATOS E TRANSMISSÃO DE
RIQUÉTSIAS PARA HUMANOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

ANDREA KILL SILVEIRA

Sob a Orientação do Professor
Adevair Henrique da Fonseca

e Co-orientação do Professor
Cláudio Lísias Mafra de Siqueira

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Sanidade Animal.

Seropédica, RJ
Janeiro de 2010

636.089696

S587c

T

Silveira, Andrea Kill, 1980-.

Caracterização de ecossistemas com potenciais de risco para a infestação por carrapatos e transmissão de riquetsias para humanos no estado do Rio de Janeiro / Andrea Kill Silveira - 2010.

50 f.: il.

Orientador: Adevair Henrique da Fonseca.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 30-38.


Parasitologia veterinária - Teses. 2. Carrapato como transmissor de doenças – Rio de Janeiro (Estado) - Teses. 3. Carrapato – Teses. I. Fonseca, Adevair Henrique da, 1958-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.


UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

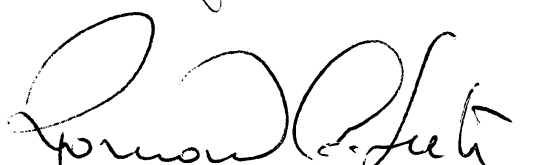
ANDREA KILL SILVEIRA

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências, no Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 22/02/2010


Adevaír Henrique da Fonseca, Dr. UFRRJ
(Orientador)


John Furlong, Dr. EMBRAPA


Romário Cerqueira Leite, Dr. UFMG

À minha família, especialmente aos meus pais,
irmãos e marido, que sempre estiveram
presentes ao longo desta jornada.
À Maria que me ilumina e acalenta com sua
luz.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO (CNPQ) pela concessão da bolsa.

A FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO (FAPERJ) pelo auxílio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. ADEVAIR HENRIQUE DA FONSECA, meu orientador, pelas inúmeras discussões, ensinamentos e participação ativa em todas as atividades desenvolvidas nesta dissertação.

Ao Prof. Dr. CLÁUDIO LÍZIAS MAFRA DE SIQUEIRA, pelas críticas e sugestões, e a sua equipe, THIAGO MALTA, HIGO NASSER E NAYRA FERNANDES SANTOS, que colaboraram na análise molecular dos ixodídeos.

Ao Prof. Dr. SÁVIO AMADO DA SILVA pela colaboração nas coletas dos ixodídeos e sua paciência e dedicação.

Agradeço ao INSTITUTO CHICO MENDES em especial ao Engenheiro Florestal DALSON CHAIN chefe da Floresta Nacional Mário Xavier e ao Médico Veterinário LÉO NASCIMENTO, coordenador de pesquisa do Parque Nacional do Itatiaia, pela concessão da autorização para o desenvolvimento da pesquisa nestas áreas.

Ao Prof. Dr. ROBERTO DE XEREZ coordenador do convênio UFRRJ/CADIM, que com muita tranquilidade agendou as coletas no campo.

À Marinha do Brasil, especificamente ao CENTRO DE ADESTRAMENTO DA ILHA DA MARAMBAIA. E ao DEPÓSITO CENTRAL DE MUNIÇÃO do Exército Brasileiro, onde foi permitida a entrada para as atividades de campo.

A todas as pessoas que colaboraram direta ou indiretamente para que este trabalho fosse concluído: DALVA FREIRE, ARTHUR, LEONARDO, IVAN, MAURÍCIO, Tenente ALVES JUNIOR, “Mordomo” JOEL.

BIOGRAFIA

ANDREA KILL SILVEIRA, filha de **Adalberto Brito da Silveira** e **Regina Kill Silveira**, nascida na cidade de Fátima do Sul, estado do Mato Grosso do Sul.

Em 1987 iniciou o ensino fundamental na “Escola Estadual José Bejo”, cidade de Glória D' Oeste – MT, o qual concluiu em 1995. E cursou o ensino médio na “Escola Estadual Filinto Müller”, cidade de Fátima do Sul finalizando em dezembro de 1998. Ingressou em fevereiro de 1999 na Universidade do Estado do Mato Grosso (UNEMAT), cidade de Cáceres, no curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas, graduando-se em julho de 2003.

Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica – FAPEMAT/UNEMAT, durante dois anos (2001-2003), na área de educação ambiental. Foi monitora e estagiária no curso de Ciências Biológicas na disciplina de Parasitologia. Apresentou monografia de final de curso, intitulada: “Doença de Chagas: Características Etnobiológicas e Epidemiológicas no Assentamento Paiol, Cáceres-MT”.

No ano de 2003 e novamente em 2006 foi professora no ensino fundamental e médio na disciplina de Ciências e Biologia em duas escolas públicas no estado do Mato Grosso.

Iniciou o curso de Pós – Graduação em Ciências Veterinárias em março de 2008.

RESUMO

KILL-SILVEIRA, Andrea. **Caracterização de ecossistemas com potenciais de risco para a infestação por carrapatos e transmissão de riquetsias para humanos no estado do Rio de Janeiro.** 2010. 50p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

As atividades antrópicas podem modificar o ambiente e propiciar a interação entre animais domésticos, silvestres e humanos facilitando a dispersão de carrapatos e patógenos. Este estudo teve como objetivos caracterizar a fauna de carrapatos coletados em ambientes com diferentes graus de atividade antrópica e detectar a presença de *Rickettsia* spp. nestes carrapatos, assim como caracterizar o perfil dos ambientes e a distribuição dos ixodídeos e de riquetsias. Foram realizadas quatro coletas em cinco áreas no estado do Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Floresta Nacional Mario Xavier (FLONA), ambos no município de Seropédica, Parque Nacional do Itatiaia (PNI), em Itatiaia, Depósito Central de Munição (DCMun) em Paracambi, e Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia (CADIM), município de Mangaratiba. Carrapatos foram coletados em seis pontos amostrais em cada uma das áreas. Nas coletas foram utilizadas arrasto de flanela, armadilha química de CO₂ e catação manual sobre as vestes e corpo dos pesquisadores. Os carrapatos coletados foram identificados e submetidos a PCR e nested-PCR utilizando os iniciadores, gênero/específicos, 17k-5 e 17k-3 e 17kD2 e 17kD1, respectivamente. Foram coletados 5351 ixodídeos, sendo 2261 na UFRRJ, 1599 no CADIM, 992 no DCMun, 494 na FLONA e apenas cinco no PNI. Do total de carrapatos coletados 4117 foram identificados como larvas e 779 como ninfas de *Amblyomma* spp. Os adultos foram identificados como *Amblyomma cajennense* (93) 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 248 larvas de *Rhipicephalus (Boophilus) 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 antropização. A presença da espécie *R. (B.) microplus* esteve associada a presença de seus hospedeiros principais que são os bovinos, a espécie *A. dubitatum* foi recuperada de área de reflorestamento com pressão antrópica. 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 (estacional). Das cinco áreas pesquisadas, as duas áreas militares foram positivas para *Rickettsia* spp. A presença de riquetsia, em carrapatos coletados em ecossistema 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

KILL-SILVEIRA, Andrea. **Ecosystems characterization with potential risk for infestation by ticks and rickettsial transmission to humans in the Rio de Janeiro state.** 2010. 50p. Dissertation (Magister Scientiae in Veterinary Sciences, Animal Healthiness). Instituto de Veterinária. Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2010.

Human activities can change the environment and to increase the interaction between domestic animals, wildlife and humans allowing the dispersion 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 Mario 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 Adestramento da Ilha da Marambaia (CADIM), in Mangaratiba municipality. Ticks were collected in six sites of each area. For the collecting were utilized the drag sampling, chemistry trap of CO₂ and manual collecting on the researcher clothes and body. The ticks collected were identified and submitted to PCR and nested-PCR utilizing genera-specific primers 17k-5 and 17k-3, 17kD2 and 17kD1, respectively. Thus, 5,351 ticks were collected, being 2,261 in UFRRJ, 1,599 in CADIM, 992 in DCMun, 494 in FLONA and only 5 in PNI. Of the total number of ticks collected 4,117 were identified as larvae and 779 as nymphs of *Amblyomma* spp. The adults were identified as *Amblyomma cajennense* (93) captured in all areas, except in PNI. *Amblyomma brasiliense* (3) were collected only in PNI and *Amblyomma dubitatum* (1) only in FLONA. Also were recovered 248 larvae of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* in FLONA and 63 in DCMUN. The ticks abundance of the genera *Amblyomma* and of the species *A. cajennense* increased in areas with high human activity. The presence of *R. (B.) microplus* was associated to presence of the bovines, its principal host. The species *A. dubitatum* was recovered in reforestation with anthropogenic pressure while *A. brasiliense* was found in area 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 (seasonal). Of the five sites studied, two military areas presented ticks positives for *Rickettsia* spp. The presence of rickettsia in ticks collected in the ecosystem of interaction among domestic animals, 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 FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Armadilha química de CO ₂ (CANÇADO et al., 2008) modificada.....	11
Figura 2. Esquema representativo do arrasto de flanela sobre a vegetação.....	12
Figura 3. Número de ixodídeos, por estação do ano, estágio de desenvolvimento, coletados em cinco áreas amostrais no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no Estado do Rio de Janeiro.....	26
Figura 4. Estádio de desenvolvimento de carrapatos do gênero <i>Amblyomma</i> coletados nas três diferentes armadilhas utilizadas nas cinco áreas amostrais, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.....	27

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados nas cinco áreas amostrais, entre outubro de 2008 e agosto de 2009, no Estado do Rio de Janeiro.....	15
Tabela 2. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados na área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica-RJ, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.....	16
Tabela 3. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados na Floresta Nacional Mário Xavier, Seropédica-RJ, no período de dezembro de 2008 a junho de 2009.....	18
Tabela 4. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie coletados no Parque Nacional do Itatiaia, Itatiaia-RJ, no período outubro de 2008 a agosto de 2009.....	20
Tabela 5. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados na área do Depósito Central de Munição, Paracambi-RJ, no período de dezembro de 2008 a julho de 2009.....	21
Tabela 6. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados na área do Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia, Mangaratiba-RJ, no período de dezembro de 2008 a agosto de 2009.....	23

