

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

TESE

**PESQUISA DE CARRAPATOS E AGENTES PATOGÊNICOS EM
ANIMAIS SELVAGENS E CÃES DOMÉSTICOS NO BIOMA MATA
ATLÂNTICA – SERRA DOS ÓRGÃOS, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

Paula de Abreu Moraes

2023



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

**PESQUISA DE CARRAPATOS E AGENTES PATOGÊNICOS EM
ANIMAIS SELVAGENS E CÃES DOMÉSTICOS NO BIOMA MATA
ATLÂNTICA – SERRA DOS ÓRGÃOS, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

PAULA DE ABREU MORAES

Sob a Orientação do Professor
Adivaldo Henrique da Fonseca

e Co-orientação dos Professores
Matheus Dias Cordeiro
Claudia Bezerra da Silva
Bruna de Azevedo Baêta

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau de
Doutora em Ciências, no
Programa de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias.

Seropédica, RJ
Junho, 2023

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro Biblioteca
Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

M827p Moraes, Paula de Abreu, 1989-
Pesquisa de carrapatos e agentes patogênicos em
animais selvagens e cães domésticos no bioma Mata
Atlântica - Serra dos Órgãos, Rio De Janeiro, Brasil /
Paula de Abreu Moraes. - Teresópolis, 2023.
128 f.: il.

Orientador: Adivaldo Henrique da Fonseca.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Programa de Pós-graduação em Ciências
Veterinárias, 2023.

1. Carrapatos. 2. Biodiversidade. 3. Saúde
Pública. 4. Conservação. 5. Mata Atlântica. I. Henrique
da Fonseca, Adivaldo, 1953-, orient. II Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós
graduação em Ciências Veterinárias III. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



ATA Nº 5042/2023 - PPGCV (12.28.01.00.00.00.50)

Nº do Protocolo: 23083.072926/2023-24

Seropédica-RJ, 01 de novembro de 2023.

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

PAULA DE ABREU MORAES

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor(a) em Ciências**, no Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 30/06/2023

(Assinado digitalmente em 06/11/2023 13:22)

ADIVALDO HENRIQUE DA
FONSECA

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DESP (12.28.01.00.00.00.52)

Matrícula: ###58#7

(Assinado digitalmente em 06/11/2023 22:44)

CARLOS LUIZ MASSARD

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)

Matrícula: ###61#3

(Assinado digitalmente em 03/11/2023 13:25)

MARISTELA PECKLE PEIXOTO

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DeptPA (12.28.01.00.00.00.55)

Matrícula: ###034#8

(Assinado digitalmente em 06/11/2023 14:29)

JENEVALDO BARBOSA DA SILVA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.506-##

(Assinado digitalmente em 09/11/2023 12:25)

RENATA FERNANDES FERREIRA DE
MORAES

ASSINANTE EXTERNO

CPF: ###.###.847-##

Visualize o documento original em <https://sipac.ufrrj.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número:

5042, ano: **2023**, tipo: **ATA**, data de emissão: **01/11/2023** e o código de verificação:

f0d6cd4e31

Somewhere, something incredible is waiting to be known.
— Carl Sagan

DEDICATÓRIA

*Para todos que me ajudaram ao longo do caminho, enchendo-o de luz. Dedico a minha
família incrível, meus pais, irmã, sobrinhos, amigos e companheiros de quatro patas.
E aos meus queridos avós, Antônio e Anita, in memoriam.*

AGRADECIMENTOS

Neste espaço escrevo meu agradecimento sincero e emocionado para todos que fizeram a diferença em minha vida e aqui me ajudaram a chegar. Para todos que, mesmo brevemente, tiveram impacto significativo ao longo da minha jornada. Sou grata por ser quem sou e por chegar até aqui - final de um ciclo - a defesa do meu doutorado, o qual não conseguiria sozinha.

Aproveito então, para aprofundar a significância de algumas pessoas em específico. Primeiramente, agradeço a minha família, a qual sem eu nunca teria conseguido chegar tão longe e me fizeram a pessoa que sou. Meu pai Mauro, minha mãe Cecília, minha querida irmã Fernanda (Nana), meus sobrinhos Gustavo e Luiz Felipe, meu cunhado Wander e minha tia Fátima. Não há palavras que expressem o quanto sou grata a vocês.

Nana, gostaria de expressar minha profunda gratidão e carinho por tudo o que você representa em minha vida. Não existem palavras suficientes para descrever o quanto sou grata por ter você como minha irmã. Quero que saiba o quanto admiro sua força, determinação e coragem diante dos desafios. Você é um exemplo de resiliência e superação. Que nossa jornada continue repleta de momentos especiais, crescimento mútuo e uma conexão que transcende palavras.

Aos meus animais de estimação, que são muito importantes para mim, e me ajudaram a chegar até aqui: Laika, Carlota, Toblerone, os gatinhos e, principalmente, meu companheiro de quatro patas que tanto amo, Ernesto. E a todos os animais que já se foram ou passaram pela minha vida.

Agradeço as confluências do Universo e todo seu mistério, que nos permite realizar sonhos e viver momentos incríveis. Uma dessas confluências trouxe Seu Marcos para minha vida, o qual agradeço todo carinho e cuidado para comigo. A Ana Beatriz agradeço a amizade sincera.

Aos meus amigos de infância Diogo, Natália, Nalini, Bhavani, Paola e Bianca, meu mais sincero agradecimento pela amizade e por serem que são. Obrigada por estarem presentes em momentos tão importantes da minha vida, há mais de 30 anos! Meu amor por vocês transcende as noções de tempo e espaço, meus amigos!

Agradeço também aos amigos feitos em Seropédica e que levei para vida. Aos eternos meninos da creche do Ernesto, obrigada por fazerem parte da minha vida. Iago e Buscafé, muito obrigada por me abrigarem na reta final do meu doutorado. Vocês são família para mim, vocês e nossos bebês Bruce, Ozzy e LeBron!

Ao pessoal que dividi casa durante muito tempo da minha vida em Seropédica, fica aqui meu agradecimento. Edu e Rafa, e a todos que passaram por lá, obrigada por tudo!

A minha amiga Thays, que foi muito importante em diversos momentos do meu doutorado, muito obrigada pela sua amizade amiga. Levo para todo sempre!

Não esqueço de deixar meu agradecimento ao pessoal do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO), o qual entraram na minha vida por conta do meu trabalho de doutorado e por motivos de força maior, da minha não saíam!

Janine, não tenho como expressar a sua importância para a execução dessa tese. Juntas fizemos Projetos de Extensão importantes para o PARNASO e seu entorno. E você sempre foi uma pessoa que naturalmente sempre conseguiu me deixar a vontade para eu ser eu mesma e me apoiou em diversos momentos ao longo desses 4 anos.

Ao meu querido amigo Leandro, cuja relação profissional se tornou uma grande amizade; que continuou crescendo e crescendo, nos tornando irmãos de vida, de trabalho, de

risadas e de luz! Admiro-o tanto profissionalmente quanto pessoalmente, amigo! Juntos conquistaremos o mundo (ou pelo menos a costa brasileira)!

Ao pessoal da pesquisa do PARNASO, particularmente Julião e Bela. Obrigada pelas conversas, pelas oportunidades e por fazerem parte da minha vida.

Não obstante, fica meu agradecimento ao pessoal do laboratório em que fiz parte esses 4 anos. Acredito que não consigo expressar minha gratidão em palavras para com vocês. Matheus, principalmente. Não teria chegado até aqui sem a sua ajuda, e por isso (e muito mais) sou muito grata a você. Obrigada pelos ensinamentos, por me fazer aprender a cada dia e me fazer ser melhor em diversos aspectos. Mesmo que a vida nos leve para caminhos diferentes, faço questão da sua amizade sempre.

As amigas que fiz no laboratório, muito obrigada por tudo. Este trabalho nunca teria saído sem a ajuda de vocês. Maiara, obrigada pela companhia e pela amizade, e principalmente por me ajudar em diversos momentos, você é muito especial para mim. Olivia, você foi um presente do laboratório para mim. Te admiro e te agradeço por todo o seu esforço na execução dessa tese e pela sua amizade sincera. Agradeço também a Izabela, uma das pessoas mais maravilhosas que conheço e que teve uma pessoinha especial igual a ela, a Catarina. Obrigada amiga, por ser uma pessoa tão incrível e me ajudar tanto.

Conheci tantas pessoas especiais ao logo desses 4 anos no laboratório. José, você deixa saudades! Erich também! Obrigada aos estagiários do laboratório, a Neide e a todos que estiveram presentes ao longo dessa jornada. A Professora Claudinha, obrigada por tudo, você é uma excelente professora!

A Professora Bruna, que me ensinou muito no período em que tive o prazer de ter sua co-orientação. Obrigada de verdade professora, você fez a diferença na execução deste trabalho.

E claro, ao meu orientador Professor Adivaldo, o qual me acolheu para execução deste projeto e me forneceu uma oportunidade que mudou a minha vida de diversas formas. Obrigada professor.

Aos amigos (as), familiares, professores (as) e todos aqueles (as) que cruzaram em minha vida, participando de alguma forma na construção e realização deste objetivo. A todos os sonhos que eu realizei e todos os objetivos que eu concretizei.

A todos vocês, saibam que lhes sou eternamente grata e sempre os levarei no meu coração! Meu sincero muito obrigada!

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade e ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela bolsa de estudos, obrigada por fomentar a execução desta tese.

Este trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001. Agradeço o financiamento desta pesquisa.

BIOGRAFIA

Paula de Abreu Moraes, brasileira, Médica Veterinária, filha de Mauro Ribas Moraes e Maria Cecília Leal de Abreu. Nascida em Teresópolis, no Estado do Rio de Janeiro, em 10 de abril de 1989. As habilidades com escrita, levaram a ganhar um concurso de redação, realizado pelo Ministério da Educação em 2006.

O prêmio deste concurso foi uma viagem pelo Rio Amazonas, com a possibilidade de conhecer vários países que compõem a Amazônia, além do Brasil, o que despertou a vontade de trabalhar na temática das ciências biológicas.

Em 2006 também, concluiu o Ensino Médio no Colégio São Paulo em Teresópolis. Ingressou na faculdade de medicina veterinária em 2008, vindo a graduar-se pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) no ano de 2014.

Trabalhou como bolsista de apoio técnico pela Fundação de Apoio a Pesquisa da Universidade Rural (FAPUR) de junho de 2014 a março de 2015, quando então iniciou a Residência na UFRRJ, no Programa de Residência Multiprofissional em Saúde, na área de Diagnóstico em Parasitologia Animal. Concluiu a especialização em 2017, mesmo ano em que iniciou o mestrado no Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), onde em 2019 obteve seu diploma de Mestre em Ciências Veterinárias. Neste mesmo ano, ingressou no doutorado do PPGCV/UFRR, onde concluiu esta importante etapa em 30 de junho de 2023.

RESUMO GERAL

MORAES, Paula de Abreu **Pesquisa de Carrapatos e Agentes Patogênicos em Animais Selvagens e Cães Domésticos no Bioma Mata Atlântica – Serra Dos Órgãos, Rio De Janeiro, Brasil.** 2023. 109p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2023.

Este estudo abordou a presença de carrapatos e agentes patogênicos em cães domésticos e animais selvagens na região da Mata Atlântica, Rio de Janeiro, Brasil. A pesquisa teve como área de estudo o Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) e seu entorno, bem como o Centro de Reabilitação de Animais Selvagens (CRAS) no Rio de Janeiro. No Capítulo I, buscou-se identificar a presença e diversidade de carrapatos e agentes transmitidos por carrapatos em amostras de animais selvagens e cães domésticos da Mata Atlântica. Foram coletadas 335 carrapatos, sendo 278 provenientes de animais selvagens do PARNASO e 20 de cães domésticos domiciliados no seu entorno; e 37 de animais selvagens do CRAS. A análise revelou 12 espécies de carrapatos, distribuídas em 03 gêneros diferentes, constituído pelas espécies *Amblyomma aureolatum*, *A. calcaratum*, *A. dubitatum*, *A. longirostre*, *A. nodosum*, *A. ovale*, *A. rotundatum*, *A. sculptum*, *A. varium*, *Haemaphysalis juxtakochi* e *Ixodes schulzei*. Além disso, foi detectada a presença de agentes patogênicos em cinco amostras. Entre as amostras analisadas, foram identificadas quatro amostras positivas para *Rickettsia* spp., sendo: *Rickettsia* sp. cepa AL em *A. longirostre* de ouriços; *R. belli* em *A. aureolatum*, coletada de um cachorro-do-mato; e *R. paranaensis* em uma ninfa de *A. parkeri*, também encontrada em um ouriço. Além disso, apenas uma amostra positivou para *Borrelia* spp., identificada como um carrapato adulto macho da espécie *A. varium*, coletado de uma preguiça. Esses resultados destacam a complexa relação parasita-hospedeiro na região e ressaltam a relevância dos carrapatos como potenciais vetores de doenças para animais e seres humanos. No Capítulo II, o foco foi a pesquisa de DNA de *Borrelia* spp. e anticorpos anti-*Borrelia* spp. em cães domésticos do entorno do PARNASO. Dos 108 cães estudados, 34 (31,48%) apresentaram anticorpos anti-*Borrelia* spp., indicando exposição prévia à bactéria. Porém, a análise molecular por PCR não detectou infecção ativa no momento da coleta. Os carrapatos *A. aureolatum*, *A. ovale* e *A. sculptum* foram identificados em cães soropositivos. A coexistência da infecção por *Borrelia* spp. e a presença de carrapatos em alguns cães resalta a necessidade de estudar a relação entre esses parasitas e a transmissão do agente. Ambos os capítulos contribuem para uma melhor compreensão da dinâmica dos carrapatos e seus potenciais vetores de doenças na região da Mata Atlântica. A identificação de agentes patogênicos destaca a importância da vigilância em saúde pública e a colaboração entre profissionais de saúde, veterinária, ecologistas e conservacionistas para o desenvolvimento de estratégias abrangentes de prevenção e controle de doenças transmitidas por carrapatos. Além disso, os estudos enfatizam o conceito de saúde única, considerando a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental, e destacam os potenciais riscos para a saúde das comunidades locais e a conservação da biodiversidade na região.

Palavras-chave: Conservação; Saúde Pública; Artrópodes; Biodiversidade; Doenças.

GENERAL ABSTRACT

MORAES, Paula de Abreu. **Research on Ticks and Pathogenic Agents in Wild Animals and Domestic Dogs in the Atlantic Forest Biome – Serra Dos Órgãos, Rio De Janeiro, Brazil.** 2023. 109p. Thesis (Doctor in Veterinary Sciences). Institute of Veterinary Medicine, Department of Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2022.

This study addressed the presence of ticks and their pathogens in domestic dogs and wild animals in the Atlantic Forest region, Rio de Janeiro, Brazil. The study area was the Serra dos Órgãos National Park (PARNASO) and its surroundings, as well as the Wild Animal Rehabilitation Center (CRAS) in Rio de Janeiro. In Chapter I, we sought to identify the presence and diversity of ticks and agents transmitted by ticks in samples of wild animals and domestic dogs from the Atlantic Forest. 335 tick samples were collected, 278 from wild animals in PARNASO and 20 from domestic dogs living in its surroundings; and 37 from CRAS wild animals. The analysis revealed 12 species of ticks, distributed in 03 different genera, including *Amblyomma aureolatum*, *A. calcaratum*, *A. dubitatum*, *A. longirostre*, *A. nodosum*, *A. ovale*, *A. rotundatum*, *A. sculptum*, *A. varium*, *Haemaphysalis juxtakochi* and *Ixodes schulzei*. In addition, the presence of pathogenic agents was detected in five samples. Among the analyzed samples, four positive samples for *Rickettsia* spp. were identified, namely: *Rickettsia* sp. strain AL in *A. longirostre* from hedgehogs; *R. belli* in *A. aureolatum*, collected from a crab-eating fox; and *R. paranaensis* in an *A. parkeri* nymph, also found in a hedgehog. Furthermore, only one sample was positive for *Borrelia* spp., identified as an adult male tick of the *A. varium* species, collected from a sloth. These results highlight the complex parasite-host relationship in the region and underscore the relevance of ticks as potential disease vectors for animals and humans. In Chapter II, the focus was on DNA research on *Borrelia* spp. and anti-*Borrelia* spp. in domestic dogs living near PARNASO. Borreliosis, an emerging infectious disease transmitted by ticks, was investigated. Of the 108 dogs studied, 34 (n = 31.48%) had anti-*Borrelia* spp. antibodies, indicating previous exposure to the bacteria. However, molecular analysis by PCR did not detect active infection at the time of collection. *A. aureolatum*, *A. ovale* and *A. sculptum* ticks were identified in seropositive dogs. The coexistence of infection by *Borrelia* spp. and the presence of ticks in some dogs highlights the need to study the relationship between these parasites and the transmission of the agent. Both chapters contribute to a better understanding of tick dynamics and their potential disease vectors in the Atlantic Forest region. The identification of pathogens highlights the importance of public health surveillance and collaboration among health professionals, veterinarians, ecologists, and conservationists in developing comprehensive strategies for the prevention and control of tick-borne diseases. In addition, the studies emphasize the concept of one health, considering the interconnection between human, animal and environmental health, and highlight potential risks to the health of local communities and the conservation of biodiversity in the region.

Keywords: Conservation; Public health; Arthropods; Biodiversity; Diseases.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Ilustração mostrando a expansão da cutícula durante o engurgitamento de carrapatos ixodídeos, para acomodar o sangue ingerido durante sua alimentação. 5
- Figura 2.** Imagem mostrando as famílias e gêneros de carrapatos encontrados no Brasil. 10
- Figura 3.** Ilustração da entrada de bactérias do gênero das *Rickettsia* spp. na célula. Rickettsiales entram nas células hospedeiras usando um mecanismo de endocitose induzida em forma de zíper. *Rickettsia* spp. são distribuídos através do citoplasma e movem-se diretamente para as células adjacentes ou saem através da lise da célula hospedeira. 12
- Figura 4.** Ilustração de uma célula infectada por *Ehrlichia canis*. 14
- Figura 5.** Ilustração de uma infecção celular por *Anaplasma platys* em macrófago. 16
- Figura 6.** Ilustração de uma hemácia infectada por *Babesia bigemina*. 18
- Figura 7.** Espiroqueta de *Borrelia* spp. 20
- Figura 8.** Limites do bioma Mata Atlântica no Brasil. 22
- Figura 9.** Desflorestamento do bioma Mata Atlântica, onde a área em preto representa os pontos de desmatamento. 22
- Figura 10.** Unidades de Conservação no estado do Rio de Janeiro. 25
- Figura 11.** Perda de vegetação Nativa no Estado do Rio de Janeiro, de 2014 a 2020, onde os pontos pretos representam áreas de desflorestamento. 26
- Figura 12.** Município do Rio de Janeiro e seu remanescente florestal de Mata Atlântica, evidenciado através da marcação de formação florestal. 33
- Figura 13.** Mapa mostrando os limites da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os limites abrangem os municípios de Teresópolis, Petrópolis, Guapimirim e Magé, no estado do Rio de Janeiro, Brasil. 34
- Figura 14.** Bairros visitados para coleta de carrapatos em cães domésticos. Os bairros fazem parte da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os bairros em Teresópolis, foram: Soberbo, Alto, Granja Guarani, Parque do Ingá, Cascata do Amores, Lucas, Taumaturgo, Corta-vento, Agriões, Pimenteiras e Quebra-frascos. Em Guapimirim, os bairros visitados foram Vila Guapi, Caneca fina e Parque Santa Eugênia. No município de Magé, visitou-se Andorinhas, Santo Aleixo e Cachoeira Grande. Em Petrópolis, foram Corrêas e Bonfim. 36
- Figura 15.** Mapa mostrando as rodovias que cortam o Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). A BR-116 e a BR-497 são estradas que cortam o PARNASO, conectando a capital do estado a diversos municípios, sendo rodovias altamente movimentadas. Os animais

atropelados ao longo dessas rodovias eram encaminhados para a sede do PARNASO em Teresópolis, aos cuidados do Projeto Fauna Viva. As estradas têm impacto significativos na vida dos animais selvagens e seu habitat natural.

37

Figura 16. Mapa dos bairros pertencentes a Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra do Órgãos (PARNASO), em que foram encontrados carrapatos em cães domésticos.

47

Figura 17. Espécimes de carrapatos coletados em área de Mata Atlântica, com suas respectivas fases e hospedeiro em que foi encontrado: **A** - *Amblyomma aureolatum*, macho, cão doméstico; **B** - *Amblyomma calcaratum*, adulto macho, ouriço; **C** - *Amblyomma dubitatum*, fêmea, capivara; **D** - *Amblyomma longirostre*, fêmea adulto, ouriço; **E** - *Amblyomma sculptum*, macho, capivara; **F** - *Amblyomma nodosum*, macho adulto, tamanduá; **G** - *Amblyomma varium*, macho adulto, preguiça; **H** - *Amblyomma ovale*, fêmea, irara; **I** - *Haemaphysalis juxtakochi*, macho, tapeti; **J** - *Ixodes schulzei*, macho, gambá; **K** - *Ixodes schulzei*, fêmea, gambá; **L** - *Amblyomma* spp, larva, lobo guará.

51

Figura 18. Imagem mostrando os limites da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Nesta imagem de satélite, percebe-se a urbanização da ZA no entorno do parque.

75

Figura 19. Bairros visitados para coleta de sangue em cães domésticos. Os bairros fazem parte da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os bairros em Teresópolis, foram: Soberbo, Alto, Granja Guarani, Parque do Ingá, Cascata do Amores, Lucas, Taumaturgo, Corta-vento, Agriões, Pimenteiras e Quebra-frascos. Em Guapimirim, os bairros visitados foram Vila Guapi, Caneca fina e Parque Santa Eugênia. No município de Magé, visitou-se Andorinhas, Santo Aleixo e Cachoeira Grande. Em Petrópolis, foram Corrêas e Bonfim.

76

Figura 20. Mapa dos bairros em que cães domésticos apresentaram resultado positivo na sorologia.

85

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Sequências de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para detecção de DNA dos microrganismos dos gêneros *Rickettsia*, *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* e *Babesia*) em carrapatos provenientes do bioma Mata Atlântica, Rio de Janeiro. 39
- Tabela 2.** Espécies de carrapatos de acordo com as espécies dos hospedeiros, coletados na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e sua Zona de Amortecimento. 44
- Tabela 3.** Espécies de carrapatos de acordo com as espécies dos hospedeiros, coletados no Centro de Reabilitação de Animais selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ). 45
- Tabela 4.** Espécies de carrapatos de acordo com as espécies dos hospedeiros e fase estacionária, coletados para este estudo na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e sua Zona de Amortecimento; e recebido pelo Centro de Reabilitação de Animais selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ). 46
- Tabela 5.** Espécies de carrapatos encontrados em cães domésticos provenientes da Zona de Amortecimento (ZA), do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). 47
- Tabela 6.** Média e desvio padrão das amostras coletadas para este estudo na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e sua Zona de Amortecimento; e recebido pelo Centro de Reabilitação de Animais selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ). 48
- Tabela 7.** Hospedeiros e carrapatos encontrados neste estudo. 50
- Tabela 8.** Abundância Relativa de acordo com as espécies hospedeiras e número de carrapatos coletado. 52
- Tabela 9.** Abundância Relativa de acordo com as espécies de carrapatos coletados. 53
- Tabela 10.** Detecção molecular dos gêneros *Rickettsia* e *Borrelia* em carrapatos de animais selvagens, do bioma Mata Atlântica, no estado do Rio de Janeiro. 54
- Tabela 10.** Sequências homólogas aos fragmentos dos genes de *Rickettsia* spp. e *Borrelia* sp. detectados em carrapatos provenientes do bioma Mata Atlântica, Rio de Janeiro. 54
- Tabela 12.** Lista de primers utilizados para amplificação de fragmentos de DNA específicos para a *Borrelia* spp. em sangue de animais domésticos oriundos da zona de amortecimento do PARNASO. 78
- Tabela 13.** Animais em que foi detectado anticorpos anti-*Borrelia* spp. por meio da avaliação sorológica. 80
- Tabela 14.** Leitura óptica em espectrofotômetro, sob comprimento de onda de 405 nm, da Microplaca de 96 orifícios no. 1. 81

Tabela 15. Leitura óptica em espectrofotômetro, sob comprimento de onda de 405 nm, da Microplaca de 96 orifícios no.2 81

Tabela 16. Cálculos microplaca no. 1 para definição do cutoff. A leitura da Densidade Óptica (DO) dos controles negativos – numerados de 1 a 10 – são usadas para o cálculo da média; e a diferença da DO menos a média ao quadrado. Esses valores serão importantes para o cálculo do cutoff. 82

Tabela 17. Cálculos microplaca no. 2 para definição do cutoff. A leitura da Densidade Óptica (DO) dos controles negativos – numerados de 1 a 10 – são usadas para o cálculo da média; e a diferença da DO menos a média ao quadrado. Esses valores serão importantes para o cálculo do cutoff. 82

Tabela 18. Índice de Densidade Óptica (IDO) microplaca no.1, a partir do cutoff de 0,1847 84

Tabela 19. Índice de Densidade Óptica (IDO) microplaca no.2, a partir do cutoff de 0,1609 84

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Número de casos de Febre Maculosa e sua taxa de incidência nos municípios de Teresópolis, Magé e no Estado do Rio de Janeiro, entre os anos de 2016 e 2020.	57
---	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Carrapatos	3
2.1.1 História natural dos carrapatos	3
2.1.2 Morfologia dos carrapatos	4
2.1.3 Classificação taxonômica e biologia dos carrapatos	6
2.1.4 Carrapatos como vetores de agentes patogênicos	8
2.1.5 Carrapatos em animais selvagens e domésticos	9
2.2 Hemoparasitoses	11
2.2.1 <i>Rickettsia</i> spp.	11
2.2.2 <i>Ehrlichia</i> spp.	13
2.2.3 <i>Anaplasma</i> spp.	15
2.2.4 <i>Babesia</i> spp.	17
2.2.5 <i>Borrelia</i> spp.	19
2.3 Bioma Mata Atlântica	21
2.3.1 História e importância da Mata Atlântica	21
2.3.2 Remanescentes de Mata Atlântica no Rio de Janeiro	24
2.3.3 Mata Atlântica e sua importância médico-veterinária	27
CAPÍTULO I - Investigação de carrapatos e agentes patogênicos em animais selvagens e cães domésticos, em fragmentos de Mata Atlântica, Rio De Janeiro, Brasil	29
RESUMO	30
ABSTRACT	31
1 INTRODUÇÃO	32
2 MATERIAL E MÉTODOS	33
2.1 Autorização para Pesquisa	33
2.2 Área de estudo	33
2.2.3 Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO)	34
2.2.4 Centro de Reabilitação de Animais Selvagens (CRAS)	37
2.3 Identificação dos carrapatos	38
2.4 Análises moleculares	38
2.4.1 Extração de DNA	38
2.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	38
2.4.3 Eletroforese e análise dos resultados	41
2.4.4 Sequenciamento	41
2.5 Abundância Relativa e Índice de Shannon	41
3 RESULTADOS	43
4 DISCUSSÃO	55
5 CONCLUSÃO	62

CAPÍTULO II - Pesquisa de dna de <i>Borrelia</i> spp. e anticorpos anti-<i>Borrelia</i> spp. em cães domésticos domiciliados no entorno do Parque Nacional Da Serra Dos Órgãos, Rio De Janeiro, Brasil	71
RESUMO	72
ABSTRACT	73
1 INTRODUÇÃO	74
2 MATERIAL E MÉTODOS	75
2.1 Autorização para Pesquisa	75
2.3 Coleta de Sangue	77
2.4 Análises moleculares	77
2.4.1 Extração de DNA	77
2.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	77
2.4.3 Eletroforese e análise dos resultados	78
2.5 Avaliação Sorológica	78
3 RESULTADOS	80
4 DISCUSSÃO	86
5 CONCLUSÃO	89
6 REFERÊNCIAS	90
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	92
4 REFERÊNCIAS GERAIS	93
ANEXO 1	105
ANEXO 2	106
ANEXO 3	107
APÊNDICE 1	108
APÊNDICE 2	109

1 INTRODUÇÃO GERAL

Os carrapatos constituem um importante grupo de artrópodes vetores, caracterizados pela diversidade de patógenos que transmitem, por seu impacto na saúde humana e animal e por sua implicação socioeconômica, principalmente em países do Hemisfério Sul (BOULANGER et al., 2019).

Algumas das doenças transmitidas por carrapatos são classificadas como zoonoses, ou seja, podem ser transmitidas de animais para humanos e vice-versa; e, entre os patógenos emergentes que acometem os humanos, três quartos são zoonóticos (TAYLOR et al., 2001). Os carrapatos estão presentes em todo o mundo e, dependendo da espécie, podem ser observados em habitats muito variados, desde os mais secos aos mais úmidos. No Brasil, estes artrópodes são encontrados em diferentes biomas, incluindo o bioma Mata Atlântica, área de estudo do presente trabalho. Destaca-se que a maioria das antropozoonoses conhecidas tem origem em animais selvagens (JONES et al., 2008).

A Mata Atlântica ocupava mais de 1,3 milhões de km² distribuídos em 17 estados brasileiros, porém, atualmente, existe apenas 29% de cobertura vegetal preservada. Estes remanescentes, ricos em biodiversidade, são conservados e restaurados através das Unidades de Conservação (UC), vinculadas ao Ministério do Meio Ambiente (MMA, 2020).

O Brasil é um país com notável diversidade ecológica, onde as consequências da perda da biodiversidade como um todo, seja devido à alteração do habitat - principalmente associada ao desmatamento ou degradação florestal - ou devido as mudanças climáticas e a exploração de recursos, entre outros fatores, têm o potencial de aumentar a incidência de certas doenças zoonóticas (CARVALHO DE OLIVEIRA et al., 2022). Portanto, destaca-se a importância das UCs como protetoras dessa biodiversidade.

A mudança antrópica no uso da terra altera o ambiente local e as interações entre humanos e animais selvagens e remove - ou reduz - os habitats naturais e as áreas de vida de muitas espécies, forçando-as a viver mais próximas dos humanos - se tornando um problema caso a espécie for hospedeira de uma doença zoonótica (JONES et al., 2013). Além disso, a vida selvagem que reside em paisagens urbanas representa desafios consideráveis para os gestores de recursos, conservacionistas e profissionais da área. Os conflitos entre animais selvagens e humanos estão crescendo rapidamente em frequência, à medida que as populações de animais selvagens aumentam em número e as paisagens suburbanas continuam a se espalhar do epicentro urbano. Estudos mostram que quanto mais adaptada for uma espécie às áreas antropizadas (urbanas, suburbanas e rurais), maior será sua densidade nestes locais quando comparado a áreas menos perturbadas (DITCHKOFF et al., 2006).

As doenças transmitidas por carrapatos são uma grande preocupação de saúde pública em todo o mundo, com o potencial de causar significativa morbidade e mortalidade em humanos e animais. Em particular, agentes como *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. e *Borrelia* spp. foram identificados como importantes agentes causadores de doenças. Esses agentes podem levar a uma ampla gama de sinais clínicos, desde sintomas leves semelhantes aos da gripe até condições graves e com risco de vida, dependendo do patógeno envolvido (BOULANGER et al., 2019).

Considerando o papel relevante dos carrapatos como artrópodes vetores e a diversidade de patógenos que transmitem - bem como seu impacto na saúde humana, animal - torna-se de grande importância investigar sua presença e os agentes patogênicos associados em diferentes ambientes. Nesse contexto, a pesquisa se concentrou no bioma Mata Atlântica, Rio de Janeiro, uma região com elevada biodiversidade e marcada por desafios na conservação ambiental devido à redução significativa da cobertura vegetal.

Posto isso, o presente estudo foi dividido em dois capítulos. O capítulo I se concentrou na identificação e pesquisa de agentes patogênicos em carrapatos coletados de animais selvagens na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) e de cães domésticos em seu entorno, além dos carrapatos provenientes do Centro de Reabilitação de Animais Selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ). Após coleta das amostras, foram realizados testes moleculares para detecção da presença dos gêneros *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* e *Borrelia*. Já o capítulo II avaliou a presença de *Borrelia* spp. no sangue de cães domésticos domiciliados nas proximidades do PARNASO, por meio de testes moleculares e avaliação sorológica. Espera-se que os resultados desta pesquisa possam enriquecer a literatura científica e subsidiar a adoção de medidas adequadas para a preservação da saúde humana, animal e do ecossistema em questão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Carrapatos podem ser parasitas muito comuns que afetam os animais de estimação, de produção e selvagens, podendo se encontrar os patógenos transmitidos por estes ectoparasitas distribuídos por todo Brasil (MASSARD; FONSECA, 2004).

Os hemoparasitos mais conhecidos e estudados que serão pesquisados nesta tese ocorrem nos gêneros *Rickettsia*, *Anaplasma*, *Babesia*, *Ehrlichia* e *Borrelia*, dos quais várias espécies causam condições desafiadoras e desgastantes com severo impacto na saúde dos animais acometidos (BOULANGER et al., 2019).

2.1 Carrapatos

Os carrapatos são importantes ectoparasitas, principalmente por estarem relacionados na transmissão de importantes agentes etiológicos de doenças tanto para o ser humano quanto para animais domésticos e selvagens. Parasitam mamíferos, aves e répteis e possuem distribuição mundial (SONENSHINE, 1993).

2.1.1 História natural dos carrapatos

O registro histórico dos carrapatos data dos antigos egípcios e gregos. A febre do carrapato é mencionada em um papiro egípcio datado de 1550 aC; e na Odisseia (850 aC) Homero escreveu: “Lá está Argos, o cachorro, cheio de moscas de cachorro” (*kynoraistes*, que se acredita serem carrapatos) (GORIROSSI-BOURDEAU, 1995).

Posteriormente, os estudiosos Catão, Aristóteles e Plínio se referiram aos carrapatos como parasitos repugnantes. Embora os danos causados pela alimentação de carrapatos tenham sido reconhecidos por muitos durante séculos, somente em 1893 Smith e Kilborne mostraram, pela primeira vez, uma doença associada às picadas de carrapatos. O relatório deles de que a febre do gado do Texas foi causada por um patógeno transmitido pelo sangue - *Babesia bigemina*, transmitido pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* - foi uma importante descoberta científica de que artrópodes parasitos podem transportar e transmitir, através da alimentação, organismos infecciosos (ANDERSON, 2002).

Carrapatos fósseis são difíceis de encontrar, mas há registros que suportam uma coevolução entre carrapatos e pássaros. Carrapatos fósseis que têm pássaros como possíveis hospedeiros variam de 90 a 94 milhões de anos (cretáceo) a 15 a 40 milhões de anos (terciário). Estas espécies incluem *Carios jerseyi*, *Ixodes succineus*, *I. tertiarius*, *Amblyomma near testudinis*, *Ixodes* não classificado, *Hyalomma*, *Amblyomma* spp. e *Ornithodoros antiquus* (DE LA FUENTE, 2003). Curiosamente, o fóssil mais antigo corresponde a *C. jersey* (90-94 Mya) com a hipótese de que o carrapato se alimentou de aves marinhas, para explicar como foi encontrado no âmbar de Nova Jersey (KLOMPEN; GRIMALDI, 2001).

Fósseis de ectoparasitos hematófagos associados a restos tegumentares de seus hospedeiros vertebrados são escassos e restritos ao Cenozóico; onde podemos citar restos de penas de um pássaro pertencente ao Eoceno no conteúdo intestinal de um carrapato (WAPPLER et al., 2004); ovos de piolhos presos a vários pelos em âmbar do Eoceno (VOIGT, 1952); carrapato duro (Ixodidae) adjacente a um coprólito e um pelo em âmbar do Mioceno (POINAR, 1995); uma pulga preservada junto com vários pelos de mamífero em âmbar do Mioceno (LEWIS; GRIMALDI, 1997).

Além de evidências pré-históricas da presença dos carrapatos desde os primórdios dos tempos, estudos também apontam a presença de microrganismos com características similares a agentes patogênicos contemporâneos datando em milhões de anos.

Em 2014, Poinar examinou quatro larvas de carrapato do gênero *Amblyomma* em âmbar dominicano quanto à presença de micróbios internos. Um espécime continha um grande número de células semelhantes a espiroquetas na hemocele e no lúmen do trato alimentar. As células fósseis descritas no estudo acima se assemelham muito em tamanho e forma com a espiroquetas do gênero *Borrelia*, transmitidas por carrapatos. Sua presença no corpo de um carrapato duro também é uma característica das espiroquetas *Borrelia*.

Os parasitos fósseis associados aos seus vetores fornecem registros mínimos de tempo e local de várias doenças existentes. Tais registros são valiosos para determinar a história evolutiva de patógenos específicos. Tal estudo estabeleceu um período mínimo de 20 a 15 milhões de anos, quando carrapatos duros foram infectados com espiroquetas do tipo *Borrelia* (POINAR, 2015).

2.1.2 Morfologia dos carrapatos

Os carrapatos, considerados de grande importância econômica e para a saúde pública, são artrópodes que requerem obrigatoriamente a hematofagia e possuem significativo grau de especificidade podendo utilizar hospedeiros alternativos, incluindo o homem (MASSARD; FONSECA, 2004). No que diz respeito à sua morfologia, é fundamental compreender as características das principais espécies envolvidas na transmissão de agentes patogênicos. Essas informações são essenciais para a identificação precisa e a compreensão das interações entre carrapatos, animais e patógenos.

A forma do carrapato é constituída de duas estruturas fundidas: o capítulo (gnatossoma) e o corpo (idiossoma), ao qual estão presas as patas. Uma cabeça distinta está ausente (BALASHOV, 1972). Como aranhas e outros aracnídeos, carrapatos nos estágios de ninfa e adultos têm oito pernas, embora as larvas saiam do ovo com apenas seis. Carrapatos duros, contêm uma placa endurecida na superfície dorsal chamada escudo. Nas fêmeas, este escudo ocupa aproximadamente 1/3 da superfície dorsal e pode ser útil na diferenciação de espécies de carrapatos. Nos machos, o escudo cobre toda a superfície dorsal e limita sua capacidade de alimentação. Durante a alimentação, a cutícula, com exceção do escudo, se expande para acomodar o sangue ingerido no repasto sanguíneo (Figura 1) (KEIRANS; DURDEN, 2005).

As principais espécies de carrapatos com potencial de transmitir agentes patogênicos incluem o gênero *Ixodes*, *Rhipicephalus*, *Amblyomma* e *Haemaphysalis*. Cada um desses grupos apresenta características morfológicas específicas. Por exemplo, o carrapato do gênero *Ixodes* possui corpo achatado dorsoventralmente e pernas relativamente longas em comparação com outras espécies. Além disso, os carrapatos do gênero *Rhipicephalus* são reconhecidos por um escudo dorsal presente na região posterior do corpo. Os carrapatos do gênero *Amblyomma* têm um formato característico, com faixas em seu dorso, enquanto os do gênero *Haemaphysalis* possuem um rostro proeminente e curvado para baixo (FONSECA, 2000).

