

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE

KARLA DAYANE GRUHN

**INFECÇÃO POR *Rickettsia* SPP. (RICKETTSIACEAE) EM CARRAPATOS
(ACARI: IXODIDAE) E CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*
LINNEAUS, 1766) (RODENTIA: CAVIIDAE) DE VIDA LIVRE
NO ESTADO DO ACRE, BRASIL, AMAZÔNIA OCIDENTAL**

**RIO BRANCO
ACRE – BRASIL
MARÇO – 2017**

KARLA DAYANE GRUHN

INFECÇÃO POR *Rickettsia* SPP. (RICKETTSIACEAE) EM CARRAPATOS
(ACARI: IXODIDAE) E CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*
LINNEAUS, 1766) (RODENTIA: CAVIIDAE) DE VIDA LIVRE
NO ESTADO DO ACRE, BRASIL, AMAZÔNIA OCIDENTAL

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Acre como parte das exigências do Programa de Pós Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, para obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

RIO BRANCO
ACRE – BRASIL
MARÇO - 2017

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

- G885i Gruhn, Karla Dayane, 1991-
Infecção por *Rickettsia* spp. (Rickettsiaceae) em carrapatos (Acari: ixodidae) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) (Rodentia: Caviidae) de vida livre no Estado do Acre, Brasil, Amazônia Ocidental. / Karla Dayane Gruhn. – Rio Branco - Acre, 2017.
56 f.: il.; 30 cm.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental, 2017.
Incluem referências bibliográficas.
Orientador: Prof. Dr. Vânia Maria França Ribeiro.
1. Parasitologia veterinária. 2. Animais selvagens. 3. Animais selvagens – Acre. I. Título.

CDD: 636.089098112

Bibliotecária: Alanna Santos Figueiredo CRB-11/1003

KARLA DAYANE GRUHN

INFECÇÃO POR *Rickettsia* SPP. (RICKETTSIACEAE) EM CARRAPATOS
(ACARI: IXODIDAE) E CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*
LINNEAUS, 1766) (RODENTIA: CAVIIDAE) DE VIDA LIVRE
NO ESTADO DO ACRE, BRASIL, AMAZÔNIA OCIDENTAL

Dissertação apresentada à Universidade
Federal do Acre como parte das
exigências do Programa de Pós
Graduação em Sanidade e Produção
Animal Sustentável na Amazônia
Ocidental, para obtenção do título de
mestre em Ciência Animal

APROVADA: 15 de março de 2017.

Dra. Rita do Socorro Uchôa da Silva
UFAC

Dr. Sebastião Afonso Viana Macedo Neves
UFAC

Dra. Vânia Maria França Ribeiro
(Orientadora)
UFAC

Aos meus pais, Carlos Alberto Gruhn e
Maria Aparecida Severo.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me permitir chegar até aqui;

Aos meus pais, Carlos e Maria, por apoiarem minhas escolhas e por serem minha base, mesmo quando estou longe;

À Universidade Federal do Acre (UFAC), ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental (PPGESPA) pelas oportunidades oferecidas;

Aos professores desta instituição, por todo auxílio prestado durante a execução da pesquisa;

À minha orientadora, Vânia Maria França Ribeiro, por ser tão presente e disponível quando precisei, mas ao mesmo tempo por me dar liberdade para tomar minhas próprias decisões;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Acre (FAPAC) e a Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelos auxílios financeiros que viabilizaram a execução do projeto;

Aos estagiários e alunos do PIBIC, pela disponibilidade de tempo e energia durante esse período em que precisávamos de vocês;

À Fundação Oswaldo Cruz, especialmente o Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses (LHR), à Dra. Elba Lemos e toda sua equipe, por abrirem as portas do laboratório e auxiliarem em tudo que foi necessário nesta etapa;

À Dra. Maria Ogrzewalska, pela paciência, amizade e auxílio, quando precisei;

Aos meus amigos, que foram minha força e meu alívio nos dias mais difíceis;

Aos meus animais, que foram minha inspiração para seguir esse caminho;

À todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---------|--|
| BLAST | Basic Local Alignment Search Tool |
| CA | Califórnia |
| DNA | Deoxyribonucleic acid (ácido desoxirribonucleico) |
| EDTA | Ethylenediamine tetraacetic acid |
| FIOCRUZ | Fundação Oswaldo Cruz |
| FMB | Febre Maculosa Brasileira |
| FMMR | Febre Maculosa das Montanhas Rochosas |
| GMF | Grupo da Febre Maculosa |
| GT | Grupo Tífico |
| GB | Grupo <i>bellii</i> |
| GC | Grupo <i>canadensis</i> |
| IgG | Imunoglobulina G |
| km | Quilômetro |
| LHR | Laboratório de Hantavirose e Rickettsioses |
| min. | Minutos |
| OH | Ohio |
| PBS | Phosphate Buffered Saline (Tampão fosfato-salino) |
| RIFI | Reação de Imunofluorescência |
| s | Segundos |
| s.s | Sensu stricto |
| s.l | Sensu lato |
| spp. | Espécies |
| TG | Grupo de Transição |
| UV | Ultravioleta |
| USA | United States of America (Estados Unidos da América) |
| W | Oeste (<i>West</i>) |
| °C | Grau Celsius |

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização do município de Rio Branco, estado do Acre, Brasil. 18

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Espécies de carrapatos coletados em capivaras de vida livre no município de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental. L: Larvas; N: Ninfas; M: Machos, F: Fêmeas | 24 |
| Tabela 2 - Espécies de carrapatos coletados da vegetação (estágio livre) no município de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental. L: Larvas; N: Ninfas; M: Machos, F: Fêmeas | 25 |
| Tabela 3 - Espécies de riquetsias encontradas nos carrapatos coletados no município de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental | 29 |

RESUMO

GRUHN, Karla Dayane. Universidade Federal do Acre, março de 2017. **Infecção por *Rickettsia* spp. (Rickettsiaceae) em carrapatos (Acari: ixodidae) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) (Rodentia: Caviidae) de vida livre no Estado do Acre, Brasil, Amazônia Ocidental.** Orientadora: Vânia Maria França Ribeiro. O presente estudo teve como objetivo investigar a presença de bactérias do gênero *Rickettsia* em carrapatos coletados de capivaras de vida livre e da vegetação no município de Rio Branco, Acre, extremo oeste da Amazônia Ocidental, além de verificar a ocorrência de infecção por *Rickettsia rickettsii*, causadora da FMB, em capivaras da região. Um total de 43 capivaras foram capturadas para procedimentos de coleta de carrapatos e sangue. Além disso, foram coletados carrapatos diretamente da vegetação, nas áreas de estudo selecionadas. Todos os carrapatos foram identificados e testados por meio de métodos moleculares, para presença de *Rickettsia* spp. O sangue das capivaras foi submetido ao teste sorológico para investigação de anticorpos para riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta. Foram identificadas, pela primeira vez no estado do Acre, carrapatos das espécies *Amblyomma dubitatum*, *A. naponense*, *A. rotundatum*, *A. pacae*, *A. humerale*, *A. varium* e *Dermacentor nitens*. Um total de 317 (N=751) carrapatos foram testados por meio de métodos moleculares para infecção por *Rickettsia* spp. Identificaram-se as espécies *Rickettsia bellii* infectando carrapatos *A. dubitatum* e *A. rotundatum*, *Candidatus "Rickettsia amblyommi"* infectando carrapatos *A. humerale* e *Rickettsia* sp. cepa Tapirapé parasitando *A. naponense*. As 43 capivaras submetidas ao exame sorológico foram consideradas não reativas para o agente, ou seja, as mesmas não apresentam anticorpos para *R. rickettsii*. Estes resultados representam uma grande expansão do conhecimento em torno das riquetsias e da fauna acarológica na região da Amazônia Ocidental e são essenciais para manutenção da vigilância acerca de possíveis agentes patogênicos que ocorrem no estado e determinação dos riscos que os mesmos oferecem para seres humanos e animais que habitam a região.

Palavras-chave: Animais selvagens, ectoparasitas, parasitologia, Brasil, Acre

ABSTRACT

GRUHN, Karla Dayane. Universidade Federal do Acre, março de 2017. **Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) and free-living capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) (Rodentia: Caviidae) in the State of Acre, Brazil, Western Amazon.** Advisor: Vânia Maria França Ribeiro. The present study aimed to investigate the presence of bacteria of the genus *Rickettsia* in ticks collected from free-living capybara and vegetation in Rio Branco municipality, Acre, western Amazon, and to verify the occurrence of *Rickettsia rickettsii* infection, causing the Brazilian Spotted Fever, in capybaras of the region. A total of 43 capybaras were captured for tick and blood collection procedures. In addition, ticks were collected directly from the vegetation, in the selected study areas. All ticks were identified and tested using molecular methods for the presence of *Rickettsia* spp. The capybaras blood was submitted to a serological test to investigate antibodies to rickettsiae of the Spotted Fever Group, through the Indirect Immunofluorescence Reaction. For the first time in the State of Acre, ticks of the species *Amblyomma dubitatum*, *A. naponense*, *A. rotundatum*, *A. pacae*, *A. humerale*, *A. varium* and *Dermacentor nitens* were identified. A total of 317 (N=751) ticks were tested by molecular methods for infection by *Rickettsia* spp. *Rickettsia bellii* were identified as infecting *A. dubitatum* and *A. rotundatum* ticks, *Candidatus "Rickettsia amblyommi"* infecting *A. humerale* ticks and *Rickettsia* sp. strain Tapirapé parasitizing *A. naponense*. The 43 capybaras submitted to the serological examination were considered non-reactive for the agent, that is, they did not present antibodies to *R. rickettsii*. These results represent a great expansion of the knowledge about the rickettsias and the acarológica fauna in the region of the Western Amazon and are essential for the maintenance of the vigilance about possible pathogens that occur in the state and determination of the risks that they offer for humans and animals that inhabit the region.

Keywords: Wild animals, ectoparasites, parasitology, Brazil, Acre

SUMÁRIO

págs

| | |
|--|----|
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | |
| LISTA DE FIGURAS | |
| LISTA DE TABELAS | |
| RESUMO | |
| ABSTRACT | |
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 2 CAPÍTULO 1 | |
| Animais silvestres no ciclo de transmissão de <i>Rickettsia</i> spp. pertencentes ao grupo da febre maculosa no Brasil: uma revisão | 3 |
| 2.1 INTRODUÇÃO | 4 |
| 2.1.1 Histórico | 4 |
| 2.1.2 Gênero <i>Rickettsia</i> | 4 |
| 2.1.2.1 <i>Rickettsia rickettsii</i> | 5 |
| 2.1.2.2 <i>Rickettsia parkeri</i> | 6 |
| 2.1.2.3 <i>Rickettsia rhipicephali</i> | 6 |
| 2.1.2.4 <i>Candidatus "Rickettsia amblyommii"</i> | 7 |
| 2.1.2.4 <i>Candidatus "Rickettsia andeanae"</i> | 7 |
| 2.2 Vetores | 7 |
| 2.2.1 Complexo <i>Amblyomma cajennense</i> | 8 |
| 2.2.2 <i>Amblyomma aureolatum</i> | 10 |
| 2.2.3 <i>Amblyomma dubitatum</i> | 10 |
| 2.3 Principais hospedeiros silvestres | 11 |
| 2.4 Conclusões | 13 |
| 4 CAPÍTULO 2 | |
| Infecção por <i>Rickettsia</i> spp. (Rickettsiaceae) em carrapatos (Acari: Ixodidae) e capivaras (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i> Linneaus, 1766) (Rodentia: Caviidae) de vida livre no estado do Acre, Brasil, Amazônia Ocidental | 14 |
| 4.1 INTRODUÇÃO | 15 |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS | 17 |
| 4.2.1 Local de estudo | 17 |
| 4.2.2 Captura dos animais | 18 |
| 4.2.3 Coleta e identificação dos carrapatos | 18 |
| 4.2.4 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) | 19 |
| 4.2.5 Extração de DNA dos carrapatos e PCR | 19 |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 21 |
| 4.3.1 Sorologia das capivaras | 21 |
| 4.3.2 Identificação dos Carrapatos | 22 |
| 4.3.3 Infecção por <i>Rickettsia</i> spp. em carrapatos | 28 |

| | |
|------------------------------------|----|
| 4.3.4 CONCLUSÕES | 32 |
| 5 CONCLUSÕES GERAIS | 33 |
| 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 34 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

Rickettsioses constituem um grupo de enfermidades determinadas por bactérias da Ordem Rickettsiales. Pertencentes ao gênero *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae), são transmitidas por artrópodes e, entre as mais conhecidas, encontram-se o Tifo Epidêmico (*R. prowazekii*), o tifo endêmico (*R. typhi*), o tifo asiático (*R. tsutsugamushi*), a febre do mediterrâneo (*R. conorii*), o tifo africano (*R. africae*) e a febre maculosa (*R. rickettsii*) (Jones, 2005).

A bactéria *Rickettsia rickettsii*, pertencente ao grupo da febre maculosa (GFM) e causadora da febre maculosa brasileira (FMB) neste país, é considerada a mais patogênica espécie do gênero *Rickettsia* do mundo (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005), com ocorrência de casos também no Canadá, Estados Unidos, México, Costa Rica, Panamá, Colômbia e Argentina (LABRUNA, 2009a). É transmitida por carrapatos de diferentes espécies, de acordo com a área geográfica em que ocorre. No Brasil, já foram confirmados casos da doença em todas as regiões, sendo os estados de São Paulo, Santa Catarina e Minas Gerais de maior ocorrência, com 831, 371 e 225 casos, respectivamente (SINAN, 2017).