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
CADIM	Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
FMB	Febre Maculosa Brasileira
GFM	Grupo da Febre Maculosa
GT	Grupo do tifo
IFI	Imunofluorescência indireta
DNA	cido desoxirribonucléico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
CO ₂	Gás carbnico
C ₃ H ₆ O ₃	cido ltico
CaCO ₃	Carbonato de cálcio
NaCl	Cloreto de sódio
Tris-HCL	Cloridrato de Tris-(hidroximetil)- aminometano
EDTA	cido etilenodiamino tetra-acético
g	Força centrífuga relativa
pb	Pares de bases
kDa	Kilodalton
htrA	Denominação do gene que codifica a proteína de 17kDa
gltA	Gene que codifica a proteína citrato sintase
ompA	Gene que codifica a proteína externa da membrana
ompB	Gene que codifica a proteína externa da membrana
UTM	Projeção Universal Transversal de Mercator

SUMÁRIO

	Pág.
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1 Alterações Ambientais e as Doenças Infecciosas.....	2
2.2 Carrapatos e Aspectos Ecológicos.....	2
2.3 Das Riquetsias e Febre Maculosa Brasileira.....	5
2.4 Diagnóstico e Detecção de Riquetsias.....	7
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	8
3.1 Caracterização das Áreas de Coletas.....	8
3.2 Coleta e Identificação dos Ixodídeos.....	10
3.3 Extração de DNA.....	13
3.4 Amplificação de DNA por PCR para Identificação da Presença de <i>Rickettsia</i> spp.....	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	15
4.1 Distribuição de Carrapatos por Área Amostral	15
4.2 Distribuição de Carrapatos por Estação do Ano.....	25
4.3 Distribuição de Carrapatos por Armadilha.....	26
4.4 Biologia Molecular.....	28
5 CONCLUSÕES.....	29
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

1 INTRODUÇÃO

A expansão humana causa alterações importantes nas comunidades biológicas, pois a exploração dos recursos naturais gera a fragmentação de habitat 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 exemplos comuns, atualmente. Além dos problemas ambientais, a expansão humana acarreta problemas sócio-econômicos, como a inadequada distribuição de renda, desemprego e fome. Tais fatos podem tornar maior o número de indivíduos suscetíveis a determinadas infecções.

Nesse quadro de mudanças, algumas doenças infecciosas tiveram sua emergência e reemergência. Também surgiram novos patógenos, vetores e hospedeiros tornaram-se mais suscetíveis. Dentro desse contexto, os carrapatos, pela importância como vetores de microrganismos, incluindo protozoários, bactérias e vírus, cada vez mais oferecem risco, especialmente pelo aumento do contingente humano em contato com a natureza, em atividades de caráter ocupacional e de lazer. Isto 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.

A identificação das espécies de ixodídeos e dos agentes patogênicos transmitidos por estes, 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 caracterizar a fauna de carrapatos coletados em ambientes com diferentes graus de atividade antrópica e detectar a presença de *Rickettsia* spp. nestes carrapatos, bem como caracterizar o perfil dos ambientes e a distribuição dos ixodídeos e das riquetsias durante o período do estudo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 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, facilitando a dispersão de agentes patogênicos entre o gradiente urbano, peri-urbano e rural (BRADLEY; ALTIZER, 2006).

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

Entre 1940 e 2004, foi reportado um aumento na emergência de 335 doenças infecciosas. Esses eventos estão relacionados 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 destas enfermidades pode ser caracterizado como, principalmente, de origem zoonótica, geralmente associadas a animais silvestres, transmitidas por vetores. E, além disso, em sua maioria são causadas por bactérias ou riquetsias (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. A dinâmica temporal e espacial de patógenos, vetores e hospedeiros sofre influência direta das mudanças climáticas que estão ocorrendo ativamente. Por exemplo, o aumento da temperatura 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).

2.2 Carrapatos e Aspectos Ecológicos

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos nos estádios de vida pós-embrionário. Parasitam uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo espécies de anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Eles 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. Esses efeitos podem ser diretos, causados pelo hematofagismo ou pela inoculação de toxinas, podendo ocasionar reações inflamatórias e ou alérgicas, como também podem ser indiretos, como as 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 apenas no momento da oviposição (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006).

O ciclo de vida dos carrapatos está relacionado a diversos fatores, sejam estes, tanto os ambientais, a estrutura do habitat e o clima, quanto à disponibilidade de hospedeiros (ESTRADA-PEÑA, 2003; RANDOLPH, 2004b). Estudos mostram as interações dos ixodídeos com o ambiente e a sua relação com os seus hospedeiros, e evidenciam a dependência mútua. As características biológicas de cada espécie depende desses fatores e de como ocorre a interação entre os mesmos.

No Brasil, existem descritas até o momento 61 espécies de carrapatos, distribuídas em nove gêneros: *Ixodes*, *Ornithodoros*, *Haemaphysalis*, *Antricola*, *Argas*, *Carios*, *Dermacentor* e *Rhipicephalus*. Dentre estes, os mais abundantes são os carrapatos do gênero *Amblyomma*, o qual inclui cerca de 30 espécies (DANTAS-TORRES et al., 2009).

O *Amblyomma cajennense* é conhecido popularmente, no Brasil, como estrela ou carrapato rodoleiro na fase adulta. Micuim quando na fase larval. Enquanto as ninfas são chamadas de carrapatinho (ARAGÃO, 1936). Possui baixa especificidade quanto ao hospedeiro 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 já foi descrita 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 os estádios imaturos já foram encontrados parasitando animais domésticos e humanos (ONOFRIO et al., 2006; GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2006). Esta 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).

Amblyomma 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 encontrada em áreas de mata e locais abertos e antropizados (ONOFRIO et al., 2006; PEREZ et al., 2008; SZABÓ et al., 2009).

Rhipicephalus (Boophilus) microplus é uma espécie exótica, introduzida no Brasil e em outros países latino-americanos como: Argentina, Bolívia, Colômbia, Venezuela e Peru. Durante a colonização européia, 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 no município de Itaguaí, hoje Seropédica, estado do Rio de Janeiro, foi observado o padrão populacional típico da região sudeste do país, com uma geração por ano, sendo que a proporção maior de larvas de *A. cajennense*, se apresenta na época mais seca e fria do ano, sobretudo nos meses de julho e agosto (SOUZA; SERRA-FREIRE, 1994a). Esses mesmos autores evidenciaram picos populacionais de ninfas de *A. cajennense* no inverno e primavera, com preponderância em setembro e outubro, enquanto os adultos desta espécie tiveram maior número populacional 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, Lemos et al. (1997) estudaram a atividade estacional de carrapatos coletados na vegetação e observaram padrões sazonais na atividade de *A. cajennense*, sendo os adultos coletados em maior número durante o verão, com picos em fevereiro e março, as ninfas entre os meses de junho a setembro e as larvas em março e agosto.

Em área pastejada por equinos, Oliveira et al. (2000) em Minas Gerais, observaram que *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.

Labruna et al. (2002), estudando a dinâmica populacional de *A. cajennense*, sobre equinos, no estado de São Paulo, também constataram a existência de diferentes picos de atividade do carrapato. Picos de larvas foram observados no período de abril a julho, registrando o maior número no mês de maio, não sendo observadas no período de outubro a fevereiro. Alta abundância de ninfas foi registrada entre junho a outubro e não foram encontradas entre janeiro e abril. Os adultos ocorreram durante todo o ano, com maior proporção entre outubro a março, sobretudo em fevereiro, com redução entre abril e setembro. Portanto, os estádios imaturos de *A. cajennense* ocorreram em maior abundância em períodos de menor precipitação e temperatura, com adultos de *A. cajennense* ocorrendo em épocas de maior temperatura e precipitação.

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

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 em 52 mamíferos. Os carrapatos adultos encontrados foram identificados como *A. cajennense* e *A. dubitatum*. Eles parasitavam principalmente capivaras, mas também foram encontradas em gambás. Os estádios imaturos foram encontrados em pequenos mamíferos e nas aves, mas observaram-se como principais hospedeiros os 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 dispersão dos estádios imaturos de *Amblyomma* spp., devido à sua grande capacidade de dispersão, podendo facilitar a colonização destes carrapatos em diversas áreas.

Segundo Oorebeek e Kleindorfer (2008), 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 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. Szabó et al. (2009) afirmam que a abundância de carrapatos está diretamente relacionada à abundância de seus hospedeiros.

Labruna et al. (2001), estudando fatores de risco relacionados ao manejo em haras ou fazendas que têm como atividade principal a equinocultura. Verificaram, entre outros achados, que a presença de *A. cajennense* é significativamente maior em fazendas que utilizam

pastagens não manejadas e com plantas arbustivas invasoras, em contraposição àquelas que utilizam rodízio de pastagens. Notaram também a presença de *R. (B.) microplus* em propriedades que utilizam pastagens simultâneas para bovinos e equinos.

Em pesquisa realizada por Cançado et al. (2008) sobre a distribuição espacial e o impacto de fazenda de gado sobre carrapatos no Pantanal, foi verificado que carrapatos *A. cajennense* foram mais abundantes em área de pasto, em comparação a área de proteção ambiental. Os autores consideraram que atividades antrópicas naquele bioma podem favorecer o aumento populacional de carrapatos, principalmente da espécie *A. cajennense*. Eles indicaram que as alterações microclimáticas, como mudanças na temperatura e umidade, poderiam influenciar indiretamente a população de hospedeiros e de predadores naturais, favorecendo o aumento populacional dos ixodídeos.

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 evidenciaram por observação *in loco*, que a maioria dos carrapatos *Amblyomma* spp. e *Haemaphysalis juxtakochi* aguardam pelo hospedeiro sobre a vegetação, predominantemente na altura de 30-50 cm 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. Estes pesquisadores 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).