O corpo dos carrapatos argasídeos não possui escudo e é caracterizado por uma cutícula coriácea e flexível. As peças bucais do carrapato estão localizadas no capítulo e são compostas pelas quelíceras e hipóstomo, que são usadas para penetrar e prender o carrapato ao seu hospedeiro. Eles incluem dois palpos de quatro segmentos, os quais, em carrapatos ixodídeos (de corpo duro), possuem numerosas sensilas quimiossensoriais, localizadas no pequeno quarto segmento distal (WALADDE; RICE, 1982). Os palpos não entram na ferida; eles são pressionados lateral e horizontalmente contra a pele durante a alimentação. Durante a alimentação, os carrapatos secretam substâncias que ajudam a ancorá-los ao hospedeiro, agindo

como um anestésico para mascarar a dor da picada e evitar a coagulação do sangue (KEMP et al., 1982).

O par de quelíceras tubulares esclerotizadas de dois segmentos estende-se da base dos capítulos e localiza-se medialmente aos palpos, possuindo corte altamente móveis e afiados localizados nas extremidades dos eixos quelicerais. O tamanho e a forma do hipóstomo e o arranjo dos dentículos variam entre as espécies e são características importantes usadas na identificação delas. O sangue passa do hospedeiro através deste canal alimentar, formado pelo hipóstomo ventralmente e pelas quelíceras dorsalmente. A saliva, contendo enzimas proteolíticas que digerem e liquefazem os tecidos, move-se do carrapato para o hospedeiro por meio desse canal. A base do capítulo - a porção basal do capítulo - está presa ao corpo do carrapato por uma membrana flexível (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

As pernas articuladas de seis segmentos são usadas para locomoção. O órgão de Haller no tarso da primeira perna detecta temperatura, correntes de ar, odores e produtos químicos (BALASHOV, 1972; SONENSHINE, 1991).

Os carrapatos adultos não alimentados variam em comprimento de 2 mm a 20 mm. As fêmeas ingurgitadas de sangue podem ter de 25 a 30 mm de comprimento e pesar até 100 vezes seus pesos pré-ingurgitamento (SONENSHINE, 1993).

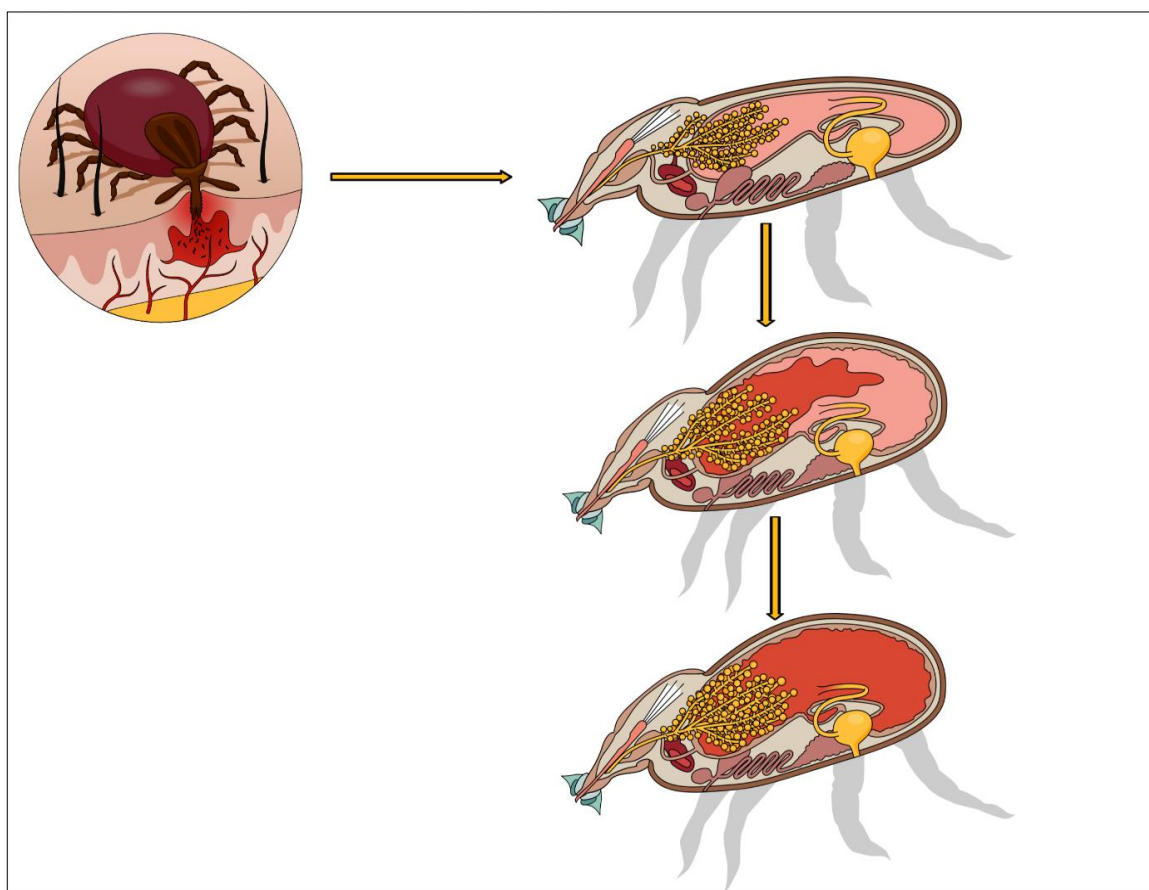


Figura 1. Ilustração mostrando a expansão da cutícula durante o engurgitamento de carrapatos ixodídeos, para acomodar o sangue ingerido durante sua alimentação.
(Fonte: Diagramado na base *Mind the graph.*)

2.1.3 Classificação taxonômica e biologia dos carrapatos

Os carrapatos são classificados na classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Parasitiformes e subordem Ixodida (SONENSHINE, 1991). As quase 900 espécies de carrapatos atuam como parasitas sobre a grande maioria dos vertebrados e apresentam uma ampla distribuição geográfica no planeta, divididas em três famílias, especificamente Argasidae (carrapatos de corpo mole), Ixodidae (carrapatos de corpo duro) e Nuttalliellidae. Esta última, possui uma única espécie existente, *Nuttalliella namaqua*, considerado o sobrevivente mais próximo em relação à linhagem ancestral de carrapatos, apresentando uma mistura de autapomorfias (por exemplo, articulações das pernas esféricas) e plesiomorfias, e parece ser o grupo irmão do clado (Ixodidae + Argasidae) com base em estudos morfológicos e moleculares (MANS et al., 2011).

Pelo menos 222 espécies de aproximadamente 878 espécies conhecidas foram relatadas para se alimentar de pessoas, mas relativamente poucas comumente se alimentam de fato (KEIRANS; DURDEN, 2005; DOSS et al., 1974; ESTRADA-PENA; JONGEJAN, 1999). Anderson e Magnarelli (2008) identificam 33 espécies que os autores julgaram que comumente se alimentam dos seres humanos.

No Brasil, atualmente ocorrem 75 espécies de carrapato, sendo 24 espécies da família Argasidae distribuídas entre os gêneros *Carios*, *Antricola*, *Nothoaspis*, *Argas* e *Ornithodoros*, sendo este último o mais representativo com 18 espécies; 51 espécies da família Ixodidae distribuídas entre os gêneros *Ixodes* (12 espécies), *Haemaphysalis* (3 espécies), *Rhipicephalus* (2 espécies), *Dermacentor* (1 espécie) e *Amblyomma*, sendo este o mais representativo com 33 espécies (DANTAS-TORRES et al., 2019).

Excelentes chaves taxonômicas para os carrapatos por regiões faunísticas do mundo estão disponíveis (KEIRANS; DURDEN, 2005; ANDERSON, 2002; DANTAS-TORRES et al., 2019). No entanto, a identificação de carrapatos para espécies pode ser difícil; primeiro, porque chaves apropriadas geralmente precisam ser usadas para os diferentes estágios de alimentação. Em segundo lugar, os carrapatos adultos de corpo duro são dimórficos e chaves separadas são usadas para machos e fêmeas. Além disso, larvas, ninfas e fêmeas adultas diferem em tamanho dependendo do nível de ingurgitamento. Não obstante, o conhecimento da morfologia do carrapato é necessário pois todas as chaves são baseadas em caracteres externos. Desta forma, a assistência de um especialista experiente na identificação de carrapatos pode ser necessária (ONOFRIO et al., 2006a; ONOFRIO et al., 2006b; VENZAL et al., 2006).

Os carrapatos são um grupo altamente especializado de artrópodes ectoparasitos obrigatórios, sugadores de sangue, não permanentes, que se alimentam de mamíferos, aves e répteis (anfíbios ocasionalmente são parasitados) na maioria das regiões da terra (SONENSHINE, 1993). Eles são caracterizados por terem tamanhos corporais relativamente grandes entre os Acarina; ingerirem enormes quantidades de sangue, linfa ou tecidos digeridos de vertebrados; ter muda e reprodução reguladas pela ingestão de sangue; e pondo um número relativamente grande de ovos (200 a 23.000) (BALASHOV, 1972). Embora perdendo apenas para os mosquitos em número de patógenos transmitidos para humanos, os carrapatos carregam e transmitem uma variedade maior de patógenos para animais domésticos do que qualquer outro tipo de artrópode picador (OBENCHAIN; GALUN, 1982).

Os carrapatos podem ter uma vida relativamente longa, com os carrapatos ixodídeos podendo viver de 2 a 6 anos, e os carrapatos de corpo mole até 20 anos (BALASHOV, 1972). A sobrevivência a longo prazo sem repasto sanguíneo é conseguida prevenindo a dessecação e confiando nas reservas armazenadas obtidas de uma alimentação anterior (SONENSHINE, 1993).

Estes artrópodes são hematófagos e sua alimentação se dá através de hospedeiros vertebrados. Normalmente, os carrapatos passam um período relativamente curto nos

hospedeiros. Porém, carrapatos ixodídeos, como *Ixodes scapularis* e *Dermacentor variabilis* podem passar 98% ou mais de suas vidas fora de seus animais hospedeiros (GERN; HUMAIR, 2002). O *D. albipictus* (carrapato do inverno, principalmente no hemisfério norte) passa comparativamente mais tempo em seus grandes hospedeiros mamíferos (por exemplo, veados, alces e gado). Carrapatos Argasídeos podem passar menos tempo em seus hospedeiros (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

Independente se os carrapatos estão se alimentando ou em jejum, no entanto, a manutenção do equilíbrio hídrico é crucial para a sua sobrevivência, distribuição e atividade (KAUFMAN; SAUER, 1982). Durante o processo de ingestão de sangue, os carrapatos precisam evitar a superhidratação. Por outro lado, os carrapatos precisam evitar a desidratação durante os períodos de jejum (KNULLE; RUDOLPH, 1981).

A água é expelida ou retida conforme necessário. Durante o ingurgitamento ativo, as glândulas salivares dos carrapatos ixodídeos desempenham um papel importante na excreção de fluidos à medida que grandes volumes de sangue são ingeridos. O excesso de íons e água do repasto sanguíneo são transportados através do epitélio intestinal para a hemocele e secretados de volta ao hospedeiro durante a alimentação por meio das glândulas salivares. Em contraste, ninfas e adultos argasídeos tomam várias pequenas refeições de sangue intermitentemente de vários hospedeiros e removem a maior parte do excesso de água através das glândulas coxais durante ou após a refeição de sangue (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

As refeições de sangue são necessárias para a sobrevivência, crescimento para o próximo estágio de desenvolvimento e para a reprodução. A alimentação envolve uma série complexa de eventos comportamentais que começam com a fome e terminam na saciedade (WALADDE; RICE, 1982). É por esse meio que um carrapato pode prejudicar seu hospedeiro adquirindo organismos patogênicos de um hospedeiro infectado e posteriormente transmitindo esses agentes a outros hospedeiros em realimentações sanguíneas subsequentes.

Comparado aos mosquitos, o processo de alimentação relativamente lento dos carrapatos aumenta a dispersão desses ectoparasitas à medida que o hospedeiro se move no ambiente. Por exemplo, larvas e ninfas de *Ixodes scapularis* geralmente se alimentam de pássaros e podem viajar vários quilômetros enquanto se alimentam. Alguns carrapatos são transportados entre continentes por pássaros (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

A ingestão de sangue e tecidos do hospedeiro por carrapatos ixodídeos começa de forma relativamente lenta (BALASHOV, 1972; SONENSHINE, 1993). Na maioria dos casos, as picadas de carrapatos nas pessoas são indolores. Larvas e ninfas se alimentam em média de 2,5 a 8 dias, enquanto os adultos se alimentam de 5 a 12 dias. Após o ingurgitamento, a maioria dos carrapatos abandona seu hospedeiro. Há pouco ou nenhum aumento no peso do carrapato durante as primeiras 24 horas de alimentação. Depois disso, o peso aumenta lentamente por vários dias, seguido por um rápido aumento de peso no último dia. Acredita-se que altas dosagens da espiroqueta da doença de Lyme (*B. burgdorferi*) são transferidas durante o período posterior de alimentação, quando volumes relativamente grandes de sangue são ingeridos (PIESMAN; DOLAN, 2002).

O processo de alimentação de carrapatos de corpo mole é relativamente rápido em comparação com carrapatos de corpo duro (BALASHOV, 1972; SONENSHINE, 1993). Carrapatos de corpo mole começam a se alimentar de sangue quase imediatamente após a fixação, não secretam cimento, não formam nova cutícula e secretam excesso de água através de seus poros coxais. Os carrapatos larvais podem se alimentar completamente em 20 minutos após a fixação, enquanto os adultos completam a alimentação em 35 a 70 minutos (SONENSHINE, 1991).

Todos os carrapatos de corpo duro e corpo mole têm ciclos de vida relativamente complexos (BALASHOV, 1972; SONENSHINE, 1993). Os estágios de desenvolvimento de carrapatos argasídeos incluem ovo; uma larva de seis patas; ninfas de oito patas, das quais pode

haver até oito ínstaes; e adultos do sexo masculino e feminino de oito patas. Os estágios de desenvolvimento dos carrapatos ixodídeos incluem ovo, larva de seis patas, ínstar de ninfa de oito patas e adultos masculinos e femininos de oito patas (OBENCHAIN, 1982).

Os carrapatos de corpo duro que vivem no campo podem ser encontrados em florestas, savanas, arbustos, charnecas, pastagens, prados, arbustos e até desertos, são espécies que têm tolerância limitada à dessecação, mas compensam movendo-se verticalmente na vegetação de acordo com a umidade e as necessidades do hospedeiro e tendo a capacidade de absorver a umidade diretamente do ar. Esses carrapatos alternam vida parasita com vida livre com um ou mais animais hospedeiros. O carrapato se alimenta inicialmente como larva, novamente como ninfa e, finalmente, como adulto, embora alguns machos não ingiram sangue. Cada geração pode durar 1 ou 2 anos, embora algumas espécies possam levar de 3 a 6 anos para completar uma geração (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

Embora a história natural dos carrapatos varie consideravelmente entre as espécies, existem inúmeras características biológicas associadas a esses sugadores de sangue persistentes que aumentam o potencial de transmissão de patógenos. Em muitos casos, os estágios imaturos se alimentam de uma ampla variedade de hospedeiros, aumentando assim as chances de adquirir e transmitir um organismo causador de doenças. Uma vez finalmente anexados aos hospedeiros, os carrapatos geralmente passam despercebidos e não são facilmente desalojados (GOODMAN et al., 2005).

2.1.4 Carrapatos como vetores de agentes patogênicos

Entre os artrópodes considerados vetores de agentes causadores de doenças, os carrapatos são os que transmitem a maior variedade de agentes infecciosos e são considerados importantes na transmissão de patógenos para humanos e animais domésticos ao redor do mundo (PFÄFFLE et al., 2013). Acredita-se que patógenos transmitidos por carrapatos sejam responsáveis por mais de 100.000 casos de doenças em humanos em todo o mundo (DE LA FUENTE et al., 2008).

As infecções humanas causadas por agentes patogênicos transmitidos por carrapatos são zoonoses que podem ter origem em animais selvagens e domésticos (BANETH, 2014). Anderson e Magnarelli (2008) identificaram 33 espécies que os autores julgaram que comumente se alimentam dos seres humanos. Destas, 28 espécies abrigam e transmitem patógenos conhecidos por causar doenças (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

Os carrapatos são ectoparasitas hematófagos e aproximadamente 10% das quase 900 espécies conhecidas atualmente são de significativa importância médica ou veterinária. Além de causar danos diretos associados à alimentação sanguínea e, em alguns casos, pela excreção de toxinas em sua saliva; a principal relevância dos carrapatos reside na grande variedade de patógenos que podem transmitir, incluindo bactérias, vírus, protozoários e helmintos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

Destaca-se que os carrapatos e sua capacidade vetorial de transmitir agentes causadores de doenças são significativamente influenciados pelo clima e suas mudanças, como o aquecimento das temperaturas globais. Essas mudanças influenciarão a distribuição geográfica e a expansão populacional de carrapatos, o que, por sua vez, influenciará os padrões de distribuição e a incidência de infecções transmitidas por carrapatos (DANTAS-TORRES, 2015).

Prevê-se que os carrapatos e as doenças que eles transmitem se movam em direção aos pólos, com contrações concomitantes em faixas equatoriais subtropicais ou tropicais (BROWNSTEIN et al., 2005). No hemisfério norte, outonos, invernos e primaveras mais quentes podem potencialmente aumentar a distribuição geográfica de carrapatos em regiões mais ao norte e em altitudes mais elevadas (DANTAS-TORRES, 2015). Por outro lado,

temperaturas elevadas em algumas regiões no hemisfério sul, podem criar ambientes desfavoráveis ao desenvolvimento ou sobrevivência de certas espécies de carrapatos. Estima-se que um aumento de 2°C torne os habitats menos favoráveis para várias espécies de carrapatos na África do Sul (ESTRADA-PENÑA, 2003).

Uma vez que os carrapatos ixodídeos são particularmente sensíveis aos níveis de umidade (KNÜLLE; RUDOLPH, 1982; SUTHERST; BOURNE, 2006), a combinação do aumento de temperatura com estações mais secas pode ter um impacto negativo nas populações de carrapatos (DOBSON; CARPER, 1996), uma vez que eles são particularmente sensíveis às variações na precipitação.

Devido às complexas interações entre carrapatos, patógenos, hospedeiros reservatórios e clima, é provável que qualquer mudança climática influencie mais as zoonoses transmitidas por carrapatos do que as infecções transmitidas por vetores que são transmitidas diretamente entre humanos (YODER et al., 2006).

O impacto das mudanças climáticas sobre os carrapatos e as doenças associadas a eles será determinado ao longo do tempo; no entanto, a tarefa de desenvolver modelos preditivos necessários para essa análise é desafiadora devido a diferentes pontos de vista existentes.

Felizmente, a biologia molecular tem tornado possível a determinação de muitos genes envolvendo artrópodes hematófagos e seus patógenos, que afetam humanos e animais. Assim, a caracterização molecular da interface entre carrapatos e patógenos tem avançado rapidamente, proporcionando novos caminhos para o desenvolvimento de estratégias de controle de infestações por carrapatos e seus patógenos associados, contribuindo para uma melhor compreensão do assunto (DE LA FUENTE et al., 2008).

2.1.5 Carrapatos em animais selvagens e domésticos

Em paisagens intocadas, as relações entre hospedeiros e parasitas são mantidas em equilíbrio ecológico. Esse equilíbrio pode ser quebrado por perturbações antrópicas, principalmente baseadas em atividades como agricultura, pecuária, silvicultura, urbanização, entre outras (DASZAK et al., 2000). À medida que as interações hospedeiro-parasita são perturbadas, isso pode alterar a dinâmica de transmissão, levando a eventos de infecção em hospedeiros que antes não ocorriam (GORTAZAR et al., 2014).

Essas mudanças na dinâmica parasitária são observáveis em ectoparasitos. Por exemplo, como observado pelos pesquisadores envolvidos nesta tese, é possível encontrar pulgas de animais domésticos em carnívoros selvagens, principalmente em áreas rurais, onde essa interface facilita o encontro entre espécies selvagens e domésticas (MORAES, P. A. et al. - *Dados ainda não publicados*).

Nessa interface, doméstico-selvagem, cães domésticos de vida livre (*Canis lupus familiaris*) podem atuar como uma ponte, translocando ectoparasitas (e seus patógenos) entre animais selvagens, animais domésticos e humanos (CERQUEIRA; SILVA, 2000; DOBLER; PFEFFER, 2011).

Carrapatos duros (Ixodidae) são ectoparasitas que podem ser translocados por cães e possuem comportamento natural polixeno, ou seja, podem infestar um grande número de espécies (KRASNOV, 2008), e são os ectoparasitas mais comuns de carnívoros domésticos (CURTIS, 2000).

Além disso, depois dos mosquitos, os carrapatos são os artrópodes mais importantes relacionados a doenças transmitidas por vetores derivadas de vírus, bactérias, protozoários e helmintos (DE LA FUENTE et al., 2008).

Nas áreas de florestas nativas no Brasil (ainda a maior reserva do planeta), reflorestamentos, cerrados, agrestes, bem como nas regiões de monocultura e descampados, as famílias Ixodidae e Argasidae ocorrem em nove gêneros e 75 espécies (LUZ et al., 2020).

A família Ixodidae é a mais diversa com 51 espécies e cinco gêneros: *Amblyomma* (33 espécies), *Ixodes* (12 espécies), *Rhipicephalus* (2 espécies), *Haemaphysalis* (três espécies) e *Dermacentor* (1 espécie). A família Argasidae é representada por 24 espécies e quatro gêneros: *Ornithodoros* (18 espécies), *Antricola* (3 espécies), *Argas* (1 espécie) e *Nothoaspis* (2 espécies) (Figura 2) (GUGLIELMONE et al., 2014).

Todas estas espécies são parasitas de roedores, lagomorfos, marsupiais, carnívoros, cervídeos, répteis, aves e potencialmente do homem (MASSARD; FONSECA, 2004).

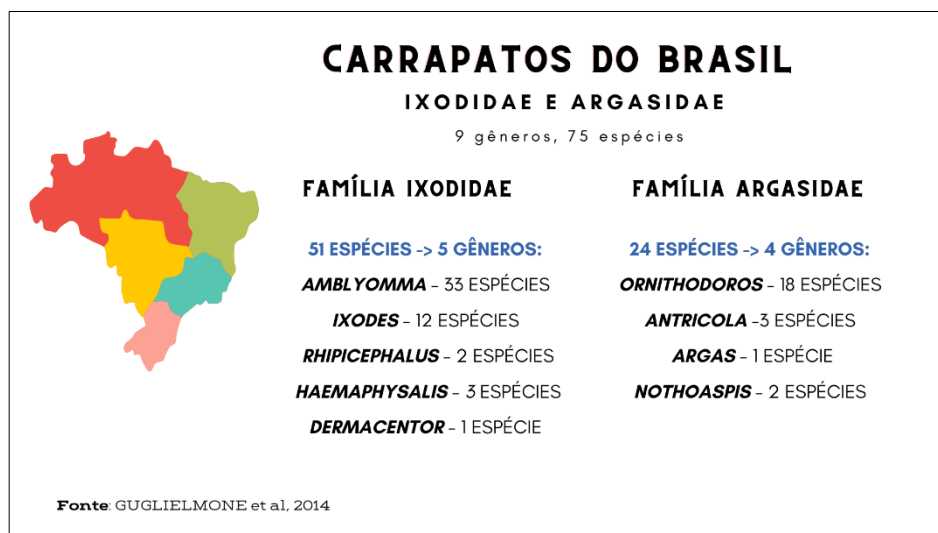


Figura 2. Imagem mostrando as famílias e gêneros de carrapatos encontrados no Brasil. (Fonte: GUGLIELMONE et al., 2014.)

As espécies do gênero *Amblyomma* e *Ixodes*, assumem grande importância na transmissão de patógenos, por utilizarem mais de um hospedeiro e possuem ampla distribuição geográfica no continente americano. Trata-se de carrapatos de parasitismo eclético, cujas larvas podem ser encontradas sobre qualquer mamífero doméstico, silvestre, aves e no homem. O maior potencial e risco para transmissão de patógenos para seres humanos e animais domésticos ocorre nas regiões de florestas, cerrados nativos, descampados e pastagens. A menor relação parasito/hospedeiro e menor grau de especificidade dos carrapatos e longos períodos de jejum, são fatores que favorecem a transmissão de patógenos (MASSARD; FONSECA, 2004).

É importante ressaltar que três quartos dos patógenos humanos emergentes são zoonóticos, ou seja, são transmitidos de outros animais vertebrados para humanos (TAYLOR et al., 2001). Essas zoonoses têm um impacto ecológico e socioeconômico considerável, representando um fardo para as economias globais (CASCIO et al., 2011). As doenças infecciosas emergentes são caracterizadas como doenças que forma, sendo detectadas em uma população pela primeira vez e apresentando um rápido aumento na prevalência ou alcance geográfico (LEDERBERG et al., 1992).

Considerando a quantidade de informações que podem ser geradas neste tópico, e justificando o risco potencial para a saúde humana e animal e o contato crescente entre carnívoros domésticos e selvagens, estudos com esta temática são necessários para maiores elucidações.

2.2 Hemoparasitoses

Nos últimos anos, uma série de doenças transmitidas por vetores se espalhou para novas áreas geográficas em todo o mundo, das quais várias são causadas por hemoparasitos (MOENS; PÉREZ-TRIS, 2016). Diferentes espécies de vida selvagem podem atuar como reservatórios de patógenos que podem representar uma ameaça para animais domésticos e humanos e representar um perigo significativo para a conservação da biodiversidade (DASZAK et al., 2000).

Hemoparasitos são patógenos que habitam a corrente sanguínea do hospedeiro e incluem microrganismos como bactérias, micoplasmas e protozoários. Essas infecções ocorrem em todos os continentes, enquanto a distribuição dessas infecções muda continuamente devido à migração, transporte de vetores e animais e uma crescente globalização de animais vivos e seus produtos (SHOPE, 1991; GEIGER et al., 2015).

As mudanças climáticas podem fornecer novos habitats para organismos vivos e causar uma adaptação de comportamento orientada pelo clima que pode facilitar a propagação de infecções devido a um aumento nas interações vetor-patógeno-hospedeiro (BETT et al., 2017). A colonização bem-sucedida de vetores em novas áreas dependerá, no entanto, de hospedeiros disponíveis e habitats adequados (BETT et al., 2017).

Com relação as hemoparasitoses transmitidas por carrapatos podemos citar: *Rickettsia* spp. (Febre Maculosa), complexo *Borrelia burgdorferi* lato sensu (Borreliose), *Babesia* spp. (Babesiose), *Erlichia* spp. (Erlichiose), *Anaplasma* spp. (Anaplasmosse) e Arboviroses (MASSARD; FONSECA, 2004).

2.2.1 *Rickettsia* spp.

Organismos do gênero *Rickettsia* ocorrem em todo o mundo e estão distribuídos entre uma variedade de vetores artrópodes hematófagos, que incluem carrapatos, piolhos, ácaros e pulgas (PAROLA et al., 2013). São pertencentes a ordem Rickettsiales e família Rickettsiaceae, compostos por bactérias intracelulares obrigatórias (Figura 3), em formatos cocobacilares ou pequenos bacilos (TAYLOR et al., 2010). Apesar da prevalência desses organismos na natureza, eles são frequentemente negligenciados como um importante causa de doenças em todo o mundo.

Atualmente, existem mais de 30 espécies reconhecidas de *Rickettsia* que podem causar doenças em humanos e outros animais. Algumas das espécies mais conhecidas de *Rickettsia* que causam doenças em humanos incluem: *R. felis* (PÉREZ-OSORIO et al., 2008); *R. honei* (JIANG et al., 2005); *R. japônica* (LU et al., 2018); *R. massiliae* (GARCÍA-GARCÍA et al., 2010); *R. parkeri* (SILVA-RAMOS et al., 2022); *R. prowazekii*; *R. rickettsia*; *R. amblyommatis*; *R. bellii*; entre outras (DANTAS-TORRES, 2019). Cada espécie de *Rickettsia* tem características únicas, incluindo o tipo de artrópode vetor que transmite a bactéria e as doenças que causam em humanos e outros animais.

As bactérias do gênero *Rickettsia* são classificadas em diferentes grupos. O grupo da febre maculosa (GFM; *R. buchneri*; *R. monacensis*; *R. tamurae*; *R. helvética*; *R. montanensis*; *R. massiliae*; *R. heilongjiangensis*; *R. japônica*; *R. raoultii*; *R. africae*; *R. conorii*; *R. parkeri*; *R. sibirica*; *R. peacockii*; *R. rickettsii*; *R. honei*; *R. slovacica*); o grupo do tifo (GT; *R. prowazekii* e *R. typhi*); o grupo de transição (*R. felis*; *R. akari*; *R. australis*) e o grupo ancestral não patogênico (*R. canadensis* e *R. bellii*) (GILLESPIE et al., 2008).

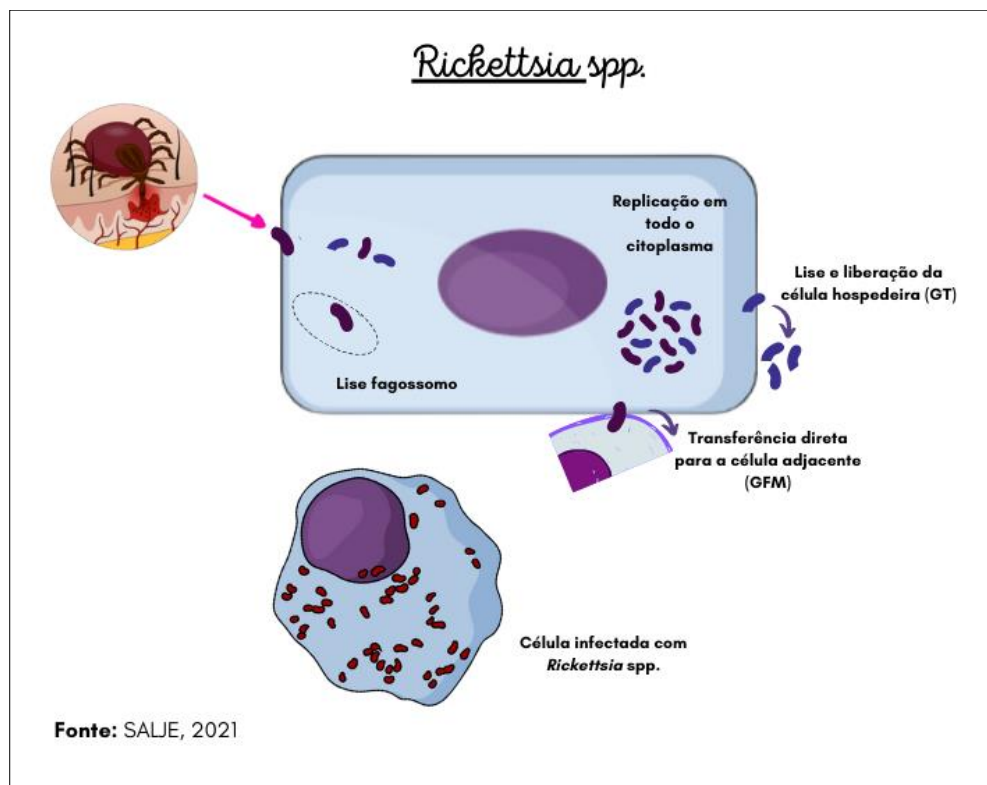


Figura 3. Ilustração da entrada de bactérias do gênero das *Rickettsia* na célula. Rickettsiales entram nas células hospedeiras usando um mecanismo de endocitose induzida em forma de zíper. *Rickettsia* spp. são distribuídas através do citoplasma e movem-se diretamente para as células adjacentes ou saem através da lise da célula hospedeira.

(Fonte: Diagramado na base *Mind the graph*.)

No início do século XX, os estudos de Ricketts nos EUA demonstraram a transmissão do agente da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas por carrapatos, uma rickettsiose. Em 1929, Piza e Gomes descreveram o tifo exantemático paulista, hoje conhecido como Febre Maculosa Brasileira, uma rickettsiose, causada pela *R. rickettsii*, transmitida pelo carrapato *Amblyomma cajennense*. Nessa época foi demonstrada também a similaridade desta doença com a febre maculosa das Montanhas Rochosas. Em 1939, a febre maculosa e o tifo murino foram descritos no estado de Minas Gerais por Dias e Martins, e *R. typhi* foi isolada pela primeira vez em um paciente humano em São Paulo por Travassos em 1949 (PAHO, 2004).

Porém, desde então, reinou um silêncio epidemiológico sem casos de febre maculosa descritos na literatura médica, até a década de 80 no Brasil. Entrevistas com médicos durante este período revelaram somente casos raros de febre maculosa durante esse tempo. No ano de 2001, foi considerada, pelo Ministério da Saúde, uma doença humana de notificação obrigatória (PAHO, 2004).

Ao longo dos anos, esta enfermidade vem se consolidando como uma antropozoonose de difícil controle e associada à significativa morbidade e elevada letalidade. Segundo o DATASUS, no período de 2000 a 2018 houve um total 1940 casos de febre maculosa em território nacional, levando a 615 óbitos (31,7%), sendo a maioria dos casos na região Sudeste (BRASIL, 2019).

No território brasileiro, as espécies de carrapatos dos gêneros *Dermacentor* e *Amblyomma*. possuem distribuição variável no território nacional e são as principais

transmissoras de *R. rickettsii*, muitas vezes fatal (PINTER; LABRUNA, 2006; KRAWCZAK et al., 2014).

No Brasil, recentemente, tem sido descrita uma nova Febre Maculosa, causada por *R. parkeri*, cujo perfil clínico, epidemiológico e laboratorial é diferente do perfil da Febre Maculosa causada por *R. rickettsii* (FACINNI-MARTÍNEZ et al., 2018).

Na América do Norte, o principal vetor para *R. parkeri* é o carrapato *A. maculatum* (PADOCK et al., 2010), já na América do Sul os carrapatos *A. ovale* e *A. aureolatum* podem ser vetores (SZABÓ et al., 2013a; SZABÓ et al., 2013b).

Em 2004, Labruna et al. descreveram *R. bellii*, *R. parkeri* proveniente de *A. cooperi* e *R. amblyommi* de *A. longirostre*, através de técnicas moleculares. Sendo que *R. belli* foi detectado em 17 espécies do gênero *Amblyomma* (ACOSTA et al., 2018). Um dos motivos para explicar o fato de agentes do gênero *Rickettsia* serem encontrados frequentemente em carrapatos do gênero *Amblyomma* se dá a partir de existência de uma co-evolução simbiótica entre o carrapato e a riquetsia, como sugerem alguns autores (LABRUNA et al., 2004; MCINTOSH et al., 2015).

Ressalta-se que apenas *R. rickettsii* e *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica são conhecidas como patogênicas e causam quadros clínicos de rickettsioses em humanos no Brasil, principalmente na região sudeste (KRAWCZAK et al., 2016).

Porém, no Brasil, a cada ano surgem novos achados de espécies e cepas de *Rickettsia* associadas a carrapatos, como por exemplo *R. rickettsii*, *R. parkeri sensu stricto*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommatis*, “Candidatus *R. andeanae*”, *R. bellii*, *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, *Rickettsia* sp. cepa AL, *Rickettsia* sp. cepa Pampulha, “Candidatus *R. paranaensis*” (ALMEIDA et al., 2011; PAROLA et al., 2013; BLANCO et al., 2017; BARBIERI et al., 2014; LUZ et al., 2018; GRUHN et al., 2019; COSTA et al., 2019; PECKLE et al., 2019).

Existem vários genes que podem ser direcionados para a detecção de espécies de *Rickettsia* por métodos moleculares. Estes incluem genes que são conservados em todas as espécies de *Rickettsia*, bem como genes que são específicos de certas espécies de *Rickettsia* (BERMÚDEZ et al., 2020).

Há genes que codificam proteínas de membrana externa (ompA, ompB); o citrato sintase (gltA); e o antígeno 17 kDa (17 kDa). O gene comumente utilizado para a detecção de *Rickettsia* é o gene gltA, que codifica a citrato sintase. Este gene é altamente conservado em espécies de *Rickettsia* e está presente em múltiplas cópias por genoma (BERMÚDEZ et al., 2020).

2.2.2 *Ehrlichia* spp.

O gênero *Ehrlichia* compreende um grupo de bactérias Gram-negativas pertencentes a ordem Rickettsiales, família Anaplasmataceae. Essas bactérias são parasitas intracelulares obrigatórios (Figura 4) e são transmitidas principalmente para humanos e animais através da picada de carrapatos infectados (SAITO et al., 2016).

A infecção no hospedeiro vertebrado ocorre quando o carrapato, durante o repasto sanguíneo, inocula junto com a saliva os microrganismos. Também, a infecção pode ser introduzida em animais suscetíveis, por transfusão sanguínea (TILLEY et al., 2003).

Do gênero, seis espécies são reconhecidas atualmente: *E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ewingii*, *E. muris*, *E. ruminantium* e *E. minasensis* (DUMLER et al., 2001; MURARO et al., 2021).

As espécies conhecidas por serem zoonóticas são *E. chaffeensis*, *E. ewingii* e *E. canis*. O carrapato *Amblyomma americanum* é responsável pela transmissão de *E. chaffeensis* e *E. ewingii* (DANTAS-TORRES, 2015), sendo *E. chaffeensis* a principal causa da Erliquiose Monocítica Humana (EMH), uma doença cujo agente tem como vetor carrapatos e pode levar

a febre, dor de cabeça e dores musculares. *E. ewingii* é outra espécie que pode causar erliquiose em humanos, embora seja menos comum que o EMH (DANTAS-TORRES, 2015).

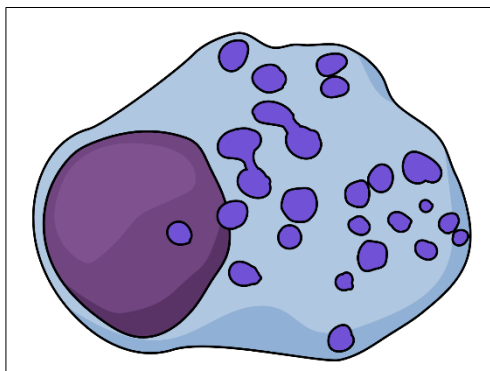


Figura 4. Ilustração de uma célula infectada por *Ehrlichia canis*.
(Fonte: Diagramado na base *Mind the graph*.)