Além da espécie humana, a bactéria pode causar infecção em diversos outros vertebrados, como capivaras, gambás, cavalos e cães (VIEIRA et al., 2004). Sendo assim, o ciclo da doença dependerá da presença do hospedeiro primário (principalmente cavalos, capivaras e antas), do vetor (principalmente carrapatos do gênero *Amblyomma* Koch, 1844) e do parasita (*R. rickettsii*) (RICKETTS, 1906; LEMOS, 1996; SANGIONI, 2003).

Nos últimos anos, além da *R. rickettsii*, foram relatadas no país mais oito espécies do gênero, sendo elas: *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *Candidatus "R. amblyommii"* e *Candidatus "R. andeanae"*, pertencentes ao grupo da febre maculosa e associadas a carrapatos; *R. felis*, pertencente ao grupo de transição e *R. typhi*, ao grupo tífico, ambas associadas a pulgas; *R. monteroi*, pertencente ao grupo *canadensis* e *R.*

bellii, ao grupo *bellii*, ambas associadas à carrapatos (LABRUNA et al., 2011; NIERI-BASTOS et al., 2014).

Além destas, alguns agentes não tão conhecidos, como *Rickettsia* sp. cepa Pampulha, *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica e *Rickettsia* sp. cepa Tapirapé, também foram relatados no país (PAROLA et al., 2013; SOARES et al., 2015). Das espécies citadas, quatro delas (*R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. felis* e *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica) mostraram causar doenças em seres humanos. O restante das espécies é considerado potencialmente patogênicas ou não-patogênicas para seres humanos (PÉREZ-OSORIO et al., 2008; PAROLA et al., 2013).

Sendo assim, sabendo que diversos vertebrados da mastofauna e avifauna brasileira podem estar envolvidos como hospedeiros e/ou reservatórios da Febre Maculosa, torna-se necessário o conhecimento acerca dos fatores envolvidos na sua transmissão e manutenção tanto no ambiente quanto nas populações. Este trabalho objetivou realizar uma revisão de literatura sobre o papel dos animais silvestres no ciclo epidemiológico de riquettsioses, principalmente a FMB, de forma a complementar o conhecimento sobre os diversos aspectos dessa enfermidade.

2 CAPÍTULO 1

Animais silvestres no ciclo de transmissão de *Rickettsia* spp. pertencentes ao grupo da febre maculosa no Brasil: uma revisão

2.1 INTRODUÇÃO

2.1.1 Histórico

A Febre Maculosa foi primeiramente identificada em 1896, no Vale do Rio Snake em Idaho, EUA, pelo Major W. W. Wood, que descreveu as manifestações clínicas da enfermidade “Rocky Mountain Spotted Fever” ou Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR), numa região montanhosa do noroeste dos Estados Unidos. Ele coletou dados de oito médicos de Idaho e reportou-os ao Cirurgião Geral do Exército (COOB, 1902; HARREL, 1949).

A bactéria *Rickettsia rickettsii* foi associada à enfermidade, pela primeira vez, em 1906, por Howard T. Ricketts, que fez estudos inoculando soro de pacientes humanos em coelhos, cobaias e primatas e obteve sintomas semelhantes aos observados em seres humanos. O patologista também conseguiu relacionar a doença à presença de carrapatos (RICKETTS, 1906). O termo *Rickettsia* só surgiu no ano de 1916, em uma publicação de Rocha-Lima, um microbiologista brasileiro, que nomeou o agente etiológico do Tifo Endêmico de *Rickettsia prowazekii*, em homenagem ao patologista Howard Ricketts (WEISS; STRAISS, 1991).

No Brasil, a bactéria *R. rickettsii* encontrada pela primeira vez em 1930, no estado de São Paulo (PIZA, 1932). Entretanto, a doença já era conhecida por sua sintomatologia desde o final da década de 20, em São Paulo e início da década de 30, em Minas Gerais (PIZA, 1932; DIAS; MARTINS, 1939).

2.1.2 Gênero *Rickettsia*

Bactérias pertencentes ao gênero *Rickettsia* são proteobactérias gram-negativas, intracelulares obrigatórias, cocobacilares, pequenos bastonetes ou bacilos, que medem aproximadamente 0,3 a 0,5µm por 0,8 a 2µm de comprimento e se coram pelas

técnicas de Gimenez (GIMENEZ, 1964; RAOULT; ROUX, 1997). Multiplicam-se por fissão binária simples e tem predileção por glândulas salivares e ovários de artrópodes hospedeiros, mas também infectam e se multiplicam em células dos intestinos, túbulos de Malpighi e hemolinfa (BURGDORFER, 1970; WEISS; MOULDER, 1984; BILLINGS et al., 1998; YU; WALKER, 2003)

Podem ser classificadas em grupos, sendo eles: Grupo da Febre Maculosa (GFM) e Grupo Tífico (GT), onde inserem-se espécies patogênicas conhecidas para o ser humano, Grupo de Transição (TG), grupo da *Rickettsia bellii* (GB), grupo da *Rickettsia canadensis* (GC) e outros grupos basais, que abrigam espécies com particularidades genéticas e antigênicas que impedem sua inclusão no GFM e no GT (RAOULT; ROUX, 1997; GILLESPIE et al., 2007; WEINERT et al., 2009; LABRUNA et al., 2011; MERHEJ; RAOUL, 2011; SOARES et al., 2015).

Estas bactérias são mantidas na natureza através de ciclos complexos que envolvem reservatórios em mamíferos e vetores em artrópodes, como carrapatos, ácaros e piolhos (RAOULT; ROUX, 1997).

Como citado anteriormente, pertencentes ao GFM e de ocorrência no Brasil, tem-se as espécies: *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *Candidatus* “*R. amblyommii*” e *Candidatus* “*R. andeanae*”.

2.1.2.1 *Rickettsia rickettsii*

Conhecida como agente da FMB, a *R. rickettsii* tem como mecanismo básico de sua fisiopatologia a vasculite, que ocasionará a maioria das manifestações clínicas e anormalidades laboratoriais da FMB. A bactéria penetra, se aloja e se multiplica nas células endoteliais de pequenos e médios vasos sanguíneos. Estando dentro das células, a bactéria utiliza-se de enzimas (ex.: fosfolipase A) para promover a lise da membrana vacuolar criada no momento da penetração na célula, e assim migra para o citosol. Em seguida, utiliza outra proteína (RickA), que ativa a Arp2/3 e promove a polimerização da actina celular, que, nesse momento, terá como função a propulsão da bactéria pelo citoplasma da célula. Por fim, esta propulsão vai gerar uma invaginação na direção das células adjacentes e acelerada disseminação intercelular das células endoteliais de vasos sanguíneos e linfáticos (CHEN; SEXTON, 2008; WALKER, 2007).

Nos carrapatos vetores, a bactéria é capaz de se multiplicar em células dos intestinos, ovários, glândulas salivares, hemolinfa e túbulos de Malpighi, enquanto que, nos vertebrados, incluindo seres humanos, ela se multiplica e tem predileção pelas células endoteliais (WEISS; MOULDER, 1984; YU; WALKER, 2003). Pode ser transmitida também entre carrapatos machos para as fêmeas, durante a cópula ou por meio de fluidos corporais (PAROLA et al., 2005).

2.1.2.2 *Rickettsia parkeri*

O organismo *R. parkeri* foi relatado inicialmente em 1939, nos Estados Unidos, sendo chamado de cepa Maculatum 20 (PARKER et al., 1939). Nos Estados Unidos tem sido responsável por casos de febre maculosa, transmitida por *A. maculatum* (PADDOCK et al., 2004; WHITMAN et al., 2007; FORNADEL et al., 2011).

No Brasil, a bactéria foi registrada causando doença em humanos, em uma cepa denominada Mata Atlântica (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVA et al., 2011). No país, a espécie foi relatada em *A. triste* (SILVEIRA et al., 2007), enquanto a *R. parkeri* cepa Mata Atlântica foi relatada em *A. ovale* e *A. aureolatum* (SABATINI et al., 2010; MEDEIROS et al., 2011; BARBIERI et al., 2014; WITTER et al., 2016)

2.1.2.3 *Rickettsia rhipicephali*

R. rhipicephali é uma bactéria pertencente ao GFM e possui patogenicidade desconhecida (PAROLA et al., 2013). Foi descrita primeiramente em 1975 infectando carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* coletados de cães nos Estados Unidos (BURGDORFER et al., 1975).

No Brasil a espécie foi relatada nos estados de Rondônia (LABRUNA et al., 2005a), São Paulo (LABRUNA et al., 2007b) e Mato Grosso (SOARES et al., 2015), infectando *Haemaphysalis juxtakochi*.

2.1.2.4 Candidatus “*Rickettsia amblyomii*”

Esta espécie não foi completamente caracterizada, porém, está classificada como pertencente ao GFM. Foi isolada pela primeira vez no Brasil em 2004, em um carrapato da espécie *A. longirostre*, coletado em Rondônia, Amazônia Ocidental, e foi chamada de cepa Aranha (LABRUNA et al., 2004b).

Posteriormente, genótipos próximos à espécie foram relatados *A. auricularium* (SARAIVA et al., 2013), *A. cajennense* (LABRUNA et al., 2004a; WITTER et al., 2016), *A. coelebs* (LABRUNA et al., 2004a; SILVEIRA et al., 2015; WITTER et al., 2016) e *A. longirostre* (MEDEIROS et al., 2011; MCINTOSH et al., 2015).

É de patogenicidade desconhecida para seres humanos, entretanto, foram relatadas evidências sorológicas em equinos (BERMUDÉZ et al., 2011), em cães (LABRUNA et al., 2007; MELO et al., 2011; SPOLIDORIO et al., 2013) e seres humanos (LABRUNA et al., 2007).

2.1.2.4 Candidatus “*Rickettsia andeanae*”

No Brasil, a bactéria *Ca. “Rickettsia andeanae”* já foi primeiramente relatada por Nieri-Bastos et al. (2014) infectando a espécie *A. parvum*, em dois biomas diferentes do país. Posteriormente foi relatada na mesma espécie de carrapato, por Lugarini et al. (2015), e em *A. sculptum*, por Witter et al. (2016). É considerada ainda de patogenicidade desconhecida para o ser humano (OGRZEWALSKA; PINTER, 2016).

2.2 Vetores

A transmissão da bactéria ocorre através da picada de artrópodes infectados, principalmente carrapatos pertencentes a família *Ixodidae*, que servem como vetores e reservatórios da doença, capazes de perpetuar a bactéria por gerações, devido à transmissão pelas formas transovariana e transtadial (TRAVASSOS; VALLEJO, 1944-1945).

A doença em humanos ocorre, com maior frequência, na época de predomínio de larvas e ninfas, que são estágios mais difíceis de serem visualizados e removidos, em comparação aos carrapatos adultos. Estas precisam fixar-se no hospedeiro em torno de seis a dez horas, para que ocorra transmissão da bactéria através das glândulas salivares dos carrapatos (PINTER et al., 2011).

Atualmente, a fauna brasileira de carrapatos é composta por 68 espécies, sendo 46 pertencentes a família Ixodidae e 22 a família Argasidae (BARROS-BATTESTI et al., 2015). Os principais carrapatos vetores conhecidos de *R. rickettsii* são *Dermacentor andersoni* e *D. variabilis*, nos Estados Unidos e, na América Latina, os pertencentes ao complexo *Amblyomma cajennense*, porém, outras espécies também podem atuar como vetores da bactéria (PINTER; LABRUNA, 2006; NAVA et al., 2014).

No Brasil, além dos carrapatos pertencentes ao complexo *A. cajennense*, as espécies *A. aureolarum* e *A. dubitatum* também têm sido associadas a transmissão da Febre Maculosa em áreas endêmicas (ARZUA et al., 2003; GUEDES et al., 2005; PINTER; LABRUNA, 2006).

2.2.1 Complexo *Amblyomma cajennense*

Pertencente à família Ixodidae, o *A. cajennense* é conhecido como carrapato-estrela ou carrapato do cavalo e é o principal vetor da Febre Maculosa Brasileira (ARAGÃO; FONSECA, 1961). Até recentemente, o complexo *A. cajennense* era considerado como somente uma espécie, presente desde o sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, incluindo algumas ilhas do Caribe. Porém, recentemente, estudos genéticos e morfológicos da espécie definiram que o táxon *Amblyomma cajennense* representa um complexo de seis espécies, que ocorrem em áreas geográficas distintas: *A. cajennense* sensu stricto, *Amblyomma interandirum*, *Amblyomma mixtum*, *Amblyomma patinoi*, *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma tonelliae*. No Brasil, as únicas espécies conhecidas são *A. cajennense* s.s e *A. sculptum*, entretanto, dados sobre a distribuição dessas espécies ainda são limitados. Recomenda-se também que, até que sejam feitas análises morfológicas ou moleculares da espécie encontrada, a mesma deve ser relatada como *A. cajennense* sensu lato (BEATI et al., 2013, NAVA et al., 2014).

No ciclo biológico desse carrapato, as fêmeas fecundadas e ingurgitadas desprendem-se do hospedeiro para a vegetação do solo e após 12 dias iniciam a ovoposição, pondo, em média, 5 mil ovos ao longo de 25 dias, morrendo em seguida. Após o período de incubação os ovos eclodem, ocorrendo o nascimento das larvas, que irão permanecer na vegetação até encontrar o primeiro hospedeiro. Nesse momento elas realizarão o repasto de linfa, sangue ou tecidos digeridos, durante 3 a 6 dias e desprendem-se, em seguida, para buscar abrigo no solo onde irão sofrer o processo de ecdise, num período de 18 a 26 dias, transformando-se em ninfas. As ninfas

irão se fixar em um novo hospedeiro e se alimentar de sangue durante cinco a sete dias, despreendendo-se para o solo logo após esse período, para passar por uma nova ecdise, de 23 a 25 dias, chegando então ao estágio adulto, que dentro de sete dias estarão aptos para parasitar novos hospedeiros. Por ano, o *A. cajennense* completa uma geração, com estágios parasitários distribuídos ao longo do ano (FLECHTMANN, 1985; GUIMARÃES et al., 2001).