2.3 Das Riquetsias e Febre Maculosa Brasileira

As espécies do gênero *Rickettsia* são cosmopolitas e causam agravo à saúde humana, sendo mantidas na natureza por artrópodes vetores e por vertebrados amplificadores e, ou, reservatórios, podendo se apresentar em focos endêmicos, surtos esporádicos e sazonais, e também na forma epidêmica (PAROLA; RAOULT, 2001).

Estes microorganismos são divididos em dois grupos, considerando a patogenicidade e a algumas características fenotípicas. O grupo do Tifo (GT) que é composto pelas espécies *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, os vetores são o piolho humano e pulgas, respectivamente. 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*, estão associadas principalmente a carrapatos, e no caso das duas últimas espécies, a pulgas e pequenos acáros, 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 2001 e 2008 foram confirmados 501 casos de FMB nas regiões Sul, Sudeste e Distrito Federal, com registro de 89 casos no estado de Minas Gerais, 250 em São Paulo, 35 no Rio de Janeiro e 28 casos no Espírito Santo. Em Santa Catarina ocorreram 90 casos, no Paraná 4, no Rio Grande do Sul 2 e no Distrito Federal 3 casos. E nos anos de 2007 e 2008 também foram notificados casos nas regiões Norte e Nordeste, especificamente, nos estados de Rondônia, Amapá e Bahia (BRASIL, 2009). No estado do Rio de Janeiro, alguns municípios como Petrópolis, Piraí, Barra do Piraí, Miguel Pereira, Duque de Caxias, Nova Iguaçu, Resende e a própria capital registraram casos de FMB, inclusive casos fatais (LEMONS et al., 2002; ROZENTAL et al., 2002; SLOBODA, 2008; CUNHA, et al., 2009). Este número pode ser maior pela provável existência de sub-notificações.

Segundo Cardoso et al. (2006) para que exista a FMB em humanos, é necessária à coexistência entre hospedeiros reservatórios e hospedeiros vertebrados incluindo animais domésticos e silvestres. Os equinos e os cães estão próximos do homem e de áreas naturais, desempenhando um papel importante na cadeia epidemiológica da FMB, podendo atuar como sentinelas na vigilância epidemiológica desta doença. Em inquérito sorológico realizado no ano de 1992, no município de Caratinga-MG, foi diagnosticado que 53% dos equinos, 25% dos cães e 2% de humanos, apresentavam sorologia positiva para *R. rickettsii* (GALVÃO, 1996). Também foi realizada sorologia em escolares no município de Novo Cruzeiro-MG. Verificou-se que, dos alunos investigados, 10% foram soro-reativo 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 seja o elo entre os ciclos enzoótico e zoonótico da doença (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004; HORTA et al., 2009). Souza et al. (2009) observaram que, no ambiente silvestre, as capivaras podem desempenhar um papel importante na transmissão das riquetsias, já que apresentaram sorologias positivas, podendo atuar como hospedeiros amplificadores da população de carrapatos.

Figueiredo et al. (1999) destacaram a importância do contato de animais silvestres, principalmente mamíferos como as capivaras e veados, infestados por carrapatos que vivem próximos a bovinos, equinos e cães, compartilhando com estes as mesmas espécies de

carrapatos e, portanto, oferecendo riscos, pois podem transmitir zoonoses para humanos.

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 de idade.

2.4 Diagnóstico e Detecção de Riquetsias

O diagnóstico laboratorial de enfermidades ocasionadas por riquetsias, por exemplo, a FMB, pode ser realizado por imunofluorescência indireta (IFI), imunohistoquímica, isolamento microbiológico ou 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, 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 vetores é de grande importância nos estudos epidemiológicos e nas 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 detecção e identificação de riquetsias patogênicas em vetores 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 carrapatos por diversos pesquisadores, dentre estes em carrapatos da espécie *A. cajennense*, coletados em pastagens e em cavalos (GUEDES et al., 2005; CARDOSO et al., 2006), em *R. sanguineus* coletados em cães (CUNHA et al., 2009), *Haemaphysalis leporispalustris* alimentados em coelhos (FREITAS et al., 2009). Também experimentalmente foi possível verificar que capivaras atuam como hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* para *A. cajennense* (SOUZA et al., 2009).

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 observada em *Amblyomma ovale*, *Amblyomma scapturatum* e *Amblyomma oblongoguttatum*, coletados sobre a vegetação (LABRUNA et al., 2004), *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). Em *A. brasiliense* foi verificada a presença de *Rickettsia* sp., os carrapatos foram coletados no ambiente e em equinos (CAMPOS et al., 2008).

O risco para a saúde humana está diretamente relacionado a diversos fatores, como o grau de interrelação do homem com o ambiente, animais domésticos e silvestres, artrópodes e patógenos, passando a elaboração e a adoção de medidas profiláticas e de controle pelo adequado conhecimento da epidemiologia dos agentes envolvidos no processo saúde e doença das populações.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em cinco áreas amostrais, a saber: área 1 - Campus Seropédica 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 Mario Xavier (FLONA); Área 3 - Parque Nacional do Itatiaia (PNI); Área 4 - Depósito Central de Munição do Exército Brasileiro (DCMun); Área 5 - Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia – Marinha do Brasil (CADIM).

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.

3.1 Caracterização das Áreas de Coleta

Área 1 – Formada por área pertencente à UFRRJ/Embrapa/PESAGRO-RIO, localizada no Km 07 da BR 465, município de Seropédica, no estado do Rio de Janeiro. Nos pontos onde se procederam as coletas, há circulação de alunos de graduação e pós-graduação, participantes de eventos, professores, pesquisadores, servidores destas instituições e, também seus familiares, integrantes das comunidades do entorno e fornecedores de serviços e produtos para estas instituições.

Nesta área, a vegetação é secundária, apresentando pastagens, fragmentos de matas e capoeiras, com espécies nativas e introduzidas, e de reflorestamento, com diferentes espécies de eucalipto. O solo predominante é do tipo latossolo e podzólico, sendo o relevo considerado como 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 dos animais serem manejados em áreas específicas, o contato entre as diversas espécies é frequente. Existe ainda, confinamento de bovinos, aves e coelhos. A fauna silvestre de vertebrados é composta por aves, mamíferos de pequeno e médio porte, além de anfíbios e répteis.

Área 2 – A FLONA, fica localizada às margens da BR 465, km 3,5, no município de Seropédica-RJ, a área é de 493 hectares. No seu entorno existem loteamentos urbanos com elevada ação antrópica, além da Rodovia Presidente Dutra. Nos últimos anos a FLONA vem sofrendo intenso processo de antropização, devido às obras de um anel rodoviário que está sendo construído em sua área, alterando a paisagem e aumentando o impacto ambiental já existente nesta região.

As espécies vegetais mais encontradas nesta área são eucaliptos, sabiás e andirobas (FERNANDES et al., 2006). As espécies animais observadas são pequenos mamíferos (roedores, micos e saguis), capivaras e aves, além de animais domésticos como cães, gatos,

bovinos e equinos, introduzidos pela população do entorno.

Área 3 – O PNI é uma área de proteção ambiental, localizada entre os Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, com maior área localizada no estado do Rio de Janeiro, totalizando 30.000 hectares.

O tipo de vegetação e a fauna encontrada no PNI variam de acordo com a altitude, já que aquela área apresenta relevo muito acidentado. Na parte baixa do Parque, que é a área com intensa atividade turística, a vegetação é secundária. Neste local já houve desmatamento ou queimadas. Nas altitudes acima de 1.100 m predominam florestas primárias. Na região do Planalto do Itatiaia, encontram-se os campos de altitude, onde estão as nascentes de rios que integram as bacias hidrográficas do Rio Paraíba do Sul e do Rio Grande (SANTOS; ZIKAN, 2000). Existem diversas espécies de animais e vegetais, sendo que algumas são endêmicas do Parque e outras estão ameaçadas de extinção (SANTOS; ZIKAN, 2000).

O PNI recebe cerca 100.000 visitantes, ao longo de todo o ano, atraídas pela beleza natural do local. A maioria dos visitantes são originários do estado do Rio de Janeiro, e uma pequena parcela constituída por estrangeiros (MAGRO; VIEIRA, 2000).

Área 4 – O DCMun está localizado na rodovia RJ-127, km 6, no município de Paracambi-RJ, inserido na bacia litorânea, com clima quente e úmido. A classificação da vegetação desta área está relacionada a um sistema secundário com alteração da vegetação original por ocupação humana.

A área do DCMun é cortado pela rodovia RJ-127, pelo rio Ribeirão das Lages e contornado por serras, cuja vegetação predominante são matas secundárias e pastagens. Nesta área são encontrados animais domésticos, como cães, equinos, bovinos e também animais silvestres como, capivaras, pequenos roedores, aves, anfíbios e répteis.

O DCMun tem um efetivo de militares de carreira, recebendo anualmente 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.

Área 5 – O CADIM localiza-se no município de Mangaratiba, em uma península formada por uma estreita faixa arenosa, com cerca de 40 km de comprimento e aproximadamente 49,4 km². A extremidade oeste da restinga é conhecida como Ilha da Marambaia, é uma área montanhosa; a leste é formada por um cordão arenoso que se estende até o continente. A face norte da Restinga está voltada para a Baía de Sepetiba e sua face sul é banhada pelo Oceano Atlântico (MENEZES; ARAÚJO, 2005).

A região da Marambaia apresenta uma estrutura complexa em termos de fitossistema, composto por trechos de floresta atlântica, manguezais e restingas. Ela é classificada como um sistema edáfico de primeira ocupação, também chamada de formação pioneira. A vegetação que recebe influência das marés é chamada de restinga e pode ser subdividida em arbórea no ponto rochoso, arbustiva nas dunas e herbácea nas praias (VELOSO et al., 1991).