A maioria dos casos humanos no Brasil é causada pela *E. chaffeensis* e apresenta sintomas semelhantes aos da gripe. A doença pode ser grave, particularmente em indivíduos imunocomprometidos (VIEIRA et al., 2013).

Já em animais, as infecções por *Erlichia* incluem *E. canis*, a espécie mais comumente associada à erliquiose canina. Sendo transmitida através da picada do carrapato *Rhiphicephalus sanguineus*, o qual pode ser encontrado distribuído nas Américas, Europa, Ásia e África (PASSOS, 1999; ALMOSNY, 2002).

No Brasil, um estudo examinou mamíferos da ordem Xenarthra de vida livre e encontrou evidências de uma nova espécie chamada 'Candidatus *Anaplasma* spp.' e detectou a presença de *Ehrlichia* spp. nas amostras de sangue e baço (CALCHI et al., 2020). Outro estudo, também no Brasil, investigou cães rurais de aldeias indígenas remotas e constatou a infecção por *Ehrlichia* spp., principalmente a espécie *E. canis*, que causa doença grave e potencialmente fatal em cães, sendo mais prevalente em regiões tropicais e subtropicais (DANTAS-TORRES et al., 2018). Além disso, a presença de *Ehrlichia* spp. foi relatada em carrapatos *Amblyomma sculptum* que parasitam cavalos no Pantanal brasileiro. A infecção por *Ehrlichia* spp. também foi documentada em cavalos, tanto no Brasil quanto em outros países, como Estados Unidos e Nicarágua (MELO et al., 2021; MURARO et al., 2021; AGUIAR et al., 2019). Destaca-se que *E. canis* é a espécie principal encontrada em cães no Brasil, mas recentemente houve suspeitas de infecção por *E. ewingii* em cinco cães. Além disso, o DNA de *E. chaffeensis* foi detectado em carrapatos do Brasil (VIEIRA et al., 2011). Essas descobertas ressaltam a importância de monitorar e compreender a presença de *Ehrlichia* spp. em diferentes animais no Brasil, incluindo mamíferos de vida livre, cães e cavalos.

Os animais selvagens são frequentemente expostos a carrapatos e podem ser infectados com *Ehrlichia* como resultado. Estudos demonstraram que infecções por *Ehrlichia* foram detectadas em uma variedade de animais selvagens, incluindo veados, coiotes, raposas, guaxinins, gambás, roedores, preguiças, tatus e tamanduás. Estudos recentes também detectaram *E. canis* em felídeos selvagens cativos (MAZZOTTI et al., 2018) e em gatos domésticos no Brasil (GUIMARÃES et al., 2019).

Um exemplo de infecção grave por *Ehrlichia* em animais selvagens é o caso de *E. ruminantium*, um patógeno transmitido por carrapatos que causa doença cardíaca em ruminantes selvagens, incluindo veados, antílopes e alces. A doença cardíaca é uma condição

séria que pode causar febre, letargia e sintomas neurológicos e pode ser fatal em alguns casos (PETER et al., 2002).

O diagnóstico molecular da erliquiose normalmente envolve a detecção do DNA da bactéria na amostra de sangue usando PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Os genes específicos, direcionados para PCR, podem variar dependendo da espécie específica ou cepa de *Ehrlichia* suspeita de estar causando a infecção.

Um dos genes mais comumente usados para detectar *Ehrlichia* é o gene 16S rRNA, gene é conservado entre as bactérias e contém regiões específicas para o agente (CARDOSO et al., 2010). Outro gene que se usa para detecção molecular de *Ehrlichia* é o gene groEL. Esse gene codifica uma proteína chamada proteína de choque térmico 60 (HSP60), que está envolvida no dobramento e montagem de proteínas. O gene groEL é conservado entre muitas espécies bacterianas, mas o gênero *Ehrlichia* tem uma variante única desse gene que pode ser usada para detectar especificamente esse gênero de bactéria (TAIRA et al., 2019). O gene dsb é outro gene que tem sido usado para a detecção de *Ehrlichia*. O gene dsb codifica a proteína de formação de ligações dissulfeto, que está envolvida na formação de ligações dissulfeto em proteínas. As pontes dissulfeto são importantes para estabilizar a estrutura tridimensional das proteínas e estão envolvidas no enovelamento e montagem adequados de muitas proteínas bacterianas (FÉLIX et al., 2021).

Destaca-se que há em andamento o desenvolvimento de vacinas contra a erliquiose, através do estudo de proteínas relacionadas ao gênero *Ehrlichia*. Ao visar essas proteínas, pesquisadores esperam criar uma vacina que possa fornecer proteção a longo prazo contra a erliquiose, trazendo avanços significativos a este tópico (BUDACHETRI et al., 2020; BUDACHETRI et al., 2022).

2.2.3 *Anaplasma* spp.

Anaplasma é um gênero de bactérias pertencentes à família Anaplasmataceae, sendo patógenos intracelulares obrigatórios que infectam uma ampla gama de hospedeiros, incluindo humanos, animais domésticos e selvagens e artrópodes, como os carrapatos (MADISON-ANTENUCCI et al., 2020).

Atualmente, existem seis espécies reconhecidas neste gênero: *A. ovis*, *Anaplasma marginale*, *A. centrale*, *A. platys*, *A. bovis* e *A. phagocytophilum*, causando perdas econômicas significativas e problemas de saúde pública ao redor do mundo (RYMASZEWSKA; GREINDA, 2008). *Anaplasma ovis* é conhecida por causar anaplasmoses em ovinos; enquanto *A. marginale* é responsável pela anaplasmoses bovina, assim como *A. bovis*; e *A. centrale* é utilizado como vacina contra *A. marginale* em alguns países (RYMASZEWSKA; GREINDA, 2008). Em 2013, foi descrita uma nova espécie, *A. odocoilei*, isolada a partir de cervos selvagens criados em cativeiro (*Odocoileus virginianus*), na Universidade da Georgia, nos Estados Unidos (TATE et al., 2013). Ressalta-se que um estudo recente (2021) sugere a revisão do gênero *Anaplasma* para inclusão da espécie *A. capra* sp. nov., visto que esta espécie já foi identificada em pacientes humanos na China e em animais domésticos e selvagens ao redor do mundo (PENG et al., 2021).

A espécie *A. phagocytophilum* é extensamente estudada dentro o gênero, pois é responsável pela Anaplasmoses Granulocítica Humana (AGH), uma doença transmitida principalmente por carrapatos pertencentes ao gênero *Ixodes*, incluindo *I. scapularis*, *I. ricinus* e *I. persulcatus* (BAKKEN; DUMLER, 2015). Esta espécie infecta granulócitos humanos, inibe a apoptose e altera a resposta imune do hospedeiro. É considerada uma doença infecciosa emergente que representa uma ameaça significativa para a saúde pública (BAKKEN;

DUMLER, 2015). No Brasil, *A. phagocytophilum* já foi detectado em cães e em carrapatos das espécies *R. sanguineus* e *A. cajennense* (SANTOS et al., 2013).

O agente *A. phagocytophilum*, foi detectado em cães nos municípios de Seropédica e Itaguaí, no estado do Rio de Janeiro, utilizando a técnica de PCR em tempo real. Dos 253 cães analisados, 18 (7,11%) apresentaram resultados positivos. A sequência do DNA obtida mostrou 100% de identidade com outras sequências de *A. phagocytophilum* (SANTOS et al., 2011). Outro estudo reportou o primeiro caso de coinfeção por *A. phagocytophilum* e *Ehrlichia canis* em um cão brasileiro (SILVEIRA et al., 2015). Em cavalos, a Anaplasmose Granulocítica Equina, causada por *A. phagocytophilum*, foi detectada em equinos de duas fazendas de criação em Minas Gerais, Brasil (PRADO et al., 2018). Além disso, estudos revelaram uma alta frequência de infecção por *A. phagocytophilum* em cães domiciliados em áreas urbanas do sudeste do Brasil (SILVEIRA et al., 2017). A presença do agente também foi identificada em cavalos do estado do Rio de Janeiro, onde foi encontrada evidência molecular de coinfeção por *A. phagocytophilum* e *Theileria equi* (SANTOS et al., 2017).

Já a espécie *A. platys* infecta plaquetas, causando trombocitopenia cíclica em cães, porém esse agente foi relatado em humanos, em um caso na Venezuela, onde a paciente apresentava também co-infecções por *Bartonella henselae* e *Candidatus Mycoplasma haematoparvum* (ARRAGA-ALVARADO et al., 2014). Também foi encontrado *A. platys* em gatos naturalmente infectados no Brasil (LIMA et al., 2010). Segundo Thomas (2010), o mecanismo associado à trombocitopenia cíclica é desconhecido, mas pode envolver sequestro ou remoção das plaquetas infectadas por macrófagos (Figura 5). Além disso, estudos visando inquéritos sorológicos e detecção molecular de *Anaplasma* spp. em animais domésticos e selvagens no Brasil surgem a cada ano, tendo relatos em carnívoros (MONGRUEL et al., 2017); cervídeos (SACCHI et al., 2012; SILVEIRA et al., 2014; SILVEIRA et al., 2016), roedor (WOLF et al., 2016); e aves selvagens (MACHADO et al., 2012). Recentemente, detectou-se *A. platys* e *A. phagocytophilum* em felídeos selvagens cativos, em Goiás (MAZZOTTI et al., 2018), e *A. platys* em gatos domésticos no Rio de Janeiro (GUIMARÃES et al., 2019).

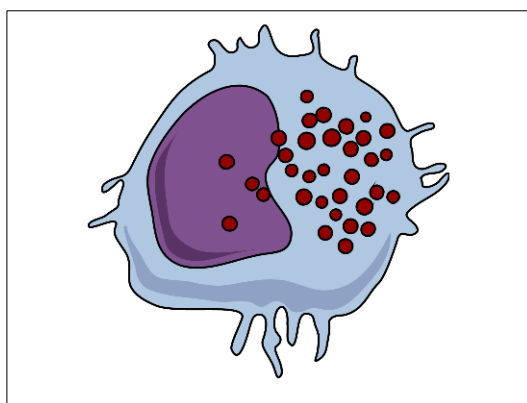


Figura 5. Ilustração de uma infecção celular por *Anaplasma platys* em macrófago.
(Fonte: Diagramado na base *Mind the graph*.)

No Estado do Paraná, em 2017, uma cepa de *Anaplasma* sp. relacionado a *A. phagocytophilum* foi detectada em uma ave silvestre (*Penelope obscura*) (MONGRUEL et al., 2017). Por existir relatos de *Amblyomma longirostre* parasitando essa espécie de ave e outras no Brasil, acredita-se que este carrapato possa exercer um importante papel como vetor desta bactéria entre aves selvagens (MONGRUEL et al., 2017).

Para detecção do gênero *Anaplasma* é necessário o diagnóstico molecular através de genes específicos. O gene 16S rRNA, por exemplo, tem sido amplamente utilizado para detectar *Anaplasma* em amostras clínicas e ambientais. Estudos demonstraram a eficácia do gene 16S rRNA para a detecção de *Anaplasma* em carrapatos, principal vetor deste agente, e em amostras animais e humanas (DE LA FUENTE et al., 2006; GONDARD et al., 2014). Também usa-se o gene *msp2*, que codifica uma importante proteína de superfície da bactéria que é altamente imunogênica, tornando-o um excelente alvo diagnóstico (PETROVEC et al., 2003; DE LA FUENTE et al., 2006). Já o gene *groEL*, codifica uma proteína essencial para a sobrevivência de bactérias do gênero *Anaplasma*, sendo altamente conservado neste gênero, e estudos têm se mostrado eficaz para a detecção deste agente (FOLEY et al., 2005; WEN et al., 2014).

Além dos genes mencionados, o gene 23S rRNA também tem sido utilizado para a detecção molecular de *Anaplasma*. O gene 23S rRNA está envolvido no processo de síntese de proteínas e é altamente conservado em bactérias. Estudos demonstraram a eficácia do gene 23S rRNA para a detecção do agente em carrapatos e em amostras animais e humanas (JENSEN et al., 2007; STUEN et al., 2011).

2.2.4 *Babesia* spp.

O gênero *Babesia* compreende protozoários que infectam os glóbulos vermelhos de mamíferos, incluindo humanos, *i. e.*, são parasitas intraeritrocitários. Existem mais de 100 espécies de *Babesia* conhecidas até o momento, com graus variados de virulência e distribuição geográfica. Os agentes que compreendem este gênero são transmitidos através picadas de carrapatos - menos comumente, por transfusão de sangue - e suas manifestações clínicas variam de sintomas gripais leves a anemia hemolítica grave (LEIBY, 2006; ORD; LOBO, 2015).

Pelo menos quatro gêneros *Ixodidae* são reconhecidos como vetores de *Babesia*: *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Haemaphysalis* e *Hyalomma* (SONENSHINE; ROE, 2014). Esta doença – a babesiose - tem um impacto considerável na saúde e economia da pecuária, principalmente em climas tropicais e subtropicais (BOCK et al., 2004).

Em pequenos ruminantes, as infecções podem ser causadas por várias espécies de *Babesia*, como *B. ovis*, transmitida aos ovinos geralmente pelo carrapato *R. bursa* (SHAYAN et al., 2007; RANJBAR-BAHADORI et al., 2012; FERROLHO et al., 2016). Já os cães são suscetíveis à infecção causada pelos agentes *B. gibsoni* e *B. canis*, com este englobando as subespécies *B. canis vogeli*, *B. canis canis* e *B. canis Rossi* (BRAGA; SILVA et al., 2013). Estas espécies e subespécies são transmitidas por carrapatos vetores distintos exibindo patogenicidade variável, o que tem influenciado nas síndromes clínicas exibidas pelos animais acometidos, assim como alguns fatores inerentes aos cães infectados. Essas diversidades morfológicas, epidemiológicas e patogenéticas dos agentes têm contribuído para as variações na distribuição e apresentação clínico-patológica da enfermidade e dificultado o diagnóstico da doença. (SOLANO-GALLEG0 et al., 2016; CHAO et al., 2017).

A babesiose é considerada uma zoonose, causada principalmente por *B. microti* e *B. divergens*, não sendo reconhecida como uma doença tropical negligenciada; porém há uma preocupação crescente globalmente em relação a esta zoonose emergente (ORD; LOBO, 2015).

Foi no final do século 19 que o romeno Babes descobriu microrganismos em eritrócitos de bovinos na Romênia e os associou à hemoglobinúria bovina ou febre vermelha da água (BABES, 1888). Mais tarde, ele também encontrou organismos semelhantes em glóbulos vermelhos de ovelhas. Em 1893, o agente da febre do gado do Texas nos EUA recebeu o nome de *Pyrosoma bigeminum* por Smith e Kilborne, que também mostraram que era transmitida por um carrapato (SMITH; KILBORNE, 1893). Este parece ter sido o primeiro relato da transmissão de um parasita protozoário por um artrópode. No mesmo ano, 1893, Starcovici deu

a esses parasitas os nomes de *B. bovis*, *B. ovis* e *B. bigemina* (Figura 6), respectivamente (STARCOVICI, 1893). Alguns outros nomes foram propostos desde então, sendo o mais conhecido Piroplasma. O nome "piroplasma" vem originalmente do fato de que os parasitas, após a multiplicação, são frequentemente encontrados em forma de pêra.

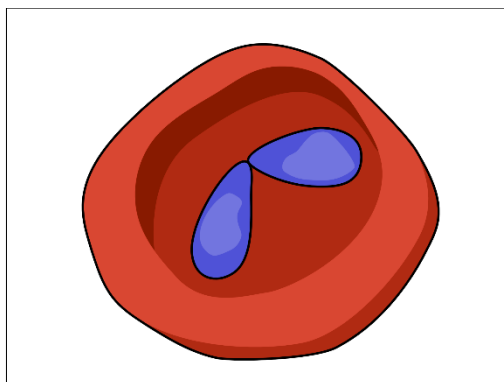


Figura 6. Ilustração de uma hemácia infectada por *Babesia bigemina*.
(Fonte: Diagramado na base *Mind the graph*.)

Uma das espécies de *Babesia* mais comuns no Brasil é a *B. bovis*, que causa a babesiose bovina, doença que afeta bovinos e é transmitida por carrapatos do gênero *R. (Boophilus) microplus*. Esta espécie também foi relatada em outros países, como Argentina, Austrália e África do Sul (KIVARIA et al., 2007; SCHNITTGER et al., 2012). Outra espécie de *Babesia* que ocorre no Brasil é a *B. bigemina*, que também causa a babesiose bovina e é transmitida pela mesma espécie de carrapato do *B. bovis* – *B. microplus*. Esta espécie foi relatada também em vários países, incluindo Estados Unidos, México e Índia (LOURDES et al., 2020).

Um levantamento feito por Panti-May et al. (2020) mostrou que há três espécies de importância na região da América Latina e Caribe em cães: *B. vogeli*; *B. gibsoni*; e *B. caballi*, com base na confirmação molecular das espécies. A espécie *B. vogeli* foi a espécie mais difundida, incluindo países da América do Norte (México), América Central e Caribe (Costa Rica, Granada, Haiti, Nicarágua, Saint Kitts e Nevis e Trinidad e Tobago) e América do Sul (Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Paraguai, Peru e Venezuela). Em contraste, *B. gibsoni* foi registrado em poucos países da América Central e Caribe (Costa Rica, Nicarágua e Saint Kitts e Nevis) e no Brasil.

Babesia caballi, uma espécie não canina, foi encontrada em um cão doméstico no Mato Grosso do Sul, Brasil (DE SOUSA et al., 2018). O Brasil foi o país com mais estudos relatando *Babesia* em cães, seguido por Costa Rica, Argentina, Colômbia e Venezuela (PANTI-MAY; RODRÍGUEZ-VIVAS, 2020).

Em animais selvagens, infecções por *Babesia* foram relatadas em várias espécies, incluindo leões, veados, alces, bisões e javalis (PENZHORN et al., 2006; BERGGÖTZ et al., 2014; DA SILVA et al., 2013; SCHMID et al., 2008; SILVEIRA et al., 2013; FANELI et al., 2021).

Atualmente, as técnicas moleculares permitem a diferenciação de espécies morfologicamente indistinguíveis (*B. canis*, *B. rossi*, *B. vogeli*), anteriormente classificadas como subespécies de *B. canis* com base na apresentação clínica, distribuição geográfica e especificidade do vetor (SOLANO-GALLEGO; BANETH, 2011). *Babesia canis* é um agente patogênico conhecido por causar babesiose canina, uma doença hemolítica grave em cães. É transmitida principalmente pelo carrapato *R. sanguineus* em diversas regiões do mundo. A

infecção por *B. canis* pode levar a sintomas como anemia, febre, letargia, perda de apetite e icterícia (IKADAI et al., 2007). Já *B. rossi*, por sua vez, é uma espécie que também causa babesiose canina, mas é endêmica em regiões da África e está associada ao carrapato *R. (Boophilus) microplus*. A doença pode ser severa, levando a complicações graves, e apresenta sintomas semelhantes à babesiose causada por *B. canis* (WALTON et al., 2000). E *B. vogeli* é outra espécie que afeta cães, sendo transmitida por carrapatos *R. sanguineus*, sendo especialmente comum em regiões tropicais e subtropicais e pode levar a sintomas clínicos que variam de leves a graves (CARDOSO et al., 2013).

Embora as técnicas moleculares tenham permitido a diferenciação dessas espécies, ainda são necessários mais estudos para compreender completamente a diversidade genética intraespecífica de cada uma delas (HRAZDILOVÁ et al., 2019).

A maioria dos dados moleculares disponíveis para detecção de *Babesia* spp. são baseados no gene 18S do RNA da pequena subunidade ribossômica (18S rDNA). Em 2008, Adaszek et al. definiram dois grupos de restrição com base no polimorfismo de dinucleotídeos no gene 18S rDNA (ADASZEK; WINIARCZYK, 2008). Desde então, esses “genótipos” foram associados a um curso clínico da babesiose (ADASZEK et al., 2009), distribuição sazonal desigual (HORNOK et al., 2015) e novos métodos de discriminação de genótipos foram desenvolvidos (ADASZEK; WINIARCZYK, 2010).

Recentemente, um terceiro “genótipo” para *Babesia* spp. foi descrito nas mesmas posições de nucleotídeos (ŁYP et al., 2015). Nesse contexto, a ampla existência de parálogos (genes na mesma espécie que surgiram a partir de um gene no ancestral da espécie por um processo de duplicação) 18S rDNA no filo Apicomplexa permanece negligenciada, bem como as evidências para existência de parálogos em *Babesia* spp.; ressaltando que apenas um número crescente de sequências genômicas inteiras de uma ampla gama de espécies de piroplasmídeos pode fornecer respostas definitivas (HRAZDILOVÁ et al., 2019).

Embora o gene 18S rRNA venha sido utilizado como o principal dado para elucidar as relações filogenéticas dos parasitas piroplasmídeos, outros genes também se mostram eficazes. O gene COI -o marcador de código de barras mais usado no reino animal (HEBERT et al., 2003) – já usado para diferenciação de espécies intimamente relacionadas de parasitas apicomplexos e, recentemente, usou-o para elucidar as relações filogenéticas dentro da ordem Piroplasmida (SCHREEG et al., 2016; ANNOSCIA et al., 2017). Também, pode-se citar o gene do citocromo b (cytb), que codifica uma proteína essencial para a fosforilação oxidativa (processo que gera ATP), sendo um gene altamente conservado entre diferentes espécies de *Babesia* (TIAN et al., 2013); e o gene da proteína de choque térmico 70 (hsp70), também conservado em diferentes espécies de *Babesia* e comumente usado em ensaios baseados em PCR (YAMASAKI et al., 2008). Da mesma forma, o gene da beta-tubulina (btub) também demonstrou ser um alvo útil para ensaios baseados em PCR (CACCIÒ et al., 2000).

2.2.5 *Borrelia* spp.

As bactérias do gênero *Borrelia* pertencem a um antigo filo de bactérias espiroquetas, ordem Spirochaetales e família Spirochaetaceae, sendo a morfologia em serpentina, longa e fina, uma característica compartilhada por este grupo (Figura 7) (TALAGRAND-REBOUL et al., 2018). O gênero dessas espiroquetas foi nomeado *Borrelia* em homenagem ao nome de Amédée Borrel, que estudou espiroquetas em carrapatos argasídeos moles e galinhas (BORREL; MARCHOUX, 1905).

As borrelias estão divididas em três grupos, nomeadamente o grupo Lyme (GL), o grupo Echidna-Reptile (REPG) e o grupo Febre Recorrente (FR). Atualmente, apenas *Borrelia* dos grupos Lyme e FR (não todos) causam infecção em humanos. *Borreliae* do grupo Echidna-

Reptile representa um novo grupo monofilético de espiroquetas, que infectam anfíbios e répteis (TREVISAN et al., 2021).

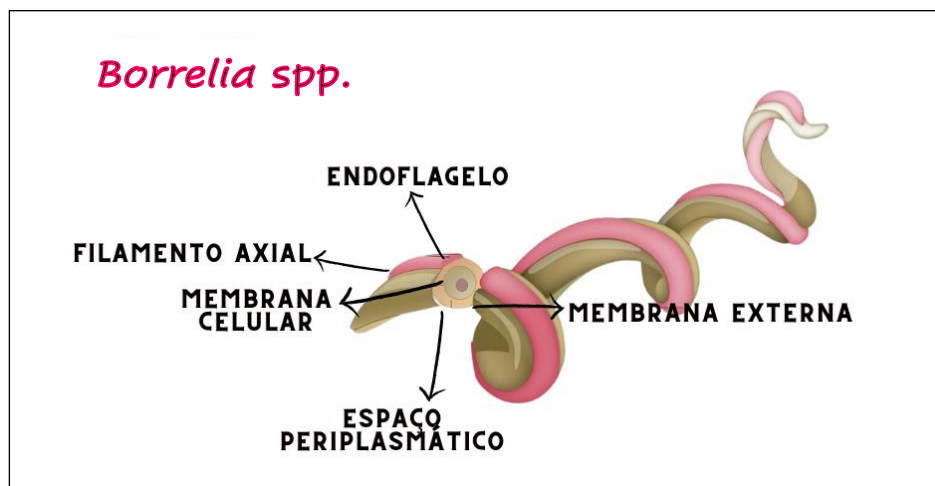


Figura 7. Espiroqueta de *Borrelia* spp.
(Fonte: Adaptado de LARGER, 2020.)

A distribuição das bactérias do gênero *Borrelia* é cosmopolita, sendo a *B. burgdorferi* sensu lato encontrada principalmente em zonas temperadas do Hemisfério Norte; enquanto a maioria das espiroquetas relacionadas à febre recorrente ocorre em regiões subtropicais e tropicais - com exceção de *B. miyamotoi*, uma espécie relacionada à febre recorrente que ocorre em zonas temperada. Os agentes etiológicos da doença de Lyme (DL) são as espiroquetas do complexo *B. burgdorferi* sensu lato (s.l.), que compreende 21 espécies (EISEN, 2020). Seis delas (*B. burgdorferi* sensu stricto (s.s.), *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. lusitaniae* e *B. spielmanii*) são considerados patógenos humanos (RADOLF, 2020; EISEN, 2020). No entanto, o DNA de *B. valaisiana* e *B. bissettii* também foi detectado em tecidos de pacientes sintomáticos; portanto a patogenicidade dessas espécies não está excluída, mas ainda não está clara (DIZA, 2004; MARGOS et al., 2004; STANEK; REITER, 2011). A participação de carrapatos *Ixodes* também foi confirmada na transmissão de *B. miyamotoi*, uma espécie intimamente relacionada às espiroquetas incluídas no grupo da febre recorrente transmitida por carrapatos (CUTLER et al., 2019; KUBIAK et al., 2021).

A DL - ou borreliose de Lyme - é a doença transmitida por carrapatos mais comum nos Estados Unidos e na Europa; estima-se que ≈476.000 casos sejam diagnosticados e tratados por ano nos Estados Unidos e >200.000 casos por ano na Europa Ocidental (STANEK; STRLE, 2018; STEERE et al, 2016). O principal carrapato vetor nos Estados Unidos é *Ixodes scapularis*, seguido por *I. pacificus*; na Europa, a maioria dos casos é transmitida por carrapatos *I. ricinus*, seguido por *I. persulcatus* (MARQUES et al, 2021).

Os principais reservatórios naturais para essas espiroquetas no ambiente silvestre são os cervídeos, como o veado-de-cauda-branca (*O. virginianus*) e o cervo sika yezo (*Cervus nippon yezoensis*); e pequenos roedores, como ratos-de-patas-brancas (*Perigonia leucopus*), podendo ser considerados sentinelas para a DL (ANDERSON, 1989; RAZMAN et al., 2013).

A Síndrome de Baggio-Yoshinari (SBY), também conhecida como doença de Lyme-like brasileira, borreliose de Lyme ou borreliose brasileira é uma zoonose brasileira emergente com o primeiro relato de caso datado de 1992, na cidade de São Paulo, Brasil (BASILE et al.,

2017; YOSHINARI et al., 1999). É semelhante à DL citada acima, que ocorre no hemisfério norte, apresentando todas as manifestações clínicas clássicas, mas diferindo na frequência de episódios e eventos autoimunes (YOSHINARI et al., 2010; COSTA; YOSHINARI, 2019).

A bactéria tem um ciclo zoonótico no qual geralmente estão incluídos carrapatos do gênero *Ixodes* (GONÇALVES et al., 2015). Mas no Brasil, foi demonstrado que essas espiroquetas também estão presentes em carrapatos do tipo *Rhipicephalus*, *Amblyomma* e *Dermacentor*, que transmitem para cães, cavalos, marsupiais, roedores, gambás, bovinos e humanos^{1,16-19}. *B. burgdorferi* infecta carrapatos quando estes se alimentam do sangue de hospedeiros infectados (MANTOVANI et al., 2007; GONÇALVES et al., 2015; BASILE et al., 2017). No entanto, apesar da confirmação por técnicas sorológicas da existência desta infecção em humanos e animais, a cultura e isolamento de *B. burgdorferi* ainda não foram realizados com sucesso em Brasil (OLIVEIRA et al., 2010; GOUVEIA et al., 2010).

Como a única forma natural de infecção por *Borrelia* é a picada do vetor infectado, a prevalência desses patógenos em carrapatos representa um importante indicador de risco para as populações humanas (RAUTER; HARTUNG, 2005). Os métodos geralmente usados para detecção do agente discutido nos vetores são cultivo em meio BSK, microscopia de campo escuro e contraste de fase, imunofluorescência direta e indireta e ensaios baseados em PCR (RADULOVIC et al., 2010).

A PCR é o método mais utilizado devido à sua alta sensibilidade. Os alvos primários para a detecção por PCR de sequências específicas de DNA de *Borrelia* em carrapatos são genes que codificam as principais proteínas da superfície externa, flagelina e 16S rRNA (PERSING et al., 1990). O gene da flagelina (fla) codifica a proteína que compõe os flagelos da *Borrelia*, importantes para a motilidade da bactéria. Ao amplificar esse gene, os pesquisadores podem detectar a presença de DNA de *Borrelia* em uma amostra suspeita (CICUTTIN et al., 2019). O desenvolvimento de nested-PCR e especialmente de métodos baseados em PCR em tempo real aumentou significativamente a sensibilidade da detecção de *Borrelia* em carrapatos (JOHNSON et al., 1992; WANG Et al., 2003).

2.3 Bioma Mata Atlântica

A Mata Atlântica possui uma grande biodiversidade, sendo uma das florestas mais biodiversas do mundo, e sua importância ambiental se dá sob diferentes aspectos, principalmente para a regulação do clima e abastecimento de água de sua região e seu entorno. Ela é importante para o desenvolvimento econômico local, além de possuir alto valor histórico e cultural, com comunidades tradicionais carregadas de história (MMA, 2018).

2.3.1 História e importância da Mata Atlântica

Para os ecólogos a mata Atlântica é um grande ecossistema ou um bioma. Sob a ótica geográfica, ela é um tipo de vegetação subcontinental que faz parte de um sistema fisiográfico tropical úmido e que ocupa um considerável espaço geográfico no Brasil e em alguns países vizinhos. Formações florestais, restingas, manguezais e campos de altitude, tomam 17 estados do Brasil e fazem da Mata Atlântica um patrimônio nacional, como estabelece a Constituição Federal (Figura 8). O bioma tem uma importância vital para os aproximadamente 120 milhões de brasileiros que vivem em seus domínios; onde são gerados cerca de 70% do PIB brasileiro (MILARIE, 2005; IBGE, 2020).

Originalmente, a Mata Atlântica ocupava aproximadamente 1.290.000 km² do território brasileiro (VARJABEDIAN, 2010). No entanto, foi a primeira região do Brasil a ser colonizada e atualmente tem duas das três maiores cidades de América do Sul (São Paulo e Rio de Janeiro) e 60 % da população do país, sendo o centro agroindustrial do Brasil (MMA, 2018). Esta região

tem um papel importante na regulação e fluxo dos mananciais hídricos, na fertilidade do solo, no controle do clima, na proteção das encostas das serras e preserva um patrimônio natural e cultural imenso (VARJABEDIAN, 2010).

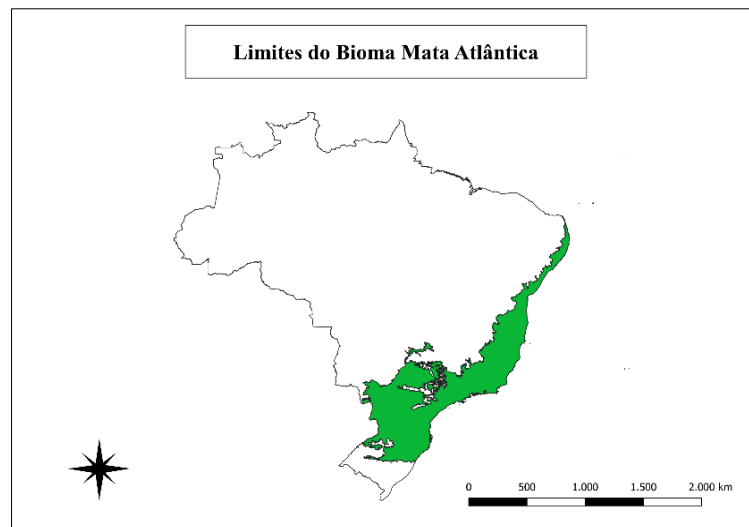


Figura 8. Limites do bioma Mata Atlântica no Brasil.

(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e INPE.)

Segundo o Ministério do Meio Ambiente, após séculos de exploração, os remanescentes de vegetação nativa estão reduzidos a aproximadamente 29 % de sua cobertura original, mas apenas 7 a 8 % da Mata Atlântica estão ainda intactos, em bom estado de conservação ou são áreas protegidas por Unidades de Conservação (UC) (MMA, 2021) (Figura 9). A Mata Atlântica possui grande heterogeneidade ambiental, principalmente relacionada à amplitude latitudinal e altitudinal, o que reflete em mudanças significativas no clima e fitofisionomia, entre outros critérios, ao longo de sua distribuição. Essas características fizeram com que esse bioma fosse reconhecido como um dos mais importantes *hotspots* de biodiversidade do mundo. Nos últimos 200 anos, impactos antrópicos levaram a uma grande perda de diversidade em remanescentes florestais, incluindo espécies de mamíferos (GRAIPEL et al., 2014).

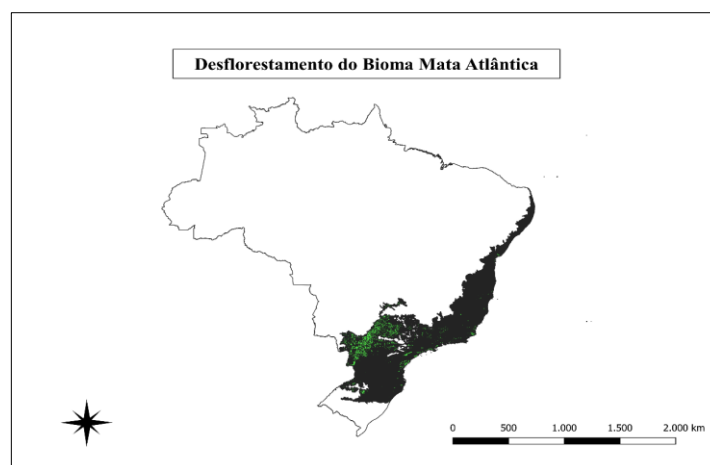


Figura 9. Desflorestamento do bioma Mata Atlântica, onde a área em preto representa os pontos de desmatamento.

(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e INPE.)

As primeiras citações de mamíferos da Mata Atlântica brasileira aparecem nos relatos de cronistas e missionários do século XVI, como Padre José de Anchieta, Pero de Magalhães de Gândavo e Jean de Léry, que apresentaram ao Velho Continente as riquezas naturais do Brasil e que, por vezes, forneciam breves descrições das espécies com observações e curiosidades, algumas delas fantasiosas (ANCHIETA, 1997; LÉRY, 1998; GÂNDAMO, 2004).

Estima-se que existam na Mata Atlântica cerca de 20 mil espécies vegetais (35 % das espécies existentes no Brasil, aproximadamente), incluindo diversas espécies endêmicas e ameaçadas de extinção. Em relação à fauna, o bioma abriga, aproximadamente 850 espécies de aves, 370 de anfíbios, 200 de répteis, 270 de mamíferos e 350 de peixes (ICMBio/MMA, 2018). Segundo o relatório de Conservação Internacional, a Mata Atlântica possui 12 gêneros endêmicos, incluindo dois gêneros de primatas ameaçados que simbolizam a região e são as chamadas “espécies-bandeira”. Trata-se dos micos-leões, dos quais existem quatro espécies, e dos muriquis, com duas espécies (ICMBio/MMA, 2018).

Como relatado no documentário ‘O Poema Imperfeito’ (FERNANDEZ, 2011), existiam na América do Sul espécies da megafauna, como preguiças gigantes, toxodotes e gliptodotes, que se extinguíram após a chegada do homem, inicialmente pelo oeste da Cordilheira dos Andes e posteriormente através da Amazônia até a região leste. No livro “A Ferro e Fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira”, pioneiro na história ambiental (DEAN, 1996), Warren Dean narra 13.000 anos de história da interação do homem com a Mata Atlântica.

Warren Dean menciona em seu livro que a história da Mata Atlântica é, como na maioria dos casos, uma história de devastação porque, de um modo geral, as florestas de boa parte do planeta estiveram sujeitas à exploração e destruição pela incapacidade do homem de interagir com as outras espécies de uma forma harmônica e de viver em um ambiente hostil à suas necessidades. O homem, assim, modificaria o ambiente para adaptá-lo e dependendo das condições, essas transformações seriam irreversíveis (DEAN, 1996; SOUZA, 2011).

A destruição do pau-brasil é uma das consequências da exploração da Mata Atlântica. A exploração pelos portugueses se iniciou logo após sua chegada e nos séculos XVI e XVII alcançou seu auge, sendo praticada ao longo do litoral brasileiro, desde o Rio Grande do Norte até o Rio de Janeiro. Estima-se que aproximadamente 2 milhões de exemplares tenham sido cortados no primeiro século de colonização (DEAN, 1996). Atualmente, se encontra na lista oficial de espécies ameaçadas de extinção.

A chegada dos europeus teve como consequência, também, a globalização das espécies, com o intercâmbio de plantas, animais e inclusive doenças entre continentes, evento chamado de “Intercâmbio Colombiano” (LEWIS; MASLIN, 2018). O declínio da população local coincide com uma diminuição das concentrações de CO₂ aproximadamente no ano de 1600, que foi proposto alternativamente com um marcador do início do Antropoceno, evento conhecido na literatura como “Orbis Spike” (LEWIS; MASLIN, 2018).

O século XIX seria o século do café e, para a Mata Atlântica, a introdução desta planta exótica significou uma ameaça ainda maior: o Vale do Paraíba “se tornou uma colcha de retalhos de cafezais e floresta primária” os locais eram queimados e plantados e, após o esgotamento da terra, eram abandonados, invadidos pelo mato e posteriormente pelo gado (DEAN, 1996).

Entre 1900 e 1950 continuou a destruição florestal. Só na região do Sudeste a população aumentou de 7 para 22 milhões. No início do século XX ainda restavam aproximadamente 390 km² de Mata Atlântica. Estas últimas fases da destruição da floresta, foram originadas no mesmo fenômeno: o crescimento de população, especialmente a população urbana, o aumento do consumo, o uso descontrolado dos recursos e a expansão econômica em forma exponencial (DEAN, 1996).