Importante ressaltar que esta espécie de carrapato possui uma grande capacidade de sobrevivência no ambiente, sem a presença de um hospedeiro, o que potencializa seu papel como reservatório para bactérias do gênero *Rickettsia*. Lopes et al. (2008) realizaram estudos avaliando o período máximo de sobrevivência de larvas em jejum, e conseguiram observar que larvas mantidas em campo sobreviveram 14 meses, enquanto que as larvas mantidas em laboratório sobreviveram nove meses e meio.

Há relatos de parasitismo por *A. cajennense* em diversas espécies de mamíferos e aves e quanto maior a população de carrapatos em determinado ambiente, maior as chances do mesmo parasitar diferentes espécies, inclusive o ser humano (LABRUNA et al., 2001). Podem ser encontrados, em todas as fases, em aves domésticas e silvestres, assim como em mamíferos e animais de sangue frio (ofídios) (ALMEIDA et al., 2012).

Deve-se ressaltar, porém, que a presença de hospedeiros primários (cavalos, capivaras e antas, principalmente) em um ambiente não é suficiente para a ocorrência do *A. cajennense* naquele local, sendo este dependente também de condições ambientais adequadas, que propiciem um microclima para completar seus estágios em vida livre. Estas condições ambientais relacionam-se à latitude, considerando que baixas temperaturas impedem o estabelecimento do carrapato, e cobertura vegetal, onde a maior abundância desse carrapato está em locais com média ou densa cobertura vegetal, como pastos “sujos”, capoeiras e matas (VIEIRA et al., 2004).

O carrapato *A. cajennense* é o que apresenta uma das maiores taxas de parasitismo em seres humanos na América do Sul (GUGLIELMONE et al., 2006) Frequentemente são encontradas pessoas parasitadas por dezenas a centenas de carrapatos, em áreas endêmicas para a FMB; entretanto, a doença sempre apresentou baixa incidência, que está relacionada à baixa taxa de infecção ($\leq 1\%$) da bactéria *R. rickettsii* entre carrapatos em condições naturais (LABRUNA, 2009a). Em estudo realizado no Brasil demonstrou que a transmissão transovariana e transestadial ocorreu em menos de 50% dos carrapatos infectados. Além disso, as fêmeas infectadas apresentaram baixa eficiência reprodutiva, comparadas com fêmeas não infectadas com a bactéria (SOARES, J. et al., 2012).

2.2.2 *Amblyomma aureolatum*

O *A. aureolatum* pode ser encontrado em diversos países da América do Sul e, no Brasil, em áreas de mata atlântica das regiões Sul e Sudeste, principalmente, sendo endêmico na Floresta Pluvial Atlântica (DIAS; MARTINS, 1939). Tem como hospedeiros primários do estágio adulto os carnívoros silvestres, porém, em alguns casos, cães que habitam áreas rurais também podem se tornar hospedeiros primários, podendo se apresentar infestados pelo estágio adulto durante todo o ano, sem um pico definido de infestação. Na literatura é possível observar que larvas e ninfas encontram-se mais associadas aos roedores e aves silvestres, principalmente passeriformes das espécies *Turdus rufiventris* e *Pyriglena leucoptera* (FONSECA, 1935; ARZUA et al., 2003; PINTER, 2007; PINTER et al., 2011).

No Brasil, há relatos de casos onde a febre maculosa ocorreu em locais nos quais a única espécie de carrapato encontrada foi o *A. aureolatum*, fazendo com que esse carrapato fosse considerado também como vetor da doença (PINTER et al., 2011). Além disso, tem sido relatado casos de parasitismo em humanos por adultos de *A. aureolatum* (GUGLIELMONE et al., 2003; PINTER et al., 2004).

É importante relatar também que, diferentemente da espécie *A. cajennense*, as taxas de transmissão transovariana e transestadial de *R. rickettsii* para esta espécie de carrapato atingem 100%, entretanto, a bactéria é parcialmente patogênica para fêmeas ingurgitadas, dessa forma, as taxas de infecção de carrapatos em ambiente natural atingem torno de 1% (PINTER; LABRUNA, 2006; LABRUNA et al., 2011a)

2.2.3 *Amblyomma dubitatum*

Esta espécie encontra-se distribuída do norte ao sul da América do Sul e, no Brasil, tem sido relatada nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste, pois são onde se concentram as áreas de Cerrado, Mata Atlântica e florestas de Araucárias (NAVA et al., 2010). Possuem como hospedeiros de todos os estágios as capivaras, roedores silvestres de grande abundância em áreas urbanas e rurais e sua importância médica se baseia principalmente na possível participação do ciclo enzoótico de riquetsias na natureza, considerando que as capivaras são conhecidas por serem potenciais reservatórios da *R. rickettsii*. (TRAVASSOS; VALLEJO, 1942, SOUZA et al., 2009). Esse carrapato já foi encontrado juntamente com *A. cajennense* em focos de febre

maculosa na região Sudeste, alertando para uma possível participação na transmissão da doença (SOUZA et al., 2006).

Em 1996, Lemos et al. conseguiram isolar uma riquetsia do Grupo da Febre Maculosa em um carrapato *A. dubitatum*, que encontrava-se parasitando uma capivara, em área endêmica de febre maculosa, localizada em Pedreira (SP). Matias et al. (2015) detectaram riquetsia do Grupo de Febre Maculosa em carrapato *A. dubitatum* proveniente de área urbana no estado de Mato Grosso do Sul.

Conhecido como o carrapato da capivara, também já foi encontrado parasitando outros hospedeiros, como antas, morcegos, gambás, veados-catingueiros, javalis, queixadas e animais domésticos, como bois e cavalos (GUIMARÃES et al., 2001, NAVA et al., 2010). Importante ressaltar que esta espécie já foi associada a parasitismo em seres humanos, em todos seus estágios (LABRUNA et al., 2007a).

Além destes, diversas outras espécies do gênero *Amblyomma*, assim como espécies comuns em animais domésticos, como *Rhipicephalus sanguineus*, podem participar do ciclo de transmissão de riquetsias do GFM.

2.3 Principais hospedeiros silvestres

Para que um animal seja considerado um bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, ele deve ser abundante na área endêmica para febre maculosa, ser um bom hospedeiro do carrapato vetor em condições naturais, ser susceptível à infecção por *R. rickettsii*, manter a bactéria circulante em níveis plasmáticos suficientes para infectar carrapatos que se alimentam nele e ter uma alta taxa de renovação populacional (BURGDORFER, 1988; LABRUNA, 2009a).

Labruna et al. (2004), conseguiram observar, através de infestações experimentais de carrapatos *A. dubitatum* em aves e mamíferos, que a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) foi considerada o melhor hospedeiro para formas imaturas da espécie.

Aves de diversos locais do Brasil já foram encontradas parasitadas por carrapatos infectados com espécies de riquetsias do GFM, entre elas *Ca. "Rickettsia amblyommii"*, encontrada em carrapatos *A. longirostre*, *A. auriculatum*, *A. cajennense*, *A. geayi*, *A. nodosum*, *A. varium* e *A. coelebs* (MEDEIROS et al, 2011; MCINTOSH et al., 2015, LABRUNA et al., 2004a, 2004b; SARAIVA et al, 2013; WITTER et al, 2016; RAMOS et al., 2015; LUGARINI et al., 2015; PACHECO et al., 2012;

OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2011, 2012), *Ca.* “*Rickettsia andenae*” em *A. parvum* e *A. sculptum* (NIERI-BASTOS et al., 2014; WITTER et al., 2016; LUGARINI et al., 2015) e *R. parkeri* ou cepas próximas em *A. triste*, *A. calcaratum*, *A. longirostre*, *A. nodosum* e *A. parkeri* (SILVEIRA et al., 2007; PACHECO et al., 2012; RAMOS et al., 2015; LUGARINI et al., 2015; OGRZEWALSKA et al., 2009a, 2012, 2013). Não foram encontrados trabalhos relatando evidências sorológicas significativas de *Rickettsia* spp. em aves, entretanto, estas são abundantes, prolíficas e estão entre as maiores hospedeiras de carrapatos vetores de riquetsias, o que as coloca em um papel importante no ciclo destes agentes etiológicos (OGRZEWALSKA; PINTER, 2016).

Em pesquisa realizada no Mato Grosso do Sul foram encontrados, carrapatos da espécie *A. nodosum*, parasitando um tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*), e estes estavam infectados com riquetsia do GFM. Além disso, no mesmo animal, foi registrado um carrapato da espécie *R. sanguineus* infectado com *R. rickettsii*. Tamanduás podem se infestar também com carrapatos *A. cajennense*, assim, podem ter participação como amplificadores da bactéria *R. rickettsii* e infectar outros carrapatos (ALMEIDA et al., 2013). Witter et al. (2016) também encontraram a espécie *A. nodosum* em tamanduá-mirim e este carrapato encontrava-se parasitado por *R. parkeri*, no estado do Mato Grosso.

Em 2008, Perez et al. realizaram um estudo em uma área endêmica para Febre Maculosa, em São Paulo, para avaliar a relação de carrapatos do gênero *Amblyomma* e seus hospedeiros. Das espécies encontradas, os principais hospedeiros para as fases imaturas foram gambás, capivaras, ambos parasitados por *A. cajennense* e *A. dubitatum*, e urubus. Horta et al. (2009) atentam para a importância de marsupiais como animais sentinelas, devido seus hábitos silvestres, já que equinos e caninos costumam ter acesso a pastos e não necessariamente a áreas silvestres. Assim como a capivara, marsupiais da espécie *Didelphis aurita* apresentaram infecção por *R. rickettsii* sem apresentar sinais clínicos, porém, carrapatos oriundos dos mesmos apresentaram baixas taxas de infecção, levando a considerar que outros hospedeiros amplificadores, como capivaras, tenham uma maior importância ecológica para a história natural da doença no Brasil. Perez et al. (2008) relatam ainda que o gambá poderia ser utilizado como bioindicador de infestação em locais endêmicos para FMB, por ser de fácil captura e atratividade de *Amblyomma* spp.

Binder et al. (2017) realizaram uma investigação sorológica em pequenos mamíferos para seis espécies de riquetsias (*R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R.*

amblyommii, *R. felis*, *R. bellii*), no estado do Mato Grosso do Sul. No total, 37,5% dos soros de marsupiais e 6,8% de pequenos roedores reagiram a pelo menos uma das espécies de *Rickettsia*, com títulos variando de 64 a 512, mostrando a participação destas espécies na ecologia de riquetsias no estado.

Inoculando experimentalmente *R. rickettsii* em capivaras, Travassos e Vallejo (1942) e Souza et al. (2009) demonstraram que estes animais mantiveram a bactéria na circulação sangüínea, sem manifestação de sinais clínicos, contaminando carrapatos que se alimentavam na mesma. Na literatura podem ser encontrados também relatos de capivaras sororreativas para *R. parkeri* e *R. bellii*, demonstrando o envolvimento das mesmas no ciclo epidemiológico de outras riquetsioses (LEMOS et al., 1996; PACHECO et al., 2007).

2.4 Conclusões

Baseado em diversas pesquisas já relatadas na literatura e no crescente número de casos notificados em diferentes estados do Brasil, é possível perceber a necessidade de realização de estudos mais aprofundados envolvendo animais silvestres, carrapatos e sua participação na epidemiologia de riquetsioses, principalmente a Febre Maculosa Brasileira. Observa-se que estas pesquisas são ainda mais escassas em locais distantes do país, como, por exemplo, em estados pertencentes a região amazônica, nos quais recursos médicos e diagnósticos ainda são limitados.

Através de investigações mais específicas torna-se possível aumentar o conhecimento acerca das riquetsias que ocorrem em cada região, quem são seus vetores, hospedeiros e amplificadores e, finalmente, compreender a maneira que estas bactérias circulam no ambiente, com objetivo de formular métodos para prever ou mesmo evitar a disseminação das mesmas e a ocorrência de doenças.

4 CAPÍTULO 2

Infecção por *Rickettsia* spp. (Rickettsiaceae) em carrapatos (Acari: Ixodidae) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linneaus, 1766) (Rodentia: Caviidae) de vida livre no estado do Acre, Brasil, Amazônia Ocidental

4.1 INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitas obrigatórios de vertebrados, pertencentes a ordem Acari, da qual pertencem também os ácaros, e subordem Ixodides. Esta última divide-se em três famílias, sendo a maior delas a Ixodidae, que compreende os carrapatos conhecidos como “carrapatos duros”, com aproximadamente 680 espécies descritas (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006).

Dentre as espécies de carrapatos que ocorrem no Brasil, aqueles pertencentes ao gênero *Amblyomma* são os mais numerosos. Das 65 espécies, endêmicas ou já estabelecidas no país, metade delas pertencem a esse gênero, que encontra-se distribuído em todos os continentes, com exceção da Antártida, e apresenta uma grande variedade de hospedeiros, compreendendo, principalmente, as ordens de mamíferos, aves (normalmente parasitadas por estágios imaturos de algumas espécies) e, por último, répteis e anfíbios. Estes ectoparasitas são capazes de transmitir diversos patógenos para animais e seres humanos, além de causarem injúrias a seus hospedeiros durante a hematofagia. Na literatura encontram-se diversos relatos de parasitismo no homem e isso o torna ainda mais importante para a saúde pública (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; DANTAS-TORRES, ONOFRIO, BARROS-BATTESTI, 2009; MARTINS et al., 2014).