Encontram-se nesta área alguns animais domésticos, principalmente cães, equinos e aves. Observa-se também animais silvestres como primatas, capivaras, pequenos mamíferos, aves, répteis e anfíbios. A área denominada Ilha da Marambaia é ocupada por população civil, que tem a pesca como atividade principal, e pela Marinha do Brasil, com uma população de militares residentes no local e outros que vão até a ilha apenas para trabalhar, e retornam ao continente, diariamente. O quartel também recebe recrutas, que realizam atividades de treinamento militar nas áreas de matas. Além destes, no CADIM ocorre treinamento de militares pertencentes a outras unidades e eventualmente de países sul-americanos.

A caracterização dos pontos amostrais foi realizada por fotointerpretação e observação

do ambiente.

3.2 Coleta e Identificação dos Ixodídeos

As coletas foram realizadas entre os meses de outubro de 2008 e agosto de 2009. Foram realizadas quatro coletas de ixodídeos, uma em cada estação do ano. Em cada área, seis pontos amostrais foram escolhidos considerando características como: presença de humanos, animais domésticos e, ou, silvestres. Foram utilizadas três formas 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. Esta armadilha 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 se deram, 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 pote utilizado para acondicionar o CaCO₃.

A armadilha foi constituída de um pote plástico com tampa, de uso doméstico, redondo, com capacidade de 1500 mL. Nas laterais do pote foram feitas 11 aberturas circulares de 5,0 mm de diâmetro, com 4,5 cm de distância entre si e a 1 cm 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 cm deste.

Para o sistema de gotejamento do ácido láctico, foi usado um frasco descartável de soro hospitalar, com capacidade de 500 mL 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 foi utilizado uma barra de ferro com ½ polegada de diâmetro, com 1,2 m de comprimento, com uma das extremidades pontiaguda, para facilitar a fixação ao solo e a outra, superior, provida de alça.

O pote plástico com CaCO₃ foi colocado sobre uma flanela branca de 1 m², 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 (Figura 1). A cada 15 minutos a armadilha foi inspecionada, e os carrapatos não aderidos à fita foram recolhidos para uma seringa hospitalar adaptada. A velocidade do fluxo de gotejamento foi ajustada, se necessário, e o ponto de gotejamento trocado a cada 15 minutos para permitir o consumo homogêneo e total do CaCO₃.

Para cada coleta de duas horas foram utilizados 200 g de CaCO₃ e 400 ml de ácido láctico. O fluxo de gotejamento do ácido láctico foi de aproximadamente de 3,3 mL/min.

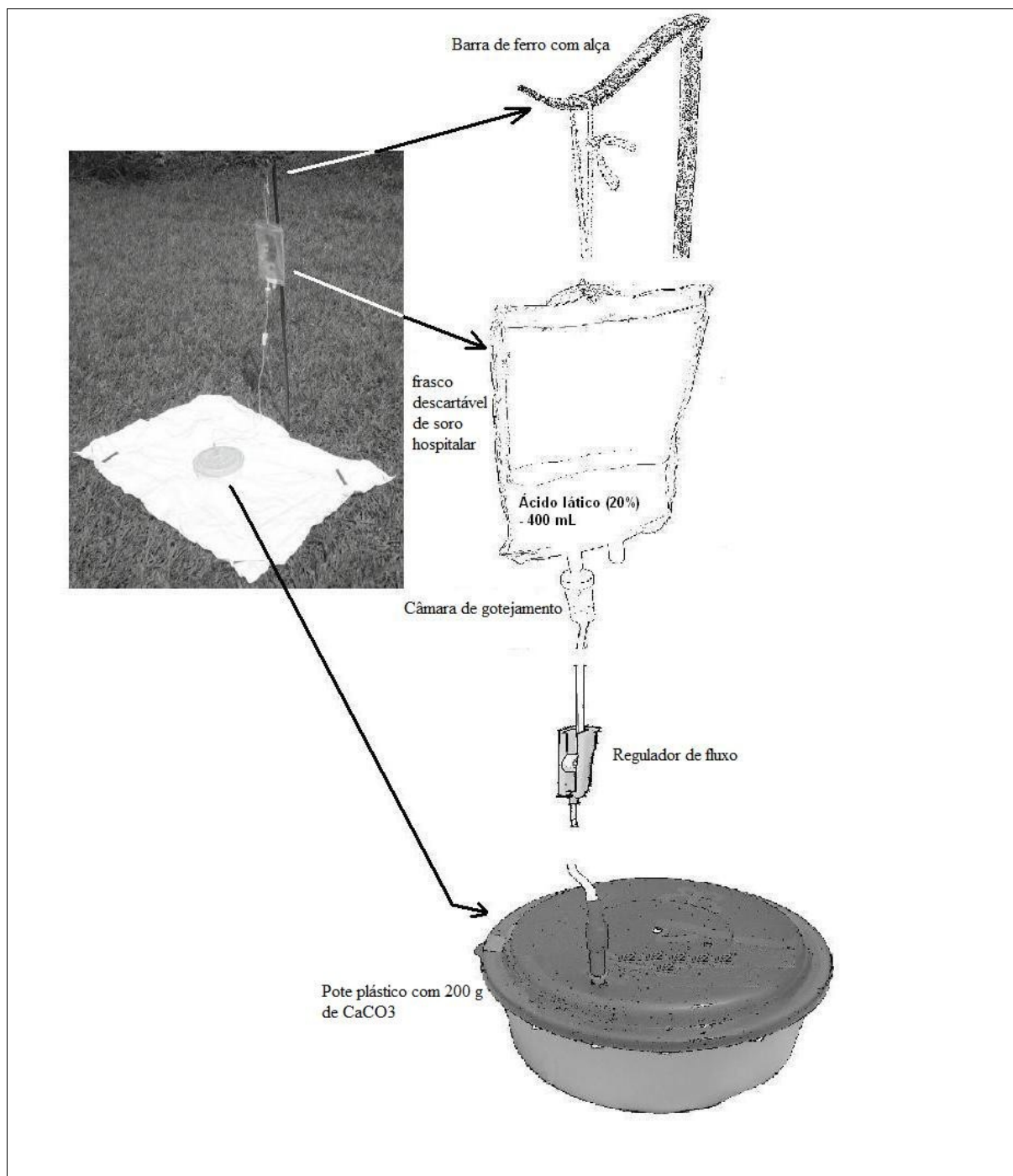


Figura 1. Armadilha química de CO₂ (CANÇADO et al., 2008) modificada.

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 m², com pesos nas extremidades foi arrastada sobre a vegetação onde estava a armadilha de CO₂ e imediatamente após a sua retirada. Com uso de uma trena foi delimitado um quadrado de 4 X 4 m onde a flanela foi arrastada seguindo as linhas delimitadas e também nas duas diagonais, correspondendo a uma área de aproximadamente 28 m² (Figura 2).

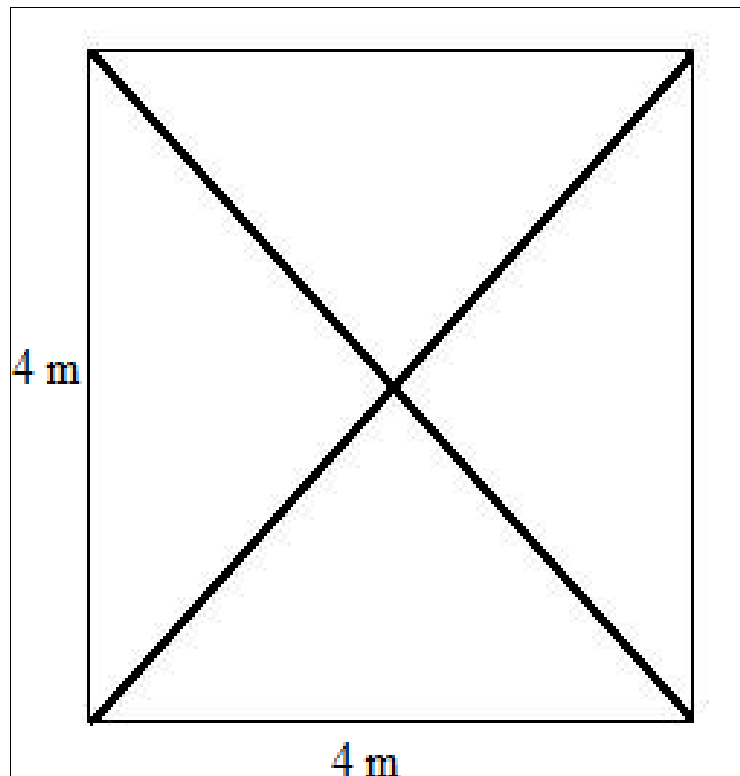


Figura 2. Esquema representativo do arrasto de flanela sobre a vegetação.

Os carrapatos recolhidos, por catação mecânica, sobre as vestes e corpo 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. Quando o pesquisador recolheu o carrapato em suas vestes ou fixado no corpo, após transitar por mais de um ponto, a amostra foi identificada 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 a catação mecânica.

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 estereoscópio, 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 adultos individualmente. Em pontos de coleta onde o número de larvas e ninfas não atingiu os números descritos acima, os lotes foram compostos com o número total de espécimes coletadas. Os lotes formados e identificados foram acondicionados em tubos tipo Eppendorf e congelados a -20 graus, até a extração de DNA.

Para a verificação da presença de *Rickettsia* spp. circulando nos locais pesquisados foi utilizado as técnicas de extração de DNA, a PCR e a eletroforese.

3.3 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 se deram principalmente na lavagem dos carrapatos coletados, no tempo de incubação da proteinase K, e nos tempos de centrifugação e a 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 ultra pura, duas vezes, por 5-10 minutos.

Após a remoção da água, adicionou-se a cada amostra, 100 µL 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 4000 g durante 12 minutos, sendo o sobrenadante transferido para tubos novos, nos quais se adicionou 0,5 µL proteinase K, incubando-se em banho maria por uma hora a 56 °C.

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

Para a precipitação do DNA foram adicionados 10 µL de NaCl e 100 µL 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 a temperatura ambiente, centrifugadas a 4000 g por 15 minutos. Em seguida, a solução NaCl/Isopropanol foi removida, adicionando-se 200 µL de álcool a 70%, cuidadosamente sem ressuspender o precipitado, centrifugando-se a seguir a 4000 g por 12 minutos, para a remoção do álcool.