Para preservação do então ameaçado bioma, pressupõe o reconhecimento destes remanescentes como Unidades de Conservação (UC), conforme estabelecido na lei federal 9.985 de 18 de julho de 2000, que criou o Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza (SNUC). As Unidades de Conservação representam um componente fundamental nas estratégias para a conservação da biodiversidade e recursos hídricos e melhoria da qualidade de vida da população como um todo. São “espaços territoriais e seus recursos ambientais, incluindo as águas jurisdicionais, com características naturais relevantes, legalmente instituídos pelo Poder Público, com objetivos de conservação e limites definidos, sob regime especial de administração, ao qual se aplicam garantias adequadas de proteção da lei” (art. 1º, I).

As UCs têm a função de salvaguardar a representatividade de porções significativas e ecologicamente viáveis das diferentes populações, habitats e ecossistemas do território nacional e das águas jurisdicionais, preservando o patrimônio biológico existente. Além disso, garantem às populações tradicionais o uso sustentável dos recursos naturais de forma racional e ainda propiciam às comunidades do entorno o desenvolvimento de atividades econômicas sustentáveis (MMA, 2018).

Ressalta-se que as unidades de conservação da esfera federal do governo são administradas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio). Nas esferas estadual e municipal, por meio dos Sistemas Estaduais e Municipais de Unidades de Conservação.

No Brasil, a criação de Ucs (são 12 categorias ao todo) não tem conseguido minimizar as pressões antrópicas que comprometem a conservação dos recursos naturais e culturais do país. Além de aumentar o número e melhorar a gestão das Ucs, estas precisam sanar problemas de desmatamentos, invasões e a extração de produtos naturais (MILANO, 2000). Para minimizar este problema o governo brasileiro criou, em 2014, o “Sistema de Informação Sobre a Biodiversidade Brasileira” para sistematizar informações sobre a biodiversidade nacional. A iniciativa, no entanto, limita-se apenas em catalogar o que já se sabe sobre a fauna e a flora nativas (BARLOW et al., 2018).

2.3.2 Remanescentes de Mata Atlântica no Rio de Janeiro

Sabe-se que o Rio de Janeiro tem cerca de 20% do seu território ocupado por UCs (Figura 10). Isso pode ser considerado um importante avanço visto o alto grau de endemismo e diversidade biológica comprovada no estado (INEA, 2015; SEA, 2015; COELHO et al., 2017). Parece não haver consenso sobre qual foi a primeira UC brasileira, no entanto, alguns autores consideram o Parque Estadual de São Paulo, criado em 1896, e a implantação da floresta da Tijuca (atualmente Parque Nacional) como as primeiras iniciativas neste sentido (MEDEIROS, 2006).

Historicamente, os estados do Rio de Janeiro e São Paulo se destacam no cenário nacional quanto as iniciativas para a criação de áreas protegidas. Graças ao protagonismo dos cidadãos fluminenses Alberto Torres e André Rebouças, influenciados - entre outras coisas - com a criação da primeira UC a nível mundial - o Parque de Yellowstone, em 1872 - iniciou-se um processo de criação de Ucs em território nacional (HAAG, 2010). Atualmente, o estado do Rio possui 244 Ucs, o que faz do Rio de Janeiro uma referência nacional quanto a criação de áreas protegidas (INEA, 2023).

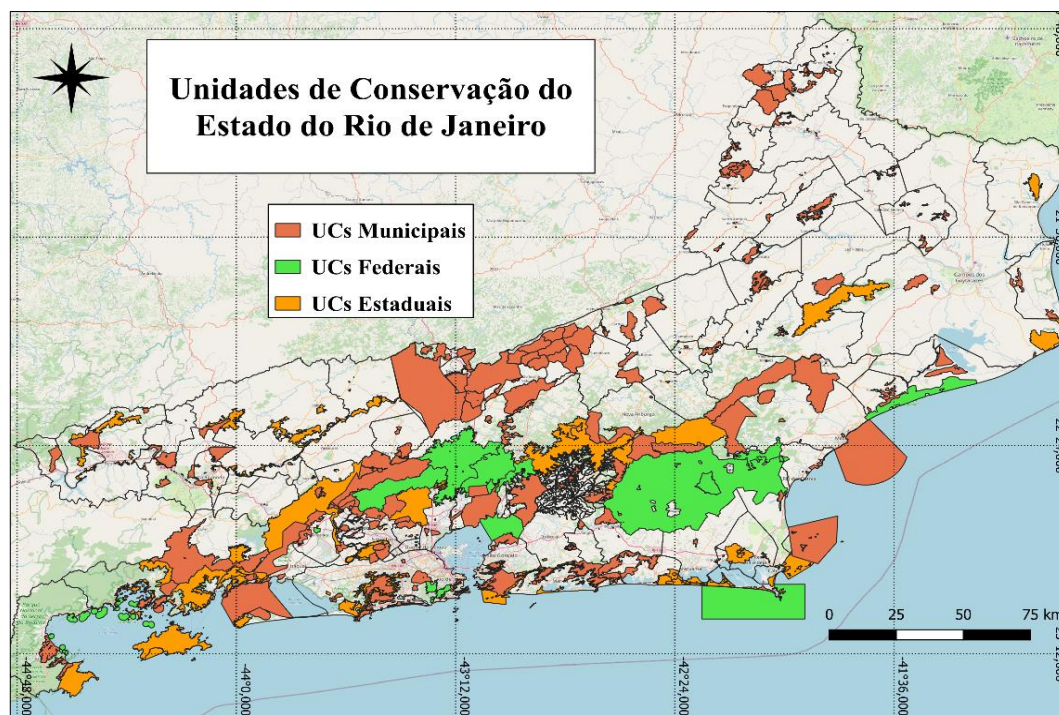


Figura 10. Unidades de Conservação no estado do Rio de Janeiro.
(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e MMA.)

Uma dessas Ucs é Parque Nacional da Serra dos órgãos (PARNASO). Criado em 30 de novembro de 1939, o PARNASO é o terceiro parque mais antigo do país (Itatiaia em 1937 e Iguaçu, também em 1939, o antecederam). Esta primeira geração de parques brasileiros reflete a chegada ao Brasil de uma preocupação mundial com a degradação dos ambientes naturais. Vale ressaltar, que o parque abriga mais de 2.800 espécies de plantas catalogadas pela ciência, 462 espécies de aves, 105 de mamíferos, 103 de anfíbios e 83 de répteis, incluindo 130 animais ameaçados de extinção e muitas espécies endêmicas que só ocorrem neste local (ICMBio/MMA, 2018).

Devido ao seu tamanho, o PARNASO é cortado por algumas vias e estradas, sendo uma delas a BR-116/RJ. Com o objetivo de identificar e monitorar os animais selvagens atropelados na BR-116/RJ (trecho Rio) e com isso, implementar ações de melhorias, criou-se em 2008 o “Projeto Fauna Viva” - uma iniciativa da concessionária da estrada junto ao parque -com o apoio de diversas entidades públicas e institutos de pesquisa. Um dos propósitos do projeto é resgatar espécies saudáveis em perigo ou feridas no entorno da rodovia. Ressalta-se o fato que, segundo estimativas do Centro Brasileiro de Ecologia de Estradas, todos os anos 475 milhões de animais selvagens morrem nas estradas brasileiras vítimas de atropelamento, sendo um sério problema para ecologia e diversidade da fauna silvestre brasileira (CBEE, 2022).

No parque encontra-se várias espécies como a onça-pintada, onça-parda, macaco muriqui, porco-do-mato e diversas aves que estão ameaçadas de extinção. Algumas espécies correm um risco maior de serem impactadas pelos atropelamentos na área da rodovia, como o macaco bugio, preguiça, cachorro-do-mato, tatu-galinha, gambá, ouriço-cacheiro, gaviões e corujas de diversas espécies (CRONEMBERGER et al., 2019).

Segundo dados do INPE, Entre 2020 e 2021 foram desmatados 21.642 hectares (ha) da Mata Atlântica, um crescimento de 66% em relação ao registrado entre 2019 e 2020 (13.053 ha) e 90% maior que entre 2017 e 2018, quando se atingiu o menor valor de desflorestamento da série histórica (11.399 ha). A perda de florestas naturais, área em que caberiam mais de 20

mil campos de futebol, corresponde a 59 hectares por dia ou 2,5 hectares por hora, além de representar a emissão de 10,3 milhões de toneladas de CO₂ equivalente na atmosfera (INPE, 2022) (Figura 11).

A fragmentação acelerada da Mata Atlântica no Rio de Janeiro resultou em um cenário desafiador, com a presença crescente de animais selvagens em áreas urbanas. A redução dos habitats naturais e a expansão das atividades humanas levaram muitas espécies a se aproximarem dos centros urbanos em busca de recursos e refúgio. Nesse contexto, a existência do Centro de Reabilitação de Animais Selvagens (CRAS) é de extrema importância. O CRAS atua como um refúgio para esses animais, oferecendo cuidados, triagem, reabilitação e a possibilidade de reintrodução ao ambiente natural, contribuindo significativamente para a conservação da biodiversidade e para a coexistência harmoniosa entre a vida selvagem e as áreas urbanas do Rio de Janeiro. São definidos na Resolução INEA Nº 157, de 19 de outubro de 2018, como todo empreendimento autorizado, somente de pessoa jurídica, com finalidade de receber, identificar, marcar, triar, avaliar, recuperar e reabilitar espécimes da fauna silvestre nativa provenientes de resgates para fins, preferencialmente, de programas de reintrodução dos espécimes no ambiente natural (INEA, 2018).

Nesses locais, os animais são avaliados quanto ao físico e comportamento, para depois definir a destinação. No Rio de Janeiro tem-se o CRAS da Universidade Estácio de Sá campus Vargem Pequena e o Centro de Triagem de Animais Selvagens do IBAMA (CETAS/RJ), no município de Seropédica. Ambos estão autorizados a receberem animais selvagens diretamente da Mata Atlântica, muitas das vezes encontrados em áreas de urbanização, resgatados pelo Corpo de Bombeiro, Patrulha Ambiental, Guarda Florestal, entre outros cidadãos (IBAMA-RJ, 2020).

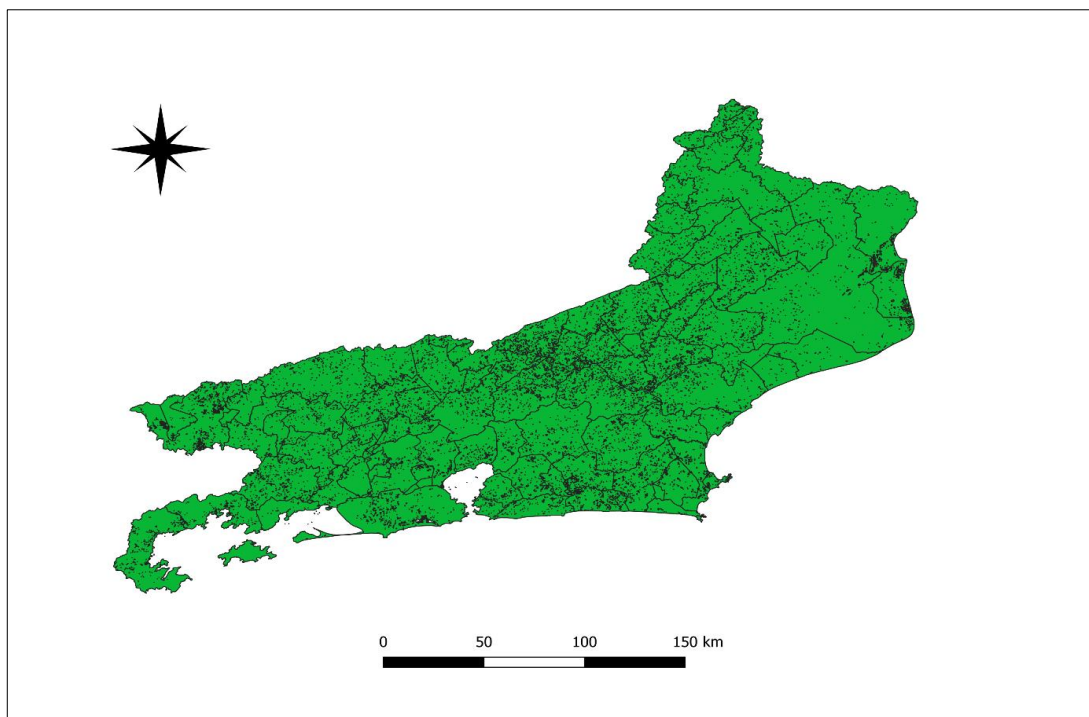


Figura 11. Perda de vegetação Nativa no Estado do Rio de Janeiro, de 2014 a 2020, onde os pontos pretos representam áreas de desflorestamento.

(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e INPE)

2.3.3 Mata Atlântica e sua importância médico-veterinária

O desmatamento causa muitos problemas ao meio ambiente, como perda de sequestro de carbono; mudanças climáticas; perda e erosão do solo; perda de habitat; mudanças nos padrões climáticos locais; surgimento e disseminação de novas doenças; e o impacto direto e mensurável na saúde humana devido a perda de florestas (GOTTWALT, 2013).

Uma estimativa recente sugere que mais de 70% de todas as doenças humanas infecciosas emergentes são zoonóticas – o que significa que se originaram em animais, geralmente animais selvagens (SETELE, 2020).

Essas doenças de animais para humanos atualmente causam cerca de 700.000 mortes humanas anualmente, e o potencial para futuras pandemias é enorme. Um artigo recente da Plataforma Intergovernamental de Políticas Científicas sobre Biodiversidade e Serviços Ecossistêmicos (IPBES) estima que até 1,7 milhão de vírus não identificados do tipo conhecido por infectar pessoas ainda existam em mamíferos e aves aquáticas, qualquer um dos quais podendo causar um novo surto de doença humana (SETELE, 2020).

Muitos dessas doenças atuais estão associados à floresta, incluindo Febre Amarela, Dengue, Ebola, Vírus Nipah, SARS, Raiva, Febre Maculosa das Montanhas Rochosas, Malária, Leishmania, Doença do Sono, Babesia e doença de Lyme. Outros, como o HIV, se originaram nas florestas e depois se mudaram para a população em geral, não sendo mais transmitidos apenas de animais para humanos dentro e ao redor das florestas, mas entre humanos em todo o mundo (WILCOX; ELLIS, 2006).

A razão pela qual a destruição de florestas leva a surtos de doenças infecciosas humanas é multifatorial. Uma das principais causas de doenças zoonóticas originadas em florestas é o aumento do contato entre humanos e animais selvagens à medida que florestas são destruídas e fragmentadas. Acredita-se que os primeiros patógenos causadores de epidemias, como a varíola, tenham surgido na Ásia tropical devido ao desmatamento em grande escala e à mistura de humanos, animais domésticos e vida selvagem (WILCOX; ELLIS, 2006).

Essa perda e fragmentação efetiva do habitat florestal também leva a um declínio na qualidade do habitat da vida selvagem, causando declínios populacionais e risco de extinção em espécies selvagens. Uma recente pesquisa sistemática de dados de vírus mostrou que espécies ameaçadas cujos números estão diminuindo devido à exploração e perda de habitat abrigam mais do que o dobro de vírus zoonóticos do que aqueles ameaçados por outras causas (JOHNSON et al., 2020).

Quando os ecossistemas florestais são perturbados, há uma perda de diversidade de espécies animais, especialmente grandes predadores e espécies-chave, das quais o restante do ecossistema depende. Isso leva a uma explosão populacional de espécies mais generalistas e adaptáveis, como roedores, implicados como uma das três principais ordens de mamíferos que atuam como hospedeiros de vírus zoonóticos (JOHNSON et al., 2020).

Por exemplo, os roedores selvagens são os portadores do Hantavírus associado à floresta, que causa febre hemorrágica humana ou síndrome pulmonar no Panamá. Os roedores também atuam como “super disseminadores” para o organismo da doença de Lyme transmitido por carrapatos e a leishmaniose cutânea americana transmitida por flebotomíneos. Efetivamente, quanto mais fragmentada a floresta, maior a densidade de roedores e maior o risco de doenças para as pessoas (WILCOX; ELLIS, 2006; GOTTWALT, 2013).

Outro fator importante no aumento do risco de doenças devido ao desmatamento é o aumento resultante nos insetos vetores que espalham doenças de humano para humano, ou de animal para humano. Por exemplo, o vetor do mosquito da malária aumenta em número ao redor das bordas da floresta, e a derrubada e fragmentação das florestas aumenta a quantidade de borda. No Peru, foi demonstrado que há 278 vezes mais picadas de mosquito da malária em

áreas desmatadas ao redor de assentamentos humanos do que em áreas florestais (GOTTWALT, 2013).

Além disso, os efeitos do desmatamento no microclima, temperaturas locais, chuvas e poluição são fatores implicados em um estudo de 2015 que descobriu que uma redução no desmatamento devido a programas governamentais no Brasil levou a uma redução correspondente na incidência de partos prematuros e nascimentos de muito baixo peso ao nascer (BERMUDEZ et al., 2015). A evidência da ligação direta entre os efeitos do desmatamento sobre as espécies selvagens e a saúde humana é uma das muitas razões pelas quais a educação ambiental deve ser fomentada no Brasil e no mundo.

CAPÍTULO I

INVESTIGAÇÃO DE CARRAPATOS E AGENTES PATOGÊNICOS EM ANIMAIS SELVAGENS E CÃES DOMÉSTICOS, EM FRAGMENTOS DE MATA ATLÂNTICA, RIO DE JANEIRO, BRASIL

RESUMO

A Mata Atlântica, região reconhecida por sua rica biodiversidade, enfrenta desafios devido ao desmatamento e crescimento urbano. Os carrapatos desempenham um papel importante nesse ecossistema, atuando como vetores de agentes patogênicos em diferentes hospedeiros, como animais selvagens, cães domésticos e humanos. Este estudo investigou a presença e diversidade de carrapatos e agentes patogênicos em cães domésticos e animais selvagens em áreas de fragmentos da Mata Atlântica, coletando amostras no Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) e seu entrono; e no Centro de Reabilitação de Animais Selvagens (CRAS), no Rio de Janeiro. Foram obtidas no total 335 amostras de carrapatos. Provenientes do PARNASO e seu entorno (n = 298), foram obtidos 278 carrapatos de animais selvagens - sendo 137 animais distribuídos em 08 espécies diferentes - e 20 carrapatos de cães domésticos, encontrados em 16 cães domiciliados no entorno do parque, distribuídos nos municípios de Teresópolis, Petrópolis, Guapimirim e Magé. E do CRAS foram obtidas 37 amostras, provenientes de 12 animais selvagens, de 08 diferentes espécies. Os resultados indicam uma diversidade significativa de espécies de carrapatos na Mata Atlântica e sua distribuição variada entre diferentes hospedeiros. As espécies identificadas incluem *Amblyomma aureolatum*, *A. calcaratum*, *A. dubitatum*, *A. longirostre*, *A. nodosum*, *A. ovale*, *A. rotundatum*, *A. sculptum*, *Amblyomma* sp., *A. varium*, *Haemaphysalis juxtakochi* e *Ixodes schulzei*. Outrossim, a análise molecular das amostras coletadas revelou a presença de agentes patogênicos em 05 amostras. Entre esses, 04 amostras foram positivas para *Rickettsia* spp., sendo: *Rickettsia* sp. cepa AL em *A. longirostre* (2 machos) de ouriço; *R. belli* em *A. aureolatum* (1 fêmea) de cachorro-do-mato; *R. paranaensis* em *A. parkeri* em ouriço (1 ninfa). Apenas 01 amostra positivou para *Borrelia* spp., sendo um adulto macho da espécie *A. varium*, em preguiça. Este é o primeiro relato na literatura de *Borrelia* sp. em *A. varium*. Este estudo oferece importantes contribuições para o entendimento da diversidade e distribuição de carrapatos em animais selvagens e cães domésticos na Mata Atlântica, evidenciando a complexa relação parasita-hospedeiro e ressaltando sua relevância como potenciais vetores de agentes patogênicos para animais e seres humanos.

Palavras-chave: Saúde Pública; Conservação; Biodiversidade; Artrópodes; Doenças.

ABSTRACT

The Atlantic Forest, a region recognized for its rich biodiversity, faces challenges due to deforestation and urban growth. Ticks play an important role in this ecosystem, acting as vectors of pathogenic agents in different hosts, such as wild animals, domestic dogs and humans. This study investigated the presence and diversity of ticks and pathogenic agents in domestic dogs and wild animals in areas of Atlantic Forest fragments, collecting samples in the Serra dos Órgãos National Park (PARNASO) and its surroundings; and at the Wild Animal Rehabilitation Center (CRAS), in Rio de Janeiro. A total of 335 tick samples were obtained. From PARNASO and its surroundings (n = 298), 278 ticks were obtained from wild animals - 137 animals distributed in 08 different species - and 20 ticks from domestic dogs, found in 16 dogs living in the surroundings of the park, distributed in the municipalities of Teresópolis, Petrópolis, Guapimirim and Magé. And from CRAS 37 samples were obtained from 12 wild animals of 08 different species. The results indicate a significant diversity of tick species in the Atlantic Forest and their varied distribution among different hosts. Identified species include *Amblyomma aureolatum*, *A. calcaratum*, *A. dubitatum*, *A. longirostre*, *A. nodosum*, *A. ovale*, *A. rotundatum*, *A. sculptum*, *Amblyomma* sp., *A. varium*, *Haemaphysalis juxtakochi* and *Ixodes schulzei*. Furthermore, the molecular analysis of the collected samples revealed the presence of pathogenic agents in 05 samples. Among these, 04 samples were positive for *Rickettsia* spp., namely: *Rickettsia* sp. strain AL in *A. longirostre* (2 males) from hedgehog; *R. belli* in *A. aureolatum* (1 female) of crab-eating fox; *R. paranaensis* in *A. parkeri* in hedgehog (1 nymph). Only 01 sample was positive for *Borrelia* spp., being an adult male of the species *A. varium*, in sloth. This is the first report in the literature of *Borrelia* sp. in *A. varium*. This study offers important contributions to understanding the diversity and distribution of ticks in wild animals and domestic dogs in the Atlantic Forest, highlighting the complex parasite-host relationship and emphasizing their instinct as potential vectors of pathogenic agents for animals and humans.

Keywords: *Public health; Conservation; Biodiversity; Arthropods; Diseases.*

1 INTRODUÇÃO

A Mata Atlântica é reconhecida como uma das regiões de maior biodiversidade no mundo, abrigando ecossistemas ricos em espécies endêmicas e nativas. No entanto, a contínua expansão do desmatamento têm representado uma ameaça significativa para essa rica diversidade biológica (MYERS et al., 2000). Localizada ao longo da costa brasileira, essa região é considerada um *hotspot* de biodiversidade, abrangendo uma grande variedade de fauna e flora, como aproximadamente 250 espécies de mamíferos (55 endêmicas), 340 espécies de anfíbios (90 endêmicas) e 1023 espécies de aves (188 endêmicas), sem mencionar a expressiva e ainda pouco conhecida diversidade de invertebrados e micro-organismos (CEPF, 2001; LAMBAIS et al., 2006).

Dentre a rica fauna da Mata Atlântica, destacam-se também diversas espécies de carrapatos, que desempenham um papel crucial nesse ecossistema, afetando a vida de animais selvagens, domésticos e humanos (LABRUNA et al., 2009). Contudo, o desmatamento e a expansão das áreas urbanas têm levado a uma fragmentação do habitat, resultando em uma maior proximidade entre a fauna selvagem e os ambientes urbanos, o que tem consequências significativas, como o aumento das interações entre animais selvagens e cães domésticos em regiões metropolitanas do Rio de Janeiro (TABARELLI et al., 2005).

Os carrapatos, pertencentes à subclasse Acari, desempenham uma função importante na manutenção do equilíbrio ecológico, sendo, por exemplo, fonte de alimento para outros animais. No entanto, algumas espécies de carrapatos podem representar sérios riscos à saúde de humanos e animais, pois podem atuar como vetores de agentes patogênicos responsáveis por transmitir uma ampla gama de doenças (CHAPMAN et al., 2006). Portanto, a compreensão da diversidade desses carrapatos na Mata Atlântica é essencial para a proteção da saúde dos ecossistemas e da biodiversidade.

No Brasil, a fauna de carrapatos é composta por 73 espécies, sendo a maioria pertencente ao gênero *Amblyomma* (DANTAS-TORRES et al., 2019). Entre as espécies mais comuns encontram-se *A. sculptum*, *A. cajennense*, *Rhipicephalus sanguineus* e *A. aureolatum* (MARTINS, 2014), conhecidas por causar danos significativos a animais selvagens e cães domésticos, além de serem potenciais vetores de diversas doenças.

No estado do Rio de Janeiro, carrapatos que parasitam animais selvagens e cães domésticos têm sido identificados como portadores de diversos agentes patogênicos, dos gêneros *Borrelia*, *Rickettsia*, *Babesia*, *Anaplasma* e *Ehrlichia* (MÜLLER et al., 2009). A presença desses agentes patogênicos em carrapatos é um ponto crítico que merece atenção, pois tais agentes podem desempenhar um papel importante na disseminação de doenças como a doença de Lyme (DL), febre maculosa, babesiose, anaplasmo e ehrlichiose (DE LA FUENTE et al., 2008).

No âmbito deste estudo, o principal objetivo foi aprofundar o conhecimento acerca da diversidade de carrapatos em animais selvagens e cães domésticos que habitam os arredores de áreas de floresta, especialmente em fragmentos de Mata Atlântica. Além disso, buscou-se investigar a presença de agentes patogênicos dos gêneros *Borrelia*, *Rickettsia*, *Babesia*, *Anaplasma* e *Ehrlichia* nos carrapatos coletados. Essas informações são de suma importância para uma compreensão mais abrangente da dinâmica e diversidade desses carrapatos e agentes patogênicos, bem como da relação parasita-hospedeiro na região estudada, buscando contribuir para preservação da biodiversidade, promoção da saúde pública e identificação de potenciais riscos à saúde dos ecossistemas e populações envolvidas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Autorização para Pesquisa

Esta pesquisa foi realizada após aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) (nº 6790010719) (Anexo 1). A coleta de espécimes carrapatos e seu transporte, foi autorizada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBio) (nº 69885-3 e nº 69103-2) (Anexo 2).

2.2 Área de estudo

Os carrapatos coletados para este estudo são provenientes de dois locais: Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) e sua Zona de Amortecimento (ZA); e Centro de Reabilitação de Animais Selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ).

A região do CRAS/RJ compreende o município do Rio de Janeiro (localização 22° 54' 10" S 43° 12' 28" O), o qual apresenta remanescentes da floresta Mata Atlântica (Figura 12).

Já o PARNASO se localiza na região da Serra dos Órgãos e abrange os municípios de Teresópolis (localização 22° 24' 43" S, 42° 57' 57" W), Petrópolis (localização 22° 30' 18" S, 43° 10' 44" W), Magé (22° 39' 10" S, 43° 02' 27" W) e Guapimirim (localização 22° 32' 13" S, 42° 58' 55" W). As áreas de interesse englobam a Unidade de Conservação e sua ZA, que podem ser vistas delimitadas na figura abaixo (Figura 13).

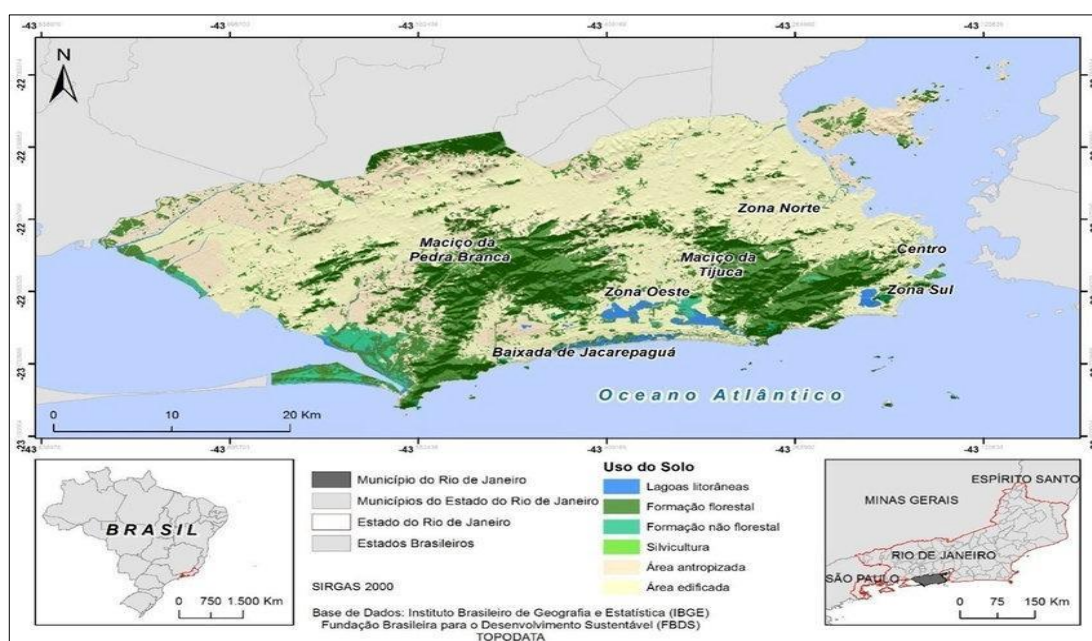


Figura 12. Município do Rio de Janeiro e seu remanescente florestal de Mata Atlântica, evidenciado através da marcação de formação florestal. (Fonte: TOPODATA.)

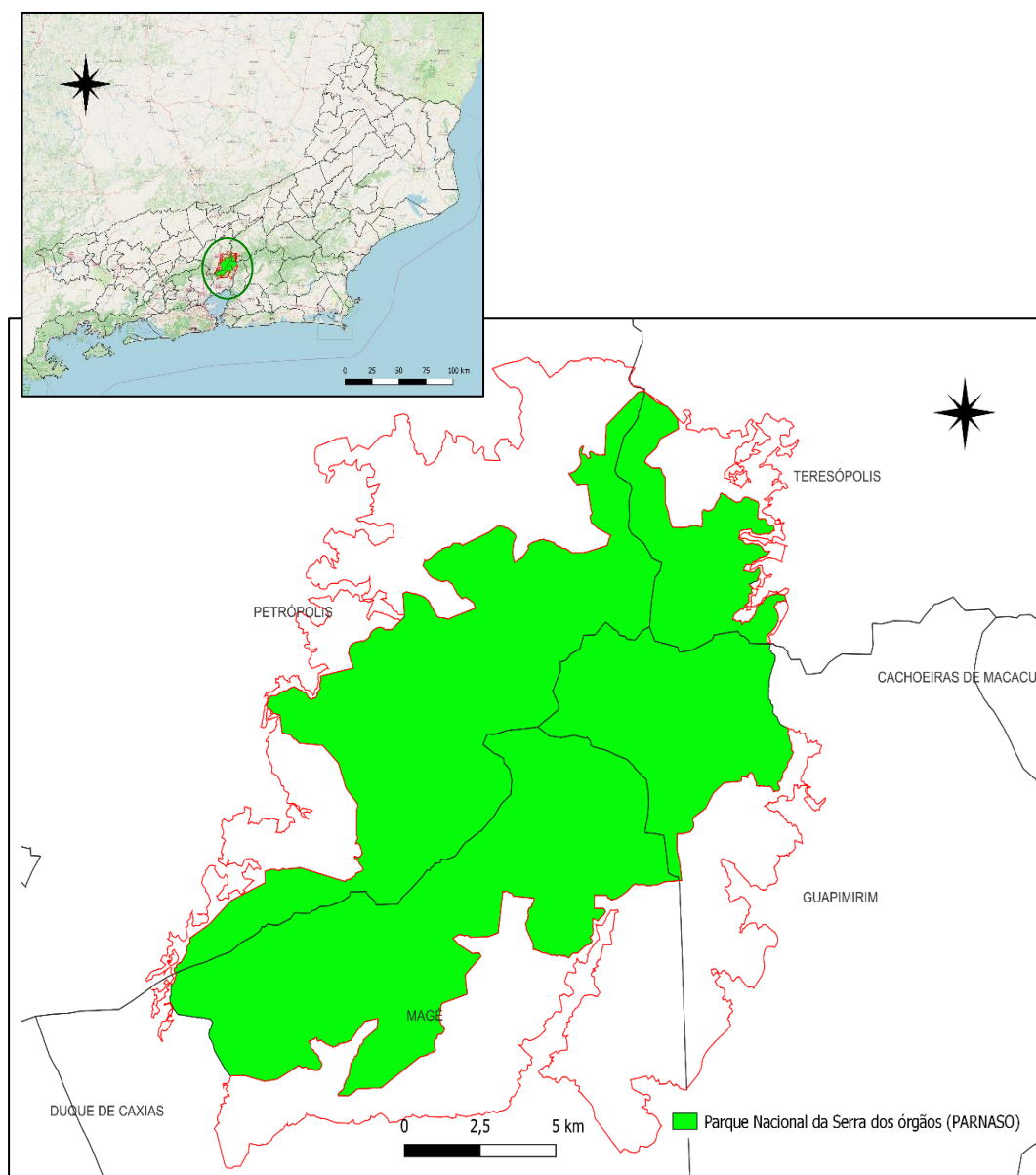


Figura 13. Mapa mostrando os limites da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os limites abrangem os municípios de Teresópolis, Petrópolis, Guapimirim e Magé, no estado do Rio de Janeiro, Brasil.
(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e ICMBIO.)

2.2.3 Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO)

O PARNASO possui uma extensa área de conservação (20.024 hectares), abrangendo um total de quatro municípios: Teresópolis, Petrópolis, Guapimirim e Magé. Na figura 13, observa-se como esta Unidade de Conservação é cercada por uma área urbana – denominada ZA – considerável. Portanto, considerando a presença de cães domésticos nesta região, objetivou-se inspecionar cães domésticos domiciliados (que possuíssem tutores) no entorno do parque, para presença de carrapatos. Também se coletou carrapatos de animais selvagens. Os carrapatos coletados foram acondicionados em frascos contendo álcool absoluto, para futuras

identificação e testes moleculares no Laboratório de Doenças Parasitárias da UFRRJ (LDP/UFRRJ).

2.2.3.1 Inspeção e coleta de amostras de cães domésticos

A amostragem foi realizada por conveniência, devido à necessidade de convergência de diversos fatores para a coleta de dados. Inicialmente, delimitou-se os bairros pertencentes à ZA do PARNASO como área de interesse para o estudo. Em seguida, foram feitas várias visitas a esses bairros, com o objetivo de identificar residências que atendessem aos critérios de pesquisa, tais como proximidade com áreas de floresta, presença de cães domésticos com tutores que aceitassem participar do estudo, de animais saudáveis e de fácil manipulação. Além dos desafios relacionados à amostragem, a pandemia também impactou significativamente o processo de coleta de dados. Restrições de deslocamento, medidas de isolamento social e preocupações com a saúde pública tornaram necessárias adaptações na logística da pesquisa. Contudo, mesmo em meio às dificuldades impostas pela pandemia, o trabalho de campo foi realizado com o máximo de cuidado e seguindo todas as diretrizes de segurança, visando garantir a integridade tanto dos pesquisadores quanto dos participantes envolvidos no estudo.

Essa abordagem metodológica permitiu a obtenção de uma amostra diversificada de cães inspecionados nos quatro municípios selecionados, totalizando 132 animais examinados.

Na cidade de Teresópolis, totalizou-se 97 cães inspecionados, e os bairros visitados foram: Soberbo (n= 17); Granja Guarani (n= 12); Alto (n= 13); Parque do Ingá (n= 12); Cascata dos Amores (n= 14); Lucas (n= 7); Taumaturgo (n= 5); Corta Vento (n= 4); Agriões (n= 2); Pimenteiras (n= 2); Quebra-frasco (n= 9). Já em Petrópolis, foram 9 cães inspecionados no bairros Bonfim (n= 6) e Corrêas (n= 3). Em Guapimirim foram 19 cães ao todo, nos bairros Caneca Fina (n= 4), Vila Guapi (n= 6) e Parque Santa Eugênia (n= 9). E em Magé 12 cães, distribuídos nos bairros Andorinhas (n= 4); Cachoeira Grande (n= 6); e Santo Aleixo (n=2). Os bairros visitados para este estudo podem ser vistos na imagem abaixo (Figura 14).

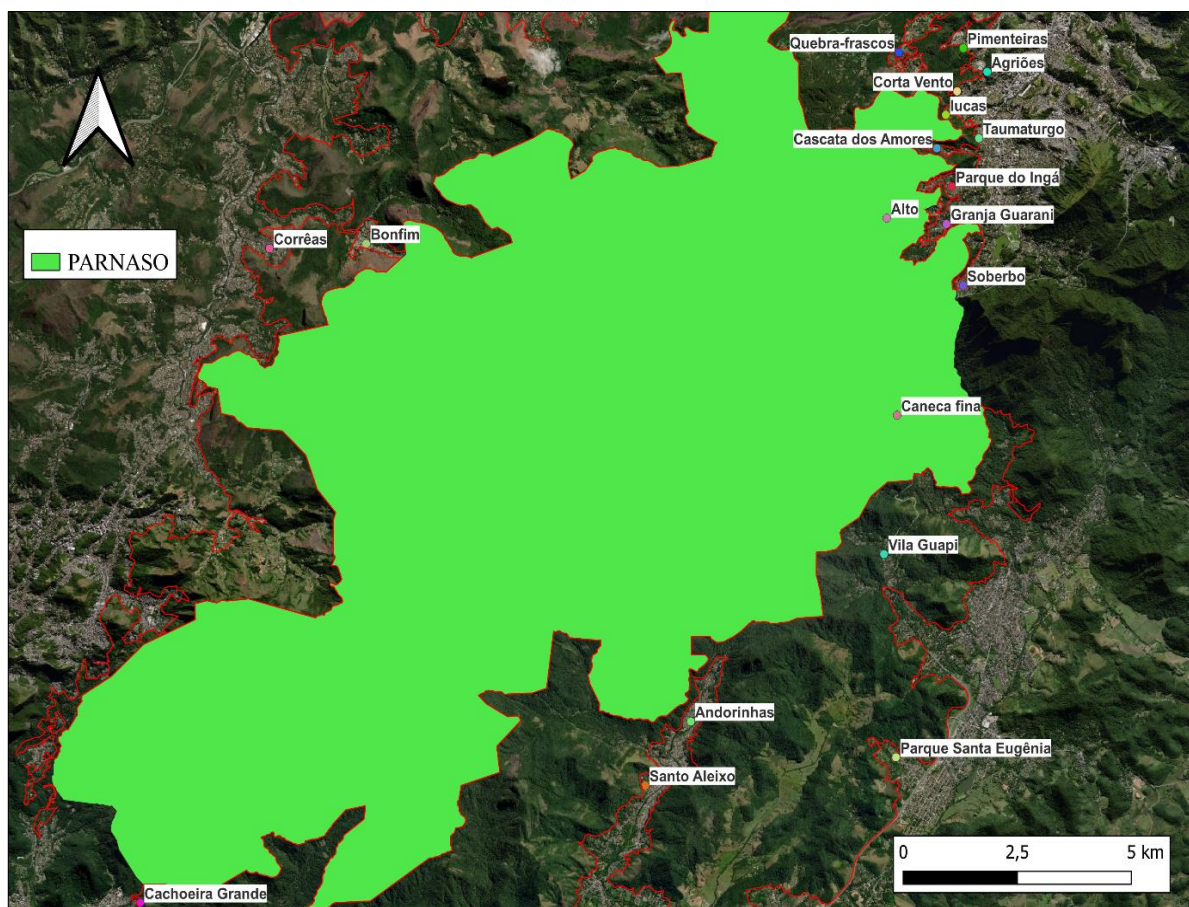


Figura 14. Bairros visitados para coleta de carrapatos em cães domésticos. Os bairros fazem parte da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os bairros em Teresópolis, foram: Soberbo, Alto, Granja Guarani, Parque do Ingá, Cascata do Amores, Lucas, Taumaturgo, Corta-vento, Agriões, Pimenteiras e Quebra-frascos. Em Guapimirim, os bairros visitados foram Vila Guapi, Caneca fina e Parque Santa Eugênia. No município de Magé, visitou-se Andorinhas, Santo Aleixo e Cachoeira Grande. Em Petrópolis, foram Corrêas e Bonfim. (Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e ICMBIO.)