Entre os animais parasitados por carrapatos, principalmente aqueles pertencentes ao gênero *Amblyomma*, encontra-se a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*), considerada o maior roedor existente, presente na América Central e América do Sul (exceto Chile) (REIS et al., 2011). É possível encontrar na literatura diversos estudos que relatam o parasitismo de capivaras por carrapatos do gênero *Amblyomma* e a participação da mesma no ciclo epidemiológico de doenças transmitidas por carrapatos como, por exemplo, a febre maculosa brasileira, considerada uma das mais importantes zoonoses transmitidas pelos ectoparasitas e que tem como agente etiológico a bactéria *Rickettsia rickettsii* (LABRUNA, 2009a; PACHECO et al., 2007; PACHECO et al., 2009; KRAWCZAK et al., 2014).

Bactérias do gênero *Rickettsia* (família Rickettsiaceae; ordem Rickettsiales) são parasitas intracelulares, Gram-negativas e podem ser divididas em grupos: Grupo da Febre Maculosa (GFM) e Grupo Tífico (GT), onde inserem-se espécies patogênicas para o ser humano, Grupo de Transição (TG), grupo da *Rickettsia bellii* (GB), grupo da *Rickettsia canadensis* (GC) e outros grupos basais, que abrigam espécies com particularidades genéticas e antigênicas que impedem sua inclusão no GFM e no GT (RAOULT; ROUX, 1997; GILLESPIE et al., 2007; WEINERT et al., 2009; LABRUNA et al., 2011; MERHEJ; RAOUL, 2011; SOARES et al., 2015). O GFM abriga mais de 20 espécies patogênicas, enquanto o GT é formado pelas espécies *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, transmitidas por piolhos e mosquitos, respectivamente (RAOULT; ROUX, 1997). Além destas, nas últimas décadas, foram descobertas diversas novas espécies de riquetsias, de patogenicidade ainda desconhecida, e a maioria delas isoladas em carrapatos (PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, 2005).

No Brasil, a única espécie conhecida pertencente ao GFM era a *Rickettsia rickettsii*, causadora da Febre Maculosa Brasileira, porém, com a descoberta das espécies *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *Candidatus "R. amblyommii"* e *R. felis* no país, estudos tem crescido em torno da investigação por outras riquetsias do GFM, sabendo-se que estas também podem ser patogênicas ao ser humano (LABRUNA et al., 2011; SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013).

O estado do Acre, localizado na região Norte do Brasil e inserido na Amazônia Ocidental (que compreende também os estados do Amazonas, Rondônia e Roraima), possui uma área de, aproximadamente, 164.123,712km² (IBGE, 2017). É considerado um dos "hotspots" do país, pois se encontra em uma das regiões mais ricas em termos de biodiversidade do mundo (MYERS, 1988). Apesar disso, existem poucos dados e trabalhos sobre a fauna acarológica nesta região, assim como nenhum estudo voltado à investigação de riquetsias e seus portadores no estado.

Considerando a riqueza biológica que a região apresenta e a falta de estudos relacionados à fauna acarológica e doenças transmitidas por ectoparasitas, o presente estudo teve como objetivo investigar a presença de bactérias do gênero *Rickettsia* em carrapatos coletados de capivaras de vida livre e da vegetação no município de Rio Branco, Acre, extremo oeste da Amazônia Ocidental, além de verificar a ocorrência de infecção por *Rickettsia rickettsii*, causadora da FMB, em capivaras da região.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Local de estudo

O estudo foi realizado em quatro áreas localizadas no município de Rio Branco, Acre (Figura 1), oeste da Amazônia Ocidental. Foram escolhidas duas áreas localizadas em zona urbana (Área 1: 9°57'33,0"S; 67°52'23,3"W; Área 2: 9°57'51,4"S; 67°52'14,9"W) e duas em zona rural (Área 3: 10°00'39,7"S; 67°56'14,9"W; Área 4: 9°56'49,7"S; 67°44'09,4"W). O critério de escolha dos locais foi a presença de grupos estáveis de capivaras coabitando áreas com outras espécies de animais (domésticos ou selvagens) e grande concentração de seres humanos.

A Área 1 caracteriza-se por apresentar áreas de vegetação rasteira e áreas de mata preservada, além de possuir lagos distribuídos em toda sua extensão. Por se tratar se uma universidade, apresenta grande concentração de pessoas, animais domésticos como gatos e cachorros e, em áreas preservadas, várias espécies de aves e roedores silvestres. A Área 2 localiza-se dentro de um conjunto habitacional, com grande movimentação de pessoas, e caracteriza-se por sua vegetação rasteira e presença de diversos lagos. A Área 3 e Área 4 localizam-se em fazendas de grandes dimensões, com extensas áreas de pastos "sujos" e vegetação diversificada, utilizadas para criação de bovinos, bubalinos e equinos, além de tanques e açudes destinados a criação de peixes. A área caracteriza-se por possuir inúmeros açudes para criação de peixes e vegetação média, que serve de pasto para os animais. Ambas as áreas possuem zonas de mata preservada, com presença de espécies silvestres, além de grande movimentação de trabalhadores rurais, que lidam diretamente com os animais de produção e realizam o manejo das áreas.

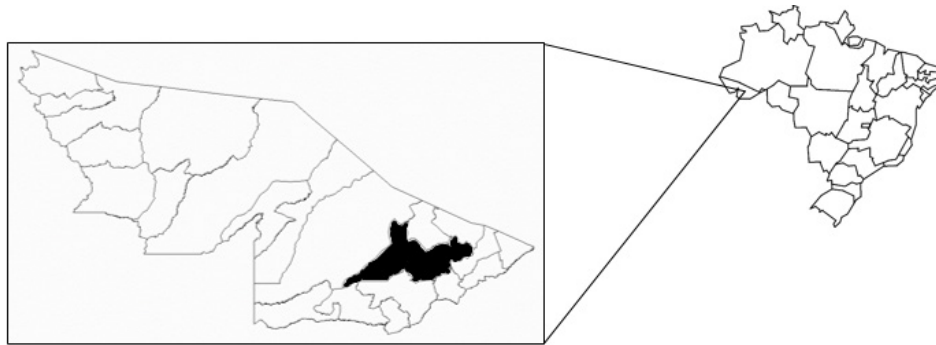


Figura 1. Localização do município de Rio Branco, estado do Acre, Brasil.

4.2.2 Captura dos animais

Durante o período de março a novembro de 2015, foram capturadas para o estudo um total de 43 capivaras. A captura foi feita por meio de estruturas denominadas “cevas”, construídas com estacas de madeira e telas de alambrado, e uso de alimentos de preferência dos animais como “iscas”. Com auxílio de puçás, os mesmos foram manejados, identificados com microchips (AnimalTAG®) e anestesiados para a coleta de material (sangue e carrapatos). Todos os procedimentos foram autorizados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Acre (N° 23107.016723/2014-41) e pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio (SISBIO N° 44791-100).

4.2.3 Coleta e identificação dos carrapatos

Através da técnica de catação, com auxílio de pinças, coletaram-se todos os carrapatos encontrados no corpo das capivaras capturadas. Em uma segunda etapa, que ocorreu de novembro de 2015 a abril de 2016, foram coletados carrapatos diretamente da vegetação, nas quatro áreas escolhidas para a captura das capivaras. Foi empregada a técnica de arrasto com flanela branca, utilizando uma flanela de 2m de comprimento por 0,80m de largura, com duas hastes de madeira presas nas extremidades, que tinham como objetivo manter a flanela aberta e próxima da vegetação. O arrasto foi realizado em um raio de 150m das cevas, com checagem da flanela em busca de carrapatos a cada 5-10m, totalizando, ao final da pesquisa, oito coletas em cada área de estudo. Todos os espécimes coletados foram armazenados em tubos de plástico devidamente identificados e contendo Álcool 70%.

A identificação taxonômica foi realizada no Laboratório de Hantavírus e Rickettsioses (LHR) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), com uso de lupa estereoscópica e chaves dicotômicas de Guimarães, Tucci e Barros-Battesti (2001) modificada, para adultos, e Martins et al. (2010), para ninfas. Algumas larvas foram identificadas com auxílio de técnicas de biologia molecular (*Polimerase chain reaction*, com marcação do gene 16s) e o restante foi identificado somente a nível de gênero.

4.2.4 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

O sangue coletado dos animais foi devidamente armazenado, identificado e processado para separação do soro. As amostras foram encaminhadas e analisadas no LHR – FIOCRUZ. O teste sorológico de escolha foi a Reação de Imunofluorescência Indireta. Foram utilizadas lâminas pertencentes ao kit de teste *Rickettsia* IgG (Focus Diagnostics®), que possui antígenos para *R. rickettsi* e outras riquetsias pertencentes ao Grupo da Febre Maculosa (*R. akari*, *R. conorii*, *R. australis*, e *R. sibirica*). As amostras de soro foram diluídas com tampão fosfato-salino (*Phosphate buffered saline* – PBS) na diluição de 1:64 e para cada amostra foi realizado *endpoint*, para chegar à maior titulação reativa.

4.2.5 Extração de DNA dos carrapatos e PCR

Foi realizado um *pool* entre o número total de carrapatos coletados, dos quais extraiu-se o DNA para realização da PCR (Polimerase Chain Reaction). Para carrapatos adultos e ninfas fez-se uso do kit de extração da QIAamp®DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) usando a técnica de extração recomendada pela empresa para extração de DNA de tecidos. Para extração de DNA de larvas, devido às suas pequenas dimensões, foi utilizada técnica de fervura em 40µl de tampão AE (10mM Tris-Cl 0,5mM EDTA; pH 9.0), seguindo Horta et al. (2007).

Todas as amostras de DNA dos carrapatos foram processadas individualmente com primers CS-78 (5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3') e CS-323 (5'-GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT-3), designados para amplificar o fragmento 401bp do gene citrate sintase (*gltA*), presente em bactérias *Rickettsia* spp., como descrito anteriormente (LABRUNA et al., 2004). Para amostras com resultados positivos para o PCR para o gene *gltA* foi feito outro PCR da amostra usando os

primers 190.70 (5'-ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3') e 190.701 (5'-GTTCCGTTAATGGCAGCATCT-3') com o alvo do fragmento de 632bp do gene da proteína externa de membrana 190kDa (*ompA*), presente somente nas riquetsias do grupo da febre maculosa (FOURNIER. ROUX; RAOULT, 1998).

Todas as reações foram executadas com 25µl por reação, sendo 12,5µl de DreamTaqTMGreen PCR Master Mix, 8,0µl de água livre de nuclease (Thermo Fischer Scientific Inc., Waltham, MA, USA), 1µl de cada primer a 10µM (Invitrogen, Carls-bad, CA, USA) e 2,5µl de DNA da amostra testada. Em cada ensaio de PCR, controles negativos (água) e uma amostra de controle positivo apropriada (DNA de *R. rickettsii*) foram realizados em conjunto com as amostras de carrapatos.

A PCR para o gene *gltA* seguiu os seguintes ciclos: 1 ciclo de 95°C por 5min, seguido por 35 ciclos de 15s a 95°C, 30s a 50°C (anelamento) e 30s a 72°C, finalizando com um ciclo de 10min em 72°C. A PCR para o gene *ompA* seguiu os seguintes ciclos: 1 ciclo de 95°C por 5min, seguido por 35 ciclos de 15s a 95°C, 30s a 58°C (anelamento) e 30s a 72°C, finalizando com um ciclo de 10min em 72°C.

Ao final do procedimento, 8µl do produto de cada amostra foi separado para eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corado com com GelRed Nucleic Acid Gel StainTM 10000× in DMSO (Biotium, Hayward, CA, USA) e examinados por transiluminação UV (ultravioleta). Os produtos da PCR considerados positivos foram purificados com ExoSAP-IT® (Affymetrix, Cleveland, OH, USA), e sequenciados em 96-capillary 3730xl DNA Analyzer® (AppliedBiosystems, Foster City, CA, USA), de acordo com os protocolos desenvolvidos por Otto et al. (2008), usando os mesmos primers iniciadores (*forward* e *reverse*) usados na PCR. Sequências parciais obtidas foram submetidas às análises do *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST) (<https://goo.gl/cgev17>) para determinar a similaridade das sequências obtidas com outras riquetsias.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Sorologia das capivaras

Das 43 capivaras testadas pela Reação de Imunofluorescência todas foram consideradas não reativas (100%, N=43) para *Rickettsia rickettsii* e outras espécies de riquetsias do GFM.

No Brasil a capivara tem sido associada ao ciclo de transmissão da febre maculosa brasileira em locais endêmicos para a doença (LEMOS et al., 1996; SOUZA et al., 2004; SOUZA et al., 2009), diferente do local em que foi realizada a presente pesquisa, onde não existem casos notificados da doença. Tratando-se do maior roedor existente no mundo, este animal possui uma grande área corporal, servindo de hospedeiro para diversas espécies de carrapatos, principalmente os pertencentes ao gênero *Amblyomma*, que são conhecidos por serem os principais vetores da *Rickettsia rickettsii* no país (SOUZA et al., 2009).

Travassos e Vallejo (1942) e Souza et al. (2009) realizaram estudo experimental, infectando capivaras com *R. rickettsii* e demonstraram que estes animais são susceptíveis à infecção por esta bactéria, sem apresentarem sinal clínico de febre, porém, sofrendo uma rickettsemia capaz de causar infecção em outra espécie animal e em carrapatos da espécie *A. cajennense*, que parasitavam a mesma.

Sororeatividade para riquetsias em capivaras já foi relatada por Souza et al. (2004), onde 58% (N=147) dos animais testados apresentaram evidência sorológica para riquetsias do GFM em áreas com casos de FM em humanos, e por Pacheco et al. (2007), que obteve sororeatividade para as espécies *Rickettsia rickettsii* (26,0%, N=94), *R. parkeri* (34,2%, N=94) e *R. bellii* (65,5%, N=94). É importante ressaltar também que, nestes estudos, carrapatos das espécies *Amblyomma cooperi* (LEMOS et al., 1996; SOUZA et al., 2004), *A. dubitatum* e *A. cajennense* (PACHECO et al., 2007; SOUZA et al., 2004) foram encontradas parasitando os animais podendo estar associados a transmissão da bactéria.