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

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

As amostras de DNA anteriormente extraídas foram agrupadas para a formação de *pools* com até sete amostras. De cada amostra de DNA foi retirada uma alíquota de 5 µL de solução. Estes *pools* foram submetidos à amplificação por meio da técnica de PCR utilizando a metodologia descrita por Mullis et al. (1986). Quando um *pool* apresentou bandas com pesos moleculares sugestivos de *Rickettsia* spp., este foi desmembrado e submetido novamente a PCR e eletroforese para a identificação da amostra.

Para a amplificação da porção de 549 pb do gene *htrA*, *Rickettsia* gênero-específico, 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 5 µL de cada pool de DNA. O produto da PCR foi congelado à -20 °C até a realização da eletroforese em gel agarose.

Para evidenciação da banda de 549 pb, uma alíquota do produto amplificado foi submetida à eletroforese em gel de agarose a 1,2%, corado com brometo de etídeo, utilizando marcador de 100 bp e 1,0 µL de água ultra pura para o controle negativo, para o controle positivo foi utilizado 1,0 µL de DNA de *R. rickettsii* purificado. Visualizados em transiluminador e procedido o registro fotográfico em meio eletrônico.

As amostras negativas do produto da primeira amplificação foram reamplificadas

utilizando os iniciadores, também gênero-específico, 17k-D2 e 17k-D1, (AZAD et al., 1990; SCHRIEFER et al., 1994), que amplificam uma porção 434 pb, também do gene htrA. Este método é uma PCR de maior sensibilidade (nested-PCR), uma vez que a porção 434 pb 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 2 μ L do produto da primeira reação diluído pelo fator 10^{-1} .

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

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Distribuição de Carrapatos por Área Amostral

Ixodídeos foram coletados em todas as áreas, num total de 5351 espécimes. Os carrapatos do gênero *Amblyomma* foram os mais abundantes, correspondendo a 94% (n= 5040), coletados em todos os estádios de desenvolvimento, sendo 82% de larvas, 16% ninfas e 2% adultos e foram recuperados de todas as áreas. As larvas de *R. (B.) microplus* (n= 311) foram coletadas na FLONA (80%) e no DCMun (20%). 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 estádio evolutivo e gênero/espécie, coletados nas cinco áreas amostrais, entre outubro de 2008 e agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.

Áreas	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécies								Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	Ab_f	Ab_m	Ad_f	Rm_l	
UFRRJ	1982	257	10	12	0	0	0	0	2261
FLONA	82	156	5	2	0	0	1	248	494
PNI	0	2	0	0	2	1	0	0	5
DCMun	872	34	12	11	0	0	0	63	992
CADIM	1208	350	25	16	0	0	0	0	1599
Total	4144	799	52	41	2	1	1	311	5351

(UFRRJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; FLONA: Floresta Nacional Mário Xavier; PNI: Parque Nacional do Itatiaia; DCMun: Depósito Central de Munição; CADIM: Centro de Adestramento 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 (Boophilus) microplus*).

A maioria dos adultos (96%) foi identificada como *A. cajennense*. Destes, coletou-se 44% na área do CADIM, 25% na UFRRJ, 24% no DCMUN e 7% na FLONA. Esta espécie não foi coletada no PNI. E a espécie *A. brasiliense* (3%) foi coletada apenas no PNI, enquanto *Amblyomma dubitatum* (1%), somente na FLONA. Das larvas de *Amblyomma* spp., 48% foram coletadas na UFRRJ, 29% no CADIM, 21% no DCMun e 2% na FLONA. As ninfas foram coletadas 44% no CADIM, 32% na UFRRJ, 20% na FLONA e 4% no DCMun.

Na área 1 (UFRRJ), 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. Não foi possível identificar o ponto de coleta de 0,4% dos carrapatos, que foram recuperados das vestes/corpo dos pesquisadores, após transitarem por mais de um ponto (Tabela 2).

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

alunos de Pós-graduação da UFRRJ, e da escola Estadual Presidente Dutra. A população deste local utiliza a área para recreação, e também para pastoreio para equinos. A 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. Durante as coletas foi observada 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 17% dos machos de *A. cajennense*.

Tabela 2. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados 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/Espécies				Total
	A_1	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	1	0	4
Lago Mirim	2	3	0	0	5
FAIZ	1668	27	4	6	1705
Equino	308	217	4	2	531
Total	1982	257	10	12	2261

(A_1: larvas de *Amblyomma* sp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* sp.; Ac_f: fêmeas *Amblyomma cajennense*; Ac_m: macho *Amblyomma cajennense*; UFRRJ: carrapatos recuperados sobre o corpo e vestes dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta).

O ponto 2 (Lago Embrapa, localizado UTM: Zona 23K, N 7.482.338, E 635.398, 38 m de altitude), localiza-se nas margens (5m) de um lago que fica próximo aos prédios da EMBRAPA-Agrobiologia, e próximo à rua que dá acesso ao bairro Ecologia. O local é todo gramado, e a área é descampada com predominância de sol. Poucas árvores foram observadas no entorno do lago e nas proximidades, e também há um fragmento de vegetação secundária distante 50 m do ponto. O solo é arenoso e seco. O local é utilizado 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, foram coletados neste ponto, sendo 17% dos machos e 10% das fêmeas de *A. cajennense*.

O ponto 3 (lago Açú, com as coordenadas UTM: Zona 23K, N 7482436, E 634.269, 30 m de altitude), nas proximidades do lago Açú (10 m), o local e o entorno apresentavam gramíneas rasteiras, 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 observadas, 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, 10% encontravam-se neste ponto, sendo 1,2% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 10% das fêmeas de *A. cajennense*.

O ponto 4 (lago Mirim, localização UTM: Zona 23K, N 7.482.528, E 634.434, 42 m de altitude), ficou nas proximidades (5 m) do lago. O local e entorno do ponto possuía 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 foram coletados 0,2% dos carrapatos da área da UFRRJ, correspondendo a 0,1% das larvas e 1,2% das ninfas de *Amblyomma* sp., os carrapatos foram coletados no inverno, ocasião em que o solo do local apresentou-se seco.

O ponto 5 (FAIZ, localizado, UTM: Zona 23K, N 7.482.390, E 633.115, 30 m de altitude), o local é um pasto, localizado no setor de bovinocultura de leite da UFRRJ, constantemente é 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 que era mantida baixa por pastejo dos equinos. No entorno, predominava capim, em geral, alto e pouca vegetação arbustiva. Há aproximadamente 20 metros do ponto localizava-se uma área alagada, com vegetação herbácea diversa e havia também plantação de eucaliptos. O solo é arenoso e seco. Trilhas de animais e pegadas de capivaras foram observadas na coleta da primavera de 2008. Neste ponto foram coletados 75% dos carrapatos da área da UFRRJ, sendo 84% de larvas de *Amblyomma* sp., destas, 1490 foram coletadas nas vestes dos pesquisadores, 10% das ninfas de *Amblyomma* sp., 40% dos machos e 50% das fêmeas de *A. cajennense*.

O ponto 6 (Pasto de Equinos localizado, UTM: Zona 23K, N 7.480.802, E 635258, 25 m de altitude), é uma área onde é mantida parte do plantel de equinos da UFRRJ. O ponto de coleta ficava nas proximidades (20 m) de um lago, o pasto apresentava gramínea alta em todas as coletas. O entorno era formado com vegetação herbácea e arbustiva. O solo é arenoso e úmido. Equinos e aves aquáticas foram observadas em todas as coletas. Vestígios de atividade humana relacionada à pesca foram observados no local. Neste ponto foram coletadas 23% do total de carrapatos da UFRRJ, sendo 15,5% das larvas e 84% das ninfas de *Amblyomma* sp., além de 40% e 17% das fêmeas e machos de *A. cajennense*, respectivamente.

Na área 2 (FLONA), 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 vestes/corpo 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 desta área (Tabela 3).

No ponto 1 (Campo de futebol localizado, UTM: Zona 23K, N 7.486.369, E 632.811, 40 m de altitude), em local aberto, com gramínea rasteira. O solo apresentou-se seco e bem drenado. No entorno podia-se observar arbustos e herbáceas, contíguo a este ficava uma floresta de eucaliptos e um fragmento de vegetação secundária. 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.

O ponto 2 (CETAS, com localização UTM: Zona 23K, N 7.486.497, E 632.432, 76 m de altitude), localizado na área do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS). A armadilha foi colocada entre algumas árvores, na gramínea baixa onde o solo é arenoso e seco. No entorno se observou 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 estes 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.

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

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécies						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	16	26
Entrada	0	0	0	0	0	232	232
Mata	5	28	2	0	1	0	36
BR 465	76	114	3	2	0	0	195
Total	82	156	5	2	1	248	494

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 (Boophilus) microplus*. FLONA: carrapatos recuperados sobre o corpo e vestes dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

O ponto 3 (ADM, localizado na UTM: Zona 23K, N 7485450, E 632.712, 51 m de altitude), local com gramíneas, situado próximo da sede administrativa da FLONA. O solo é arenoso, seco e bem drenado. O entorno era formado por vegetação arbórea secundária que propiciava sombra no ponto amostral, principalmente pela manhã e à tarde. Observaram-se fezes de bovinos e presença de cães e há relato do local ser pastejado por equino. Neste ponto coletou-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. (B.) microplus*.

O ponto 4 (Entrada da FLONA, com localização, UTM: Zona 23K, N 7.485.115, E 632.719, 48 m de altitude), situado a 30m da entrada principal da FLONA, local entre árvores de eucaliptos, que proporcionava sombra parcial ao ponto. O solo apresentou-se seco no momento das coletas e com matéria orgânica, constituído de folhas e casca de árvores e recoberto por gramíneas. O entorno apresenta, 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. (B.) 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, N 7.486.000, E 631.951, 28 m de altitude), não foi possível passar o arrasto de flanela e a armadilha química de CO₂ ficou 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% das fêmeas de *A. cajennense* e o único exemplar fêmea de *A. dubitatum* capturada no estudo. A quantidade de carrapatos coletados neste ponto correspondeu 7% do total de carrapatos recuperados na FLONA.