2.2.3.2 Inspeção e coleta de amostras de animais selvagens

O PARNASO é atravessado por diversas estradas e vias (Figura 15), incluindo a BR-116/RJ. Com o objetivo de identificar e monitorar os animais selvagens atropelados nesse trecho da rodovia, foi criado o "Projeto Fauna Viva". Por meio do "Projeto Fauna Viva", muitos animais atropelados são encaminhados para a sede do PARNASO em Teresópolis. Infelizmente, alguns desses animais não resistem aos ferimentos e acabam por vir a óbito. No entanto, aqueles que se recuperam dos traumas são cuidadosamente reabilitados e, posteriormente, reintroduzidos na natureza, permitindo-lhes retornar ao seu habitat natural e contribuir para a manutenção da biodiversidade na região. A fim de preservar os espécimes e utilizá-los para fins científicos e educacionais, as carcaças dos animais que vêm a óbito são acondicionadas em freezers. Essa prática de conservação das carcaças permite o estudo posterior desses animais e a realização de pesquisas que podem contribuir para o entendimento da ecologia local e a tomada de medidas para mitigar os riscos de atropelamentos e preservar a fauna presente no entorno da BR-116/RJ.

A amostragem de animais a serem incluídos no estudo foi realizada por conveniência. Foram coletadas e incluídas no estudo 137 carcaças de animais selvagens que estavam

acondicionadas em freezers. Essas carcaças representam uma valiosa fonte de dados para pesquisas científicas, permitindo a análise retrospectiva voltada para pesquisa da presença de carrapatos e seus agentes patogênicos.

Esses animais (n = 137) incluíram representantes de 18 espécies, tais como Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (n=12); Cuica (*Caluromys* sp.) (n=4); Esquilo (*Guerlinguetus brasiliensis*) (n=6); Gambá-de-orelha-preta (*Didelphis aurita*) (n=22); Gato Maracajá (*Leopardus wiedii*) (n=3); Gato-do-mato-pequeno (*Leopardus guttullus*) (n=7); Irara (*Eira barbara*) (n=9); Jaguarundi (*Herpailurus yagouaroundi*) (n=3); Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*) (n=2); Mão-pelada (*Procyon cancrivorus*) (n=10); Ouriço-cacheiro (*Coendou spinosus*) (n=11); Paca (*Cuniculus paca*) (n=3); Preguiça-comum (*Bradypus variegatus*) (n=8); Quati (*Nasua nasua*) (n=9); Sagui (*Callithrix* sp.) (n=6); Tamandua-mirim (*Tamandua tetradactyla*) (n=13); Tapiti (*Sylvilagus brasiliensis*) (n=2); Tatu-galinha (*Dasypus novemcinctus*) (n=7).

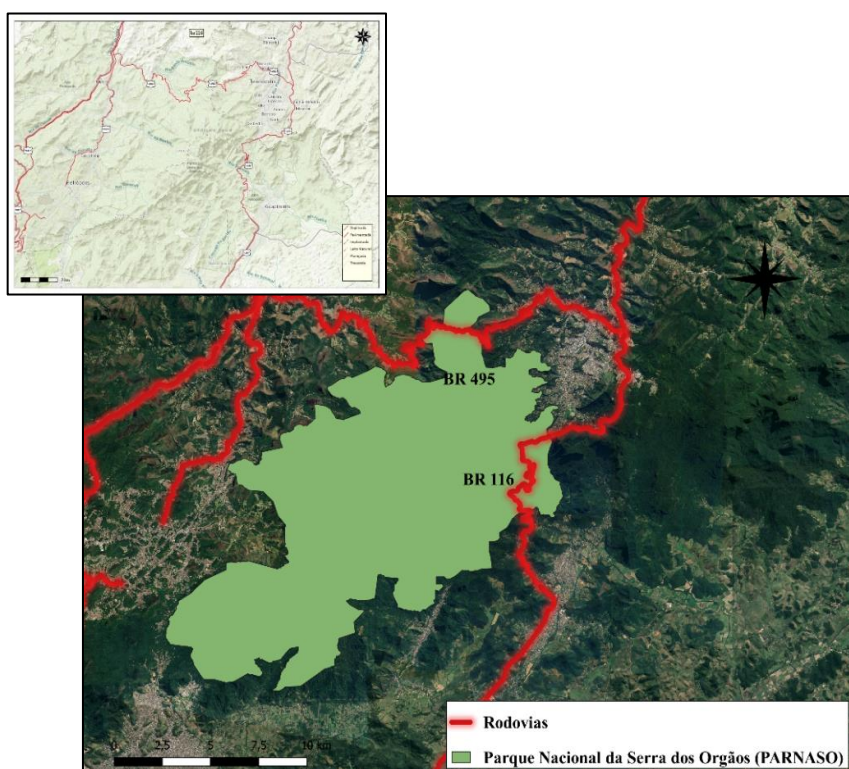


Figura 15. Mapa mostrando as rodovias que cortam o Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). A BR-116 e a BR-497 são estradas que cortam o PARNASO, conectando a capital do estado a diversos municípios, sendo rodovias altamente movimentadas. Os animais atropelados ao longo dessas rodovias eram encaminhados para a sede do PARNASO em Teresópolis, aos cuidados do Projeto Fauna Viva. As estradas têm impacto significativos na vida dos animais selvagens e seu habitat natural. (Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE, DNIT e ICMBIO.)

2.2.4 Centro de Reabilitação de Animais Selvagens (CRAS)

A fragmentação da Mata Atlântica no Rio de Janeiro resulta na presença de animais selvagens na metrópole, devido à redução de seus habitats naturais. Esses animais frequentemente se aproximam de áreas urbanas em busca de alimento e abrigo, aumentando os

conflitos entre a vida selvagem e as atividades humanas. Diante dessa situação, muitos desses animais são resgatados e encaminhados para o CRAS da região. O CRAS desempenha um papel crucial no atendimento e cuidado desses animais, possibilitando sua reabilitação e, quando possível, sua reintrodução segura na natureza.

Para complementação dos dados desta tese, foram usadas amostras de carrapatos de animais selvagens atendidos no CRAS/RJ, provenientes de fragmentos do bioma Mata Atlântica. As amostras chegaram no LDP/UFRJ em frascos contendo álcool absoluto, identificados individualmente para espécie hospedeira, para classificação morfológica da amostra e posterior análise molecular.

As amostras oriundas do CRAS foram provenientes de 12 animais das seguintes espécies: Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) (n= 1); Capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (n= 4); Tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) (n= 2); Gambá (*Didelphis aurita*) (n= 1); Preguiça (*Bradypus variegatus*) (n= 1); Puma (*Puma concolor*) (n= 1); Jibóia (*Boa constrictor*) (n= 1); Carcará (*Caracara plancus*) (n= 1).

2.3 Identificação dos carrapatos

Os espécimes de carrapatos coletados foram contados individualmente e classificados segundo os estágios de desenvolvimento. As larvas foram identificadas apenas a nível de gênero, enquanto ninfas e adultos foram identificados morfológicamente a nível de espécie, mediante a aplicação de chaves taxonômicas apropriada. Para carrapatos no Brasil foram usadas as chaves de Dantas-Torres et al. (2019); Martins et al. (2016). As amostras foram fotografadas com microscópio digital de Lente Dupla (Mustool MT315 2000x). Após identificação, os carrapatos foram acondicionados em frascos de Polipropileno com capacidade para 2 mL e congelados.

2.4 Análises moleculares

2.4.1 Extração de DNA

Os espécimes de carrapatos coletados compreendiam larvas, adultos e ninfas. Os carrapatos adultos foram cortados ao meio para futuros estudos. As amostras foram colocadas em tubos de Polipropileno com capacidade para 2 mL para início dos testes moleculares.

A extração de DNA das larvas, ninfas e adultos foi realizada individualmente para cada carrapato pelo método Fenol/Fenol-Clorofórmio, de acordo com o protocolo estabelecido por (SANTOLIN, 2014).

2.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Para visualizar a viabilidade do DNA, foi feita pesquisa do gene ITS-2 nas amostras de carrapatos. Para detecção de agentes transmitidos por carrapatos foi feita pesquisa molecular para microrganismos dos gêneros *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* e *Borrelia*. A tabela 1 mostra os primers específicos utilizados (Tabela 1).

Tabela 1. Sequências de oligonucleotídeos iniciadores utilizados para detecção de DNA dos microrganismos dos gêneros *Rickettsia*, *Borrelia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma* e *Babesia*) em carrapatos provenientes do bioma Mata Atlântica, Rio de Janeiro.

Iniciadores	Gene	Grupo de organismo	Sequências de nucleotídeos (5'-3')	Tamanho do fragmento (pb*)	Referência
ITS 2MR ITS2MF	ITS-2	Família Ixodidae	GATGGCTCCAGTATTCATCGGGGACGC	1312	(FUKUNAGA et al. 2000)
			GAGCCTTCGATGAGCGGAGATTGAC	946	
CS239 CS1069	gltA	<i>Rickettsia</i> spp.	GCTCTTCTCATCCTATGGCTATTAT	239 a 263	(LABRUNA et al., 2004)
			CAGGGTCTTCGTGCATTCTT	1069 a 1049	
FlaLL FlaRL FlaLS FlaRS	flaB	<i>Borrelia</i> spp.	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT	665	(STROMDAHL et al., 2003)
			GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT		
			AACAGCTGAAGAGCTTGGAATG	354	
			CTTTGATCACTTATCATTCTAATAGC		
BorFlaF1 BorFlaR1 BorFlaF2 BorFlaR2	flaB	<i>Borrelia</i> spp.	TACATCAGCTATTAATGCTTCAAGAA	740	(BLANCO et al., 2017)
			GCAATCATWGCCATTGCRGATTG		
			CTGATGATGCTGCTGGWATGG		
			TCATCTGTCAATRTWGCATCTT		
16S-Fin1 adapt 16SLDPR2	16S rRNA		CCAACACCTCACAGCACGAGCTGA	733	(DERDÁKOVÁ et al., 2003)
			AGCAGCTAAGAATCTTCCGCAATGG		
BTF1 BTR1 BTF2 BTR2	18S rRNA	Ordem Piroplasmida	GGCTCATTACAACAGTTATAG	961	(BLANCO et al., 2017)
			CCCAAAGACTTTGATTTCTCTC		
			CCGTGCTAATTGTAGGGCTAATAC	825	
			GGACTACGACGGTATCTGATCG		
DSBR-330 DSBF-380	Dsb2	<i>Ehrlichia</i> spp.	GATGATGTTTGAAGATATSAAACAAAT	750	(ALMEIDA et al., 2013)
			ATTTTTAGRGATTTTCCAATACTTGG		
Ana23S-212f Ana23S-908r	232S rRNA	<i>Anaplasma</i> spp.	ATAAGCTGCGGGGAATTGTC	750	(DAHMANI et al, 2015)
			GTAACAGGTTTCGGTCCTCCA		

Abreviações: *pb – pares de base

Foram realizadas PCR convencionais para ITS-2, *Rickettsia* spp., *Ehrlichia* spp. e *Anaplasma* spp. Para os gêneros *Babesia* e *Borrelia* foram realizadas reações Nested-PCR.

Para PCR convencional para ITS-2 foi obtido um produto de volume final de 12,5µL, sendo 1,5 µL de DNA extraído acrescido de 11,0 µL de *Master Mix* [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM dNTP's, 0,8 pmoles de cada iniciador, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional].

Já para *Rickettsia* spp. foi obtido um produto de volume final de 12,5µL, sendo 1, µL de DNA extraído acrescido de 11,5 µL de *Master Mix* [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM dNTP's, 0,8 pmoles de cada iniciador, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional].

Para *Anaplasma* spp. foi obtido um produto de volume final de 12,5µL, sendo 1, µL de DNA extraído acrescido de 11,5 µL de *Master Mix* [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM dNTP's, 0,8 pmoles de cada iniciador, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional].

A PCR para *Ehrlichia* spp. compreendeu volumes finais de 12,5 µL, onde 1,0 µL é do DNA extraído acrescido de 11,5 µL de Mix [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de dNTP's, 0,8 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional].

A primeira reação Nested-PCR para *Borrelia* spp. compreendeu volumes finais de 12,5 µL, onde 1,5 µL é do DNA extraído acrescido de 11 µL de Mix [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de dNTP's, 0,4 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional]. Já a segunda reação foi feita com 1 µL do produto de PCR amplificado da primeira reação acrescido de 11,5 µL de Mix [tampão 1X (5X Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de dNTP's, 0,4 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional], para se obter um volume final de 12,5µL.

Para *Babesia* spp. a primeira reação compreendeu volumes finais de 12,5 µL, onde 1,5 µL é do DNA extraído acrescido de 11 µL de Mix [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de dNTP's, 0,8 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional]. Já a segunda reação foi feita com 1 µL do produto de PCR amplificado da primeira reação acrescido de 11,5 µL de Mix [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de dNTP's, 0,4 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional], para se obter um volume final de 12,5µL.

As condições de PCR para ITS-2 foram as seguintes: desnaturação a 95°C por 2 minutos e 30 segundos; 40 ciclos a: 95°C por 30 segundos, 53 °C por 30 segundos, 72 °C por 1 minuto e 15 segundos; terminando a 72°C por 5 minutos. Foi usado DNA *Amblyomma* spp. como controle positivo.

Para *Rickettsia* spp. as condições de PCR foram as seguintes: desnaturação a 95°C por 2 minutos e 40 segundos; 40 ciclos a: 95°C por 30 segundos, 52 °C por 30 segundos, 72 °C por 40 segundos; terminando a 72°C por 5 minutos. Foi usado DNA de sangue de um cão doméstico infectado naturalmente por *R. rickettsii* como controle positivo.

As reações de amplificação para o gênero *Anaplasma* foram realizadas nas seguintes condições: desnaturação a 95 °C por 2 minutos e 20 segundos; amplificação de 40 ciclos consistindo em: 94 °C por 40 segundos, 55 °C por 40 segundos, 72 °C por 48 segundos; seguidos

de 72 °C por 5 minutos. Foi usado DNA de sangue de um cão doméstico infectado naturalmente por *A. platys* como controle positivo.

O gênero *Ehrlichia* teve como condições de PCR desnaturação a 95 °C por 2 minutos e 30 segundos; seguido por 40 ciclos de: 94°C por 30 segundos, 52 °C por 30 segundos, 72 °C por 45 segundos; finalizando a 72 °C por 5 minutos. Foi usado DNA de sangue de um cão doméstico infectado naturalmente por *E. canis* como controle positivo.

Os ciclos de temperatura e tempo foram os mesmos para ambas as reações (primária e nested) do gênero *Borrelia*. A termociclagem consistiu em uma desnaturação inicial por 2 minutos e 20 segundos a 95°C; seguidos de 35 ciclos a: 95°C por 40 segundos, 55°C por 40 segundos, 40 segundos a 75°C; depois 72 °C por 5 minutos. Foi usado DNA de *B. anserina* em cultivo como controle positivo.

Para o gênero *Babesia* foram usadas as seguintes condições de PCR: uma desnaturação inicial por 2 minutos e 30 segundos a 95°C; seguidos de 30 ciclos a: 95°C por 30 segundos, 62°C por 20 segundos, 30 segundos a 72°C; depois 72 °C por 5 minutos. Foi usado DNA de *B. bigemina* como controle positivo.

Como controles negativos para todas essas reações, foi utilizado água ultrapura aplicada dentro e fora do fluxo laminar de preparação do master mix. Todas as reações de PCR foram realizadas em termociclador modelo T100 (Bio-rad®).

2.4.3 Eletroforese e análise dos resultados

Produtos de PCR foram aplicados em gel de agarose a 1,5% (UltraPure™ LMP Agarose, Invitrogen®) no volume de 10 µl, e foram separados por eletroforese (5V/cm), corados com brometo de etídio (0,5 µg/mL) e visualizados em transiluminador de luz UV (L-PIX Sti, Locus). Para se estimar o tamanho dos fragmentos amplificados, os mesmos foram comparados com um padrão de peso molecular de 100pb (GeneRuler 100bases DNA Ladder, product #SM024, Thermo Scientific).

2.4.4 Sequenciamento

O material para sequenciamento foi purificado a partir de 5 µl do produto de PCR das amostras positivas, sendo tratados com Exo-Sap-IT (GE Healthcare®), seguindo o protocolo indicado pelo fabricante. Os fragmentos foram sequenciados em ambas as direções em um analisador genético automatizado (ABI 3730 DNA Analyser, Thermo Fisher Scientific®) na Plataforma de Bioinformática da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). As sequências obtidas foram alinhadas através do programa DNA Baser® e submetidas a pesquisa de homologia com outras sequências depositadas no GenBank, utilizando-se a ferramenta BLASTn.

2.5 Abundância Relativa e Índice de Shannon

Para calcular a abundância relativa (P_i) dos carrapatos em diferentes espécies hospedeiras e abundância relativa das espécies de carrapatos, foi usada a seguinte fórmula:

$$P_i = (n_i/N)$$

Onde N_i é o número de carrapatos nas espécies hospedeiras/ número de carrapatos de cada espécie e N é o número total de carrapatos. A abundância relativa é calculada dividindo o número de indivíduos de cada espécie pelo total de indivíduos de todas as espécies de carrapato encontradas.

No contexto do cálculo do índice de diversidade de Shannon, o logaritmo natural da abundância relativa (P_i) é calculada para cada espécie hospedeira, que é então multiplicada pelo negativo da abundância relativa ($-P_i$). Isso é representado pela equação:

$$-P_i * \ln(P_i)$$

Para calcular o índice de diversidade Shannon usando os dados fornecidos foi usada a seguinte fórmula:

$$H' = -\sum(P_i * \ln(P_i))$$

3 RESULTADOS

Foram adquiridos, através da coleta no PARNASO e seu entorno, um total de 298 carrapatos, sendo 20 de cães domésticos e 278 de animais selvagens (Tabela 2). Através do CRAS foram obtidos um total de 37 carrapatos (Tabela 3). Ao todo, foram 335 amostras de carrapatos analisadas neste estudo (Tabela 4).

Nos animais selvagens provenientes do PARNASO, foram encontrados carrapatos em 42 animais, que contemplavam 12 espécies (das 18 espécies analisadas) (Apêndice 1): Cachorro-do-mato (*C. thous*); Esquilo (*G. brasiliensis*); Gambá (*D. aurita*); Gato maracajá (*L. wiedii*); Irara (*E. barbara*); Lobo-guará (*C. brachyurus*); Mão-pelada (*P. cancrivorus*); Preguiça (*B. variegatus*); Quati (*N. nasua*); Ouriço (*C. spinosus*); Tamanduá-mirim (*T. tetradactyla*); Tapiti (*S. brasiliensis*) (Apêndice 1). Foram encontrados um total de 185 carrapatos no cachorro-do-mato, em diferentes fases de vida (21 adultos de *A. aureolatum*; 2 fêmeas de *A. ovale*; 26 ninfas de *A. sculptum*; 9 ninfas de *Amblyomma* sp.; 127 larvas de *Amblyomma* spp.); 24 larvas de *Amblyomma* sp. em esquilo; 3 carrapatos adultos *I. schulzei* e 1 ninfa de *A. sculptum* em gambá; 1 ninfa de *Amblyomma* sp. em gato maracajá; em Irara encontrou-se 3 adultos de *A. ovale*; 4 ninfas de *A. sculptum* e 1 larva de *Amblyomma* sp. em lobo-guará; no mão-pelada encontrou-se 6 adultos de *A. ovale* e 3 ninfas de *A. sculptum*; 2 machos de *A. varium* em preguiça; 1 *A. ovale* macho em quati; 6 machos de *A. calcaratum* e 8 exemplares adultos de *A. longirostre* em ouriço, assim como 1 ninfa de *Amblyomma* sp.; em tamanduás, encontrou-se 26 adultos de *A. nodosum* e 1 ninfa e 1 larva de *Amblyomma* sp.; e em tapeti 1 macho de *H. juxtakochi*.

Com relação as amostras provenientes do CRAS, os carrapatos tinham como hospedeiros 8 espécies diferentes de animais selvagens (Apêndice 2). Entre as espécies de carrapatos, encontrou-se 1 ninfa de *A. rotundatum* em jibóia (*B. constrictor*); 3 machos de *A. varium* em preguiça (*B. variegatus*); 1 ninfa de *A. sculptum* em carcará (*C. plancus*); 4 ninfas de *A. sculptum* em cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*); 2 fêmeas de *I. schulzei* em gambá (*D. aurita*); 4 machos, 4 fêmeas e 1 ninfa de *A. sculptum* e 3 fêmeas de *A. dubitatum* em capivaras (*H. hydrochaeris*); 1 macho de *A. aureolatum* em puma (*P. concolor*); e 6 machos e 7 fêmeas de *A. nodosum* em tamanduá-mirim (*T. tetradactyla*).

Nos cães domésticos, foram encontrados carrapatos nos 4 municípios pesquisados, podendo-se observar os bairros na Figura 16. Foram no total coletados 20 carrapatos em 16 animais dos 132 inspecionados, sendo 8 cães de Teresópolis; 4 cães de Guapimirim; 3 cães de Magé; e 1 cão de Petrópolis. Dentre os carrapatos encontrados, 9 eram adultos de *A. aureolatum* (sendo 4 fêmeas e 5 machos); 5 adultos de *A. ovale* (sendo 2 fêmeas e 3 machos); e 6 ninfas de *A. sculptum* (Tabela 5).

A média, o desvio padrão e a variância foram calculados para cada espécie de carrapato (Tabela 6). A média representa o número médio de carrapatos de cada espécie encontrada em todos os animais e localidades hospedeiros. O desvio padrão representa a variação ou dispersão do número de carrapatos de cada espécie em todos os animais e localidades hospedeiras.

Essas informações são relevantes para compreendermos a dinâmica dos carrapatos na Mata Atlântica e os potenciais riscos para os hospedeiros, sejam eles animais domésticos ou selvagens. Para melhor visualização, os carrapatos encontrados em cada hospedeiro podem ser observados distribuídos na tabela 7. Alguns dos carrapatos obtidos para este estudo podem ser vistos na figura 17.

Tabela 2. Espécies de carrapatos de acordo com as espécies dos hospedeiros, coletados na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e sua Zona de Amortecimento.

Hospedeiros	NA	Localidade	Carrapato										Total	
			<i>A. aur</i>	<i>A. cal</i>	<i>A. lon</i>	<i>A. nod</i>	<i>A. ova</i>	<i>A. scu</i>	<i>A. sp</i>	<i>A. spp</i>	<i>A. var</i>	<i>H. jux</i>		<i>I. sch</i>
<i>Cerdocyon thous</i>	6	PARNASO	18F, 3M					2F	26N	9N	127L			185
<i>Canis lupus familiaris</i>	16	ZA	4F, 5M					2F, 3M	6N					20
<i>Guerlinguetus brasiliensis</i>	3	PARNASO								24L				24
<i>Didelphis aurita</i>	3	PARNASO							1N				2F, 1M	4
<i>Leopardus wiedii</i>	1	PARNASO								1N				1
<i>Eira barbara</i>	3	PARNASO						2F, 1M						3
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	2	PARNASO							4N	1L				5
<i>Procyon cancrivorus</i>	4	PARNASO						5F, 1M	3N					9
<i>Bradypus variegatus</i>	2	PARNASO										2M		2
<i>Nasua nasua</i>	1	PARNASO						1M						1
<i>Coendou spinosus</i>	9	PARNASO		6M	7F, 1M					1N				14
<i>Tamandua tetradactyla</i>	7	PARNASO				3F, 23M				1N, 1L				29
<i>Sylvilagus brasiliensis</i>	1	PARNASO										1M		1
Total	58		30	6	8	26	17	40	38	127	2	1	3	298

Abreviações: NA= número de animais/ **PARNASO** = Parque Nacional da Serra dos Órgãos/ **ZA**= Zona de Amortecimento/ *A. aur*= *A. aureolatum*; *A. cal*= *A. calcaratum*; *A. lon*= *A. longirostre*; *A. nod*= *A. nodosum*; *A. ova*= *A. ovale*; *A. scu*= *A. sculptum*; *A. sp*= *Amblyomma* sp.; *A. spp*= *Amblyomma* spp.; *A. var*= *A. varium*; *H. jux*= *Haemaphysalis juxtakochi*; *I. sch.* = *I. schulzei* / M= macho; F= fêmea; N= ninfa

Tabela 3. Espécies de carrapatos de acordo com as espécies dos hospedeiros, coletados no Centro de Reabilitação de Animais selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ).

Hospedeiros	NA	Carrapato							Total
		<i>A. aur</i>	<i>A. dub</i>	<i>A. nod</i>	<i>A. rot</i>	<i>A. scu</i>	<i>A. var</i>	<i>I. sch</i>	
<i>Boa constrictor</i>	1				1N				1
<i>Bradypus variegatus</i>	1						3M		3
<i>Caracara plancus</i>	1					1N			1
<i>Cerdocyon thous</i>	1					4N			4
<i>Didelphis aurita</i>	1							2F	2
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	4		3F			4M,4F,1N			12
<i>Puma concolor</i>	1	1M							1
<i>Tamandua tetradactyla</i>	2			6M, 7F					13
Total	12	1	3	13	1	14	3	2	37

Abreviações: NA= número de animais/ *A. aur*= *A. aureolatum*; *A. dub*= *A. dubitatum*; *A. nod*= *A. nodosum*; *A. rot*= *A. rotundatum*; *A. scu*= *A. sculptum*; *A. var.*= *A. varium*; *I. sch.* = *I. schulzei* / M= macho; F= fêmea; N= ninfa

Tabela 4. Espécies de carrapatos de acordo com as espécies dos hospedeiros e fase estacionária, coletados para este estudo na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e sua Zona de Amortecimento; e recebido pelo Centro de Reabilitação de Animais selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ).

Hospedeiros	NA	Localidade	Carrapato													Total
			<i>A. aur</i>	<i>A. cal</i>	<i>A. lon</i>	<i>A. nod</i>	<i>A. ova</i>	<i>A. scu</i>	<i>A. sp</i>	<i>A. spp</i>	<i>A. var</i>	<i>H. jux</i>	<i>I. sch</i>	<i>A. dub</i>	<i>A. rot</i>	
<i>Cerdocyon thous</i>	6	PARNASO	18F, 3M				2F	26N	9N	127L					1N	185
<i>Canis lupus familiaris</i>	16	ZA	4F, 5M				2F, 3M	6N								20
<i>Guerlinguetus brasiliensis</i>	3	PARNASO							24L							24
<i>Didelphis aurita</i>	3	PARNASO						1N					2F, 1M			4
<i>Leopardus wiedii</i>	1	PARNASO							1N							1
<i>Eira barbara</i>	3	PARNASO					2F, 1M									3
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	2	PARNASO						4N	1L							5
<i>Procyon cancrivorus</i>	4	PARNASO					5F, 1M	3N								9
<i>Bradypus variegatus</i>	2	PARNASO									2M					2
<i>Nasua nasua</i>	1	PARNASO					1M									1
<i>Coendou spinosus</i>	9	PARNASO		6M	7F, 1M				1N							14
<i>Tamandua tetradactyla</i>	7	PARNASO				3F, 23M			1N, 1L							29
<i>Sylvilagus brasiliensis</i>	1	PARNASO										1M				1
<i>Boa constrictor</i>	1	CRAS													1N	1
<i>Bradypus variegatus</i>	1	CRAS									3M					3
<i>Caracara plancus</i>	1	CRAS						1N								1
<i>Cerdocyon thous</i>	1	CRAS						4N								4
<i>Didelphis aurita</i>	1	CRAS											2F			2
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	4	CRAS						4M,4F,1N						3F		12
<i>Puma concolor</i>	1	CRAS	1M													1
<i>Tamandua tetradactyla</i>	2	CRAS				6M, 7F										13
Total			31	6	8	39	17	54	38	127	5	1	5	3	1	335

Abreviações: NA= número de animais/ **PARNASO** = Parque Nacional da Serra dos Órgãos/ **ZA**= Zona de Amortecimento/ *A. aur*= *A. aureolatum*; *A. cal*= *A. calcaratum*; *A. lon*= *A. longirostre*; *A. nod*= *A. nodosum*; *A. ova*= *A. ovale*; *A. scu*= *A. sculptum*; *A. sp*= *Amblyomma* sp.; *A. spp*= *Amblyomma* spp.; *A. var.*= *A. varium*; *H. jux*= *Haemaphysalis juxtakochi*; *I. sch.* = *I. schulzei* / M= macho; F= fêmea; N= ninfa

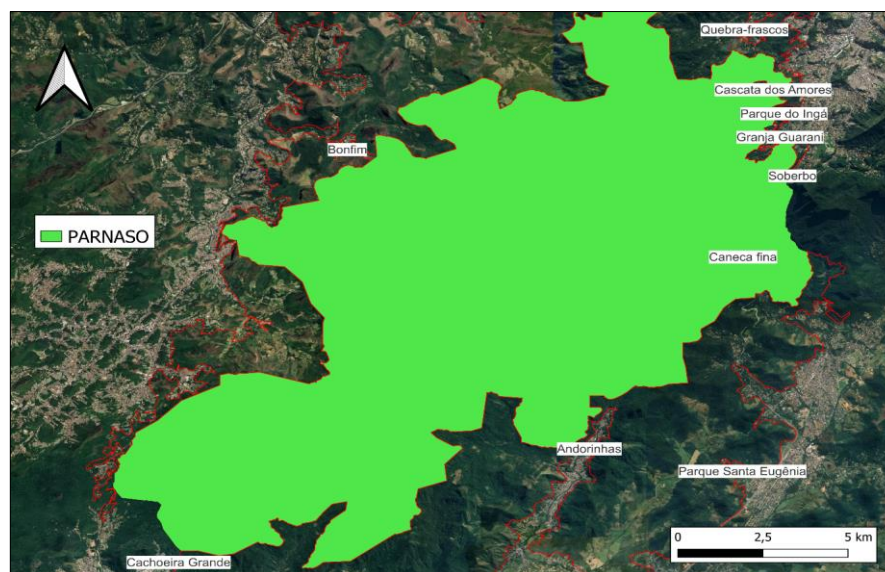


Figura 16. Mapa dos bairros pertencentes a Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos órgãos (PARNASO), em que foram encontrados carrapatos em cães domésticos.
(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e ICMBIO.)

Tabela 5. Espécies de carrapatos encontrados em cães domésticos provenientes da Zona de Amortecimento (ZA), do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO).

Nome	Idade	Sexo	Raça	Bairro	Município	Carrapato			Total
						A. aur	A. ova	A. scu	
Sarnenta	9	F	SRD	Caneca fina	Guapimiri m	1F			1
Hilda	2	F	Boxer	Parque Santa Eugênia	Guapimiri m	1F			1
Luis	4	M	Beagle	Parque Santa Eugênia	Guapimiri m		1F		1
Cristal	5	F	SRD	Parque Santa Eugênia	Guapimiri m			1N	1
Pulguinha	5	F	Pastor Alemão	Andorinhas	Magé	1M			1
Inês	3	F	Yorkshire	Andorinhas	Magé		1M		1
Bidu	11	M	SRD	Cachoeira Grande	Magé			1N	1
Proinha	4	F	SRD	Bonfim	Petrópolis	1F, 1M			2
Bethoven	11	M	Pit bull	Parque do Ingá	Teresópolis	1F, 2M			3
Bianca	3	F	Beagle	Cascata dos Amores	Teresópolis	1M			1
Suzi	8	F	SRD	Soberbo	Teresópolis		1F		1
Téo	3	M	SRD	Parque do Ingá	Teresópolis		1M		1
Amanda	4	F	Chow chow	Cascata dos Amores	Teresópolis		1M		1
Babu	7	F	SRD	Cascata dos Amores	Teresópolis			1N	1
Caramelo	5	M	Labrador	Quebra-frascos	Teresópolis			1N	1
Fifi	1	M	Pincher	Granja Guarani	Teresópolis			2N	2
Total									20

Abreviações: A. aur= *A. aureolatum*; A. ova= *A. ovale*; A. scu= *A. sculptum*; SRD= Sem Raça Definida.

Tabela 6. Média e desvio padrão das amostras coletadas para este estudo na área do Parque Nacional da Serra dos Órgãos e sua Zona de Amortecimento; e recebido pelo Centro de Reabilitação de Animais selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ).

Hospedeiros	NA	Localidade	Espécies Carrapatos													Total	Média	Variância	Desvio Padrão
			<i>A. aur</i>	<i>A. cal</i>	<i>A. lon</i>	<i>A. nod</i>	<i>A. ova</i>	<i>A. scu</i>	<i>A. sp</i>	<i>A. spp</i>	<i>A. var</i>	<i>H. jux</i>	<i>I. sch</i>	<i>A. dub</i>	<i>A. rot</i>				
<i>Cerdocyon thous</i>	6	PARNASO	21	0	0	0	2	26	9	127	0	0	0	0	0	185	14,231	1130,639	34,998
<i>Canis lupus familiaris</i>	16	ZA	9	0	0	0	5	6	0	0	0	0	0	0	0	20	1,538	8,556	3,045
<i>Guerlinguetus brasiliensis</i>	3	PARNASO	0	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	0	0	24	1,846	40,899	6,656
<i>Didelphis aurita</i>	3	PARNASO	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	0	0	4	0,308	0,675	0,855
<i>Leopardus wiedii</i>	1	PARNASO	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0,077	0,071	0,277
<i>Eira barbara</i>	3	PARNASO	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0,231	0,639	0,832
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	2	PARNASO	0	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	0	5	0,385	1,160	1,121
<i>Procyon cancrivorus</i>	4	PARNASO	0	0	0	0	6	3	0	0	0	0	0	0	0	9	0,692	2,982	1,797
<i>Bradypus variegatus</i>	2	PARNASO	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0,154	0,284	0,555
<i>Nasua nasua</i>	1	PARNASO	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,077	0,071	0,277
<i>Coendou spinosus</i>	9	PARNASO	0	6	8	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	15	1,154	6,438	2,641
<i>Tamandua tetradactyla</i>	7	PARNASO	0	0	0	26	0	0	2	0	0	0	0	0	0	28	2,154	47,669	7,186

<i>Sylvilagus brasiliensis</i>	1	PARNASO	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0,077	0,071	0,277
<i>Boa constrictor</i>	1	CRAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0,077	0,071	0,277
<i>Bradypus variegatus</i>	1	CRAS	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	3	0,231	0,639	0,832
<i>Caracara plancus</i>	1	CRAS	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0,077	0,071	0,277
<i>Cercodyon thous</i>	1	CRAS	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0,308	1,136	1,109
<i>Didelphis aurita</i>	1	CRAS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0,154	0,284	0,555
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	4	CRAS	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	3	0	12	0,923	6,071	2,565
<i>Puma concolor</i>	1	CRAS	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0,077	0,071	0,277
<i>Tamandua tetradactyla</i>	2	CRAS	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	1,000	12,000	3,606
Total	70		31	6	8	39	17	54	38	127	5	1	5	3	1	335	25,769		
Média			1,476	0,286	0,381	1,857	0,810	2,571	1,810	6,048	0,238	0,048	0,238	0,143	0,048	15,952			
Variância			22,726	1,633	2,902	36,789	2,916	33,197	28,345	731,474	0,562	0,045	0,562	0,408	0,045	1492,807			
Desvio Padrão			4,885	1,309	1,746	6,215	1,750	5,904	5,455	27,714	0,768	0,218	0,768	0,655	0,218	39,591			

Abreviações: NA= número de animais/ **PARNASO** = Parque Nacional da Serra dos Órgãos/ **ZA**= Zona de Amortecimento/ **A. aur**= *A. aureolatum*; **A. cal**= *A. calcaratum*; **A. lon**= *A. longirostre*; **A. nod**= *A. nodosum*; **A. ova**= *A. ovale*; **A. scu**= *A. sculptum*; **A. sp**= *Amblyomma* sp.; **A. spp**= *Amblyomma* spp.; **A. var.**= *A. varium*; **H. jux**= *Haemaphysalis juxtakochi*; **I. sch.** = *I. schulzei* / M= macho; F= fêmea; N= ninfa

Tabela 7. Hospedeiros e carrapatos encontrados neste estudo.