Apesar de todos os animais do estudo serem considerados não reativos na sorologia, não se descarta a possibilidade destes animais estarem infectados com outras riquetsias, principalmente espécies não patogênicas ou de patogenicidade desconhecida. Pesquisas mais específicas, com utilização, por exemplo, de lâminas com antígenos específicos para outras espécies de riquetsias, podem ser realizadas para avaliar a participação da capivara no ciclo de transmissão de outras bactérias do gênero *Rickettsia* no estado.

4.3.2 Identificação dos Carrapatos

Foram coletados 751 carrapatos. Destes, 489 carrapatos (33 larvas, 100 ninfas, 220 machos e 136 fêmeas) foram coletados diretamente das capivaras e 262 (259 larvas, 2 ninfas e 1 macho) do ambiente. As espécies encontradas nos animais foram *Amblyomma dubitatum* (81,8%, N=489), *A. naponense* (14,7%, N=489), *A. rotundatum* (0,2%, N=489), *A. paceae* (0,4%, N=489), *A. humerale* (0,6%, N=489) e *Dermacentor nitens* (0,4%, N=489), enquanto que as espécies encontradas no ambiente foram *A. rotundatum* (0,3%, N=262), *A. varium* (0,7%, N=262), *Dermacentor nitens* (9,9%, N=262) e *Rhipicephalus microplus* (88,9%, N=262).

Na Tabela 1 pode-se observar que a espécie de carrapato mais coletada nas capivaras foi *A. dubitatum* e, com exceção da área 1 (zona urbana), onde não foram encontrados exemplares dessa espécie, todas as outras áreas possuem adultos e indivíduos em desenvolvimento, indicando a existência de uma população. A espécie *A. naponense* foi encontrada em menor número, porém, em todas as áreas do estudo, enquanto que *A. humerale* e *A. rotundatum*, encontrados somente em estágio ninfal, foram relatados em uma só área de estudo cada, sendo o primeiro em área urbana e o segundo, em área rural. Além destes, foram encontrados dois indivíduos adultos da espécie *D. nitens*, espécie que também ocorreu com grande frequência entre os carrapatos de fase livre, coletados da vegetação (Tabela 2).

Finalmente, é possível observar um número maior de carrapatos coletados em animais de área rural, com 50,9% (N=489) do total de carrapatos, ou seja, estes animais apresentaram-se mais parasitados que aqueles provenientes de área urbana, a qual pertence apenas 34,5% (N=489) dos carrapatos coletados. Devido a problemas de identificação dos tubos durante a coleta, 14,5% (N=489) dos carrapatos coletados nos animais foram identificados como “Sem local”.

Através da Tabela 2 é possível observar que na vegetação foram encontrados poucos carrapatos adultos, sendo a maioria coletado em estágio larval. Este resultado pode ser explicado pela característica de sazonalidade que ocorre em populações de carrapatos, porém, como não foi realizada tal análise esta hipótese não pode ser confirmada, ou também pelo método de coleta (arrasto de flanela), que é um método satisfatório para coleta de estágios imaturos, principalmente larvas, e pouco eficiente para estágio adulto (OLIVEIRA et al., 2000; VIEIRA et al., 2004).

Outra informação relevante observada nesta tabela é a presença de um número maior de carrapatos em área rural (assim como ocorreu com a coleta realizada nos animais, descrita na Tabela 1), sendo que, dos 262 indivíduos coletados no ambiente, 98,8% (N=262) destes pertencem a áreas rurais. Acredita-se que isso ocorra devido às condições ambientais, pois carrapatos se desenvolvem melhor em locais com vegetação média a alta, onde se forma um microclima ideal para seu desenvolvimento (VIEIRA et al., 2004), característica esta que ocorre com menor frequência em áreas urbanas, onde ocorre manutenção periódica das áreas. Outra possível explicação para essa diferença é devido a maior disponibilidade de hospedeiros para completarem o seu ciclo biológico, sendo que, em áreas rurais, existem populações maiores de capivaras e de outros animais silvestres e domésticos, como bovinos e equinos.

Nenhum indivíduo das espécies *A. dubitatum*, *A. naponense*, *A. humerale* e *A. pacaoe*, encontrados parasitando as capivaras, foram coletados em fase livre, da vegetação. A espécie *Rhipicephalus microplus* foi relatada em grande número na vegetação, porém, não foi encontrada parasitando os animais do estudo. A espécie *A. varium* foi registrada apenas em fase livre (estágio ninfal), coletada em área urbana.

Foi possível observar, assim, que as técnicas de catação e arrasto com flanela foram eficientes e complementares na coleta de carrapatos em diferentes fases de desenvolvimento, pois possibilitaram que fossem encontrados e identificados acarídeos de diversas espécies, a maioria ainda não relatada na região de estudo.

Tabela 1 - Espécies de carrapatos coletados em capivaras de vida livre no município de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental. L: Larvas; N: Ninfas; M: Machos; F: Fêmeas.

| Espécies | Áreas de coleta | | | | | | | | | | | | | | | | | | | TOTAL | |
|----------------------|-----------------|---|----|----|--------|----|----|----|------------|----|----|----|--------|----|----|---|-----------|----|----|-------|------------|
| | Área Urbana | | | | | | | | Área Rural | | | | | | | | Sem local | | | | |
| | Área 1 | | | | Área 2 | | | | Área 3 | | | | Área 4 | | | | | | | | |
| | L | N | M | F | L | N | M | F | L | N | M | F | L | N | M | F | L | N | M | | F |
| <i>A. dubitatum</i> | - | - | - | - | 1 | 8 | 71 | 36 | - | 1 | 75 | 43 | 22 | 65 | 7 | 9 | 2 | 11 | 24 | 25 | 400 |
| <i>A. naponense</i> | - | 4 | 20 | 9 | - | 2 | 2 | 2 | - | - | 2 | 3 | - | 1 | 8 | 6 | - | 2 | 10 | 1 | 72 |
| <i>A. humerale</i> | - | - | - | - | - | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 3 |
| <i>A. paceae</i> | - | 1 | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 |
| <i>A. rotundatum</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 |
| <i>Amblyomma sp.</i> | - | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 6 | - | - | - | 2 | - | - | - | 9 |
| <i>D. nitens</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 1 | 2 |
| TOTAL | - | 6 | 20 | 10 | 1 | 13 | 73 | 38 | 1 | 76 | 46 | 28 | 67 | 15 | 16 | 4 | 13 | 35 | 27 | 489 | |
| TOTAL/ÁREA | 169 | | | | | | | | 249 | | | | | | | | 71 | | | | 489 |

Tabela 2 - Espécies de carrapatos coletados da vegetação (fase livre) no município de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental. L: Larvas; N: Ninfas; M: Machos, F: Fêmeas.

| Espécies | Áreas de Coleta | | | | | | | | | | | | | | | | TOTAL |
|----------------------|-----------------|----------|---|---|--------|---|---|---|------------|---|---|---|--------|---|---|---|------------|
| | Área Urbana | | | | | | | | Área Rural | | | | | | | | |
| | Área 1 | | | | Área 2 | | | | Área 3 | | | | Área 4 | | | | |
| | L | N | M | F | L | N | M | F | L | N | M | F | L | N | M | F | |
| <i>A. rotundatum</i> | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 |
| <i>A. varium</i> | - | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 2 |
| <i>D. nitens</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | 17 | - | - | - | 9 | - | - | - | 26 |
| <i>R. microplus</i> | - | - | - | - | - | - | - | - | 218 | - | 1 | - | 14 | - | - | - | 233 |
| TOTAL | 1 | 2 | - | - | - | - | - | - | 235 | - | 1 | - | 23 | - | - | - | 262 |
| TOTAL/ÁREA | 3 | | | | | | | | 259 | | | | | | | | 262 |

Poucos são os dados sobre a fauna acarológica do Acre. Rohr (1909), Aragão (1936), Guimarães, Tucci e Barros-Battesti (2001) relatam para o estado as espécies *A. calcaratum*, *A. coelebs*, *A. dissemile*, *A. incisum*, *A. longirostre* e *A. oblonguttatum*, porém, não existem informações detalhadas sobre local de coleta, hospedeiro ou estágio biológico em que essas espécies foram encontradas.

Em 2007, Onofrio realizou um levantamento de carrapatos do gênero *Amblyomma* que ocorrem no país, através de bibliografias e coleções acarológicas, e, além das espécies já citadas anteriormente, relatou no Acre a espécie *A. naponense*, encontrada na coleção acarológica do Instituto Butantan (IBSP 7112). Em estudo mais recente, Souza et al. (2016) fizeram o primeiro relato da espécie *A. geayi* na região, coletado em uma preguiça de vida livre.

A espécie *A. dubitatum*, conhecida comumente como carrapato da capivara, tem como hospedeiros primários de todos os estágios, animais pertencentes a família Caviidae (Rodentia) e, entre eles, a principal é a capivara (VIEIRA et al., 2004; GUGLIELMONE et al., 2014). Frequentemente, é encontrada nos biomas Cerrado, Pampa e Chaco (NAVA et al., 2010), entretanto, já foi relatada na Amazônia, no estado de Rondônia, parasitando capivaras (MARTINS et al., 2014). No estado do Acre esse é o primeiro relato da espécie, parasitando capivaras em diferentes locais (zona urbana e zona rural), demonstrando que a mesma encontra-se possivelmente estabilizada nesta região.

Carrapatos da espécie *A. naponense* são encontrados com maior frequência parasitando Tayassuídeos (GUGLIELMONTE et al., 2014), entretanto, podem parasitar outros mamíferos e diversas aves (OGRZEWALSKA et al., 2009; SOARES et al., 2015). Na região amazônica, já foram relatados parasitando porcos domésticos (LABRUNA et al. 2002), *Hydrochoerus hydrochaeris*, *Tayassu pecari*, *Pecari tajacu*, *Dasyprocta* sp. e *Cuniculus paca* (LABRUNA et al., 2005; MARTINS et al., 2014;

SOARES et al., 2015). Como observado, o relato dessa espécie em capivaras não é inédito, porém, no estado do Acre este é o primeiro registro. Neste estudo, foi encontrada em maior número parasitando animais que habitam áreas urbanas, com grande fluxo de pessoas, e isso se torna de grande importância, considerando-se que essa espécie foi relatada anteriormente parasitando o homem (GUGLIEMONE et al., 2006).

Amblyomma humerale é endêmico da América do Sul e, no Brasil, carrapatos dessa espécie já foram relatados em diversos estados, principalmente aqueles pertencentes à região amazônica. É comumente encontrado parasitando répteis, principalmente jabutis, porém, estágios imaturos possuem menor especificidade parasitária, e por esse motivo podem parasitar também pequenos mamíferos. (LABRUNA et al. 2005; GUGLIEMONE et al., 2014). Na Amazônia, foi encontrado parasitando *Chelonoidis denticulata* (MARTINS et al., 2014, LABRUNA et al., 2002a), *Geochelone carbonaria* (LABRUNA et al., 2002a), *Geochelone denticulata*, *Geochelone* sp., *Caiman crocodilus* (LABRUNA et al. 2005), algumas espécies de passeriformes (OGRZEWALSKA et al., 2010) e estágios ninfais em *Plica* spp., *Kentropyx calcarata* e também em mamíferos das espécies *Cyclopes didactylus*, *Didelphis marsupialis*, *Tamandua tetradactyla* e *Dasyopus nivencinctus* (LABRUNA et al., 2002a; LABRUNA et al., 2005; SOARES et al., 2015).

No Acre, Aragão (1936) registrou esta espécie em uma localidade chamada Palmeiras, porém, atualmente, não existe registro da existência desta localidade no estado. No presente estudo, a mesma foi encontrada apenas no estágio ninfal, parasitando capivaras, e esta informação vai de acordo com o encontrado na literatura, sobre a menor especificidade parasitária de estágios imaturos da espécie.

Carrapatos pertencentes a espécie *A. rotundatum* ocorrem na região Neártica e Neotropical (ONOFRIO et al., 2006), incluindo alguns estados brasileiros. É uma espécie que se reproduz por partenogênese, sendo assim, deveria existir na natureza apenas indivíduos fêmeas. É encontrado, entretanto, na literatura, alguns relatos de indivíduos machos (KEIRANS; OLNER, 1993; LABRUNA. TERRASSINI; CAMARGO, 2005; MARTINS et al., 2014). Na Amazônia Ocidental, a espécie foi registrada em Rondônia, parasitando *Hydrodynastes gigas*, *Boa constrictor* e *Rhinella marina* (MARTINS et al., 2014). Neste estudo, apenas uma ninfa foi encontrada parasitando capivaras, sendo este também o primeiro relato da espécie no estado.

Amblyomma paca, conhecido popularmente como carrapato castanho da paca, é encontrado na região Neotropical e hospeda principalmente animais da família

Cuniculidae (Rodentia), porém, pode ser encontrado parasitando diversos outros mamíferos (ARAGÃO, 1936; GUGLIEMONE et al., 2014), inclusive humanos (GUGLIELMONE et al., 2006). Em região amazônica, foram relatados no Pará, parasitando *Didelphis marsupialis* (SOARES et al., 2015). Na Amazônia Ocidental, foram registrados no estado de Rondônia, em *Agouti paca* (*Cuniculus paca*) e *D. marsupialis* (LABRUNA et al., 2005). Existem poucos relatos da espécie no Brasil e nenhum relato no estado do Acre, sendo assim, faz-se o primeiro registro de *A. pacae* no estado e o primeiro registro da espécie parasitando capivaras.