O ponto 6 (BR 465, com localização nas coordenadas UTM: Zona 23K, N 7.485.934, E 631.848, 36 m de altitude), localizava-se a aproximadamente 100 m 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 havia vegetação arbórea, herbácea, arbustiva e bambuzal. Foram observadas pegadas de capivaras, e também presença de pequenos animais silvestres, como coelhos e pequenos roedores, além de fezes de equinos e bovinos. Neste ponto, também havia evidências de que humanos visitavam a área com frequência. No ponto foram capturados 39% do total de ixodídeos coletados na FLONA, sendo o maior número de carrapatos do gênero *Amblyomma* (79,3%). Este número correspondeu a 93% das larvas, 73% das ninfas, 60% das fêmeas e 100% dos machos de *A. cajennense*.

Na área 3, (PNI) as coletas foram realizadas nos meses de outubro de 2008, fevereiro/março, maio e agosto de 2009. Ixodídeos foram coletados apenas no ponto 2 e 3, sendo observados apenas 5 exemplares. Destes, 2 eram ninfas de *Amblyomma* sp. e 3 adultos de *A. brasiliense* (Tabela 4).

No ponto 1 (Maromba, localizado na coordenada UTM: Zona 23K, N 7.519.641, E 539.129, 1096 m de altitude), localizado no estacionamento da área de visitação turística, denominado Cachoeira do Maromba, a aproximadamente 50 metros distante desta cachoeira. A vegetação do entorno era arbórea densa, proporcionando sombra pela manhã e 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. Não foram coletados ixodídeos neste ponto.

No ponto 2 (Rua de acesso, localizado em UTM: Zona 23K, N 7.517.027, E 540.597, 809 m 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, em que foi coletado, sobre as vestes do pesquisador, um carrapato adulto macho de *A. brasiliense*. O ponto é coberto por grama, frequentemente aparada. É sombreado por vegetação arbórea típica da mata atlântica e por espécies exóticas 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, N 7.517.301, E 540.088, 850 m 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. Saguis, 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 coletou-se carrapatos neste ponto.

O ponto 4 (Heliponto, localizado a UTM: Zona 23K, N 7.517.054, E 540.315, 842 m de altitude), era 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 a tarde. Foram observados animais, como macacos e aves, nas árvores frutíferas. Nas proximidades deste ponto existem trilhas de animais silvestres. Ixodídeos não foram coletados

neste ponto amostral.

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

Área/Pontos	Estádios Evolutivos por Gênero/Espécies			Total
	A_n	Ab_m	Ab_f	
Maromba	0	0	0	0
Rua de acesso	0	1	0	1
Centro de visitantes	0	0	0	0
Heliponto	0	0	0	0
Trilha	2	0	2	4
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*.

Ponto 5 (Trilha de acesso entre hotel Itatiaia e a cachoeira do Maromba, com localização UTM: Zona 23K, N 7.518.845, E 540.164, 1071 m de altitude). O local era sombreado, o solo úmido e o gramado coberto com folhas secas. O entorno possuía árvores de grande porte, além de palmeiras, lianas e samambaias. Observaram-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, pegadas identificadas como sendo de cães. Neste ponto foram coletadas duas ninfas de *Amblyomma* sp. e duas fêmeas de *A. brasiliense*.

Ponto 6 (Abrigo Rebouças, localizado UTM: Zona 23K, N 7.524.518, E 532.983, 2376 m de altitude). Neste ponto a vegetação era baixa e o solo arenoso e úmido. No entorno observaram-se grandes formações rochosas. A vegetação era composta por herbáceas e arbustos. Um córrego atravessa a região formando lagos em alguns locais. Fezes de um animal carnívoro e de bovinos foram encontradas. É um local que recebe muitos turistas, mas a intensidade é menor se comparada com a parte baixa do Parque. Não foram coletados carrapato neste local.

Na Área 4 (DCMun), 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 roupas/corpo durante as caminhadas dos pesquisadores, corresponderam a 16% do total coletados nesta área, sendo, 9% das larvas e 35% das ninfas de *Amblyomma* sp., 8% das fêmeas e 18% dos machos de *A. cajennense* e 94% das larvas de *R. (B.) microplus* (Tabela 5).

No ponto 1 (Bambuzal, com as coordenadas, UTM: Zona 23K, N 7.494.423, E 632.083, 43 m de altitude), havia predominância de sombra, proporcionada pelas touceiras de bambu, com vegetação forrageira e arbustiva escassas. O solo era coberto com folhas de bambu. O local era regularmente frequentado por equínos e cães. Neste local coletou-se 26% do total de carrapatos recuperados na área do DCMun, correspondendo a 28% das larvas e 12% das ninfas de *Amblyomma* sp., 8% e 9% das fêmeas e machos de *A. cajennense*, respectivamente.

O ponto 2 (Baías, com a localização, UTM: Zona 23K, N 7.494.517, E 632.278, 39 m

de altitude), constituiu-se de área delimitada para manejo de equinos, caracteriza-se pela existência de touceiras de bambu, nas proximidades, gramíneas permanentemente rasteiras pelo pastoreio dos equinos e pelo 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, coletados 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/Espécies					Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	Rm_l	
DCMun	80	12	1	2	59	154
Bambuzal	248	4	1	1	0	254
Baia	61	0	0	0	0	61
Pasto	30	3	7	7	0	47
Acampamento	0	3	0	0	0	3
Riacho	24	1	0	0	0	29
Mata	429	11	3	1	4	444
Total	872	34	12	11	63	992

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 (Boophilus) microplus*. DCMun: carrapatos recuperados sobre o corpo e vestes dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.

O ponto 3 (Pasto, localizado na UTM: Zona 23K, N 7.594.513, E 632.325, 34 m de altitude), constituiu-se de pasto para equinos, contíguo às baías, caracterizava-se por cobertura vegetal composta por gramíneas e herbáceas diversas. Entorno com área de reflorestamento e predominantemente de capim colônia. O solo era 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. Neste ponto foram coletados 5% dos carrapatos da área do DCMun, correspondendo a 3% das larvas 39% das ninfas de *Amblyomma* sp., além de 58% e 64% das fêmeas e dos machos de *A. cajennense*, respectivamente.

O ponto 4 (Acampamento, com localização em UTM: Zona 23K, N 7.494.604, E 632.841, 28 m de altitude), era utilizado como acampamento durante as atividades de treinamento militar, situado ao lado de uma estrada de acesso ao local. A cobertura vegetal predominante era de gramínea rasteira. O entorno era constituído por pasto de capim colônia. Neste local estava em andamento um projeto de reflorestamento, e também era 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% dos carrapatos do total da área o que correspondeu a 9% das ninfas de *Amblyomma* sp.

O ponto 5 (Riacho, localização UTM: Zona 23, N 7.494.018, E 633455, 22 m 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% das larvas e 3% das ninfas de *Amblyomma* sp.

O ponto 6 (Mata, localizado na UTM: Zona 23, N 7.494.346 E 632.962, 36 m de altitude), local sombreado com reduzida incidência de sol, circundado por árvores de médio porte e arbustos. O solo deste local era argiloso, com declive e bem drenado, coberto de folhas secas. No entorno havia fragmento de vegetação secundária, um pasto frequentado por bovinos, com predominância de capim colônia e uma área de reflorestamento. Foram observados vestígios de capivaras e de bovinos. Coletou-se neste local 49% das larvas e 32% das ninfas de *Amblyomma* sp., 9% e 25% das fêmeas e dos machos de *A. cajennense*, respectivamente, além de 6% das larvas de *R. (B.) microplus*. Estes totais corresponderam a 45% de todos os carrapatos coletados na área do DCMun. Nesta área não foi utilizada a armadilha de arrasto de flanela.

Na área 5 (CADIM), as coletas foram realizadas no meses de dezembro de 2008, março, junho e agosto de 2009. As coletas da estação verão foram prejudicadas pois nesta época havia treinamento militar na área, além disso os pontos 4, 5 e 6 não puderam ser amostrados, pois chovia muito no período autorizado para a realização das coletas. Não foram coletados ixodídeos nos pontos 1 (Sebastian Poul) e 6 (Mata). Do total de carrapatos coletados nesta área 0,3% foram amostrados sem identificação do ponto de coleta, destes 0,3% eram larvas e 0,9% ninfas de *Amblyomma* sp., além de 4% das fêmeas de *A. cajennense* (Tabela 6).

O ponto 1 (Sebastian Poul, UTM: Zona 23K, N 7.450.117, E 604.641, 9 m de altitude), é uma área de lazer da comunidade local. A cobertura vegetal predominante era de gramínea rasteira, com árvores esparsas, solo arenoso e seco, localizado à aproximadamente 300 metros da praia e a 400 metros de uma área montanhosa com vegetação densa. No entorno existem residências, ocupadas por militares. Em todas as coletas foram observados cães circulando pelo local. Não foram observadas evidências da 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.

O ponto 2 (Praia do Sino, localizada na UTM: Zona 23K, N 7.447.200, E 601.655, 8 m de altitude), constituiu-se de pasto para equinos com 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. O entorno era 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 de pegadas e fezes terem sido observadas na areia da praia. Neste ponto foram coletados 68% dos carrapatos do CADIM, sendo 86% das larvas e 12% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 25% e 44% dos machos e fêmeas de *A. cajennense*, respectivamente. No verão o arrasto de flanela não foi passado.

O ponto 3 (Vacaria, localizado nas coordenadas, UTM: Zona 23K, N 7.449.006, E 603.680, -1 m), 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 havia uma 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 5% das ninfas de *Amblyomma* sp. e 31% dos machos e 52% das fêmeas de *A. cajennense*, o que correspondeu a 5% do total de

carrapatos coletados no CADIM.