Espécie Carrapato	Hospedeiros														
	Cachorro do mato	Cão doméstico	Capivara	Carcará	Esquilo	Gambá	Irara	Jiboia	Lobo Guará	Mão Pelada	Ouriço	Preguiça	Puma	Tamanduá	Tapeti
<i>A. aureolatum</i>	•	•											•		
<i>A. calcaratum</i>											•				
<i>A. dubitatum</i>			•												
<i>A. longirostre</i>											•				
<i>A. nodosum</i>														•	
<i>A. ovale</i>	•	•	•							•					
<i>A. rotundatum</i>								•							
<i>A. sculptum</i>	•	•	•	•		•			•	•					
<i>Amblyomma sp</i>	•				•				•					•	
<i>A. varium</i>												•			
<i>H. juxtakochi</i>															•
<i>I. schulzei</i>						•									

Abreviações: *A. aur*= *A. aureolatum*; *A. cal*= *A. calcaratum*; *A. lon*= *A. longirostre*; *A. nod*= *A. nodosum*; *A. ova*= *A. ovale*; *A. scu*= *A. sculptum*; *A. sp*= *Amblyomma* sp.; *A. spp*= *Amblyomma* spp.; *A. var.*= *A. varium*; *H. jux*= *Haemaphysalis juxtakochi*; *I. sch.* = *I. schulzei*

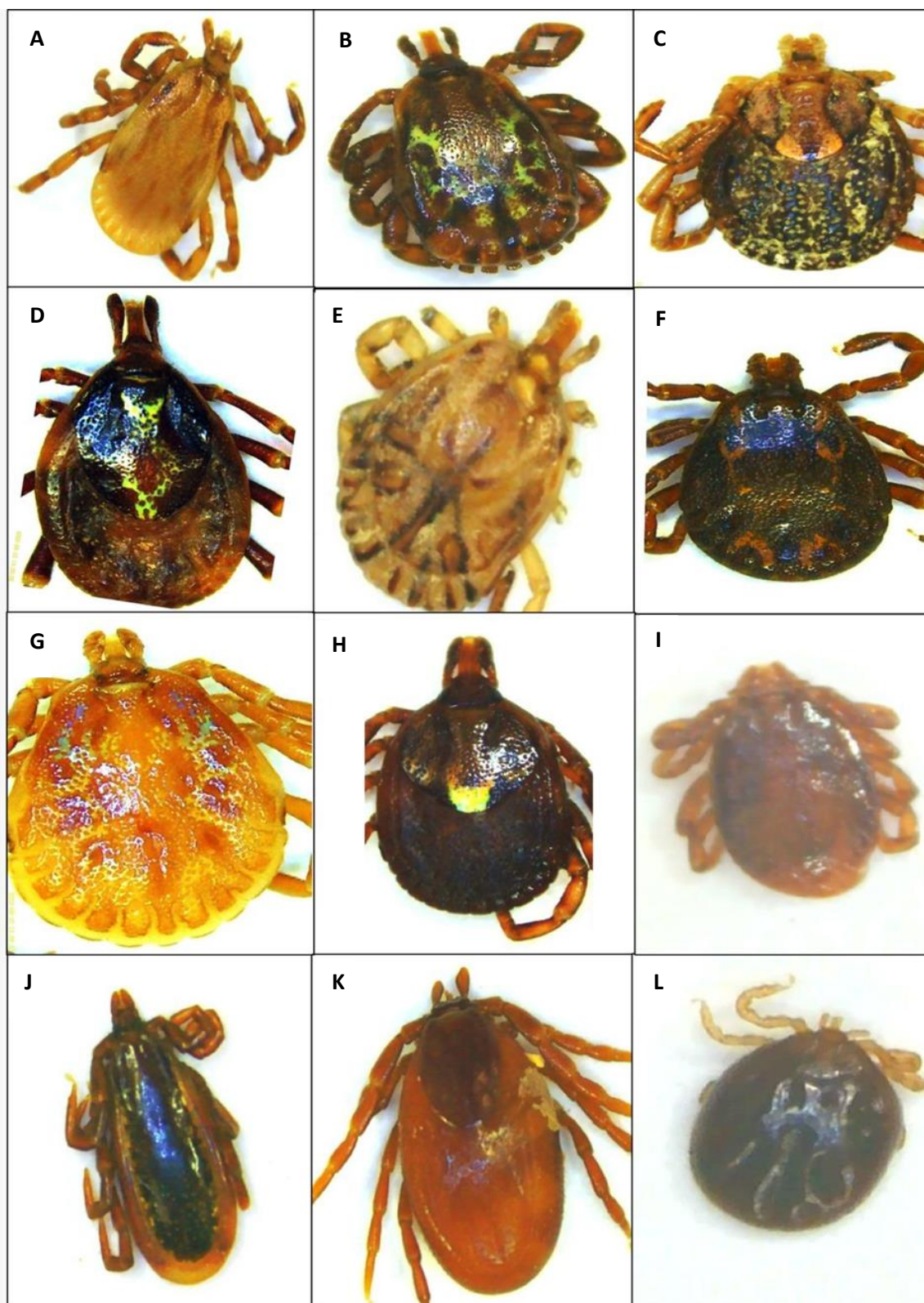


Figura 17. Espécimes de carrapatos coletados em área de Mata Atlântica, com suas respectivas fases e hospedeiro em que foi encontrado: **A** - *Amblyomma aureolatum*, macho, cão doméstico; **B** - *Amblyomma calcaratum*, adulto macho, ouriço; **C** - *Amblyomma dubitatum*, fêmea, capivara; **D** - *Amblyomma longirostre*, fêmea adulto, ouriço; **E** - *Amblyomma sculptum*, macho, capivara; **F** - *Amblyomma nodosum*, macho adulto, tamanduá; **G** - *Amblyomma varium*, macho adulto, preguiça; **H** - *Amblyomma ovale*, fêmea, irara; **I** - *Haemaphysalis juxtakochi*, macho, tapeti; **J** - *Ixodes schulzei*, macho, gambá; **K** - *Ixodes schulzei*, fêmea, gambá; **L** - *Amblyomma* spp, larva, lobo guará.

No geral, esses resultados destacam a diversidade de espécies de carrapatos presentes no Bioma da Mata Atlântica e sua distribuição em diferentes espécies hospedeiras. Eles também enfatizam a importância de entender os fatores que contribuem para a variação na carga de carrapatos entre as espécies hospedeiras e os possíveis impactos à saúde dos carrapatos na vida selvagem, animais domésticos e humanos.

Conforme os cálculos feitos para abundância relativa, obteve-se os resultados tabelas 8 e 9, com os seguintes valores para cálculo do índice de Shannon:

Para a diversidade sobre os carrapatos nas espécies hospedeiras, tem-se:

$$H' = -\sum(Pi * \ln(Pi))$$

$$H' = -1 * (-1,6334)$$

$$H' = 1,6334$$

Para a diversidade sobre as espécies de carrapatos, tem-se:

$$H' = -\sum(Pi * \ln(Pi))$$

$$H' = -1 * (-1,8944)$$

$$H' = 1,8944$$

O índice de diversidade de Shannon fornece uma medida da diversidade de espécies em uma determinada comunidade, levando em consideração o número de espécies presentes e sua abundância relativa. Nesse caso, para a abundância relativa dos carrapatos em diferentes espécies hospedeiras o valor do índice de diversidade Shannon foi de 1,63 (Tabela 8); e para as espécies de carrapatos o índice foi de 1,89 (Tabela 9).

Tabela 8. Abundância Relativa de acordo com as espécies hospedeiras e número de carrapatos coletado.

Espécies	No. Carrapatos	Abundância Relativa (Pi)	Abundância Relativa (%)	ln*Pi	Pi*ln(Pi)
<i>Cerdocyon thous</i>	189	0,564	56,418	-0,572	-0,323
<i>Canis lupus familiaris</i>	20	0,060	5,970	-2,818	-0,168
<i>Guerlinguetus brasiliensis</i>	24	0,072	7,164	-2,636	-0,189
<i>Didelphis aurita</i>	6	0,018	1,791	-4,022	-0,072
<i>Leopardus wiedii</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
<i>Eira barbara</i>	3	0,009	0,896	-4,716	-0,042
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	5	0,015	1,493	-4,205	-0,063
<i>Procyon cancrivorus</i>	9	0,027	2,687	-3,617	-0,097
<i>Bradypus variegatus</i>	5	0,015	1,493	-4,205	-0,063
<i>Nasua nasua</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
<i>Coendou spinosus</i>	14	0,042	4,179	-3,175	-0,133
<i>Tamandua tetradactyla</i>	42	0,125	12,537	-2,076	-0,260
<i>Sylvilagus brasiliensis</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
<i>Boa constrictor</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
<i>Caracara plancus</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	12	0,036	3,582	-3,329	-0,119
<i>Puma concolor</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
Total	335	1	95,522	-70,257	-1,633

Tabela 9. Abundância Relativa de acordo com as espécies de carrapatos coletados.

Espécies	No. Indivíduos	Abundância Relativa (Pi)	Abundância Relativa (%)	ln*Pi	Pi*ln(Pi)
<i>Amblyomma aureolatum</i>	31	0,093	9,254	-2,380	-0,220
<i>A. calcaratum</i>	6	0,018	1,791	-4,022	-0,072
<i>A. longirostre</i>	8	0,024	2,388	-3,735	-0,089
<i>A. nodosum</i>	39	0,116	11,642	-2,151	-0,250
<i>A. ovale</i>	17	0,051	5,075	-2,981	-0,151
<i>A. sculptum</i>	54	0,161	16,119	-1,825	-0,294
<i>Amblyomma</i> sp.	38	0,113	11,343	-2,177	-0,247
<i>Amblyomma</i> spp.	127	0,379	37,910	-0,970	-0,368
<i>A. varium</i>	5	0,015	1,493	-4,205	-0,063
<i>Haemaphysalis juxtakochi</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
<i>Ixodes schulzei</i>	5	0,015	1,493	-4,205	-0,063
<i>A. dubitatum</i>	3	0,009	0,896	-4,716	-0,042
<i>A. rotundatum</i>	1	0,003	0,299	-5,814	-0,017
Total	335	1	100	-44,993	-1,894

A interpretação do valor do índice de diversidade de Shannon é a seguinte: quanto maior o valor, maior a diversidade da comunidade. Em geral, os valores do índice de diversidade de Shannon abaixo de 1,0 indicam baixa diversidade, valores entre 1,0 e 2,0 indicam diversidade moderada e valores acima de 2,0 indicam alta diversidade.

Portanto, um valor do índice de diversidade de Shannon de 1,63 e de 1,89 indicam que a comunidade tem um nível moderado de diversidade de espécies. Isso significa que existem muitas espécies diferentes presentes e que são relativamente distribuídas uniformemente em termos de sua abundância relativa.

Entre as amostras examinadas por PCR, houve 4 amostras positivas (Tabela 10), sendo que usando as sequências gltA como alvo para *Rickettsia* spp., um total de 4 amostras (1,2%) produziram amplicons dos tamanhos esperados. Os dados das análises moleculares forneceram identificações tais como *Rickettsia* sp. cepa AL em *A. longirostre* (2 machos) de ouriço; *R. belli* em *A. aureolatum* (1 fêmea) de cachorro-do-mato; *R. paranaensis* em *A. parkeri* em ouriço (1 ninfa).

Das amostras testadas para a presença de *Borrelia* spp., tendo como alvo os genes flaB, apenas uma (0,3%) produziu amplicons do tamanho esperado, referente a um carrapato da espécie *Amblyomma varium*, em preguiça. Não há relato na literatura, até o presente momento, de *Borrelia* sp. em *A. varium*.

As amostras testadas usando como alvo as sequências do gene 23S presente em organismos da Família Anaplasmataceae; do gene dsb em *Ehrlichia*; do gene 18S rRNA presente em *Babesia* spp., foram todas negativas.

A tabela 10 demonstra as sequências homólogas aos fragmentos dos genes de *Rickettsia* spp. detectados nas amostras positivas de carrapatos.

Os números de acesso à sequência de nucleotídeos GenBank para as sequências parciais geradas no presente estudo são: MT012716.1 (*Rickettsia amblyommatis* isolate AL13A); MK962697.1 (*Rickettsia belli* isolate ES); MK252670.1 (*Candidatus Rickettsia paranaensis* strain ApPR isolate LIC 8332 citrate synthase); MT018005.1 (*Borrelia* sp. clone Acalc110).

Tabela 10. Detecção molecular dos gêneros *Rickettsia* e *Borrelia* em carrapatos de animais selvagens, do bioma Mata Atlântica, no estado do Rio de Janeiro.

Carrapatos				Gênero <i>Rickettsia</i>		Gênero <i>Borrelia</i>	
Espécie	Est.	Nº	Hospedeiro	Nº pos.	<i>gltA</i>	Nº pos.	<i>FlaB</i>
<i>Amblyomma longirostre</i>	A	8	Ouriço	2	<i>Rickettsia</i> sp. cepa AL	0	
<i>Amblyomma aureolatum</i>	A	31	Cachorro-do-mato	1	<i>Rickettsia belli</i>	0	
<i>Amblyomma parkeri</i>	N	1	Ouriço	1	<i>Rickettsia paranaensis</i>	0	
<i>Amblyomma varium</i>	A	5	Preguiça	0		1	<i>Borrelia</i> sp.

Tabela 11. Sequências homólogas aos fragmentos dos genes de *Rickettsia* spp. e *Borrelia* sp. detectados em carrapatos provenientes do bioma Mata Atlântica, Rio de Janeiro.

Espécie Carrapato		gltA			flaB		
		Isolado	Espécie/ cepa homóloga	Nº de acesso	Homologia	Espécie/ cepa homóloga	Nº de acesso Homologia
<i>Amblyomma longirostre</i>		20_PARNASO	<i>Rickettsia amblyommatis</i> isolate AL13A	MT012716.1	100%		
<i>Amblyomma longirostre</i>		53_PARNASO	<i>Rickettsia amblyommatis</i> isolate AL13A	MT012716.2	100%		
<i>Amblyomma aureolatum</i>		37_PARNASO	<i>Rickettsia belli</i> isolate ES	MK962697.1	100%		
<i>Amblyomma parkeri</i>		331_PARNASO	<i>Candidatus Rickettsia paranaensis</i> strain ApPR isolate LIC 8332	MK814825.1	100%		
<i>Amblyomma varium</i>		9_PARNASO				<i>Borrelia</i> sp. clone Acalc110	MT018005.1 96%

4 DISCUSSÃO

Neste estudo, foram examinados carrapatos de animais selvagens e cães domésticos provenientes de fragmentos do bioma Mata Atlântica, no estado do Rio de Janeiro, e agentes patogênicos transmitidos por esses carrapatos.

Os resultados revelaram uma ampla variedade de espécies de carrapatos encontradas nas amostras coletadas. Entre as espécies identificadas, destacam-se *Amblyomma aureolatum*, *A. ovale*, *A. sculptum*, *A. sp.*, *A. varium*, *A. calcaratum*, *A. longirostre*, *A. nodosum*, *Haemaphysalis juxtakochi* e *Ixodes schulzei*. Essa diversidade é consistente com outros estudos realizados na Mata Atlântica, que enfatizam a região como um *hotspot* para a ocorrência de carrapatos e uma das áreas mais importantes para a sua diversidade no Brasil (LABRUNA et al., 2005; MARTINS et al., 2010; MARTINS et al., 2016).

Em termos do número médio de carrapatos encontrados por espécies hospedeiras, ressalta-se que havia uma ampla variedade, com alguns hospedeiros tendo poucos carrapatos (como *Leopardus wiedii*, que apresentou somente 1), enquanto outros tinham carrapatos em números elevados (por exemplo, 127 em *Cerdocyon thous*).

A abundância relativa (P_i) é uma medida que indica a proporção de indivíduos de cada espécie em relação ao total de indivíduos de todas as espécies. Quanto maior o valor de P_i , maior é a representatividade da espécie na amostra (Tabelas 7 e 8). O produto do logaritmo natural com a abundância relativa (P_i) é calculado para cada espécie. Esse produto mostra a contribuição da espécie para a diversidade total. Um valor próximo de zero indica que a espécie contribui pouco para a diversidade total de carrapatos na amostra, enquanto um valor negativo indica que ela pode estar diminuindo a diversidade total.

Ao examinar os resultados, observa-se que algumas espécies, como *A. sculptum*, *Amblyomma* spp. e *A. aureolatum*, apresentam altas abundâncias relativas e, portanto, têm uma contribuição significativa para a diversidade total de carrapatos na amostra. Essas espécies são importantes em termos de representatividade na comunidade de carrapatos estudada.

Os carrapatos *Amblyomma* são particularmente preocupantes devido à sua ampla distribuição geográfica, alta prevalência em muitas regiões e associação com uma variedade de hospedeiros vertebrados, incluindo animais domésticos, selvagens e humanos (MARTINS et al, 2019). Foi a espécie mais abundante, *Amblyomma* spp., devido ao alto número de larvas encontrados em cachorros-do-mato, 127 amostras (37,91%).

Algumas espécies de *Amblyomma* representam grande importância para saúde pública, pois muitas já foram descritas como participantes do ciclo de transmissão da bactéria *Rickettsia rickettsii*, responsável pela Febre Maculosa (FM) no Brasil (SZABÓ et al., 2013). No Brasil, há relatos de Febre Maculosa (FM) transmitida por carrapatos como *A. sculptum* e *A. aureolatum*.

Amblyomma sculptum foi a segunda espécie de carrapato mais abundante, encontrada em 54 das 335 amostras (16,12%), distribuídos em diferentes hospedeiros: cachorro-do-mato; cão-doméstico; capivara; carcará; gambá; lobo-guará; e mão-pelada, oriundos tanto do PARNASO quanto do CRAS. A primeira espécie mais abundante foi *Amblyomma* spp., onde foram encontradas 127 larvas (37,91%) em cachorro-do-mato. *Amblyomma sculptum* é conhecido por ser um vetor de outros patógenos além de *R. rickettsii*. Com base em investigações epidemiológicas, a hipótese mais aceita de transmissão da doença de Lyme-like brasileira para humanos no Brasil (ou Síndrome de Baggio-Yoshinari - SBY), é via *A. sculptum*, anteriormente conhecido como *A. cajennense* (DANTAS-TORRES 2019; BEATI et al. 2013; NAVA et al. 2014; NAVA et al. 2017). Esta é uma espécie de carrapato comum no Brasil, principalmente na região sudeste, onde está localizada a Serra dos Órgãos.

Esta espécie, *A. sculptum*, distribui-se por extensas áreas na América do Sul, abrangendo atualmente todo o bioma Cerrado e Pantanal e grande parte do devastado bioma Mata Atlântica no Brasil, e pode desempenhar um papel na transmissão de outros patógenos, como *Teileria equi* para cavalos. É conhecido por estar envolvido no ciclo da FM apenas em parte do Cerrado, o segundo maior bioma brasileiro, e em algumas áreas antropizadas do bioma Mata Atlântica (SZABÓ et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015).

Além da FM, casos de uma variedade mais branda de FM foram confirmados no Cerrado (OLIVEIRA et al., 2016), mas sem evidência de vetor e agente etiológico. Além disso, parte do Cerrado é uma área silenciosa para SF, onde o conhecimento sobre a história natural, a presença de *Rickettsia* patogênica e a epidemiologia da doença são incipientes. O mesmo se aplica ao Bioma Mata Atlântica.

Amblyomma aureolatum foi a segunda espécie de carrapato mais prevalente encontrada no estudo, com 31 amostras positivas (9,25%), presentes além do cão doméstico, em cachorro do mato proveniente do PARNASO e uma puma do CRAS. Como já citado, essa espécie de carrapato é conhecida como vetor de *R. rickettsii*, agente causador da FM, e já foi encontrada em várias outras regiões brasileiras. A alta prevalência de *A. aureolatum* e *A. sculptum* encontrada neste estudo sugere que a presença de vetores causadores da FM na região da Serra dos Órgãos é significativa e evidencia a necessidade de estudos mais aprofundados nesta temática, principalmente por ter sido uma espécie encontrada tanto em animais selvagens quanto cães domésticos. A presença de *A. aureolatum* em Magé, apesar de ser uma região de baixa altitude, pode ser explicada pela proximidade com o PARNASO e pelas características da área, como mata fechada, ausência de residências próximas e difícil acesso. A mata fechada e a proximidade com o PARNASO favorecem a presença de animais selvagens que podem ser hospedeiros dos carrapatos, permitindo sua colonização em novos territórios.

Cães domésticos soltos na área de mata fechada também podem adquirir carrapatos, atuando como dispersores desses parasitas quando retornam à área habitada. As interações entre animais selvagens e cães domésticos podem aumentar a dispersão de carrapatos e a translocação entre diferentes hospedeiros, tornando importante entender esses padrões para proteger a saúde dos animais e conservar o ecossistema.

A importância da presença de *A. sculptum* e *A. aureolatum* tanto em animais silvestres quanto em cães domésticos na região se dá por diversos fatores. Por exemplo, o padrão demográfico observado para *A. aureolatum* pode estar associado à fragmentação da Mata Atlântica, que consequentemente leva a reduções tanto na abundância quanto na riqueza de espécies de hospedeiros vertebrados. Isso contrasta com a alta densidade de cães domésticos - animais que podem acessar a mata e depois voltar para casa infestados com *A. aureolatum* para causar a expansão do carrapato em escala local (GUGLIELMONE et al, 2014; OGRZEWALSKA et al, 2011).

Além disso, o rápido crescimento populacional desse ixodídeo merece atenção, pois, em condições de laboratório, adultos de *A. aureolatum* infectados com *R. rickettsii* podem transmitir essa bactéria em cerca de 10 minutos após a adesão inicial da pele a um segundo hospedeiro (SARAIVA et al, 2014).

Também se encontra na literatura *A. aureolatum* como vetor de cepa *R. parkeri* cepa mata atlântica (MEDEIROS et al, 2011), *R. parkeri* sensu stricto (DALL'AGNOL et al, 2018; SOUZA et al, 2021), *R. asembonensis* (SOUZA et al, 2021), *R. felis* (OGRZEWALSKA et al, 2012), *R. bellii* (OGRZEWALSKA et al, 2012).

No presente trabalho encontrou-se *Rickettsia bellii* em *A. aureolatum* coletado de cachorro-do-mato proveniente do PARNASO.

A relação entre *R. bellii* e *A. aureolatum* é que os carrapatos servem de vetor para a bactéria. Em um estudo, 10 dos 669 carrapatos *A. aureolatum* coletados de cães naturalmente

infestados em uma área endêmica da febre maculosa brasileira foram encontrados infectados com *R. bellii*. (PINTER; LABRUNA, 2006).

Rickettsia bellii pode desempenhar um papel importante na epidemiologia das doenças rickettsiais por inibir a manutenção de outras espécies de rickettsias patogênicas no carrapato (PACHECO et al, 2011). *Rickettsia bellii* também foi encontrado infectando outras espécies de carrapatos no Brasil, incluindo *A. ovale* e *A. incisum* (PACHECO et al, 2008). Organismos *R. bellii* de carrapatos coletados em Rondônia - *A. scalpturatum*, *A. ovale*, *A. rotundatum* e *A. oblongoguttatum* - foram isolados em células Vero, mas apenas um dos isolados, cultivado de *A. scalpturatum*, foi estabelecido em passagem contínua de cultura celular (LABRUNA et al, 2004).

No presente trabalho, foi observado *A. aureolatum* em cães em 4 municípios que fazem parte da ZA do PARNASO (Teresópolis, Petrópolis, Guapimirim e Magé). Os cães eram domiciliados, mas alguns circulavam livremente nas áreas de mata do parque, ressaltando a importância da interface animais domésticos-selvagens.

Um levantamento feito na base de dados do governo brasileiro DATASUS, mostrou os casos em humanos, de FM, na região que abrange o PARNASO e os casos totais no estado do Rio de Janeiro, para fins comparativos (Quadro 1). Não foram incluídos os municípios de Guapimirim e Petrópolis, pois não houve casos no período observado.

Quadro 1. Número de casos de Febre Maculosa e sua taxa de incidência nos municípios de Teresópolis, Magé e no Estado do Rio de Janeiro, entre os anos de 2016 e 2020.

Ano	Municípios							
	Teresópolis	Pop Teresópolis	Incidência/100 mil	Magé	Pop. Magé	Incidência/100 mil	Pop. Estado RJ	Estado RJ RJ Incidência/100 mil
2016	0	177.435	0	0	240.801	0	16947738	14 0,0826069
2017	1	179.122	0,5582787	0	242.197	0	17051465	18 0,1055628
2018	1	180.886	0,5528344	0	243.657	0	17159960	11 0,0641027
2019	0	182.594	0	0	245.071	0	17264943	34 0,1969309
2020	0	184.240	0	1	246.433	0,4057898	17366189	13 0,0748581

(Fonte: DATASUS, 2020)

Com base na população dos municípios em cada ano, foi calculado a taxa de incidência, para maior compreensão da situação da FM no estado do Rio de Janeiro. Observa-se uma baixa incidência de casos como um todo, porém não se pode subestimar a subnotificação dos casos. Portanto, ressalta-se a importância de mais estudos nesta temática. A compreensão dos vetores e sua dinâmica com os agentes é de grande relevância para estudos com agentes transmitidos por carrapatos.

Também neste estudo foi encontrado *R. paranaensis* em *Amblyomma parkeri* de ouriço proveniente do PARNASO.

Rickettsia paranaensis é uma espécie de bactéria do gênero *Rickettsia*, recém-identificada, que infecta carrapatos *A. parkeri* no Brasil, sendo detectada em região de Mata Atlântica (BORSOI et al, 2019). Esta espécie foi identificada em vários estudos junto com outras espécies de *Rickettsia*, indicando a possibilidade de surgimento de novos cenários de febre maculosa no Brasil (DURÃES et al, 2021). O nome "*Candidatus R. paranaensis*" é um nome provisório para organismos bem caracterizados, mas ainda não cultivados (PECKLE et al, 2019).

Esta cepa é considerada uma variante genética de *R. parkeri* sensu stricto, que está intimamente relacionada com *R. africae* e *R. sibirica* (NIERI-BASTOS et al, 2018; PECKLE et al, 2019).

Amblyomma parkeri é uma espécie de carrapato que tem sido relatada como parasita de humanos na área de Mata Atlântica do Brasil (BORSOI et al, 2019). Está intimamente relacionado com o *A. maculatum*, que é um artrópode vetor da *R. parkeri*, agente causador da boutonneuse americana, muito relatado nos Estados Unidos (SUMNER et al, 2007).

Desde 2010, uma nova riquetsiose causada por *R. parkeri*, espécie incluída no grupo das febres maculosas (SFG) e transmitida pelo carrapato *A. ovale*, vem sendo descrita no Brasil (DA PAIXÃO SEVÁ et al, 2019). Este agente também é encontrado na literatura parasitando *A. dubitatum* (WECK et al, 2017); *A. triste* (SILVEIRA et al, 2007); *A. ovale* (FACCINI-MARTÍNEZ et al, 2020).

A cepa de *Rickettsia* da Mata Atlântica demonstrou estar fortemente associada com carrapatos *A. ovale* da Mata Atlântica e parece ter uma ampla distribuição, pelo menos na costa atlântica sul-sudeste do Brasil (SZABÓ et al., 2013). Estudos mostram as populações de carrapatos *A. ovale* atingindo níveis de infecção em torno de 10% (SZABÓ et al., 2013). É importante ressaltar que o adulto dessa espécie de carrapato se alimenta prontamente de cães e, portanto, é frequentemente relatado em cães mantidos soltos em áreas rurais próximas a ambientes naturais (SZABÓ et al., 2001, 2010, 2013). Além disso, a picada humana do carrapato adulto *A. ovale* é frequente (GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2006).

Amblyomma ovale também foi encontrado no estudo, com 17 amostras ao todo (5,07%), todas provenientes de animais do PARNASO, englobando cachorro-do-mato; cão doméstico; gambá; irara; mão-pelada; quati. Esta espécie de carrapato é comumente encontrada no Brasil e é vetor patógenos de importância médico-veterinária. A alta prevalência de *A. ovale* encontrada neste estudo reforça a importância do monitoramento dessa espécie de carrapato na região da Serra dos Órgãos para detecção precoce de doenças transmitidas por carrapatos.

Em animais selvagens, infestações por *A. ovale* foram relatadas em uma ampla gama de espécies, incluindo tatus, gambás, roedores, primatas e carnívoros. Na Amazônia brasileira, *A. ovale* foi encontrado infestando roedores selvagens, como *Proechimys* spp. e *Oryzomys* spp. (OGRZEWALSKA et al., 2011), enquanto no bioma Cerrado foi encontrado infestando o quati sul-americano (*Nasua nasua*) (SANCHES et al., 2018).

Destaca-se que *A. aureolatum*, *A. sculptum* e *A. ovale* ocorreram em cães domésticos e em diferentes espécies de animais selvagens.

Apesar de *A. sculptum* e *A. aureolatum* serem considerados vetores da *R. rickettsii*, particularmente no estágio de ninfas; experimentalmente *A. dubitatum* mostrou que também possui potencial de transmissão para tal (SAKAI et al., 2014; SOARES et al., 2012). Estudos mostram que *A. dubitatum* geralmente apresenta um tipo de *Rickettsia* que não está associada à febre maculosa brasileira e que não é patogênica, a *R. bellii* (PACHECO, 2009).

Neste estudo foi encontrado carrapatos da espécie *Amblyomma dubitatum* em capivaras. Essas amostras foram encaminhadas do CRAS. Capivaras são conhecidas por serem hospedeiros comuns de *A. dubitatum* na América do Sul (SZABÓ et al, 2013). Observa-se que *A. dubitatum* ocorre em microambientes mais úmidos, embora existam locais com sobreposição de áreas (simpatria microambiental), o que aumenta sua distribuição (QUEIROGAS et al., 2012; SZABÓ et al., 2007; PAJUABA et al., 2018).

Amblyomma dubitatum é uma espécie de carrapato comumente encontrada na região neotropical da América do Sul, incluindo o Brasil. O carrapato é conhecido por infestar uma grande variedade de mamíferos selvagens, incluindo tatus, capivaras, veados e roedores, entre outros. É também um importante vetor de diversas doenças que afetam tanto animais selvagens, domésticos, quanto humanos (RAMOS et al., 2018; LABRUNA et al., 2004). Este carrapato também tem sido implicado na transmissão de outros patógenos para animais domésticos, como *Hepatozoon canis* e *Babesia vogeli* (VIEIRA et al., 2011; PINTER; LABRUNA, 2006).

Apesar de neste estudo não ter sido encontrado *A. dubitatum* na área do PARNASO ou em cães domésticos na ZA, ressalta-se a importância deste carrapato nessa interface animais domésticos-animais selvagens.

Outro carrapato de animais selvagens que já foi relatado parasitando cães domésticos é o *A. calcaratum* (GOMES et al., 2013). *Amblyomma calcaratum* é uma espécie de carrapato comumente encontrada na região neotropical, incluindo o Brasil. É conhecido por parasitar uma ampla gama de animais selvagens. Neste estudo, esta espécie foi encontrada em ouriços. Esse achado é consistente com pesquisas anteriores que documentaram a presença dessa espécie de carrapato em diferentes regiões do Brasil, incluindo o bioma Mata Atlântica (SZABÓ et al., 2019).

De acordo com Dobson, & Foufopoulos (2001), *A. calcaratum* possui preferência por mamíferos da Ordem Xenarthra, sendo um importante parasito de Tamanduás. Essa espécie também é capaz de transmitir *Rickettsia* spp. e tem uma distribuição cosmopolita, podendo ser de grande importância médico-veterinária.

A fase adulta de *A. calcaratum* alimenta-se quase que exclusivamente de tamanduás, enquanto larvas e ninfas foram encontradas alimentando-se de aves (GUGLIELMONE et al., 2003). Jones e colaboradores (1972) citaram estágios imaturos de *A. calcaratum* em aves sem identificação da espécie. *A. calcaratum* foi relatada em vários países da América Central e do Sul (GUGLIELMONE et al., 2003). Também foi encontrado no México (GUZMAN-CORNEJO et al., 2006). Há também um registro isolado de um adulto de *A. calcaratum* nos Estados Unidos, que parece ser resultado do raro transporte de uma ninfa ingurgitada por uma ave migratória (BLOEMER et al., 1987).

Vale ressaltar que *A. calcaratum* foi encontrada em ouriços, enquanto em tamanduás foi observado a presença de *A. nodosum*. Foram encontrados 6 (1,79%) espécimes de *A. calcaratum* em ouriço no presente trabalho.

A ocorrência de *A. calcaratum* é particularmente preocupante devido à sua capacidade de transmitir uma variedade de agentes patogênicos, incluindo *R. parkeri*. Essa espécie de carrapato também tem sido associada à transmissão de outros agentes patogênicos, como *R. bellii* e *R. amblyommatis* (ABREU et al., 2019).

O patógeno *R. amblyommatis* cepa AL foi encontrado em carrapatos *A. longirostre* em ouriços do PARNASO (2 espécimes machos).

Nem *A. calcaratum* nem *A. nodosum* já foram relatados por picar humanos, enquanto *A. longirostre* foi relatado por infestar humanos, mas apenas esporadicamente (GUGLIELMONE et al., 2006; SERRAFREIRE, 2010).

Um estudo realizado em 2018 (LUZ et al., 2018) na mesma área de pesquisa do presente trabalho (PARNASO), encontrou registros de *A. longirostre* em *Trinomys dimidiatus* e *Bradypus torquatus*. Essa espécie de carrapato tem ampla distribuição por toda a região Neotropical, e seus adultos têm sido comumente relatados parasitando espécies de roedores, especialmente do gênero *Coendou* (BARROS-BATTESTI et al., 2006; NAVA et al., 2010; 2017). Fases imaturas preferem aves selvagens, principalmente passeriformes (OGRZEWSKA et al., 2009; LUZ; FACCINI, 2013; LUZ et al., 2017).

Entre as preguiças, apenas *Bradypus tridactylus* havia sido previamente relatado parasitado por *A. longirostre* (NAVA et al., 2010), ressaltando que *B. torquatus* é considerada uma espécie ameaçada de extinção (BRASIL, 2003; IUCN, 2004). Os hábitos arborícolas desse mamífero provavelmente possibilitam o parasitismo por essa espécie de carrapato como já foi hipotetizado por Labruna et al. (2007) para a associação de *A. longirostre* e porco-espinho.

Também se encontra na literatura estudos detectando *R. amblyommii* em estágios imaturos de *A. longirostre* coletados de aves no estado da Bahia (OGRZEWSKA et al., 2011); em estágios imaturos e adultos de *A. auricularium* coletados de jaritaca (*Conepatus semistriatus*) e tatus (*Euphractus sexcinctus*) no estado de Pernambuco (SARAIVA et al.,

2013); e em porcos-espinhos que coabitam remanescentes de Mata Atlântica no sul da Bahia (MCINTOSH et al., 2015).

Amblyomma longirostre mostrou estar associado à agentes do grupo da febre maculosa, como a *R. amblyommii* (LABRUNA et al., 2004). No entanto, em geral, o carrapato não é considerado um problema significativo de saúde pública.

Em ouriços, além de *A. calcaratum*, foram encontrados carrapatos da espécie *A. longirostre*. Esse carrapato possui grande afinidade com ouriços e porcos espinhos. Possuem distribuição cosmopolita e é capaz de transmitir patógenos. No total, obteve-se 8 espécimes (2,39%) de *A. longirostre* em ouriços oriundos do PARNASO.

Em tamanduás-mirins, tanto da área do PARNASO quanto oriundos do CRAS, foi encontrado *A. nodosum*. As formas adultas de *A. nodosum* estão muito associadas aos vermíngues. Carrapatos desta espécie possuem distribuição por todo o Brasil, e neste estudo foi encontrado 39 amostras (11,65%). Esta espécie de carrapato está distribuída nas Américas Central e do Sul, e tem sido relatada como vetor de vários patógenos, incluindo *Rickettsia* spp., *R. belli* e *R. parkeri*.

Outra espécie de carrapato coletada no PARNASO e no CRAS foi o *A. varium* em preguiças. O *A. varium* é um carrapato neotropical popularmente conhecido como carrapato gigante da preguiça. Durante a fase adulta é encontrado quase que exclusivamente em mamíferos das famílias Bradypodidae. Já foi descrito em quase todo território nacional, ocupando da Mata Atlântica a Floresta Amazônica. Apesar de grande especificidade com as preguiças, esse ectoparasita já foi descrito em humanos no Brasil, além disso, podem ser vetores de *R. belli*.

Foram obtidas no total 5 amostras *A. varium* (1, 49%). Das amostras, uma foi positiva para *Borrelia* sp. Ainda não há relatos na literatura deste patógeno infectando *A. varium*, e mais estudos nessa temática são necessários.

Amblyomma rotundatum foi obtido em uma jibóia proveniente do CRAS (0, 30%). O carrapato *A. rotundatum*, ocorre nas regiões zoogeográficas Neotropical e Neártica, onde parasita principalmente anfíbios e répteis (GUGLIELMONE et al., 2014). No Brasil, essa espécie de carrapato parasita com frequência a herpetofauna brasileira e ocorre em todos os biomas do território nacional, incluindo a Amazônia, Mata Atlântica, Pampa, Cerrado, Pantanal e Caatinga (HORTA et al., 2011).

A espécie *A. rotundatum* se reproduz por partenogênese, e ninfas sempre sofrem ecdise para fêmeas (ARAGÃO, 1936). Por outro lado, existem dois registros de machos no território brasileiro (LABRUNA et al., 2005; MARTINS et al., 2014). Curiosamente, um caso de hiperparasitismo nessa espécie de carrapato foi relatado na região Nordeste do país (LABRUNA et al., 2007). O carrapato *A. rotundatum* é uma espécie próxima a *A. dissimile* e *A. goeldii*, e todos os estágios já foram descritos (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

Outro carrapato que foi só foi encontrado 1 espécime foi *Haemaphysalis juxtakochi* em tapiti no PARNASO (0,30%). *H. juxtakochi* é uma espécie de carrapato encontrada no Brasil (SOUZA et al., 2018; LABRUNA et al., 2007), Peru (GUGLIELMONE et al., 2006), e outras partes das Regiões Zoogeográficas Neárticas Neotropicais e Meridional (GUGLIELMONE et al., 2006).

Tem sido objeto de diversos estudos investigando a presença de *Rickettsia* spp. nesses artrópodes (LABRUNA et al., 2005; LABRUNA et al., 2007), sendo isolada, com sucesso, de carrapatos *H. juxtakochi* no estado de São Paulo, Brasil (LABRUNA et al., 2005). O carrapato também foi identificado como uma ameaça potencial devido à sua semelhança com o exótico *H. longicornis* (EGIZI et al., 2019).

No Brasil, sua ocorrência já foi descrita na região sul do país, em cachorro-do-mato (*C. thous*) (SEKI et al., 2013) e veado bororó-do-sul (*Mazama gouazoubira*) (MARTINS et al.,

2007) e em São Paulo em primatas selvagens (*Alouatta guariba clamitans*) (MARTINS et al., 2012).

De gênero diferente ao *Amblyomma*, além do *H. juxtakochi*, foi encontrado *I. schulzei*. Foram encontrados 5 espécimes em gambá (1,49%).

Ixodes é representada por 255 espécies em todo o mundo (GUGLIELMONE et al., 2014, 2015), das quais 46 são conhecidas por ocorrer na região Neotropical (GUGLIELMONE et al., 2003; LABRUNA et al., 2020). O Brasil é um dos maiores países do mundo, mas a fauna brasileira de *Ixodes* é representada por apenas nove espécies atualmente reconhecidas (LABRUNA et al., 2020). Um estudo recente sugere o aumento do número de espécies de *Ixodes* no Brasil, passando de 9 para 12 (ONOFRIO et al., 2020).