O carrapato *Dermacentor* (= *Anocentor*) *nitens* é uma das principais espécies de carrapatos dos equídeos, encontrado principalmente no pavilhão auricular, divertículo nasal, crina e região perineal do corpo desses animais (LABRUNA et al., 2001). Existe relato de parasitismo em humanos (GUGLIELMONE et al., 2006; SERRA-FREIRE, 2010) e pode ser encontrado parasitando outros animais, principalmente da classe Mammalia (GUGLIELMONE et al., 2014). Não foi encontrado na literatura relato de parasitismo por *D. nitens* especificamente em capivaras, mas como este ectoparasita é capaz de parasitar outras espécies de vertebrados, principalmente quando diversas espécies habitam e forrageiam em uma mesma área (LABRUNA et al., 2001), justifica-se a presença dos mesmos nos animais do estudo. A espécie, comum em região Neotropical, já foi relatada em diversos estados do Brasil (LABRUNA et al., 2001; BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; BELLO et al., 2008), entretanto, este é o primeiro registro no estado do Acre.

Em relação aos carrapatos coletados da vegetação, em fase livre, temos ainda as espécies *A. varium* e *Rhipicephalus microplus*. O primeiro, *A. varium*, é conhecido no Brasil como “carrapato-gigante-da-preguiça” e pode ser encontrado em mamíferos das famílias Bradypodidae e Magalonychidae (Xenarthra), possuindo bastante especificidade para preguiças e poucos relatos em outras espécies animais. Já foi relatado em diversos países e em diferentes estados do Brasil, inclusive pertencentes a região da Amazônia Ocidental (Rondônia e Amazonas) (MARQUES et al., 2002). No estado do Acre é o primeiro registro de ocorrência da espécie.

A espécie *Rhipicephalus microplus* parasita preferencialmente bovinos, no entanto, outros animais podem servir de hospedeiros para a mesma. Quando ocorre alta infestação em gado este carrapato pode, eventualmente, parasitar também humanos, durante a manipulação (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006). No presente estudo, entre os carrapatos coletados do ambiente, foi a espécie encontrada em maior número.

4.3.3 Infecção por *Rickettsia* spp. em carrapatos

Dos 751 carrapatos coletados, foi realizado um *pool* de 317 indivíduos. Dos 317 (317/751) carrapatos testados através da Reação de Cadeia em Polimerase (PCR), com marcação do gene *gltA*, um total de 3,4% (11/317) foram positivos para *Rickettsia* spp., entretanto, apenas um destes foi identificado como pertencente ao Grupo da Febre Maculosa, após o teste com marcação do gene *ompA*.

Com a obtenção das sequências parciais de nucleotídeos das amostras positivas no PCR, foi possível caracterizar as espécies *Rickettsia bellii* (6 infectados/317 testados; taxa de infecção: 1,8%) infectando *A. dubitatum* e *A. rotundatum*, *Candidatus "Rickettsia amblyommii"* (1/317; 0,3%) infectando *Amblyomma humerale* e *Rickettsia* sp. Tapirapé (4/317; 1,2%) parasitando *A. naponense*.

Como apresentado na Tabela 3, é possível observar a ocorrência da espécie *R. bellii* em todas as áreas investigadas, tanto pertencentes à zona urbana como zona rural, porém sendo maior em zona urbana e parasitando em sua maioria carrapatos da espécie *A. dubitatum*. A *Rickettsia* sp. Tapirapé ocorre em duas áreas, uma em área urbana e outra e área rural, parasitando somente *A. naponense*, enquanto que a *Ca. "Rickettsia amblyommii"* foi encontrada em somente uma área (urbana) e também parasitando uma espécie (*A. humerale*).

Das espécies de *Rickettsia* spp. já descobertas, a *R. bellii* é a mais comumente encontrada em carrapatos de diferentes espécies. No Brasil, entre os carrapatos parasitados pela bactéria, encontram-se àqueles pertencentes ao gênero *Amblyomma* (LABRUNA et al., 2004, 2004a, 2011; PINTER; LABRUNA, 2006; HORTA et al., 2006, 2007; PACHECO et al., 2007, 2008, 2009; OGRZEWALSKA et al., 2009, 2012; SABATINI et al., 2010; SZABÓ et al., 2013; BRITES-NETTO et al., 2013; MCINTOSH et al., 2015; OGRZEWALSKA; PINTER, 2016) e as espécies *Haemaphysalis juxtakochi* e *Ixodes loricatus* (HORTA et al., 2006; OGRZEWALSKA et al., 2012).

Tabela 3 - Espécies de riquetsias encontradas nos carrapatos coletados no município de Rio Branco, Acre, Amazônia Ocidental.

| Espécie de Riquetsia | Gene | Nº GenBank | Espécie de carrapato | Hospedeiro | Local |
|--|-------------|------------|----------------------|------------------------|-----------------|
| <i>Rickettsia bellii</i> | <i>gltA</i> | KY053883 | <i>A. dubitatum</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 4 (rural) |
| | | | <i>A. dubitatum</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 2 (urbana) |
| | | | <i>A. dubitatum</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 2 (urbana) |
| | | | <i>A. dubitatum</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 2 (urbana) |
| | | | <i>A. dubitatum</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 3 (rural) |
| | | | <i>A. rotundatum</i> | Vegetação | Área 1 (urbana) |
| <i>Rickettsia</i> sp. <i>Tapirape</i> | <i>gltA</i> | KY053882 | <i>A. naponense</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 4 (rural) |
| | | | <i>A. naponense</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 1 (urbana) |
| | | | <i>A. naponense</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 1 (urbana) |
| | | | <i>A. naponense</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 1 (urbana) |
| Ca. " <i>Rickettsia amblyommii</i> " | <i>gltA</i> | KY053884 | <i>A. humerale</i> | <i>H. hydrochaeris</i> | Área 2 (urbana) |
| | <i>ompA</i> | KY053885 | | | |

Das espécies de *Rickettsia* spp. já descobertas, a *R. bellii* é a mais comumente encontrada em carrapatos de diferentes espécies. No Brasil, entre os carrapatos parasitados pela bactéria, encontram-se àqueles pertencentes ao gênero *Amblyomma* (LABRUNA et al., 2004, 2004a, 2011; PINTER; LABRUNA, 2006; HORTA et al., 2006, 2007; PACHECO et al., 2007, 2008, 2009; OGRZEWALSKA et al., 2009, 2012; SABATINI et al., 2010; SZABÓ et al., 2013; BRITES-NETTO et al., 2013; MCINTOSH et al., 2015; OGRZEWALSKA; PINTER, 2016) e as espécies *Haemaphysalis juxtakochi* e *Ixodes loricatus* (HORTA et al., 2006; OGRZEWALSKA et al., 2012).

Como observado na Tabela 3, a bactéria foi encontrada parasitando as espécies *A. dubitatum* e *A. rotundatum*. Labruna et al. (2004), Horta et al. (2007), Pacheco et al. (2009) e Brites-Neto et al. (2013) já haviam relatado a ocorrência da bactéria nestas duas espécies, especificamente. Com este estudo, faz-se o primeiro relato da bactéria *Rickettsia bellii* para o estado do Acre, como sendo a bactéria com maior taxa de infecção entre as espécies encontradas.

A bactéria *R. bellii* é considerada não patogênica para humanos (LABRUNA, 2009a) e para animais (HORTA et al., 2007; PINTER et al., 2008). Pinter e Labruna (2006) e Ogrzewalska et al. (2012) registram em seus trabalhos que a bactéria *R. bellii* pode ter participação no ciclo epidemiológico da Febre Maculosa Brasileira interferindo na propagação de riquetsias patogênicas como, por exemplo, a *R. rickettsii*. Os pesquisadores chegaram à essa conclusão após observarem que a mesma

foi relatada com frequência em carrapatos vetores da febre maculosa, em taxas de infecção maior que *R. rickettsii*.

Ca. "Rickettsia amblyommii" é uma das bactérias do gênero *Rickettsia* que ocorrem no Brasil e pertencem ao GFM. Juntamente com *Rickettsia rhipicephali*, apresenta patogenicidade ainda desconhecida (LABRUNA, 2009a; MERHEJ et al., 2014), entretanto, evidências sorológicas de infecção por *Candidatus "R. amblyommii"* já foram obtidas em equinos (BERMUDEZ et al., 2011) e, na região amazônica, em cães (LABRUNA et al., 2007; MELO et al., 2011; SPOLIDORIO et al., 2013) e seres humanos (LABRUNA et al., 2007). Nos EUA, sugere-se que algumas riquetsioses relatadas como Febre Maculosa das Montanhas Rochosas tenham sido causadas por *Ca. "R. amblyommii"* e não por *R. rickettsia* (APPERSON et al., 2008), demonstrando a necessidade de mais estudos em torno da mesma.

No Brasil, foi relatada na Amazônia Ocidental infectando carrapatos das espécies *A. cajennense* s.s e *A. coelebs*, em Rondônia (LABRUNA et al., 2004a), porém, antes disso, no mesmo estado, foi encontrada em *A. longirostre* e denominada como *Rickettsia* spp. cepa Aranha, sendo esse o primeiro registro da espécie fora dos Estados Unidos (LABRUNA et al., 2004b). Em outros estados foi encontrada infectando *A. auricularium* (SARAIVA et al., 2013; SOARES et al., 2015), *A. cajennense* (LABRUNA et al., 2004a; SOARES et al., 2015; WITTER et al., 2016), *A. coelebs* (LABRUNA et al., 2004a; SILVEIRA et al., 2015; WITTER et al., 2016), *A. longirostre* (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2011, 2012; SOARES et al., 2015; RAMOS et al., 2015; LUGARINI et al., 2015; PACHECO et al., 2012; MEDEIROS et al., 2011; MCINTOSH et al., 2015), *A. geayi* (OGRZEWALSKA et al., 2010), *A. varium* (OGRZEWALSKA; PINTER, 2016) e *A. humerale* (SOARES et al., 2015). Esse é o primeiro relato da espécie para o estado do Acre, em uma área urbana, parasitando *A. humerale*.

Além destas espécies citadas, a bactéria *Ca. "R. amblyommii"* já foi encontrada em carrapatos *D. nitens* coletados de equinos, no Panamá, e estes eram sororeativos para a mesma (BÉRMUDEZ et al., 2011). Esse registro faz-se importante pois a espécie *Dermacentor nitens* foi registrada neste estudo, sendo a segunda espécie mais encontrada na vegetação, em zona rural, e encontrada também parasitando capivaras.

Neste trabalho, a bactéria *Ca. "R. amblyommii"* foi encontrada em uma taxa de infecção menor (1:3) que uma riquetsia não patogênica (*R. belli*), habitando uma mesma área, como pode-se observar na Tabela 3. Burgdorfer et al. (1981) já haviam

descrito que carrapatos parasitados por uma riquetsia tornam-se refratários a infecção por outra riquetsia. Com base nessa afirmação e nos resultados encontrados neste estudo, é provável que bactérias da espécie *R. bellii* possam estar interferindo na propagação da bactéria *Ca. "R. amblyommi"*, possuindo assim um papel importante no ciclo epidemiológico de possíveis riquetsioses na área de estudo.

Finalmente, a última espécie encontrada neste estudo em área urbana e área rural, *Rickettsia* sp. cepa Tapirapé, foi relatada pela primeira vez infectando carrapatos da espécie *A. naponense* por Soares et al. (2015), assim como neste estudo, sendo essa uma nova espécie de *Rickettsia* sp. e, de acordo com sua análise filogenética, o agente anterior à esta pertence ao grupo *canadensis* (CG) e a mesma encontra-se mais próxima a espécie *R. monteroi*, descrita por Pacheco et al. (2011) e encontrada em *A. incisum*, no sul do Brasil. Nenhuma bactéria pertencente ao CG foi isolada em seres humanos ou animais, entretanto, nos EUA foi encontrada evidência sorológica de que uma bactéria da espécie *R. canadensis* tenha causado febre em seres humanos (PAROLA; LABRUNA; RAOULT, 2009). Além disso, carrapatos da espécie *A. naponense* estão associados a parasitismo no homem (GUGLIELMONE et al., 2006).

O exame sorológico negativo das capivaras parece inconsistente com os resultados obtidos com carrapatos, entretanto, não se sabe se as espécies de riquetsias encontradas no estudo, com exceção da *Ca. "R. amblyommi"*, podem causar infecção em vertebrados ou se a espécie do estudo (*H. hydrochaeris*) é susceptível a estas bactérias. Além disso, mesmo que os animais do estudo sejam susceptíveis a infecção por tais riquetsias e estas sejam patogênicas para vertebrados, as chances de encontrar um animal de vida livre com uma infecção por *Rickettsia* spp. são pequenas, como observado por Burgdorfer et al. (1966), McDade e Newhouse (1986) e Parola et al. (2013), que afirmam que, normalmente, estas infecções são transitórias em vertebrados, sendo posteriormente eliminadas do organismo do animal, que se torna imune a uma nova infecção. Faz-se necessário ainda ressaltar que o kit utilizado no teste sorológico das capivaras é específico para a bactéria *Rickettsia rickettsii*, causadora da FMB, e outras quatro bactérias pertencentes ao Grupo da Febre Maculosa (*R. akari*, *R. conorii*, *R. australis*, e *R. sibirica*), as quais não ocorrem no país.

Os resultados encontrados nesta pesquisa assemelham-se aos relatados por Soares et al. (2015), com diversas espécies de animais selvagens, onde bactérias *Rickettsia* spp. foram encontradas em carrapatos, porém, os animais do estudo não apresentaram evidências sorológicas para as mesmas.