Tabela 6. Total de ixodídeos, por estágio evolutivo e gênero/espécie, coletados 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/Espécies				Total
	A_l	A_n	Ac_f	Ac_m	
CADIM	1	3	1	0	5
Sebastian Poul	0	0	0	0	0
Sino	1033	41	11	4	1089
Vacaria	43	18	13	5	79
Acampamento	1	10	0	1	12
Capivara	130	278	0	6	414
Trilha	0	0	0	0	0
Total	1208	350	25	16	1599

(A_l: larvas de *Amblyomma* sp.; A_n: ninfas de *Amblyomma* sp.; Ac_f: fêmeas *Amblyomma cajennense*; Ac_m: macho *Amblyomma cajennense*; CADIM: carrapatos recuperados sobre o corpo e vestes dos pesquisadores, sem identificação do ponto de coleta.)

O ponto 4 (Acampamento, localizado na UTM: Zona 23K, N 7.448.357, E 607.893, 6 m de altitude) constituiu-se de um local utilizado para acampamento de militares que realizam treinamento na região, chamado Bravo IV. Área com solo arenoso e seco, e vegetação 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 alta 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 recuperou-se do ambiente 1% de carrapatos coletados no CADIM, 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, N 7.448.375, E 607.844, 5 m de altitude) o solo era arenoso com predominância de vegetação de porte médio como sapé, jaraguá, rabo de burro e arbustos como maricá, arará, entre outros. O entorno apresentava 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 por circulação de militares em treinamento e por passagem de capivaras. O ponto de coleta variou nas diversas coletas, não mais que 10 metros. Neste ponto amostral foram coletados 26% do total de carrapatos recuperados na área do CADIM, representando 11% das larvas, 79% 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, N 7.449.382, E 605.628, 231 m de altitude), localizava-se na parte alta da Trilha da Senzala, local sombreado, com reduzida incidência de sol. O solo era argiloso e úmido com muita matéria orgânica. Entorno com 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 que tiveram vegetação suficientemente alta para proteger o solo da radiação solar direta, e em geral, com presença de vegetação herbácea e/ou arbórea que proporcionava 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, em geral, não era suficientemente alta ou densa para impedir a penetração direta dos raios solares. Ainda, a ausência ou baixa densidade observada em ecossistemas com características compatíveis com os considerados favoráveis para a ocorrência de carrapatos, podem ser explicadas pela ausência de evidências de atividades frequentes de hospedeiros, já que conforme Szabó et al. (2009) a abundância de carrapatos está intimamente relacionada à abundância de mamíferos.

Entretanto, cabe destacar um ecossistema (Lago Mirim-UFRRJ), que apesar da alta densidade de capivaras, teve baixa ocorrência de carrapatos. Isso 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. Estes resultados corroboram os de Labruna et al. (2001), bem como, os de Szabó et al. (2009). *Amblyomma cajennense* não foi encontrada em áreas conservadas e a mesma está associada a áreas com maior grau de antropização (SZABÓ et al., 2009). Nestes ambientes, há um aumento populacional desta espécie, 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. Em trabalho conduzido no Pantanal Sul Mato-grossense, Caçado et al. (2008), também observaram 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* é parasito de roedores silvestres, que 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 coletada, neste local observaram-se 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 co-habitando.

A espécie *R. (B.) microplus* é uma espécie que tem bovinos como hospedeiros

primários, e neste estudo larvas desta espécie foram coletadas somente em ecossistema freqüentado por bovinos.

4.2 Distribuição de Carrapatos por Estação do Ano

Considerando as diferentes épocas de coleta, foi evidenciado o maior número de larvas de *Amblyomma* spp. no outono. Larvas deste gênero não foram coletadas na primavera nem no verão. As ninfas foram observadas em todas as estações do ano, mas apresentaram maior número nas coletas do inverno e primavera. Adultos também foram observados em todas as estações do ano com uma pequena queda no inverno. As larvas de *R. (B.) microplus* foram coletadas em maior número na primavera, e não foram encontradas no verão (Figura 3).

Resultados semelhantes ao presente estudo foram observados em pesquisa realizada por Souza e Serra-Freire (1994a,b), que realizaram coletas de fases de vida livre com arrasto de flanela e também através de flanelas mantidas na posição horizontal e vertical, em áreas de pastos utilizados por bovinos e equinos, nos municípios de Paracambi e Seropédica. No município de Paracambi a maior ocorrência de larvas de *Amblyomma* sp. foi registrada entre os meses de junho a setembro. Picos de ninfas entre os meses de julho a outubro e de adultos de *A. cajennense* foram observados de fevereiro a abril. Já nas áreas do município de Itaguai, atualmente Seropédica, foram observados picos de larvas entre os meses de maio a setembro, de ninfas de julho a novembro e dos adultos de outubro a maio. Padrão sazonal similar ao do presente estudo foi registrado em São Paulo (LEMOS et al. 1997; LABRUNA et al., 2002) e Minas Gerais (OLIVEIRA et al. 2000). Em outras regiões com temperaturas médias menores, o comportamento estacional de espécies do gênero *Amblyomma* apresenta-se semelhante ao padrão da região sudeste do Brasil, considerando o modelo de uma geração por ano. Na Argentina, por exemplo, Guglielmo 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. Outros autores, como Szabó et al. (2009) sugerem que diferentes espécies de carrapatos do gênero *Amblyomma* podem ter padrões sazonais semelhantes. 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. A sazonalidade de *A. brasiliense*, segue o mesmo padrão sazonal da espécie *A. cajennense*, sendo uma geração por ano, e picos dos estádios de vida em diferentes épocas do ano (SZABÓ et al., 2009). No presente estudo, não foi coletado larvas. As ninfas foram coletadas na primavera e verão e os adultos desta espécie recuperados no outono e primavera.

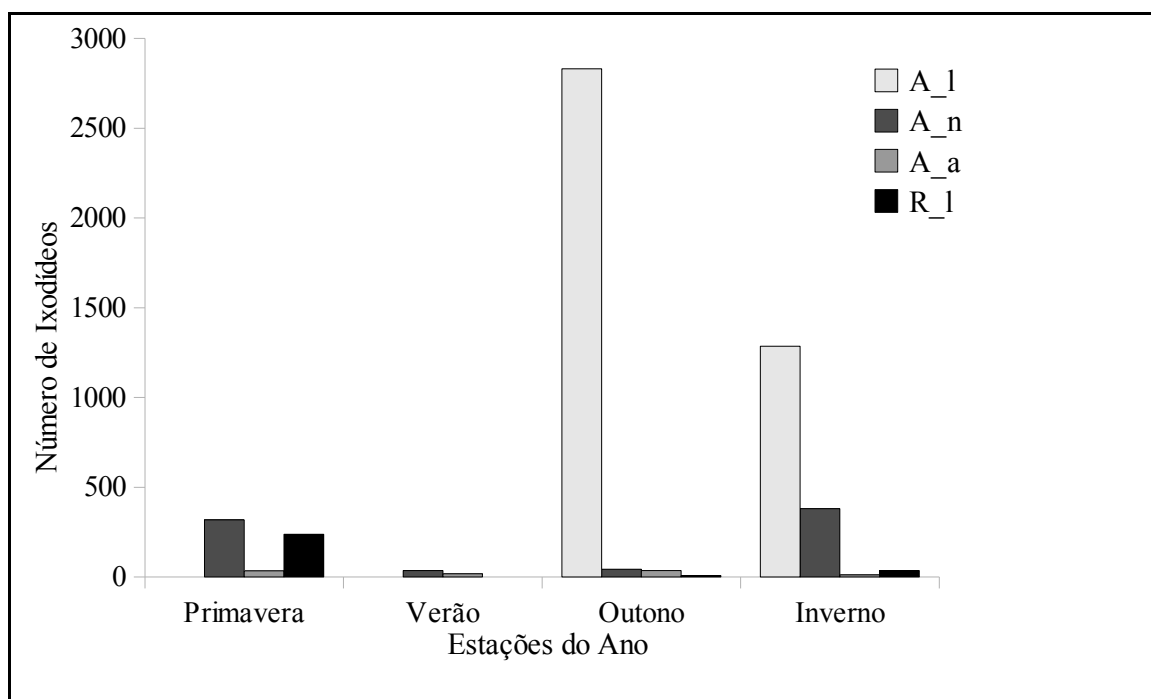


Figura 3. Número de ixodídeos, por estação do ano, estágio de desenvolvimento, coletados em cinco áreas amostrais, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no Estado do Rio de Janeiro. A_l: *Amblyomma* spp. larva; A_n: *Amblyomma* spp. ninfa; A_a: *Amblyomma* spp. adultos; Rm_l: larva *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

4.3 Distribuição de Carrapatos por Armadilha

As armadilhas utilizadas foram eficientes na atração de carrapatos permitindo a captura destes. Considerando o número total de exemplares de *Amblyomma* spp. recuperados no estudo, separados por estágio de desenvolvimento, foram coletadas 7,6% das larvas, 45% das ninfas e 54% dos adultos através da armadilha de CO₂. Já na armadilha de arrasto de flanela, foram coletados 14,8% das larvas, 10,7% das ninfas e 6% dos adultos daquele gênero. Nas vestes e corpo dos pesquisadores foram coletadas, 77,6% das larvas, 44,4% das ninfas e 40% dos adultos. O maior número de larvas de *R. (B.) microplus* foi coletado na armadilha de arrasto (87%) e o menor número (2,5%) na de CO₂, enquanto nas roupas dos pesquisadores foram coletados 10,3% do total (Figura 4).