Este carrapato se reproduz obrigatoriamente por partenogênese e tem alta especificidade por roedores. Além de ocupar o território brasileiro, também está presente na Argentina e Paraguai (LUZ et al., 2020). Como os roedores são reservatórios importantes de *Borrelia* spp., a preocupação com esse carrapato se dá por serem potenciais dispersores de tal (BRITES-NETO et al., 2015).

A presença de diferentes espécies de carrapatos está diretamente relacionada à diversidade de hospedeiros disponíveis na Mata Atlântica. A região abriga uma ampla variedade de animais selvagens, incluindo mamíferos, aves e répteis, que servem como hospedeiros para esses artrópodes. A alta diversidade de hospedeiros contribui para a manutenção e a ampliação da população de carrapatos na região (LUZ et al., 2020).

Além disso, a carga média de carrapatos variou significativamente entre as espécies hospedeiras estudadas. Por exemplo, observou-se uma alta infestação de carrapatos no cachorro-do-mato, com uma média de 185 carrapatos por animal, enquanto o gato maracajá apresentou uma carga média muito baixa, com apenas 1 carrapato. Essas diferenças podem ser atribuídas a fatores como a suscetibilidade do hospedeiro, a disponibilidade de recursos ecológicos e as interações específicas entre as espécies hospedeiras e os carrapatos (LABRUNA et al., 2009; LABRUNA et al., 2011).

A detecção de patógenos transmitidos por carrapatos em espécies selvagens na região do PARNASO tem implicações importantes para a saúde pública. A população local e os visitantes do parque podem estar expostos a riscos de infecção, especialmente durante atividades ao ar livre e contato com a fauna silvestre. A educação e a conscientização sobre medidas de prevenção, como o uso de repelentes e a verificação cuidadosa do corpo em busca de carrapatos, são essenciais para reduzir a transmissão de doenças (HORTA et al., 2010; LABRUNA et al., 2011).

Além disso, os resultados deste estudo podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias de conservação e manejo de populações de animais selvagens na região do PARNASO. A presença de carrapatos e a detecção de patógenos em animais selvagens destacam a importância de medidas de controle e monitoramento contínuo para garantir a saúde e a sobrevivência dessas espécies, bem como a manutenção da biodiversidade da região (LABRUNA et al., 2011).

Esta pesquisa proporcionou uma análise abrangente da diversidade de carrapatos e sua distribuição em diferentes espécies hospedeiras no referido bioma e agentes patogênicos associados em diferentes espécies hospedeiras. As descobertas fornecem informações que auxiliam no entendimento da diversidade de espécies e seus patógenos, e seus possíveis riscos para a saúde humana e animal.

5 CONCLUSÃO

Os resultados revelaram uma ampla variedade de espécies de carrapatos encontradas nas amostras coletadas, incluindo a presença de diferentes espécies de *Rickettsia*, como *Rickettsia* sp. cepa AL em *Amblyomma longirostre* de ouriço, *R. belli* em *A. aureolatum* de cachorro-do-mato e *R. paranaensis* em *A. parkeri* de ouriço. Também, encontrou-se um espécime de *A. varium* de preguiça positivo para *Borrelia* sp. No entanto, não foram encontradas evidências da presença de organismos da família Anaplasmataceae, *Ehrlichia* e *Babesia* spp. Além disso, foi observada uma alta prevalência de carrapatos em cães domésticos e em animais selvagens, sugerindo a necessidade de maior atenção à saúde pública na região da Serra dos Órgãos.

Entre as espécies de carrapatos identificadas, *A. sculptum*, *Amblyomma* spp. e *A. aureolatum* apresentaram alta abundância relativa, contribuindo significativamente para a diversidade total de carrapatos na amostra. Essas espécies são de preocupação especial devido à sua ampla distribuição geográfica, alta prevalência e associação com uma variedade de hospedeiros vertebrados, incluindo animais domésticos, selvagens e humanos. A presença de *A. sculptum* e *A. aureolatum* tanto em animais selvagens quanto em cães domésticos destaca a importância da interface entre esses dois grupos na região.

Este estudo contribuiu para o entendimento da diversidade de carrapatos na Mata Atlântica, sua distribuição em diferentes espécies hospedeiras e a potencial associação com agentes patogênicos relevantes para a saúde humana e animal

6 REFERÊNCIAS

- ABREU, D. P. B. et al. Two for the price of one: Co-infection with *Rickettsia bellii* and spotted fever group *Rickettsia* in *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) ticks recovered from wild birds in Brazil. **Ticks Tick Borne Disease**, v. 10, n. 6, 2019.
- ARAGÃO, H. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.31, p.759-843, 1936.
- BARROS-BATTESTI, D. M. Introdução. In: BARROS-BATTESTI, D. M. et al. **Carrapatos de Importância Médico- -Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006.
- BARROS-BATTESTI, D. M. et al. Parasitism by *Ixodes didelphidis* and *I. loricatus* (Acari: Ixodidae) on small wild mammals from an Atlantic Forest in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 6, 2000.
- BEATI, L. et al. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. **BMC Evolution Biology**, v. 13, n. 267, 2013.
- BITENCOURTH, K. et al. *Amblyomma aureolatum* Genetic Diversity and Population Dynamics Are Not Related to Spotted Fever Epidemiological Scenarios in Brazil. **Pathogens**, v. 10, n. 9, 2021.
- BLOEMER, S. R. et al. *Amblyomma calcaratum* (Acari: Ixodidae), a Central and South American tick, found in Kentucky, USA. **Journal of Medical Entomology**, v.24, n.1, p.117, 1987.
- BORSOI, A. P. et al. Human Parasitism by *Amblyomma parkeri* Ticks Infected with *Candidatus Rickettsia paranaensis*, **Brazil. Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 12, p. 2339-2341, 2019. <https://doi.org/10.3201/eid2512.190988>.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis – IBAMA. Instrução Normativa nº 003, de 27 de maio de 2003. Lista das Espécies da Fauna Brasileira Ameaçadas de Extinção [online]. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2003. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/179/_arquivos/179_05122008034002.pdf
- BRITES-NETO J, et al. Tick-borne infections in human and animal population worldwide. **Vet World**, v. 8, n. 3, 2015.
- CEPF. Critical Ecosystem Partnership Fund. 2001. **Ecosystem profile: Atlantic Forest biodiversity hotspot, Brazil**. Final version. December 11, 2001. Critical Ecosystem

Partnership Fund (CEPF), Conservation International. Disponível em: <<http://www.cepf.net/Documents/final.atlanticforest.ep.pdf>>. Acesso em: 13/01/2023.

CHAPMAN AS et al. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis--United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. **MMWR Recommendations and Reports**. 2006 Mar 31;55(RR-4):1-27.

DALL'AGNOL, B. et al. *Rickettsia parkeri* in free-ranging wild canids from Brazilian Pampa **Transbound Emerging Disease**, v. 65, n. 2, 2018.

DA PAIXÃO SEVÁ, A. et al. A human case of spotted fever caused by *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest and its association to the tick *Amblyomma ovale*. **Parasites Vectors**, v. 12, n. 471, 2019.

DE LA FUENTE, J. et al. (2008) Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Frontiers Bioscience**, v. 13, n. 13, p. 6938-6946, 2008.

DURÃES, L. S. et al. Biodiversity of Potential Vectors of Rickettsiae and Epidemiological Mosaic of Spotted Fever in the State of Paraná, Brazil. **Frontiers in Public Health**, v. 9, 2021.

DOBSON, A.; FOUFOPOULOS, J. Emerging infectious pathogens of wildlife. **Philosophical Transactions of the Royal Society B - Journals**, v. 356, n. 1411, p. 1001-1012, 2001.

EGIZI, A. M. et al. A pictorial key to differentiate the recently detected exotic *Haemaphysalis longicornis* Neumann, 1901 (Acari, Ixodidae) from native congeners in North America. **ZooKeys**, v. 818, p. 117-128, 2019. <https://doi.org/10.3897/zookeys.818.30448>

FACCINI-MARTÍNEZ, A. A. et al. Epidemiological aspects of *Rickettsia parkeri* in the Atlantic forest biome of Espírito Santo state, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 2, 2020.

GUGLIELMONE, A. A. et al. **The hard ticks of the world: (Acari: Ixodida: Ixodidae)**. Dordrecht (Heidelberg. New York, London): Springer. 2014.

GUGLIELMONE, A. A. (2006) Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental & Applied Acarology**, v. 40, p. 83–100, 2006.

GUGLIELMONE, A. A. et al. 2003. **Ticks (Acari: Ixodidae) of the Neotropical Zoogeographic Region**. Special Publication, International Consortium on Ticks Tick-borne Diseases, Atlanta, Houten, The Netherlands, v. 173, 2003.

GUZMÁN-CONEJO, C. et al. First records of the ticks *Amblyomma calcaratum* and *A. pacae* (Acari: Ixodidae) paratitizing mammals of Mexico. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, México, v.77, n.1, p.123-27, 2006.

HORTA, M. C. et al. Prevalence of antibodies to Spotted Fever Group Rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian Spotted Fever Endemic area in the State of São Paulo, Brazil: Serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group Rickettsia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, n. 1, p. 93-97. 2004.

HORTA, M. C. et al. Experimental infection of the opossum *Didelphis aurita* by *Rickettsia felis*, *Rickettsia bellii*, and *Rickettsia parkeri* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum*. **Vector Borne Zoonotic Disease**, v. 10, p. 959–967, 2010.

HORTA, M.C.; NASCIMENTO, G.F.; MARTINS, T.F. et al. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing free-living wild animals in the Caatinga biome in the State of Pernambuco, northeastern Brazil. **Systematics Applied Acarology**, v.16, p.207-211, 2011.

JONES, E. K. et al. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisphere. **Brigham Young University Science Bulletin Biological**, v. 17, p.1-40, 1972.

LABRUNA, M. B. et al. 2020. Synonymy of *Ixodes aragaoi* with *Ixodes fuscipes*, and reinstatement of *Ixodes spinosus* (Acari: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, 2020.

LABRUNA, M. B. et al. Redescription of the female, description of the male, and several new records of *Amblyomma parkeri* (Acari: Ixodidae), a South American tick species. **Experimental & Applied Acarology**, v. 49, p. 243–260, 2009.

LABRUNA, M. B. et al. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, 36(1-2): 149-163, 2005.

LABRUNA, M. B. et al. First report of the male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a field-collected host. **Journal of Medical Entomology**, v.42, p.945-947, 2005.

LABRUNA, M. B. et al. Ticks collected on birds in the state of São Paulo, Brazil. **Experimental & Applied Acarology**, v. 43, n. 2, 2007. <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-007-9106-x>

LABRUNA, M. B. 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, 2004.

LABRUNA, M. B. et al. Life cycle of *Amblyomma cooperi* (Acari: ixodidae) using capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as hosts. **Experimental & Applied Acarology**. 32, p. 79–88, 2004.

LAMBAIS, M.R. et al. Bacterial diversity in tree canopies of the Atlantic Forest. **Science**, v. 312, p. 1917-1917, 2006.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H. **Ticks on Brazilian birds: overview. In: Ruiz L, Iglesias F. Birds: evolution and behavior, breeding strategies, migration and spread of disease.** New York: Nova Science Publishers, Inc.; 2013. p. 98-124.

LUZ, H. R. et al. Molecular analyses reveal an abundant diversity of ticks and rickettsial agents associated with wild birds in two regions of primary Brazilian Atlantic Rainforest. **Ticks Tick Borne Dis**, v. 8, n. 4, p. 657-665, 2017.

LUZ, H. R. et al. Ticks from the Brazilian Amazon: Species, Distribution and Host-Relations. Ecosystem and Biodiversity of Amazonia. **IntechOpen**, 2021.

MARTINS, T. F. et al A new species of *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) associated with monkeys and passerines of the Atlantic rainforest biome, Southeastern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2019.

MARTINS, T. F. et. al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (*sensu lato*) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (*sensu stricto*). **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 283-292, 2016.

MARTINS, T. F. **Estudo do complexo *Amblyomma cajennense* no Brasil**. 2014. 113 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2014.

MARTINS, T. F. et al. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, n. 2, p. 75-99, 2010.

MARTINS, T. F. et al. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental & Applied Acarology**, v.62, p.121-128, 2014.

MARTINS, J. R. et al. *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley, 1946 (Acari: Ixodidae) parasitizing *Mazama nana* (Hensel, 1872) (Artiodactyla: Cervidae) in the State of Rio Grande do Sul. **Braz Journal of Veterinary Parasitology**, v. 16, p. 171–173, 2007.

MCINTOSH, D. 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.

MÜLLER, G. et al. Parasitos de animais selvagens com potencial zoonótico no Rio Grande do Sul. **Veterinária em Foco**, v. 6, n. 2, p. 185-190, 2009.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000.

NAVA, S. et al. **Ticks of the Southern Cone of America: diagnosis, distribution and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance**. London: Elsevier. 2017.

NAVA, S. et al. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* 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*, and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick Borne Diseases**, v. 5, n. 3, 2014.

NAVA, S. et al. First record of *Amblyomma longirostre* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) from Peru, with a review of this tick's host relationships. **Systematics Applied Acarology**, v. 15, n. 1, 2010.

NIERI-BASTOS, F. A. et al. Phylogenetic evidence for the existence of multiple strains of *Rickettsia parkeri* in the New World. **Applied Environmental Microbiology**, v. 84, 2018.

OGRZEWALSKA, M. et al. *Rickettsial* infection in *Amblyomma nodosum* ticks (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 103, p. 413–425. 2009a.

OGRZEWALSKA, M. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting birds in an Atlantic rain forest region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, p. 1225–1229, 2009b.

OGRZEWALSKA, M. et al. Effect of Forest fragmentation on tick infestations of birds and tick infection rates by *Rickettsia* in the Atlantic Forest of Brazil. **EcoHealth**, v. 8, p. 320–331, 2011.

OGRZEWALSKA, M. et al. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Ticks Tick Borne Disease**, v. 4, p. 145–147, 2012.

OGRZEWALSKA, 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, p. 145–147, 2013.

OLIVEIRA, S. V. et al. Vigilância de ambientes da febre maculosa brasileira e outras riquetsioses: a etapa inicial de uma proposta para a formação de rede. **Revista Pan-Amazônia Saúde**, v. 6, n. 3, 2015.

OLIVEIRA SV, et al. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 22, 2016.

ONOFRIO, V. C. et al. Description of a new species of Ixodes (Acari: Ixodidae) and first report of *Ixodes lasallei* and *Ixodes bocatorensis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 4, 2020.

PACHECO, R. C. et al. *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., et al., Pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 351–353, 2009.

PACHECO, R. C. et al. Isolation of *Rickettsia bellii* from *Amblyomma ovale* and *Amblyomma incisum* ticks from southern Brazil. **Revista MVZ Córdoba** 13(2):1273-1279, 2008

PAJUABA, N. Influence of microhabitat use and behavior of *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma dubitatum* nymphs (Acari: ixodidae) on human risk for tick exposure, with notes on *Rickettsia* infection. **Ticks and Tick-borne Disease**, v. 9, p. 67–71, 2018.

PECKLE, M. et al. Multi-locus phylogenetic analysis groups the New World bacterium *Rickettsia* sp. strain ApPR with the Old World species *R. africae*; proposal of "Candidatus *Rickettsia paranaensis*". **Ticks and Tick Borne Diseases**, v. 10, 2019.

PINTER, A. 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, 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, 523–529, 2006.

QUEIROGAS, V. L. et al. Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: Ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. **Experimental & Applied Acarology**, v. 57, n. 1, 2012.

RAMOS, V. N. et al. Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v.23, p.516-521, 2014.

SAKAI, R. K. et al. Experimental infection with *Rickettsia rickettsii* in an *Amblyomma dubitatum* tick colony, naturally infected by *Rickettsia bellii*. **Ticks and Tick Borne Diseases**, v.5, p.917-923, 2014.

SANTOLIN, Í. D. A. C. **Estudo de carrapatos associados com aves no entorno do Tinguá, Nova Iguaçu, Rio de Janeiro, Brasil; detecção de *Rickettsia* spp., e o desenvolvimento de métodos moleculares para análise de interações carrapato-microrganismo.** 150 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

SARAIVA, D. G. et al. Período de alimentação exigido por carrapatos de *Amblyomma aureolatum* para transmissão de *Rickettsia rickettsii* a hospedeiros vertebrados. **Emerging Infectious Disease**, v. 20, n. 9, 2014.

SARAIVA, D. G. et al. *Rickettsia amblyommii* Infecting *Amblyomma auricularium* Ticks in Pernambuco, Northeastern Brazil: Isolation, Transovarial Transmission, and Transstadial Perpetuation. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, 2013.

SERRA-FREIRE, N.M., PINTO, C. Vetores de rickettsias do Grupo Febre Maculosa na região metropolitana de Campinas, Estado de São Paulo: prevalência e risco de transmissão. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 30, n. 4, p. 254-259, 2008.

SILVEIRA, I. et al. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, 2007.

SOARES, J. F. et al. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Medicine Veterinary Entomology**, v. 26, p. 139–151, 2012.

SOUZA, Z. et al. Detecção de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em cães residentes em área negligenciada no município de São Paulo, SP, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 6, 2020.

SOUZA, U. A. et al. Ticks, mites, fleas, and vector-borne pathogens in free-ranging neotropical wild felids from southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 12, n. 4, 2021.

SOUZA, U. et al. Molecular survey of *Rickettsia* spp. in the Neotropical deer tick *Haemaphysalis juxtakochi* from Brazilian Pampa. **Parasitology Research**, v. 117, p. 3293–3298, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5996-2>

SUMNER, J. W. et al. Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) and *Rickettsia parkeri*, United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 5, 2007.

SZABÓ, M. P. J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Marsh-Deer (*Blastocerus dichotomus*) from Southeast Brazil: infestations Before and After Habitat Loss. **Journal of Medical Entomology**, v. 40, p. 268–274, 2003.

SZABÓ, M. P. J. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in an Atlantic rainforest reserve of southeastern Brazil with notes on host suitability. **Experimental & Applied Acarology**, v. 39, p. 339–346, 2006.

SZABÓ, M. P. J. et al. Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: Ixodidae) in the natural habitat of wild marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 147–154, 2007.

SZABÓ, M. P. J. et al. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v. 140, p. 719–728, 2013.

WECK, B. et al. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma dubitatum* ticks in a spotted fever focus from the Brazilian Pampa. Acta Tropica, v. 171, p.182-185, 2017.

CAPÍTULO II

**PESQUISA DE DNA DE *BORRELIA* spp. E ANTICORPOS ANTI-*BORRELIA* spp.
EM CÃES DOMÉSTICOS DOMICILIADOS NO ENTORNO DO PARQUE
NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

RESUMO

Este trabalho abordou a pesquisa de DNA de *Borrelia* spp. e anticorpos anti-*Borrelia* spp. em cães domésticos que vivem próximos ao Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO), uma área rica em biodiversidade, no bioma Mata Atlântica. A borreliose é uma doença infecciosa emergente que afeta humanos e animais em todo o mundo, e a presença dessa bactéria está relacionada à associação com carrapatos, que atuam como vetores em diferentes regiões. Neste contexto, o presente estudo investigou a presença de *Borrelia* spp. no sangue de cães domiciliados próximos a áreas de florestas, através da pesquisa de DNA por métodos moleculares e a detecção de anticorpos anti-*Borrelia* spp. por avaliação sorológica. Os resultados revelaram a presença de anticorpos em 34 dos 108 cães ($n = 31,48\%$) que participaram do estudo, indicando exposição prévia à bactéria. No entanto, a análise molecular por PCR resultou negativa para a presença do agente, sugerindo que nenhum dos animais estudados possuía infecção ativa no momento da coleta. A distribuição geográfica dos cães soropositivos abrangeu três dos quatro municípios estudados: Teresópolis, Guapimirim e Magé. A presença de carrapatos foi observada em 12 dos 34 cães soropositivos, com os principais vetores sendo identificados como *Amblyomma aureolatum*, *A. ovale* e *A. sculptum*. A co-ocorrência de infecção por *Borrelia* spp. e a presença de carrapatos em um subconjunto de cães ressalta a importância de estudar a relação entre esses parasitas e a transmissão do agente em questão. A detecção de cães soropositivos é relevante para a discussão sobre a presença de *Borrelia* spp. no Brasil e na Mata Atlântica, visto que esses animais podem servir como sentinelas da presença da bactéria em uma determinada área. Assim, este estudo amplia a compreensão de *Borrelia* spp. na Serra dos Órgãos, beneficiando a vigilância epidemiológica e destacando a saúde única ao conectar saúde humana, animal e ambiental, e ressaltando a importância de estratégias abrangentes para o controle de doenças transmitidas por carrapatos.

Palavras-chave: Borreliose; Animais sentinelas; Mata Atlântica; Carrapatos; Conservação

ABSTRACT

This work addressed the DNA research of *Borrelia* spp. and anti-*Borrelia* spp. antibodies in domestic dogs that live near the Serra dos Órgãos National Park (PARNASO), an area rich in biodiversity, located in the Atlantic Forest biome. Borreliosis is an emerging infectious disease that affects humans and animals worldwide, and the presence of this bacterium is related to the association with ticks, which act as vectors in different regions. In this context, the present study investigated the presence of *Borrelia* spp. in the blood of dogs living close to forest areas, through DNA research by molecular methods and detection of anti-*Borrelia* spp. antibodies by serological evaluation. The results revealed the presence of antibodies in 34 of the 108 dogs ($n = 31.48\%$) that participated in the study, indicating previous exposure to the bacteria. However, molecular analysis by PCR was negative for the presence of the agent, suggesting that none of the animals studied had active infection at the time of collection. The geographic distribution of seropositive dogs covered three of the four municipalities studied: Teresópolis, Guapimirim and Magé. The presence of ticks was observed in 12 of the 34 seropositive dogs, with the main vectors being identified as *Amblyomma aureolatum*, *A. ovale* and *A. sculptum*. The co-occurrence of infection by *Borrelia* spp. and the presence of ticks in a subset of dogs highlights the importance of studying the relationship between these parasites and the transmission of the agent in question. The detection of seropositive dogs is relevant to the discussion about the presence of *Borrelia* spp. in Brazil and in the Atlantic Forest, as these animals can serve as sentinels for the presence of the bacteria in a given area. Thus, this study broadens the understanding of *Borrelia* spp. in Serra dos Órgãos, benefiting epidemiological surveillance and highlighting the unique health by connecting human, animal and environmental health, and highlighting the importance of comprehensive strategies for the control of diseases transmitted by ticks.

Keywords: *Borreliosis; Sentinel animals; Atlantic Forest; Ticks; Conservation*

1 INTRODUÇÃO

Borreliose, causada pela bactéria *Borrelia* spp., é uma doença infecciosa emergente que afeta humanos e animais em todo o mundo (CUTLER et al., 2005). A prevalência e importância dessa bactéria estão diretamente relacionadas à sua associação com carrapatos, que atuam como vetores em diferentes regiões geográficas, climas e presença de animais hospedeiros suscetíveis (DANTAS-TORRES et al., 2019).

No Brasil, a presença de *Borrelia* spp. tem sido relatada em várias regiões, incluindo o bioma Mata Atlântica - uma área de alta biodiversidade com elevada prevalência de carrapatos e várias espécies de animais selvagens, que servem como potenciais reservatórios de *Borrelia* spp. (SILVA et al., 2020; MARTINS et al., 2019).

Essa bactéria é transmitida principalmente pela picada de carrapatos infectados do gênero *Ixodes* (DANTAS-TORRES et al., 2019). No Brasil, as espécies de carrapatos mais comuns encontradas em animais domésticos são *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, *Amblyomma cajennense* e *A. sculptum* (DANTAS-TORRES et al., 2019). A detecção de *Borrelia* sp. em animais domésticos, principalmente cães, é de grande importância em saúde pública, pois esses animais servem como sentinelas da presença da bactéria em uma determinada área (SILVA et al., 2020).

A Serra dos Órgãos é uma cadeia montanhosa localizada no estado do Rio de Janeiro, Brasil, que engloba a Unidade de Conservação (UC) federal Parque Nacional Serra dos Órgãos (PARNASO). A área é um *hotspot* de biodiversidade, incluindo várias espécies animais ameaçadas de extinção, e possui uma área urbana muito próxima dos limites do parque, chamada Zona de Amortecimento (ZA). Nesta área, destaca-se a presença de cães domiciliados em áreas bem próximas a mata.

Diante desse cenário, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença de *Borrelia* spp. no sangue de cães domésticos, que vivem no entorno do PARNASO, visando contribuir para um melhor entendimento da ocorrência deste agente na região, através da pesquisa de DNA de *Borrelia* spp. e busca de anticorpos anti-*Borrelia* spp. no sangue destes cães, fornecendo informações importantes para uma compreensão holística acerca da borreliose nessa área de relevância para a conservação e saúde pública.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Autorização para Pesquisa

Esta pesquisa foi realizada após aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (nº 6790010719) (Anexo 1).

2.2 Área de Estudo

Os cães domésticos que participaram deste estudo são animais domiciliados no entorno do PARNASO.

O PARNASO se localiza na região da Serra dos Órgãos e abrange os municípios de Teresópolis (localização 22° 24' 43" S, 42° 57' 57" W), Petrópolis (localização 22° 30' 18" S, 43° 10' 44" W), Magé (localização 22° 39' 10" S, 43° 02' 27" W) e Guapimirim (localização 22° 32' 13" S, 42° 58' 55" W), e a área de interesse engloba a sua Zonas de Amortecimento (ZA), que pode ser vista delimitadas na figura abaixo (Figuras 18). Foram feitas coletas nos quatro municípios supracitados, totalizando 108 cães em que foi realizada a coleta de sangue.

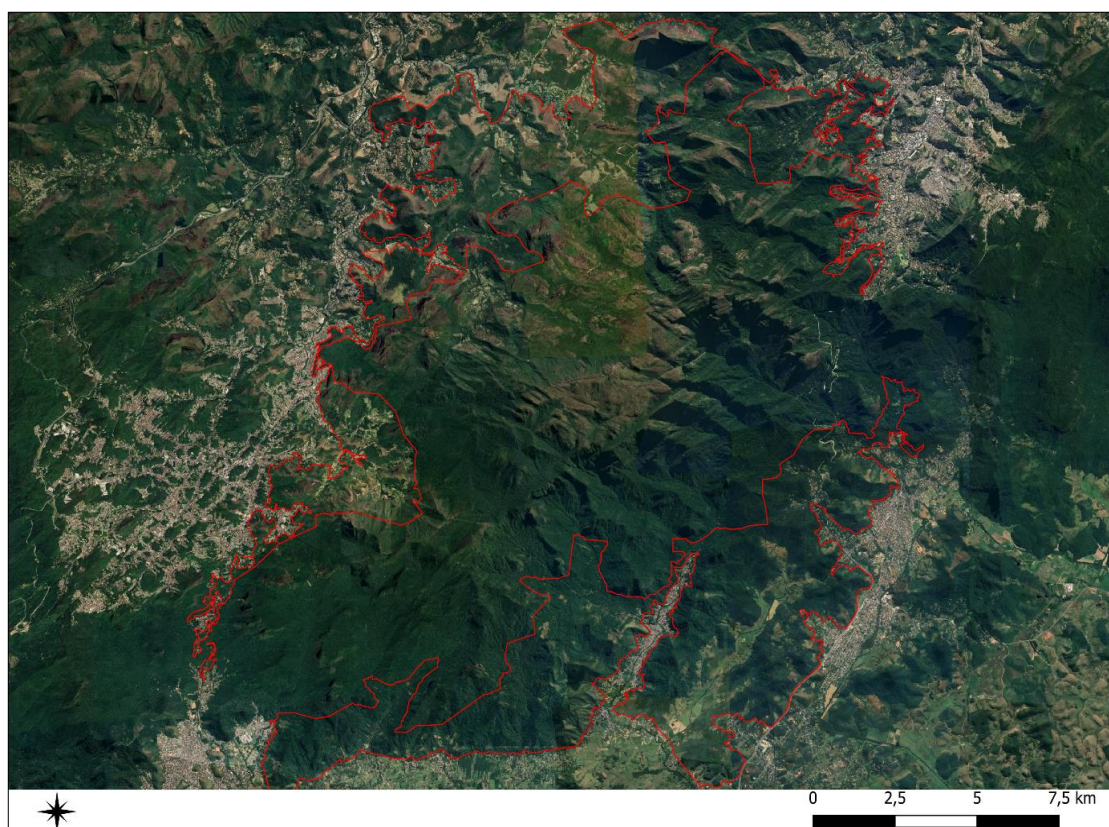


Figura 18. Imagem mostrando os limites da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Nesta imagem de satélite, percebe-se a urbanização da ZA no entorno do parque.

(Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e ICMBIO)

Para a coleta de amostras de sangue dos cães domiciliados na ZA da área de estudo, foi realizada uma visita às casas dos tutores dos animais. A seleção das residências foi feita por conveniência, uma vez que envolveu a confluência de diversos fatores essenciais para a pesquisa. Primeiramente, buscou-se tutores que aceitassem voluntariamente participar do estudo. Em seguida, foi avaliada a disponibilidade dos tutores para a colaboração no momento da visita, levando em consideração suas agendas e disponibilidade para a coleta de sangue dos cães. É importante ressaltar que, em alguns casos, os animais apresentavam comportamento mais agressivo ou inquieto, o que exigiu uma abordagem cuidadosa durante o procedimento de coleta. Diante dessas variáveis, foi realizada uma cuidadosa seleção das residências para garantir a representatividade da amostra e a obtenção de resultados significativos para a pesquisa.

Dos 108 animais participantes do estudo, em Teresópolis totalizou-se 83 cães em que foi realizada a coleta de sangue, e os bairros foram: Soberbo (n= 13); Granja Guarani (n= 11); Alto (n= 11); Parque do Ingá (n= 13); Cascata dos Amores (n= 12); Lucas (n= 7); Taumaturgo (n= 3); Corta Vento (n= 2); Agriões (n= 2); Pimenteiras (n= 1); Quebra-frasco (n= 8). Já em Petrópolis, foi coletado sangue de 5 cães nos bairros Bonfim (n= 3) e Corrêas (n= 2). Em Guapimirim foram 13 cães ao todo, nos bairros Caneca Fina (n= 3), Vila Guapi (n= 4) e Parque Santa Eugênia (n= 6). E em Magé 7 cães, distribuídos nos bairros Andorinhas (n= 2); Cachoeira Grande (n= 4); e Santo Aleixo (n=1). Os bairros visitados para este estudo podem ser vistos na imagem abaixo (Figura 19).

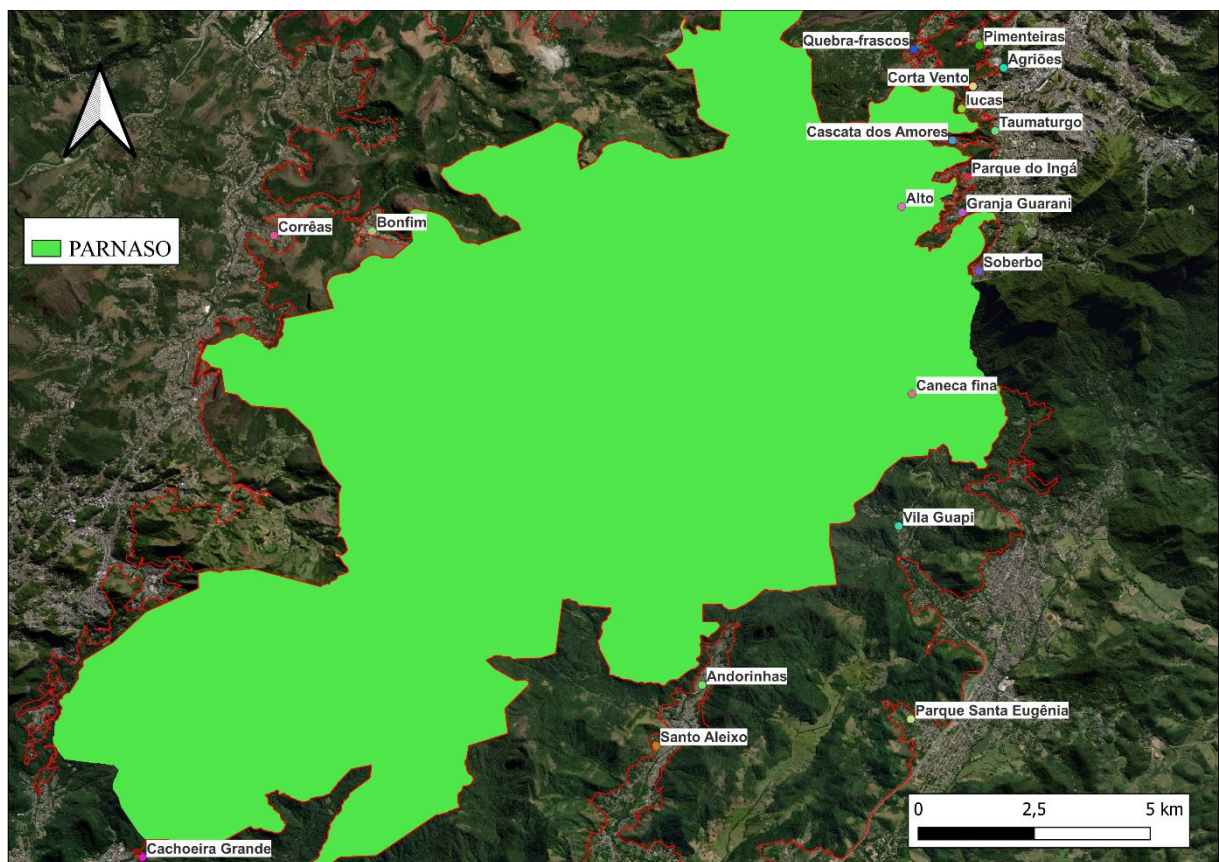


Figura 19. Bairros visitados para coleta de sangue em cães domésticos. Os bairros fazem parte da Zona de Amortecimento (ZA) do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os bairros em Teresópolis, foram: Soberbo, Alto, Granja Guarani, Parque do Ingá, Cascata do Amores, Lucas, Taumaturgo, Corta-vento, Agriões, Pimenteiras e Quebra-frascos. Em Guapimirim, os bairros visitados

foram Vila Guapi, Caneca fina e Parque Santa Eugênia. No município de Magé, visitou-se Andorinhas, Santo Aleixo e Cachoeira Grande. Em Petrópolis, foram Corrêas e Bonfim. (Fonte: Mapa elaborado pela autora, no Qgis. Base de dados IBGE e ICMBio)

2.3 Coleta de Sangue

Cães domésticos, domiciliados na região descrita na área de estudo, foram selecionados para participarem do estudo. Os animais selecionados deveriam estar sob cuidados dos tutores residentes na área de estudo e ter idade igual ou superior a seis meses, a fim de garantir que estivessem expostos ao ambiente local por um período significativo. Além disso, foram considerados cães de diferentes raças, tamanhos e gêneros, a fim de aumentar a diversidade da amostra. É importante ressaltar que os cães com histórico de doenças crônicas ou em tratamento com antibióticos nos últimos 30 dias antes da coleta foram excluídos da pesquisa. Esses critérios foram rigorosamente aplicados durante o processo de seleção dos animais para assegurar a confiabilidade e relevância dos resultados obtidos neste estudo. O termo livre-esclarecido que foi entregue aos tutores desses animais encontra-se em anexo (Anexo 3).

Os cães foram submetidos a coleta de sangue, através punção da veia cefálica, em seringas descartáveis de 5 ml, retirando-se aproximadamente 3 ml. Uma alíquota de 0,5 ml foi transferida para frascos estéreis com anticoagulante e armazenada em freezer a 20° Celsius negativos até o momento da extração do DNA total para a realização de técnicas moleculares. A outra alíquota do sangue (aproximadamente 2,0 ml) foi acondicionada em frasco sem anticoagulante e colocada em suporte inclinado, deixando em repouso à temperatura ambiente para coagular espontaneamente. A seguir foi obtido o soro mediante centrifugação a 2.621 xg, sendo posteriormente dividido em alíquotas. O soro alíquotado foi identificado, de acordo com o número correspondente a cada animal, e armazenado em freezer a 20° Celsius negativos para futura realização de testes sorológicos.

2.4 Análises moleculares

2.4.1 Extração de DNA

A extração de DNA do sangue coletado seguiu o protocolo Wizard® SV Genomic DNA Purification System (Promega Corporation, WI, USA). Os procedimentos foram realizados de acordo com as instruções do fabricante.

2.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Foi realizada a Reação da Cadeia da Polimerase (PCR) para pesquisa de *Borrelia* spp. Os primers específicos utilizados, assim como suas informações detalhadas podem ser vistos na tabela 13 (Tabela 12).

Tabela 12. Lista de primers utilizados para amplificação de fragmentos de DNA específicos para a *Borrelia* spp. em sangue de animais domésticos oriundos da zona de amortecimento do PARNASO.

Iniciadores	Gene	Grupo de organismo	Sequências de nucleotídeos (5'-3')	Tamanho do fragmento (pb*)	Referência
FlaLL	flaB	Borrelia spp.	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT	948	(BLANCO et al., 2017)
FlaRL			GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT		
FlaLS			AACAGCTGAAGAGCTTGAATG	790	
FlaRS			CTTTGATCACTTATCATTCTAATAGC		

Abreviações: *pb – pares de base

A primeira reação Nested PCR para *Borrelia* spp. compreendeu volumes finais de 12,5 µL, onde 1,5 µL é do DNA extraído acrescido de 11 µL de Mix [tampão 5X (Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de DNTP's, 0,4 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional]. Já a segunda reação foi feita com 1 µL do produto de PCR amplificado da primeira reação acrescido de 11,5 µL de Mix [tampão 1X (5X Colorless GoTaq®, Promega®), 25mM de MgCl₂ (Promega® MgCl₂ Solution), 200mM de DNTP's, 0,4 pmoles de cada primer, 0,75U de Taq polimerase (GoTaq DNA Polymerase, Promega®), e água proporcional], para se obter um volume final de 12,5µL.

Os ciclos de temperatura e tempo foram os mesmos para ambas as reações (primária e nested) do gênero *Borrelia*. A termociclagem consistiu em uma desnaturação inicial por 2 minutos e 20 segundos a 95°C; seguidos de 35 ciclos a: 95°C por 40 segundos, 55°C por 40 segundos, 40 segundos a 75°C; depois 72 °C por 5 minutos. Foi usado DNA de *Borrelia anserina* em cultivo como controle positivo.

Como controles negativos para todas essas reações, foi utilizado água ultrapura aplicada dentro e fora do fluxo laminar de preparação do master mix. Todas as reações de PCR foram realizadas em termociclador modelo T100 (Bio-rad®).