Há de se considerar que, de acordo com SINAN (2017), a Febre Maculosa Brasileira já é uma realidade na região Norte do país, onde foram notificados casos em Roraima e Rondônia, sendo este último estado fronteira com o Acre. Além disso, o estado do Acre reúne todas as condições necessárias para o estabelecimento de outras riquetsias do grupo da febre maculosa, sendo assim é importante que sejam trabalhadas questões de educação ambiental e de saúde com a população, de forma a conscientizar sobre os riscos da convivência com animais selvagens e/ou seus habitats.

4.3.4 Conclusões

Por meio desta pesquisa, foi possível aumentar o conhecimento sobre as espécies de carrapatos que ocorrem na região e obter dados importantes sobre as riquetsias encontradas nas mesmas.

Entre as três espécies de *Rickettsia* relatadas, uma delas pertence ao Grupo da Febre Maculosa, enquanto a outra possui patogenicidade desconhecida, sendo assim, ambas podem oferecer riscos aos seres humanos, considerando que estas foram encontradas em áreas urbanas e rurais, em locais de grande movimentação de pessoas e animais domésticos. Por outro lado, a maior presença de *R. bellii* pode estar interferindo na propagação de outras bactérias do gênero, inclusive as patogênicas, possuindo assim um papel importante no ciclo epidemiológico de possíveis riquetsioses na área de estudo. Além disso, a sororeatividade negativa nas capivaras do estudo não implica na ausência de infecção nas mesmas por bactérias do gênero *Rickettsia*, uma vez que o kit para investigação sorológica utilizado neste trabalho era específico para *Rickettsia rickettsii*.

5 CONCLUSÕES GERAIS

Por conta destes achados, recomendam-se investigações periódicas por parte de pesquisadores, órgãos de saúde pública e vigilância epidemiológica, de maneira a avaliar o aparecimento de outras riquetsias ou a ocorrência do aumento das taxas de infecção das espécies já registradas neste estudo. Além disso, profissionais da área de saúde, principalmente médicos infectologistas, devem estar alertas nas unidades de saúde sobre o aparecimento de pessoas portando sintomas de doenças febris agudas ou hemorrágicas, que podem ser facilmente confundidas com outras enfermidades, como dengue, leptospirose etc., de maneira a se evitar um diagnóstico tardio para riquetsioses.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R. F. C.; MATIAS, J.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. C.; ANDREOTTI, R. **Importância dos carrapatos na transmissão da Febre Maculosa Brasileira**. 1.ed. Campo Grande: EMBRAPA, 2012. 32 p.
- ALMEIDA, R. F. C.; GARCIA, M. V.; CUNHA, R. et al. The first report of *Rickettsia* spp. in *Amblyomma nodosum* in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 4, n. 1-2, p. 156-159, 2013.
- APPERSON, C. S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W. L.; MEAD, D. G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M. J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D.W. Tick-borne diseases in North Carolina: is "*Rickettsia amblyommii*" a possible cause of rickettsiosis reported as rocky mountain spotted fever?. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 8, n. 5, p. 597-606, 2008.
- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, 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. 115-29, 1961.
- ARZUA, M.; NAVARRO DA SILVA, M. A.; FAMADAS K. M. et al. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) e *Ixodes auritulus* Neumann, 1904 (Acari: Ixodidae) on birds in Southern Brazil, with notes on their ecology. **Experimental and Applied Acarology**, v. 31, n. 3-4, p. 283-296, 2003.
- BARBIERI, A. R. M.; FILHO, J. M.; NIERI-BASTOS, F. A. et al. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 6, p. 848-853, 2014.
- BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. *Carrapatos de importância Médico-Veterinária da região neotropical*. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. 223p.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; LANDULFO, G. A.; LUZ, H. R. et al. *Ornithodoros faccinii* n. sp. (Acari: Ixodida: Argasidae) parasitizing the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 8, p. 268, 2015.
- BEATI, L.; S. NAVA, E. J.; BURKMAN, D. M. et al. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric Speciation. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, p. 267, 2013.
- BELLO, A.C.P.P.; CUNHA, A.P.; LEITE, R.C.; OLIVEIRA, P.R.; RIBEIRO, A.C.C.L.; DOMINGUES, L.N.; FREITAS, C.M.V.; BASTIANETTO, E.; DALLA ROSA, R.C. Controle de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em eqüinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p. 59-63, 2008.

- BERMUDÉZ, C. S.; ZALDIVAR, A. Y.; SPOLIDORIO, M. G. et al. Rickettsial infection in domestic mammals and their ectoparasites in El Valle de Anton, Coclé Panama. **Veterinary Parasitology**, v. 177, n. 1–2, p. 134–138, 2011.
- BILLINGS, A.N.; YU, X.J.; TEEL, P.D. et al. Detection of a spotted fever group Rickettsia in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in South Texas. **Journal of Medical Entomology**, n. 35, p. 474-478, 1998.
- BINDER, L. C.; KRAWCZAK, F. S.; SPONCHIADO, J. et al. Inquérito sorológico para *Rickettsia* spp. em pequenos mamíferos do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 47, n. 1, p. 1-5, 2017.
- BRITES-NETO, J.; NIERI-BASTOS, F. A.; BRASIL, J.; DUARTE, K. M. R.; MARTINS, T. F.; VERISSIMO, C. J.; BARBIERI, A. R. M.; LABRUNA, M. B. Environmental infestation and rickettsial infection in ticks in an area endemic for Brazilian spotted fever. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 3, p. 367-372, 2013.
- BURGDORFER, W.; FRIEDHOFF, K. T.; LANCASTER, J. L. Natural history of tickborne spotted fever in the USA. Susceptibility of small mammals to virulent Rickettsia rickettsii. **Bulletin World Health Organization**, v. 35, n. 2, p. 149–153 1966.
- BURGDORFER, W. The hemolymph test. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 19, p. 1010-4, 1970.
- BURGDORFER, W. SEXTON, D. J; GERLOFF, R. F. et al. Rhipicephalus sanguineus: Vector of a New Spotted Fever Group Rickettsia in the United States. **Infection and Immunity**, v. 12, n. 1, p. 205-210, 1975.
- BURGDORFER, W.; HAYES, S. F.; MAVROS, A. J. Nonpathogenic rickettsiae in *Dermacentor andersoni*: a limiting factor for the distribution of *Rickettsia rickettsii*. In: BURGDORFER, W.; ANACKER, R. L. (eds). **Rickettsiae and rickettsial diseases**. New York: Academic Press, Inc., p. 585-594, 1981
- BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrub typhus. In: WALKER, D.H. **Biology of Rickettsial Diseases**. Boca Raton: CRC, v. 1, p. 3-50, 1988.
- CHEN, L. F; SEXTON, D. J. What's new in Rocky Mountain Spotted Fever. **Infectious Disease Clinics of North America**, n.22, Supl. 1, p. 413-432, 2008.
- COOB, J. O. The so-called "spotted fever" of the Rocky Mountains—A new disease in Bitter Root Valley, Mont. **Public Health Reports**, v.17, n.33, p.1868-1870, 1902.
- DANTAS-TORRES, F; ONOFRIO, V. C; BARROS-BATTESTI, D. M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic & Applied Acarology**, v. 14, p. 30–46, 2009.
- DIAS, E.; MARTINS, A.V. Spotted fever in Brazil: A summary. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. s1-19, n. 2, p. 103-108, 1939.
- FLECHTMANN, C. H. W. **Ácaros de Importância Médico Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Nobel, 1985. 192 p.
- FONSECA, F. Validade da espécie e cyclo evolutivo de *Amblyomma striatum* KOCH, 1844 (Acarina, Ixodidae). **Memórias do Instituto Butantan**, v. 9, p. 43-58, 1935.
- FORNADEL, C. M.; ZHANG, X.; SMITH, J. D. et al. High rates of *Rickettsia parkeri* infection in Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) and identification of “*Candidatus Rickettsia andeanae*” from Fairfax County, Virginia. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 12, p. 1535-1539, 2011.
- FOURNIER, P. E; ROUX, V; RAOULT, D. Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae by study of the outer surface protein rOmpA. **International Journal of Systematic Bacteriology**, n. 48, p. 839-849, 1998.

- GILLESPIE, J; BEIER, M. S; RAHMAN, M. S. et al. Plasmids and Rickettsial Evolution: Insight from *Rickettsia felis*. **PLoS ONE**, v. 2, n. 3, e266, 2007.
- GIMENEZ, D.F. Staining Rickettsiae in Yolk-Sac Cultures. **Stain Technology**, v. 39, p. 135-140, 1964.
- GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M. C. A. et al. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian Spotted Fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 841-845, 2005.
- GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PENA, A.; MANGOLD, A. J. et al. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**, v. 113, p. 273–288, 2003.
- GUGLIELMONE, A. A; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M. et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 83–100, 2006.
- GUGLIELMONE, A. A; ROBBINS, R. G; APANASKEVICH, D. A; PETNEY, T, N; ESTRADA-PEÑA, A; HORAK, I. G. *The Hard Ticks of the World: (Acari: Ixodida: Ixodidae)*. Nova Iorque: Springer, 2014. 723 p.
- GUIMARÃES, J. H; TUCCI, E. C; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitas de Importância Veterinária**. São Paulo: Editora Plêiade/FAPESP, 2001. 213 p.
- HARREL, G. T. Rocky Mountain Spotted Fever. **Medicine**, v. 28, p. 333-370, 1949.
- HORTA, M. C.; PINTER, A.; SCHUMAKER, T. T. S.; LABRUNA, M. B. Natural infection, transovarial transmission, and transstadial survival of *Rickettsia bellii* in the tick *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of the New York Academy of Science**, v. 1078, n. 1, p. 285-290, 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. et al. Experimental Infection of Opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and Evaluation of the Transmission of the Infection to Ticks *Amblyomma cajennense*. **Vector-borne and zoonotic diseases**, v. 9, n. 1, p. 109-117, 2009.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Área Geográfica, 2015**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=ac>>. Acesso: 14/02/2017.
- JONES, N. Rickettsial diseases. **Medicine**, v. 33, n. 7, p. 37-38, 2005.
- KEIRANS, J.E; OLIVER, J.H. First description of the male and description of the immature stages of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) a recently discovered tick in the U.S.A. **The Journal of Parasitology**, v. 79, n. 6, p. 7860-7865, 1993.
- KRAWCZAK, F. S; NIERI-BASTOS, F; NUNES, F. P. et al. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasites and Vectors**, v. 7, n. 7, p. 2-7, 2014.
- LABRUNA, M. B; KERBER, C. E; FERREIRA, F. et al. Risk factors to tick 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; CAMARGO L. M, SCHUMAKER T. T, CAMARGO E. P. Parasitism of Domestic Swine (*Sus scrofa*) by *Amblyomma* Ticks (Acari: Ixodidae) on a Farm at Monte Negro, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 1, p. 241-3, 2002.

- LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M., TERRASSINI, F. A.; SCHUMAKER, T. T. S.; CAMARGO, E. P. Notes on Parasitism by *Amblyomma humerale* (Acari: Ixodidae) in the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 814-817, 2002a.
- LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C. et al. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of Sao Paulo, Brazil, where Brazilian Spotted Fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 90-98, 2004.
- LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H. et al. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 6, p. 1073-1081, 2004a.
- LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; BOUYER, D. H. et al. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 533-537, 2004b.
- LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; TEIXEIRA, R.H.F. Life cycle of *Amblyomma cooperi* (Acari: Ixodidae) using capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as hosts. **Experimental and Applied Acarology**, v. 30, p. 80–88, 2004.
- LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A. et al. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 149–163, 2005.
- LABRUNA, M. B.; TERRASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M. First Report of the Male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a Field-Collected Host. **Journal of Medical Entomology**, v.42, n. 6, p. 945-947, 2005.
- LABRUNA, M. B; CAMARGO, L. M. A; TERRASSINI, F. A; FERREIRA, F; SCHUMAKER, T. T. S; CAMARGO, E. P. Ticks (Acari: Ixodidae) from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Systematic & Applied Acarology**, v. 10, p. 17-32, 2005.
- LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P. et al. Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondônia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 169–174, 2005a.
- LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; AGUIRAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M. A. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 2, p. 249-256, 2007.
- LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; AGUIRAR, D. M. et al. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 2, p. 249-256, 2007.
- LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C.; ATALIBA, A.C. et al. Human parasitism by the capybara tick, *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae), in Brazil. **Entomology News**, v. 118, p. 77–80, 2007a.
- LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; RICHTZENHAIN, L. J. et al. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* Ticks in the State of São Paulo, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 3, p. 869-873, 2007b.
- LABRUNA, M. B. Survey of *Rickettsia* spp in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum* in the State of São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.3, p.351-353, 2009.
- LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. In: *Rickettsiology and Rickettsial Diseases Fifth International Conference*, 2009, New York. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1166, p. 156–166, 2009a.