Os diferentes estágios de desenvolvimento dos ixodídeos são mais eficientemente atraídos e coletados por determinados tipos de armadilhas. Resultados de estudos demonstram a eficiência do arrasto de flanela para a captura de larvas, enquanto a armadilha atrativa de CO₂, é melhor para a coleta de ninfas e adultos (WILSON, 1972; OLIVEIRA et al., 2000; CANÇADO et al., 2008), resultados corroborados pelo presente estudo. Também há evidências de que os estágios de larvas, ninfas e adultos de carrapatos são atraídos de modo eficiente pelos humanos, durante atividades de campo (SZABÓ et al., 2006). Esse fato também foi constatado nesta pesquisa, pois o número de exemplares de ixodídeos recuperados das vestes foi considerável, para todos os estágios. Faz-se necessário destacar que, pela 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, e, principalmente, quando mais de uma

armadilha foi controlada pelo mesmo pesquisador em um mesmo intervalo de tempo, situações em que se propiciou maior oportunidade para a fixação dos ixodídeos. A área amostral abrangida pelo pesquisador foi muitas vezes maior que as das outras armadilhas e que, ao manusear a armadilha de CO₂, possibilitaram que carrapatos atraídos por estas pudessem atacar o pesquisador, assim como, no arrasto de flanela, uma vez que o pesquisador caminha puxando a armadilha.

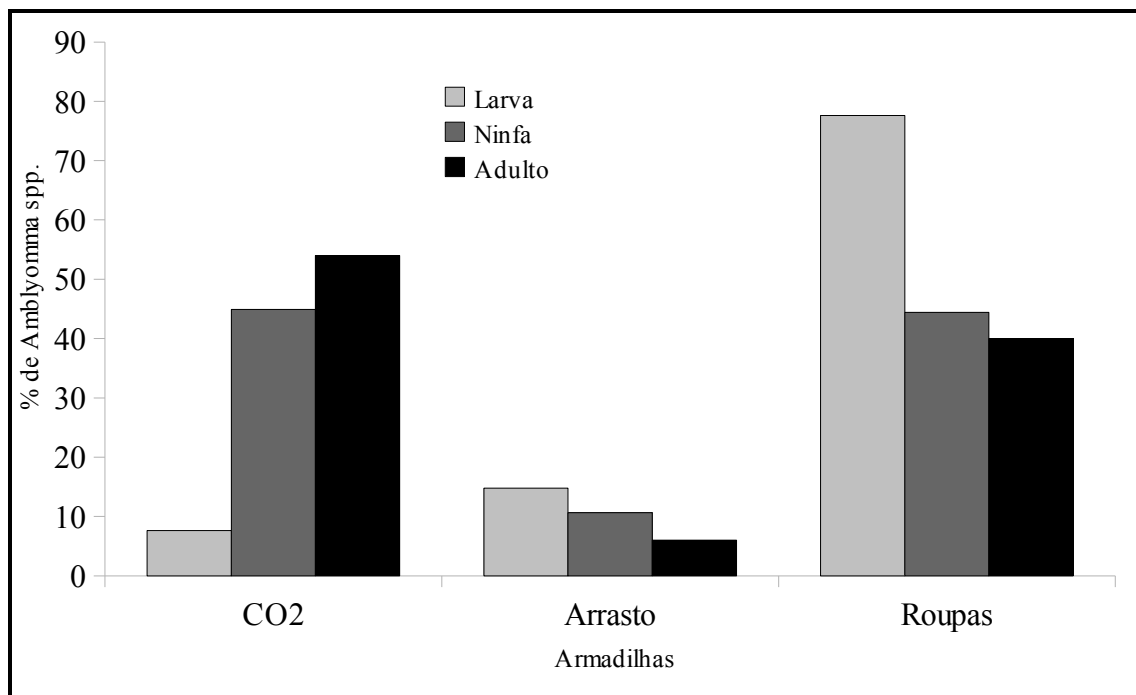


Figura 4. Estádio de desenvolvimento de carrapatos do gênero *Amblyomma* coletados nas três diferentes armadilhas utilizadas nas cinco áreas amostrais, no período de outubro de 2008 a agosto de 2009, no estado do Rio de Janeiro.

Segundo Wilson (1972) a atração do carrapato adulto *A. americanum* para a armadilha de gelo seco (CO₂), depende de fatores ambientais como temperatura, vento, exposição à luz solar e cobertura do solo. No presente estudo, exceto as 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.

Szabó et al. (2009) capturaram *A. cajennense* principalmente em área de vegetação rasteira, e sugeriram que diferenças no potencial de captura de armadilha de CO₂ podem estar relacionadas, além das condições ambientais, com a disponibilidade de hospedeiro e também com o comportamento do carrapato, que pode ser de “ataque” ou de “caça” ao hospedeiro. No caso de *A. cajennense* que possui comportamento de caça, a armadilha de CO₂ é considerada eficiente. No presente estudo, adultos, ninfas e poucas larvas de carrapatos do gênero *Amblyomma* foram coletados com este tipo de armadilha, em diferentes ecossistemas. Entretanto, pelo pequeno número de repetições, análises quantitativas não puderam ser realizadas.

4.4 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*. Dois *pools* foram positivos para a presença de *Rickettsia* spp., Estes *pools* foram desmembrados e verificou-se que eram de carrapatos coletados nas áreas militares.

Uma das amostras positivas, era composta por larvas de *Amblyomma* sp. coletados 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 era arenoso e coberto por serapilheira. O local regularmente frequentado por equinos e cães. Localizava-se a aproximadamente 80 metros da rodovia, próximo a um pasto e baias onde eram mantidos os equinos, aos canis e ao campo de instruções. A circulação de militares era diária, em atividades de adestramento de cães de guerra.

O outro *pool* era constituído por ninfas de *Amblyomma* sp. coletadas na área do CADIM, também na estação do outono e no ponto da Praia do Sino. O ponto de coleta localizava-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 era arenoso e seco. O entorno formado por vegetação arbórea densa. A presença humana se dá, eventualmente, durante atividades militares, ocasiões em que se aglomera um número grande de pessoas, num curto espaço de tempo. Além dos militares, moradores, visitantes e equipe 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 destas nos pontos de coleta. E, a diferença está nas alterações ambientais. Em ambas as áreas há processo de antropização, embora, no CADIM (Sino) há uma área de mata conservada no entorno, com poucas modificações humanas, e no DCMun (Bambuzal) a área apresenta acentuadas modificações do ambiente.

Os estádios de desenvolvimento dos carrapatos positivos para riquetsia foram frequentemente observados parasitando humanos (SZABÓ et al., 2006).

Destaca-se que neste estudo a identificação das fases jovens, larvas e ninfas, foi procedida até gênero, no caso de *Amblyomma*. Entretanto, nos ecossistemas em que foram coletados os ixodídeos positivos para *Rickettsia* spp., somente adultos da espécie *A. cajennense* foram coletados.

A importância, no Brasil, da interrelação de carrapatos do gênero *Amblyomma*, com capivara, equinos, cães, humanos e riquetsia do GFM tem sido constatada por vários autores. Assim, Galvão (1996) relatou soro prevalência em equinos, cães e humanos de área endêmica de *R. rickettsii*. Guedes et al. (2005) e Cardoso et al. (2006) procederam a identificação molecular de *R. rickettsii* em *A. cajennense*, coletados em equinos e em no meio ambiente, e Souza et al. (2009) constataram o potencial da capivara como hospedeiro e amplificador de *R. rickettsii* para a infecção de *A. cajennense*.

A identificação molecular da(s) espécie(s) de riquetsia(s) é fundamental para melhor compreender, discutir e propor medidas de profilaxia e controle adequadas para amenizar os riscos de transmissão para as pessoas que frequentam os locais.

5 CONCLUSÃO

A metodologia de atração e coleta de carrapatos, a extração e amplificação de DNA e evidenciação das bandas positivas para *Rickettsia* spp. utilizada neste estudo foi adequada 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 antropização ou de conservação observados. Assim, para carrapatos do gênero *Amblyomma* e da espécie *A. cajennense*, a abundância aumentou com a elevação do grau de antropização. A presença da espécie *R. (B.) microplus* esteve associada a presença de seus hospedeiros principais que são os bovinos, a espécie *A. dubitatum* foi recuperada de área de reflorestamento com pressão antrópica. Mas em área com pouca pressão antrópica só foram recuperados poucos espécimes de *A. brasiliense*, indicando que 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 encontrados, sendo que as pequenas diferenças podem ser em decorrência da frequência de coleta (estacional).

A identificação de riquetsias em carrapatos coletados em ecossistemas de interação entre animais domésticos, silvestres e humanos indica a necessidade que estudos desta natureza devem ser intensificados e, em se tratando de área utilizada para treinamento militar, que medidas de profilaxia e controle sejam incorporadas nas atividades de rotina dos agentes de saúde das unidades militares.

6 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 limítrofes. *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. 115-148, 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, n. 1, 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.

CAMPOS, C.H.C.; FONSECA, A.H.; MAFRA, C.L.; OLIVEIRA, K.A.; SILVA, W.G.; MOURÃO, L.C.; STUDART, A.G. *Rickettsia* em carrapatos capturados em área de treinamento militar no estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PRASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15, 2008, Curitiba, Resumos...Curitiba: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008. CD-ROM.

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.

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.

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.; FACCICI, 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.

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.; 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 an seasonal distribution. *Experimental and Applied Acarology*, v. 24, n. 12, p. 983-989, 2000.

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

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

HORTA, M. C.; 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.; GITTLEMAN, 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.; 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.; 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.

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.; 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.

LEMOS, 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.

LEMOS, E.R.S.; ROZENTAL, T.; VILLELA, C.L. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina*

Tropical, v. 35, n. 5, p. 523-525, 2002.

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.

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, 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.

OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.A.; SILVA, A.J.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, DH; 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.

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.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. *Clinical Infectious Disease*, v. 32, n. 51, 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 Europa. *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.

ROZENTAL, T.; BUSTAMANTE, M.C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N.M.; LEMOS, E.R.S. Evidence of spotted fever group Rickettsiae in State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Instituto Medicina Tropical*, v. 44, n. 3, p. 155-158, 2002.

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.

SLOBODA, P. *Falta de informação aumenta risco para febre maculosa*. Agência Fiocruz de Notícias – Saúde e ciência para todos. Disponível em: <<http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.html?sid=9&infoid=516>> Acesso em: 28 de Maio 2008.

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.

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.

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.