- LABRUNA, M. B.; MATTAR, S.; NAVA, S. et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal Rickettsiosis en América Latina, el Caribe, España y Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, v. 16, n. 2, p. 2435-2457, 2011.
- LABRUNA, M. B.; OGRZEWALSKA, M.; SOARES, J. F. et al. Experimental infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, p. 829–834, 2011a.
- LEMOS, E. R. S.; MELLES, H. H. B.; COLOMBO, S. et al. Primary isolation of spotted fever group from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n.3, p. 273-275, 1996.
- LOPES, C. M. L.; OLIVEIRA, P. R.; HADDAD, J. P. et al. Biological Parameters of ticks *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) under field and laboratory conditions in Pedro Leopoldo, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, Supl. 1, p. 14-17, 2008.
- LUGARINI, C.; MARTINS, T. F.; OGRZEWALSKA, M. et al. Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, n. 3, p. 364-375, 2015.
- MARQUES, S.; BARROS-BATTESTI, D. M.; FACCINI, J. L. H.; CASTILHO ONOFRIO, V. C. Brazilian Distribution of *Amblyomma varium* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae), a Common Parasite of Sloths (Mammalia: Xenarthra). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 8, p. 1141-1146, 2002.
- MARTINS, T. F.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescriptions, and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, n. 2, p. 75-99, 2010.
- MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M. A.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, p. 121–128, 2014.
- MATIAS, J.; GARCIA, M.V.; CUNHA, R. C. et al. Spotted fever group *Rickettsia* in *Amblyomma dubitatum* tick from the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, p. 107-110, 2015.
- MCDADE, J. E.; NEWHOUSE, V. F. Natural history of *Rickettsia rickettsii*. **Annual Review of Microbiology**, v. 40, p. 287–309, 1986.
- MCINTOSH, D.; BEZERRA, R. A.; LUZ, H. R. et al. Detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma longirostre* (Acari: Ixodidae) from Bahia state, Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n.3, p. 879-883, 2015.
- MEDEIROS, A. P.; DE SOUZA, A. P.; DE MOURA, A. B. et al. Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 8, p. 926-930, 2011.
- MERHEJ, V.; RAOULT, D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. **Biological Reviews**, v. 86, p. 379–405, 2011.
- MERHEJ, V.; ANGELAKIS, E.; SOCOLOVSCHI C.; RAOULT, D. Genotyping, evolution, and epidemiological findings of *Rickettsia* species. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 25, p. 122-137, 2014.
- MELO, A. L.; MARTINS, T. F.; HORTA, M. C. et al. Seroprevalence and risk factors to *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. in dogs from the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 2, n. 4, p. 213–218, 2011.
- MYERS, N. Threatened biotas: " hotspots" in tropical forests. **Environmentalist**, v. 8, n. 3, p. 187-208, 1988.

- NAVA, S; VENZAL, J. M; LABRUNA, M. B. et al. Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 51, n. 4, p. 335-351, 2010.
- NAVA, L; BEATI, M. B; LABRUNA, A. et al. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* (Koch, 1844), and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and tick-borne diseases**, v. 5, n. 3, p. 252-276, 2014.
- NIERI-BASTOS, F. A; LOPES, M. G; CANÇADO, P. H. et al. *Candidatus* Rickettsia andeanae, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 2, p. 259-261, 2014.
- OGRZEWALSKA, M; PACHECO, R; UEZU, A. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in an Atlantic Forest area in the State of São Paulo, Brazil, with isolation of *Rickettsia* from the tick *Amblyomma longirostre*. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 4, p. 770-774, 2008.
- OGRZEWALSKA, M; PACHECO, R. C; UEZU, A. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting birds in an Atlantic rain forest region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1225-1229, 2009.
- OGRZEWALSKA, M; PACHECO, R. C; UEZU, A. et al. Rickettsial infection in *Amblyomma nodosum* ticks (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 103, n. 5, p. 413-425, 2009a.
- OGRZEWALSKA, M; UEZU, A; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the eastern Amazon, northern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v. 106, n. 4, p. 809-816, 2010.
- OGRZEWALSKA, M; UEZU, A; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the Atlantic Forest in northeastern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v. 108, n. 3, p. 665-670, 2011.
- OGRZEWALSKA, M; SARAIVA, D. G; MORAES-FILHO, J. et al. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, v. 139, n. 10, p. 1283-1300, 2012.
- OGRZEWALSKA, M; MARTINS, T; CAPEK, M. et al. A *Rickettsia parkeri*-like agent infecting *Amblyomma calcaratum* nymphs from wild birds in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 4, n. 1, p. 145-147, 2013.
- OGRZEWALSKA, M; PINTER, A. Ticks (Acari: Ixodidae) as ectoparasites of Brazilian wild birds and their association with rickettsial diseases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 1-31, 2016.
- OLIVEIRA, P. R. et al. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 92, n. 4, p. 295-301, 2000.
- ONOFRIO, V. C. et al. Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*. In: Darci M. Barros-Battesti, Marcia Arzua, Gervásio H. Bechara. (Org.). **Carrapatos de importância médico veterinária da região neotropical - Um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Butantan, p. 53-113, 2006.
- ONOFRIO, V. C. **Revisão do gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) no Brasil**. 192f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de veterinária - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2007.

- OTTO, T. D; VASCONCELLOS, E. A; GOMES, L. H. F. et al. ChromaPipe: a pipeline for analysis, quality control and management for a DNA sequencing facility. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 3, p. 861-71, 2008.
- PACHECO, R. C; HORTA, M. C; MORAES-FILHO, J. et al. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from São Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. **Biomedica**, v. 27, n. 3, p. 364-371, 2007.
- PACHECO, R.C; ROSA, S; RICHTZENHAIN, L.J et al. Isolation of *Rickettsia bellii* from *Amblyomma ovale* and *Amblyomma incisum* ticks from southern Brazil. **Revista MVZ Córdoba**, v. 13, n. 2, p. 1273-1279, 2008.
- PACHECO, R. C; HORTA, M. C; PINTER, A. et al. Survey of *Rickettsia* spp in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum* in the State of São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 351-353, 2009.
- PACHECO, R. C; MORAES-FILHO, J; MARCILI, A; RICHTZENHAIN, L. J; SZABÓ, M. P. J; CATROXO, M. H. B; BOUYER, D. H; LABRUNA, M. B. *Rickettsia monteiroi* sp. nov., infecting the tick *Amblyomma incisum* in Brazil. **Applied and environmental microbiology**, v. 77, n. 15, p. 5207-5211, 2011.
- PACHECO, R. C; ARZUA, M; NIERI-BASTOS, F. A. et al. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in southern Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 49, n. 3, p. 710-716, 2012.
- PADDOCK, C. D; SUMNER, J. W; COMER, J. A. et al. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 6, p. 805-811, 2004.
- PARKER, R. R; KOHLS, G. M; G. W; COX, G. W. et al. Observations on an infectious agent from *Amblyomma maculatum*. **Public Health Reports (1896-1970)**, v. 54, p. 1482-1484, 1939.
- PAROLA, P; DAVOUST, B; RAOULT, D. Tick-and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Veterinary research**, v. 36, n. 3, p. 469-492, 2005.
- PAROLA, P; PADDOCK, C. D; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical microbiology reviews**, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.
- PAROLA, P; LABRUNA, M. B; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v. 11, n. 1, p. 40-50, 2009.
- PAROLA, P; PADDOCK, C. D; SOCOLOVSKI, C. et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 4, p. 657-702, 2013.
- PÉREZ-OSORIO, C. E; ZAVALA-VELÁZQUEZ, J. E; ARIAS-LEÓN, J. J. et al. *Rickettsia felis* as emergente global threat for humans. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.7, p.1019–1023, 2008.
- PÉREZ, C. A; ALMEIDA, A. F. D. E; ALMEIDA, A. et al. 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.
- PINTER, A; DIAS, R. A; GENNARI, S. M. et al. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal of medical entomology**, v. 41, n. 3, p. 324-332, 2004.
- PINTER, A; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, n. 1, p. 523-529, 2006.

- PINTER, A. **Aspectos ecológicos da febre maculosa brasileira em um foco endêmico no Estado de São Paulo**. 86f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2007.
- PINTER, A; HORTA, M. C; PACHECO, R. C; MORAESFILHO, J; LABRUNA, M. B. Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 247-252, 2008.
- PINTER, A; FRANÇA, A. C; SOUZA C. E. et al. Febre maculosa brasileira. **Suplemento Bepa**, v. 8, p. 2-31, 2011.
- PIZA, J. T. O carrapato como transmissor do typho exanтемático de São Paulo?. **Boletim da sociedade e cirúrgica de São Paulo**, v.15, n.12, p.350, 1932.
- RAMOS, D. G. S; MELO, A. L. T; MARTINS, T. F. et al. Rickettsial infection in ticks from wild birds from Cerrado and the Pantanal region of Mato Grosso, midwestern Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 6, n. 6, p. 836-842, 2015.
- RAOULT, D; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.
- REIS, N. R; PERACCHI, A. L; PEDRO, W. A; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil**. 2 ed. Londrina: Nélio R. dos Reis, 2011. 439 p.
- RICKETTS, H. The study of “Rocky Mountain spotted fever” (tick fever?) by means of animal inoculations. A preliminary communication. **The Journal of the American Medical Association**, v.47, n.1, p.33–36, 1906.
- ROHR, C.L. **Estudos sobre Ixodidas do Brasil**. Rio de Janeiro: Gomes Irmãos & C, 1909. 220 p.
- SABATINI, G. S; PINTER, A; NIERI-BASTOS, F. A. et al. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsias in an Atlantic rain forest reserve in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 47, n. 5, p. 913-916, 2010.
- SARAIVA, D. G; NIERI-BASTOS, F. A; HORTA, M. C; SOARES, H. S; NICOLA, P. A; PEREIRA, L. C; LABRUNA, M. B. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma auricularium* ticks in Pernambuco, northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission, and transstadial perpetuation. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, n. 9, p. 615-618, 2013.
- SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães e eqüídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em área endêmica e não endêmica do estado de São Paulo**. 86f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. 2003.
- SERRA-FREIRE, N. M. Occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on human hosts, in three municipalities in the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 141-147, 2010.
- SINAN - SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO. **Casos confirmados de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas – 2000 a 2016**. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/janeiro/11/Casos%20Febre%20Maculosa%202000%20a%202016.pdf>>. Acesso em: 14/02/2017.
- SILVA, N; EREMEEVA, M. E; ROZENTAL, T. et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, p.275–278, 2011.
- SILVEIRA, I; PACHECO, R. C; SZABÓ, M. P. J. et al. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Disease journal-CDC**. v.13, n.7, p.1111-1113, 2007.

- SILVEIRA, I; MARTINS, T. F; OLEGÁRIO, M. M. et al. Rickettsial infection in animals, humans and ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses and public health**, v. 62, n. 7, p. 525-533, 2015.
- SOARES, J. F.; SOARES, H. S.; BARBIERI, A. M. et al. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Medical and veterinary entomology**, v. 26, n. 2, p. 139-151, 2012.
- SOARES, H. S; BARBIERI, A. M; MARTINS, T. F. et al. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 1, p. 125-140, 2015.
- SOUZA, C. E; CALIC, S. B; CAMARGO, M. C. G. O; SOUZA, S. S. L; LIMA, V. L. C; NETO, E. J. R; YOSHINARI, N. H. O papel das capivaras *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 1, p. 203-205, 2004.
- SOUZA, S. S. A. L; SOUZA, A. E; NETO, E. J. R. et al. 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, 2006.
- SOUZA, C. E; MORAES-FILHO, J; OGRZEWALSKA, M. et al. 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, p. 116-121, 2009.
- SOUZA, S. F; MEDEIROS, L. S; OLIVEIRA, R. S; DESCHK, M; CARVALHO, Y. K; RIBEIRO, V. M. F; SOUZA, A. P; LAVINA, M. S. Primeiro registro de *Amblyomma geayi* (Acari: ixodidae) em preguiça (*Bradypus variegatus*) no estado do Acre, Amazônia Ocidental: relato de caso. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, v. 68, n. 4, p. 953-957, 2016.
- SPOLIDORIO, M. G; LABRUNA, M. B; MANTOVANI, E. et al. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 16, n. 3, p. 521-523, 2010.
- SPOLIDORIO, M. G; MINERVINO, A. H; VALADAS, S. Y. et al. Serosurvey for tick-borne diseases in dogs from the Eastern Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 214-219, 2013.
- SZABÓ, M. P. J; PINTER, A; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 3, n. 27, p.1-9, 2013.
- TRAVASSOS, J; VALLEJO, A. Possibilidade de *Amblyomma cajennense* se infectar em *Hydrochoerus capybara* experimentalmente inoculado com o vírus da febre maculosa. **Memória do Instituto Butantã**, v. 15, p. 87-90, 1942.
- TRAVASSOS, J; VALLEJO-FREIRE, A. Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa. **Memória do Instituto Butantã**, v. 18, p. 145-235, 1944-1945.
- VIEIRA, A. M. L; SOUZA, A. E; LABRUNA, M. B. et al. Manual de vigilância acarológica, Estado de São Paulo. **São Paulo: Secretaria de Estado da Saúde**, 2004. 66 p.
- WALKER, D. H. Rickettsiae and rickettsial infections: the current state of knowledge. **Clinical infectious diseases**, v. 45, n. 1, p. S39-S44, 2007.
- WEISS, E; MOULDER, J. W. The rickettsias and chlamydias. In: KREIG, N. R.; HOLT, J. G. **Bergey's manual of systematic bacteriology**, v. 1, p. 687-739, 1984.
- WEISS, E; STRAUSS, B. S. The life and career of Howard Taylor Ricketts. **Review of Infectious Diseases**, v. 13, n. 6, p. 1241-2, 1991.

- WEINERT L. A., WERREN J. H., AEBI A. et al. Evolution and diversity of Rickettsia bacteria. **BMC Biology**, v. 7, n. 1, p. 6, 2009.
- WITTER, R; MARTINS, T. F; CAMPOS A. K. et al. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) of wild animals in midwestern Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 3, p. 415-423, 2016.
- WHITMAN, T. J.; RICHARDS, A. L.; PADDOCK, C. D. et al. TAMMINGA, C. L.; SNIEZEK, P. J.; JIANG, J.; BYERS, D. K.; SANDERS, J. W. *Rickettsia parkeri* infection after tick bite, Virginia. **Emerging Infectious Disease Journal**, v. 13, n. 2, p. 334-336, 2007.
- YU, X. J; WALKER, D. H. The Order Rickettsiales. In: DWORKIN, M. **The Prokaryotes: an evolving electronic resource for the microbiology community**. New York: Springer- Velag, 3 ed., 2003.