2.4.3 Eletroforese e análise dos resultados

Produtos de PCR foram aplicados em gel de agarose a 1,5% (UltraPure™ LMP Agarose, Invitrogen®) no volume de 10 µl, e foram separados por eletroforese (5V/cm), corados com brometo de etídio (0,5 µg/mL) e visualizados em transiluminador de luz UV (L-PIX Sti, Loccus). Para se estimar o tamanho dos fragmentos amplificados, os mesmos foram comparados com um padrão de peso molecular de 100pb (GeneRuler 100bases DNA Ladder, product #SM024, Thermo Scientific).

2.5 Avaliação Sorológica

Foi realizado o teste de Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA), um teste sorológico que detecta a presença de anticorpos contra *Borrelia* spp. O protocolo do teste ELISA seguiu as etapas descritas abaixo.

Duas microplacas de 96 poços foram preparadas, sendo cada poço designado para uma amostra de soro de cão. Antígeno *Borrelia* spp. foi adicionado a cada poço na concentração de

5 µl/mL e diluído em tampão carbonato-bicarbonato pH 9,6. Foi colocado 100 µl em cada poço e a microplaca foi incubada em câmara úmida na geladeira (4°C), de um dia para o outro, a fim de permitir a sensibilização dos poços com o antígeno.

Em seguida, o conteúdo da microplaca foi descartado e os poços foram lavados com solução de lavagem (PBS-Tween 20) para remover antígenos não ligados. Os poços foram bloqueados com 200 µl de uma solução de bloqueio (PBS-Tween 20 + 5% leite em pó desnatado - Molico®) para evitar ligações não específicas. As microplacas foram incubadas em câmara úmida, a 37°C, durante 1h30. Após o bloqueio, os poços foram lavados novamente, triplicado (PBS-Tween 20). As amostras de soro de cão diluídas (1:400) foram adicionadas aos poços da microplaca (200 µl) e incubadas em câmara úmida, a 37°C, durante 1h30, para permitir a ligação de anticorpos específicos presentes no soro aos antígenos revestidos nos poços.

Após a incubação, o conteúdo da microplaca foi descartado e os poços foram lavados novamente de forma triplicada (PBS-Tween 20). Em seguida, o conjugado anti-canino (Sigma® *anti-dog IgG Alkaline Phosphatase Conjugate*) diluído (1:30000) foi adicionado aos poços das microplacas. Novamente, houve a etapa de incubação em câmara úmida, a 37°C, durante 1h30, onde o anticorpo secundário se ligou aos anticorpos específicos presentes no soro dos cães. As microplacas foram lavadas - como já descrito - e foi adicionado 100 µl do substrato para fosfatase alcalina - o P-nitrofenilfosfato. O substrato foi diluído, em frasco escuro, em Tampão dietanolamina (20 mg/20ml). Em aproximadamente 15 minutos, as placas foram lidas em espectrofotômetro para microplacas de 96 orifícios (Termo Scientific® Uniscience Multiskan FC) sob comprimento de onda de 405 nm, adequado para o substrato cromogênico utilizado.

Os resultados obtidos foram analisados comparando a absorbância das amostras com controles positivos e negativos, a fim de determinar a presença ou ausência de anticorpos contra *Borrelia* spp. no soro dos cães.

Para determinar o ponto de corte, foram utilizados os valores da Densidade Óptica (DO) dos controles negativos. A DO é uma medida da absorbância das amostras e é usada para avaliar a reação do teste. O ponto de corte foi calculado utilizando a distribuição t-Student com um grau de confiança de 99,99%. Esse cálculo estatístico permite estabelecer um valor que separa claramente os resultados positivos dos negativos (FREY et al, 1998).

A partir dos valores da DO, realiza-se os cálculos da variância, para então determinar o desvio padrão que será utilizado no cálculo do *cutoff*. O ponto de corte foi definido como a média dos valores da DO dos controles negativos, acrescida de três vezes o desvio padrão desses valores. Isso significa que o ponto de corte será estabelecido de forma a considerar a variabilidade dos resultados dos controles negativos. Para chegar ao valor do desvio padrão precisa-se calcular a média da DO dos controles negativos; em seguida a diferença da DO menos a média ao quadrado; e a variância. Os cálculos estão apresentados a seguir.

$$\text{Variância} = \frac{\text{Soma das diferenças ao quadrado}}{10}$$

$$\text{Desvio padrão} = \sqrt{(\text{Variância})}$$

$$\text{Cutoff} = \text{Média} + (3 * \text{Desvio padrão})$$

3 RESULTADOS

Os resultados revelaram a presença de anticorpos anti-*Borrelia* spp. em 34 (n= 31, 48%) dos 108 animais (n = 100%) que participaram do estudo, por meio das análises sorológicas. Entre os 34 cães soropositivos (n = 100%), 25 eram fêmeas (n = 73,53% de 34) e 9 eram machos (n = 26,47% de 34), representando 16 raças diferentes. (Tabela 13). Entretanto, é importante ressaltar que a PCR realizada em todas as amostras resultou negativa para a presença do agente, o que mostra que nenhum dos animais estudados possuíam infecção ativa no momento da coleta.

Tabela 13. Animais em que foi detectado anticorpos anti-*Borrelia* spp. por meio da avaliação sorológica.

Nome	Idade	Sexo	Raça	Bairro	Município	Presença de Carrapato	Sorologia	PCR
Sarnenta	9	F	SRD	Caneca fina	Guapimirim	<i>A. aureolatum</i> 1F	P	N
Hilda	2	F	Boxer	Parque Santa Eugênia	Guapimirim	<i>A. aureolatum</i> 1F	P	N
Princesa	4	F	Beagle	Caneca fina	Guapimirim		P	N
Querida	3	F	Golden retrievier	Vila Guapi	Guapimirim	-	P	N
Cara fina	4	M	SRD	Parque Santa Eugênia	Guapimirim	-	P	N
Bruce	8	M	Rottweiler	Vila Guapi	Guapimirim		P	N
Siriema	3	F	SRD	Cachoeira Grande	Magé	-	P	N
Selina	2	F	SRD	Cachoeira Grande	Magé	-	P	N
Ana	10	F	Pinscher	Andorinhas	Magé	-	P	N
Lessinha	6	F	Pastor Belga	Santo Aleixo	Magé	-	P	N
Pulguinha	1	F	Pastor Alemão	Andorinhas	Magé	<i>A. aureolatum</i> 1M	P	N
Inês	3	F	Yorkshire	Andorinhas	Magé	<i>A. ovale</i> 1M	P	N
Nega maluca	8	F	SRD	Santo Aleixo	Magé	-	P	N
2 caras	4	M	SRD	Cachoeira Grande	Magé	-	P	N
Bethoven	5	M	Pit bull	Santo Aleixo	Magé	<i>A. aureolatum</i> 1F 2M	P	N
Téo	3	M	SRD	Andorinhas	Magé	<i>A. ovale</i> 1M	P	N
Pelo de arame	3	M	Airedale	Santo Aleixo	Magé	-	P	N
Peito Branco	7	M	Pit bull	Cachoeira Grande	Magé	-	P	N
Max	4	F	SRD	Cachoeira Grande	Magé	-	P	N
Kira	7	F	Pastor Alemão	Parque do Ingá	Teresópolis	-	P	N
Pipoca	6	F	SRD	Parque do Ingá	Teresópolis	-	P	N
Safira	9	F	Pastor Alemão	Parque do Ingá	Teresópolis	-	P	N
Fioli	4	F	Pastor Alemão	Soberbo	Teresópolis	-	P	N
Amanda	4	F	Chow chow	Cascata dos Amores	Teresópolis	<i>A. ovale</i> 1M	P	N
Babu	7	F	SRD	Cascata dos Amores	Teresópolis	<i>A. sculptum</i> 1N	P	N
Bianca	3	F	Beagle	Cascata dos Amores	Teresópolis	<i>A. aureolatum</i> 1M	P	N
Luna	5	F	Shih Tzu	Lucas	Teresópolis	-	P	N

Pastora	9	F	Pastor canadense	Iucas	Teresópolis	-	P	N
Bebezinha	2	F	Border collie	Soberbo	Teresópolis	-	P	N
Marcela	5	F	SRD	Quebra-frascos	Teresópolis	-	P	N
Caramelo	5	M	Labrador	Quebra-frascos	Teresópolis	<i>A. sculptum</i> 1N	P	N
Paçoca	3	F	SRD	Parque do Ingá	Teresópolis		P	N
Geraldo	3	F	SRD	Parque do Ingá	Teresópolis		P	N
Fifi	1	M	Pincher	Granja Guarani	Teresópolis	<i>A. sculptum</i> 2N	P	N
Total		25F 9M	16 raças	13 bairros	3 municípios	3F 4N 7M	34 animais	
Média Idade	4,7647							
Desv.Pad. Idade	2,4261							

Os resultados obtidos na leitura da DO podem ser vistos nas tabelas 14 e 15.

Tabela 14. Leitura óptica em espectrofotômetro, sob comprimento de onda de 405 nm, da Microplaca de 96 orifícios no. 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,126	1,722	0,185	0,34	0,17	0,106	0,135	0,145	0,125	0,114	0,15	0,077
B₁	0,183	0,194	0,365	0,113	0,125	0,163	0,101	0,081	0,126	0,159	0,137	0,143
C₁	0,145	0,136	0,297	0,116	0,258	0,156	0,118	0,13	0,144	0,147	0,077	0,129
D₁	0,208	0,146	0,14	0,166	0,162	0,215	0,139	0,19	0,169	0,13	0,129	0,13
E₁	0,327	0,142	0,187	0,12	0,14	0,184	0,22	0,111	0,124	0,11	0,09	0,136
F₁	0,167	0,124	0,181	0,175	0,307	0,142	0,396	0,202	0,145	0,131	0,124	0,421
G₁	0,318	0,156	0,142	0,14	0,274	0,202	0,507	0,125	0,1	0,127	0,304	0,323
H₁	0,251	0,617	0,435	0,108	0,518	0,087	0,214	0,203	0,135	0,148	0,199	0,135

Tabela 15. Leitura óptica em espectrofotômetro, sob comprimento de onda de 405 nm, da Microplaca de 96 orifícios no.2

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1,291	1,496	0,227	0,301	0,111	0,118	0,093	0,12	0,115	0,113	0,113	0,065
B₂	1,39	0,154	0,267	0,124	0,115	0,108	0,155	0,093	0,141	0,11	0,243	0,15
C₂	0,118	0,118	0,264	0,114	0,209	0,122	0,107	0,096	0,118	0,142	0,062	0,107
D₁	0,188	0,123	0,119	0,152	0,127	0,173	0,105	0,167	0,162	0,126	0,109	0,116
E₁	0,306	0,067	0,179	0,112	0,111	0,106	0,179	0,099	0,11	0,132	0,065	0,155
F₁	0,157	0,12	0,164	0,155	0,209	0,113	0,305	0,184	0,143	0,118	0,115	0,415
G₁	0,383	0,141	0,142	0,121	0,261	0,163	0,458	0,135	0,094	0,136	0,243	0,361
H₁	0,318	0,791	0,377	0,077	0,539	0,15	0,179	0,195	0,126	0,161	0,17	0,234

Considerando a linha A os controles, sendo A1 e A2 os controles positivos; e os controles negativos de A3 a A12; tanto na microplaca n° 1 quanto na de n° 2, os cálculos para obtenção do índice de densidade óptica (IDO), que representam a quantidade de sinal óptico detectado em cada poço após o teste de ELISA, estão descritos abaixo.

Destaca-se que se tinha 108 amostras de sangue e foi usada 2 microplacas de 96 poços, onde nas primeira e segunda placas, a linha A continha os controles (como descrito acima). Na microplaca n° 1 as linhas B₁ a H₁ continham as amostras 1 a 84. Na microplaca n°2 as linhas B₂ e C₂ continham as amostras 85 a 108. Para aproveitar os espaços vazios da microplaca n°2,

foram aproveitadas as amostras 25 a 84, sendo as linhas C₁ a H₁ da microplaca n^o2 correspondentes as linhas C₁ a H₁ da microplaca n^o1. Os resultados positivos das amostras da microplaca n^o 1 foram reforçados pela segunda análise.

Tabela 16. Cálculos microplaca no. 1 para definição do *cutoff*. A leitura da Densidade Óptica (DO) dos controles negativos – numerados de 1 a 10 – são usadas para o cálculo da média; e a diferença da DO menos a média ao quadrado. Esses valores serão importantes para o cálculo do *cutoff*.

C.N.	D.O.	Dif^2
1	0,185	0,0009181
2	0,34	0,0343361
3	0,17	0,0002341
4	0,106	0,0023717
5	0,135	0,0003881
6	0,145	9,409E-05
7	0,125	0,0008821
8	0,114	0,0016565
9	0,15	2,209E-05
10	0,077	0,0060373
Soma	1,547	0,04694
Média	0,1547	0,004694

Abreviação: C.N. – Controle Negativo; D.O. – Densidade óptica; Dif^2 – diferença ao quadrado, que representa a equação $(DO - Média)^2$.

Tabela 17. Resultados microplaca no. 2 para definição do *cutoff*. A leitura da Densidade Óptica (DO) dos controles negativos – numerados de 1 a 10 – são usadas para o cálculo da média; e a diferença da DO menos a média ao quadrado. Esses valores serão importantes para o cálculo do *cutoff*.

C.N.	D.O.	Dif^2
1	0,227	0,0079924
2	0,301	0,0266996
3	0,111	0,0007076
4	0,118	0,0003842
5	0,093	0,0019892
6	0,12	0,0003098
7	0,115	0,0005108
8	0,113	0,0006052
9	0,113	0,0006052
10	0,065	0,0052708
Soma	1,376	0,045074
Média	0,1376	0,004507

Abreviação: C.N. – Controle Negativo; D.O. – Densidade óptica; Dif^2 – diferença ao quadrado, que representa a equação $(DO - Média)^2$.

A partir destes valores das Tabelas 16 e 17, realiza-se os cálculos da variância, para então determinar o desvio padrão que será utilizado no cálculo do *cutoff*.

Para Placa nº. 1 obteve-se os seguintes resultados:

$$\begin{aligned} \textbf{Variância} &= \frac{\textit{Soma das diferenças ao quadrado}}{10} \\ &= \frac{0,04694}{10} = 0,004694 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \textbf{Desvio padrão} &= \sqrt{(\textit{Variância})} \\ &= \sqrt{0,004694} \\ &= 0,01003 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \textbf{Cutoff} &= \textit{Média} + (3 * \textit{Desvio padrão}) \\ &= 0,1547 + (3 * 0,01003) \\ &= \mathbf{0,184779144} \end{aligned}$$

Para Placa nº. 2 foi obtido os seguintes resultados:

$$\begin{aligned} \textbf{Variância} &= \frac{\textit{Soma das diferenças ao quadrado}}{10} \\ &= \frac{0,045074}{10} = 0,00451 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \textbf{Desvio padrão} &= \sqrt{(\textit{Variância})} \\ &= \sqrt{0,00451} \\ &= 0,007791337 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \textbf{Cutoff} &= \textit{Média} + (3 * \textit{Desvio padrão}) \\ &= 0,1376 + (3 * 0,00779) \\ &= \mathbf{0,160974011} \end{aligned}$$

Para calcular o índice de densidade óptica, foi utilizada a fórmula: $DO \times 100 / \textit{cutoff}$. Esse cálculo permite expressar a DO de cada amostra como uma proporção do ponto de corte. Essa proporção é chamada de índice de densidade óptica (Tabelas 18 e 19).

Ao comparar os índices de densidade óptica das amostras com um valor de referência (*cutoff*), será possível determinar se cada amostra é positiva ou negativa para a presença de anticorpos específicos contra *Borrelia* spp.

Assim, obteve-se os seguintes valores relacionados ao índice de densidade óptica:

Tabela 18. Índice de Densidade Óptica (IDO) microplaca no.1, a partir do *cutoff* de 0,184779144.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	609,4	931,9	100,1	184,0	92,0	57,4	73,1	78,5	67,6	61,7	81,2	41,7
B₁	99,0	105,0	197,5	61,2	67,6	88,2	54,7	43,8	68,2	86,0	74,1	77,4
C₁	78,5	73,6	160,7	62,8	139,6	84,4	63,9	70,4	77,9	79,6	41,7	69,8
D₁	112,6	79,0	75,8	89,8	87,7	116,4	75,2	102,8	91,5	70,4	69,8	70,4
E₁	177,0	76,8	101,2	64,9	75,8	99,6	119,1	60,1	67,1	59,5	48,7	73,6
F₁	90,4	67,1	98,0	94,7	166,1	76,8	214,3	109,3	78,5	70,9	67,1	227,8
G₁	172,1	84,4	76,8	75,8	148,3	109,3	274,4	67,6	54,1	68,7	164,5	174,8
H₁	135,8	333,9	235,4	58,4	280,3	47,1	115,8	109,9	73,1	80,1	107,7	73,1

Tabela 19. Índice de Densidade Óptica (IDO) microplaca no.2, a partir do *cutoff* de 0,160974011.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	802,0	929,3	141,0	187,0	69,0	73,3	57,8	74,5	71,4	70,2	70,2	40,4
B₂	863,5	95,7	165,9	77,0	71,4	67,1	96,3	57,8	87,6	68,3	151,0	93,2
C₂	73,3	73,3	164,0	70,8	129,8	75,8	66,5	59,6	73,3	88,2	38,5	66,5
D₁	116,8	76,4	73,9	94,4	78,9	107,5	65,2	103,7	100,6	78,3	67,7	72,1
E₁	190,1	41,6	111,2	69,6	69,0	65,8	111,2	61,5	68,3	82,0	40,4	96,3
F₁	97,5	74,5	101,9	96,3	129,8	70,2	189,5	114,3	88,8	73,3	71,4	257,8
G₁	237,9	87,6	88,2	75,2	162,1	101,3	284,5	83,9	58,4	84,5	151,0	224,3
H₁	197,5	491,4	234,2	47,8	334,8	93,2	111,2	121,1	78,3	100,0	105,6	145,4

Ao calcular o índice de densidade óptica para cada poço, dividindo o valor da densidade óptica pelo valor do *cutoff* e multiplicando por 100, podemos interpretar os resultados da seguinte maneira:

- Valores acima de 100 indicam que o índice de densidade óptica é maior do que 100, sugerindo que a densidade óptica do poço é maior do que o *cutoff*. Esses resultados podem ser considerados positivos para a presença de anticorpos contra *Borrelia* spp.
- Valores iguais ou abaixo de 100 indicam que o índice de densidade óptica é igual ou menor do que 100, sugerindo que a densidade óptica do poço é igual ou menor do que o *cutoff*. Esses resultados podem ser considerados negativos para a presença de anticorpos contra *Borrelia* spp.

A distribuição geográfica dos cães sororeativos abrangeu três dos quatro municípios estudados: Teresópolis, Guapimirim e Magé. Em Petrópolis não foram encontrados animais positivos para *Borrelia* spp. Além disso, os animais soropositivos foram identificados em 12 bairros distintos da região, como pode ser visualizado no mapa abaixo (Figura 20). Em Teresópolis foram encontrados animais nos bairros: Parque do Ingá; Soberbo; Cascata dos Amores; Lucas, Quebra-frascos; Granja Guarani. Em Guapimirim, os bairros foram: Caneca fina; Parque Santa Eugênia; Vila Guapi. e Magé os bairros foram: Cachoeira Grande;

Andorinhas; Santo Aleixo. Todos apresentando proximidade considerável com os limites do PARNASO (Figura 20).

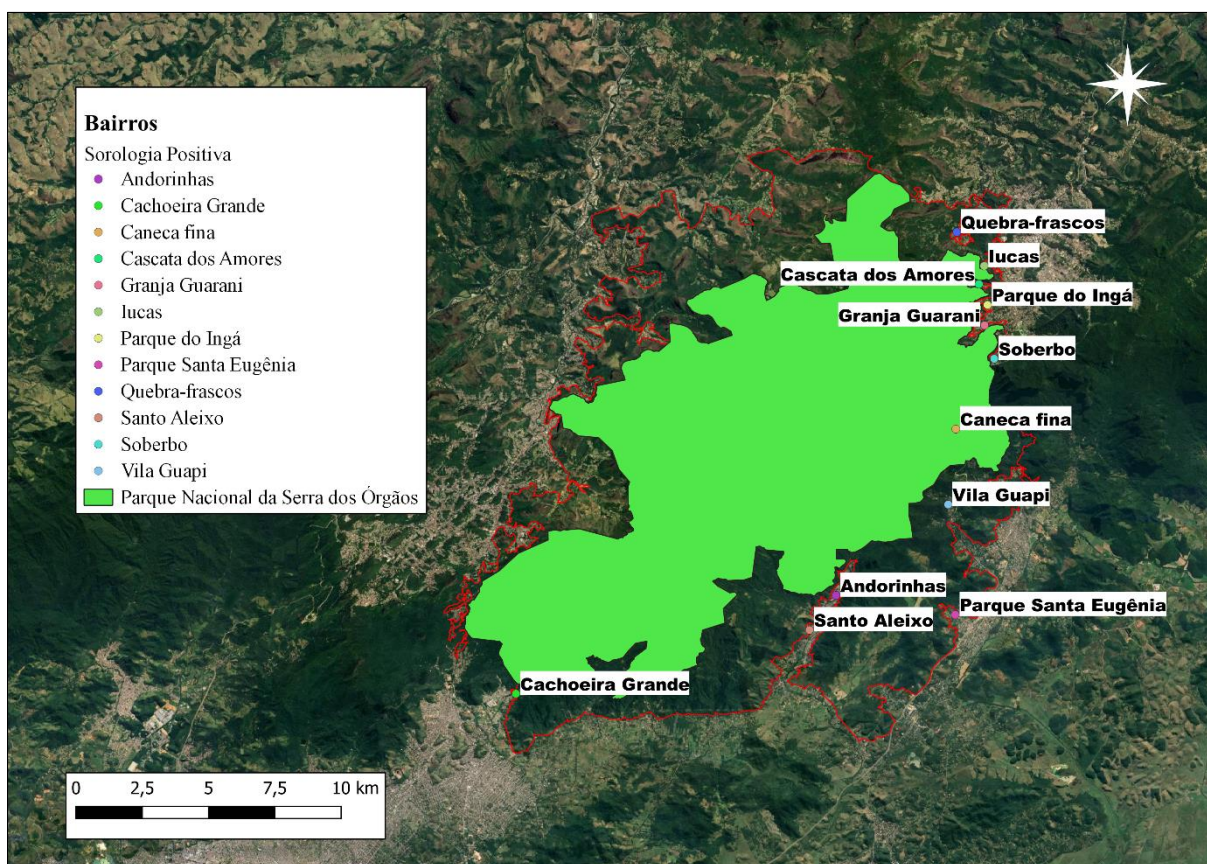


Figura 20. Mapa dos bairros em que cães domésticos apresentaram resultado positivo na sorologia.

É importante salientar que, desses 34 cães sorpositivos, 12 foram encontrados com carrapatos ($n = 35,29\%$ de 34). Esses carrapatos pertenciam a três espécies diferentes: *Amblyomma aureolatum*, *A. ovale* e *A. sculptum*. Especificamente, foram identificados 3 fêmeas e 3 machos de *A. aureolatum*; 3 machos de *A. ovale*; e 4 ninfas de *A. sculptum*.

A co-ocorrência da infecção por *Borrelia* spp. e a presença de carrapatos em um subconjunto de cães é relevante. Os carrapatos identificados no estudo, já foram descritos como vetores potenciais de doenças transmitidas por carrapatos. É importante estudar se há relação acerca da presença de carrapatos em cães e a exposição e transmissão do agente *Borrelia* spp. nestes animais.

Esses achados demonstram a ocorrência de exposição prévia à *Borrelia* spp. em cães domiciliados próximos às florestas da Serra dos Órgãos. Embora a ausência de resultados positivos na PCR possa indicar a ausência de infecções ativas no momento da coleta, é possível que os animais tenham sido expostos anteriormente à bactéria e desenvolvido uma resposta imune.

4 DISCUSSÃO

Este estudo buscou pesquisar o agente *Borrelia* spp. no sangue de cães domésticos domiciliados em casas próximas a florestas na região da Serra dos Órgãos, que abrange uma grande área de Mata Atlântica e inclui o PARNASO. O gênero *Borrelia* engloba patógenos bacterianos que podem causar doença de Lyme (DL) e febre recorrente (FR). Além disso, além das espécies patogênicas conhecidas, nos últimos anos, uma grande diversidade foi reconhecida dentro do gênero *Borrelia* (JORGE et al., 2022).

A obtenção de uma amostra com um número reduzido de animais em uma área geograficamente extensa (n = 108 animais) pode ser atribuída a uma série de desafios e circunstâncias enfrentados durante o período de pesquisa - que abrangeu o tempo de doutorado - inclusive a pandemia que assolou o mundo e teve início em março de 2020. A coleta de amostras envolveu visitas domiciliares aos tutores dos cães domiciliados na ZA do PARNASO, o que demandou uma logística complexa para cobrir uma área geograficamente extensa. Além disso, fatores como a disponibilidade dos tutores para participar do estudo, a obtenção de autorizações prévias, e o comportamento às vezes mais agressivo dos animais durante a coleta contribuíram para a dificuldade em atingir um número maior de amostras. A pandemia supracitada também trouxe restrições significativas, afetando a mobilidade e a interação social, o que limitou a capacidade de realizar um maior número de visitas domiciliares e de realizar atividades de campo com segurança.

A detecção molecular de *Borrelia* spp. foi realizada utilizando o gene *flab*, que tem demonstrado alta especificidade e sensibilidade para a detecção de espécies de *Borrelia* em estudos anteriores (KRAICZY et al., 2001; MARGOS et al., 2018). Além disso, o gene *flab* tem sido amplamente utilizado em vários estudos que investigam a prevalência e distribuição de *Borrelia* em diferentes espécies hospedeiras, incluindo cães (LIU Et al., 2017; WANG et al., 2019). Portanto, usar o gene *flab* em seu estudo pode fornecer resultados confiáveis e precisos para a detecção de *Borrelia* no sangue de cães. A ausência de resultados positivos na PCR indica que não havia infecção ativa no momento da coleta.

A presença de *Borrelia* spp. em cães na Mata Atlântica é uma preocupação não apenas para a saúde dos animais, mas também devido ao potencial risco de transmissão para humanos. Em outras partes do mundo, como América do Norte e Europa, os cães desempenham um papel importante como sentinelas da doença de Lyme, e a detecção de *Borrelia* spp. em seu sangue é um alerta precoce para o risco de infecção humana (LITTMAN et al., 2018).

A distribuição das bactérias do gênero *Borrelia* é quase global, com *B. burgdorferi* sensu lato sendo encontrada principalmente em zonas temperadas do Hemisfério Norte; enquanto a maioria das espiroquetas relacionadas à febre recorrente ocorre em regiões subtropicais e tropicais - com exceção de *B. miyamotoi*, uma espécie relacionada à febre recorrente que ocorre em zonas temperadas (GUGLIOTTA et al., 2013).

A ecologia e evolução de *Borrelia* estão intimamente ligadas à ecologia do vetor (carrapatos) e do hospedeiro. Essas interações são afetadas por mudanças no ambiente natural, incluindo aquelas induzidas pelo homem, que podem alterar as condições do habitat e afetar a prevalência e distribuição do agente (BANETH et al., 2016). *Borrelia* spp. são transmitidas por carrapatos, e o risco de transmissão para humanos e animais é maior em áreas onde os carrapatos são abundantes (LOPES et al., 2017).

O bioma Mata Atlântica é um *hotspot* de biodiversidade que cobre grande parte da costa brasileira, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul. A região possui grande diversidade de fauna e flora e é considerada um dos mais importantes centros de endemismo do mundo. A Mata Atlântica também é um foco de doenças transmitidas por carrapatos,

incluindo as causadas por *Borrelia* spp. (YOSHINARI et al., 2003). A presença de *Borrelia* spp. no Brasil tem sido cada vez mais estudada ao longo dos anos, com diversos relatos indicando que a bactéria está amplamente distribuída no país (YOSHINARI et al., 2009).

A doença de Lyme (DL), causada pela *B. burgdorferi* sensu lato, é caracterizada por uma ampla gama de sintomas, incluindo febre, dor de cabeça, dores musculares e articulares e erupções cutâneas. Em casos graves, a DL pode causar problemas neurológicos, cardíacos e articulares (LITTMAN et al., 2018).

A Síndrome de Baggio-Yoshinari (SBY) é uma zoonose brasileira emergente que apresenta semelhanças com a DL, diferindo em alguns aspectos clínicos e imunológicos. Ambas as doenças são causadas por *B. Burgdorferi* sensu lato, espiroquetas transmitidas ao hospedeiro vertebrado por picadas de carrapatos. *B. burgdorferi* encontrada no Brasil apresenta diferenças que são considerados responsáveis pelas particularidades a manifestação clínica da SBY em relação à DL (YOSHINARI et al, 1993; YOSHINARI et al, 2010)

Com relação a DL em humanos, a prevalência da DL no Brasil não está bem estabelecida, e poucos casos foram relatados na literatura. Um estudo realizado no estado de São Paulo identificou DNA de *B. burgdorferi* no sangue de dois pacientes com suspeita clínica de DL (SAITO et al., 2017). No entanto, o estudo não confirmou o diagnóstico da DL com base em critérios clínicos ou sorologia.

Nas áreas rurais do Brasil, a maioria das pessoas mantém cães para guarda de suas propriedades, como animais de estimação, para companhia no campo e, em alguns casos, os cães também são usados na caça de subsistência. O contato direto com animais selvagens pode ser uma fonte de infecção por transbordamento (quando um reservatório natural com alta prevalência de um patógeno entra em contato com uma nova população hospedeira) (DASZAK et al., 2000; THOMPSON et al., 2009) e, como cães, pessoas e animais selvagens compartilham o mesmo ambiente, os cães têm sido sugeridos como sentinelas para estimar os riscos de infecção transmitida por vetores para humanos (CASTAÑERA et al., 1998; WANG et al., 2012). Várias características contribuem para a utilidade dos cães como sentinelas, uma vez que poderiam estar sujeitos a uma maior exposição a parasitas devido ao comportamento e uso do habitat (RABINOWITZ et al., 2009).

A sorologia positiva em 34 dos 108 (n = 31,48%) cães participantes do estudo, mostram a presença de anticorpos anti-*Borrelia* spp. na região. Esses resultados estão em concordância com estudos anteriores que relataram a prevalência de cães soropositivos para *Borrelia* spp. em diferentes regiões do Brasil (GONÇALVES et al., 2022).

No contexto específico deste estudo, a detecção de anticorpos anti-*Borrelia* spp. em cães sugere que esses animais foram expostos ao agente etiológico em algum momento. A presença desses anticorpos pode tanto indicar que os cães foram infectados pela bactéria ou que foram expostos a carrapatos portadores de *Borrelia* spp., que são os principais vetores de transmissão dessa bactéria. No entanto, é importante notar que a presença de anticorpos anti-*Borrelia* spp. não confirma a ocorrência de doença ativa em cães. Os cães podem desenvolver resposta imunológica contra o agente sem necessariamente manifestar sintomas clínicos.

A presença de carrapatos em 12 dos 34 (37,5%) cães analisados sugere uma associação entre a exposição a esses parasitas e a infecção por *Borrelia* spp. em cães. Os carrapatos são vetores conhecidos da bactéria causadora da DL, e sua presença nos animais pode aumentar o risco de transmissão da doença para os seres humanos. Estudos têm demonstrado a relação entre a presença de carrapatos e a ocorrência de infecção por *Borrelia* spp. em cães (GONÇALVES et al., 2022). A identificação de *A. aureolatum*, *A. ovale* e *A. sculptum* como espécies de carrapatos presentes nos cães analisados é consistente com estudos que relataram a presença dessas espécies em diferentes regiões do Brasil (LABRUNA et al., 2004; MARTINS et al., 2019).

É importante observar que a prevalência da borreliose em cães pode variar dependendo da localização e da população de carrapatos presente na área. Os resultados deste trabalho são relevantes para a discussão sobre *Borrelia* spp. no Brasil e no bioma Mata Atlântica, pois mostra a presença de anticorpos anti-*Borrelia* spp. em cães domésticos na região da Serra dos Órgãos, no Rio de Janeiro, próxima à mata e dentro da ZA do PARNASO. Em outras partes do mundo, como América do Norte e Europa, os cães são conhecidos por serem importantes sentinelas da DL, e a presença de *Borrelia* spp em seu sangue é um alerta precoce do risco de infecção humana (LITTMAN et al., 2018).

Assim, este estudo representa uma importante contribuição para a compreensão da presença de *Borrelia* spp. na região da Serra dos Órgãos, abrangendo o bioma Mata Atlântica e o PARNASO. A detecção de cães positivos para anticorpos anti-*Borrelia* spp. revela a exposição desses animais à bactéria, ressaltando a relevância da vigilância epidemiológica para monitorar a circulação desses patógenos em áreas de interação entre a fauna doméstica, selvagem e o ambiente natural. Ressaltasse também que, embora a presença desses anticorpos em cães indique exposição ao agente, é fundamental destacar que a detecção desses anticorpos não confirma automaticamente a ocorrência de doença ativa nos animais, podendo os cães serem portadores assintomáticos - o que realça a importância de investigações mais aprofundadas para compreender a relação entre a infecção e a manifestação clínica da doença.

Ademais, os resultados deste estudo enfatizam a importância do conceito de saúde única, que reconhece a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental. Ao considerar essa abordagem holística, será possível desenvolver estratégias mais abrangentes de prevenção e controle de doenças transmitidas por carrapatos, envolvendo a colaboração entre profissionais de saúde humana, veterinária, ecologistas e conservacionistas.

5 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos, o estudo revelou a presença de anticorpos anti *Borrelia* spp. em 34 (31,48%) dos 108 cães avaliados, demonstrando uma exposição anterior à bactéria. Além disso, foi observada a presença de carrapatos em 12 dos 34 cães soropositivos, sendo os principais vetores identificados como *Amblyomma aureolatum*, *A. ovale* e *A. sculptum*. Esse achado ressalta ainda mais a importância dos cães como sentinelas para estimar o risco de infecções transmitidas por vetores para seres humanos. A detecção de anticorpos em cães, combinada com a identificação dos vetores, sublinha a necessidade de estratégias abrangentes de prevenção, envolvendo colaboração interprofissional para enfrentar de maneira integrada os desafios de saúde humana, animal e ambiental.

6 REFERÊNCIAS

- BANETH, G. et al. *Borrelia persica* infection in dogs and cats: clinical manifestations, clinicopathological findings and genetic characterization. **Parasites and Vectors**, v. 9, n. 244, 2016.
- CASTAÑERA, M. B. et al. Evaluation of dogs as sentinels of the transmission of *Trypanosoma cruzi* in a rural area of northwestern Argentina. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 92, n. 6, p. 671-683, 1998.
- COULTER, P. et al. Two-year evaluation of *Borrelia burgdorferi* culture and supplemental tests for definitive diagnosis of Lyme disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, p. 5080-5084, 2005.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 6, 2019
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.06.012>
- DASZAK, P. et al. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. *Science*, v. 287, n. 5452, p. 443-449, 2000.
- ESTRADA-PENÑA, A. Understanding the Relationships between Landscape Connectivity and Abundance of *Ixodes Ricinus* Ticks. **Experimental and Applied Acarology**, v. 28, p. 239–248, 2002.
- GONÇALVES, E. S. et al. Research of *Rickettsia* spp. and *Borrelia* spp. in dogs in Southeast Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, V. 30, 2022.
- GUGLIOTTA, J. L. et al. Meningoencephalitis from *Borrelia miyamotoi* in an immunocompromised patient. **New England Journal of Medicine**, v. 368, p. 240-245, 2013.
- JORGE, F. R. et al. Novel *Borrelia* genotypes from Brazil indicate a new group of *Borrelia* spp. associated with South American bats. **Journal of Medical Entomology**, v. 60, n. 1, p. 213–217, 2023. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac160>
- LABRUNA et al., 2004
- LITTMAN, M. P. et al. ACVIM consensus update on Lyme borreliosis in dogs and cats. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n. 3, p. 887-903, 2018.
- LOPES, F. A. et al. Molecular evidence of *Borrelia burgdorferi* sensulato in patients in Brazilian central-western region. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 57, n. 6, p. 641-645, 2017.
- MARGOS, G. et al. The genus *Borrelia* reloaded. **PLoS ONE**, v. 13, 2018.
- MARTINS, T. F. et al. A new species of *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) associated with monkeys and passerines of the Atlantic rainforest biome, Southeastern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.07.003>

- NASCIMENTO, D. A. G. et al. Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 4, p. 418-422, 2016.
- RABINOWITZ, P. et al. Human and animal sentinels for shared health risks. **Veterinaria Italiana**, v. 45, n. 1, p. 23, 2009.
- SILVA, V. S. et al. Baggio-Yoshinari syndrome: a literature review. **Revista Med (São Paulo)**, v. 99, n. 5, p. 503-511, 2020.
- SOARES, H.S. **Pesquisa de carrapatos, agentes transmitidos por carrapatos e tripanossomatídeos em animais selvagens dos estados do Mato Grosso e Pará**. 2013. <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/10/>
- THOMPSON, R. C. et al. Parasite zoonoses and wildlife: emerging issues. **International journal of environmental research and public health**, v. 6, n. 2, p. 678-693, 2009.
- WANG, S. et al. Serological investigation of vector-borne disease in dogs from rural areas of China. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 102-103, 2012.
- WANG, S. et al. Serological investigation of vector-borne disease in dogs from rural areas of China. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 2, n. 2, p. 102-103, 2012.
- YOSHINARI, N. H. et al. Brazilian Lyme-like disease or Baggio-Yoshinari syndrome: exotic and emerging Brazilian tick-borne zoonosis. **Revista da Associação de Medicina Brasileira**, v. 56, n. 3, 2010.
- YOSHINARI, N. H. et al. Coexistence of antibodies to tick-borne agents of babesiosis and Lyme borreliosis in patients from Cotia county, State of São Paulo, Brazil. **Mem Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 3, p. 311-318, 2003.
- YOSHINARI, N. H. et al. Epidemiological study of Lyme disease in Cotia (São Paulo, Brasil). **Revista Especial Reumatologia**, v. 20, 1993.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste estudo, foi pesquisada a diversidade de carrapatos no bioma Mata Atlântica, analisando sua distribuição em diferentes espécies hospedeiras e investigando a presença de potenciais agentes patogênicos. Os resultados obtidos revelaram uma ampla diversidade de espécies de carrapatos na região, totalizando 335 espécimes encontrados em 21 espécies hospedeiras diferentes. Essa diversidade está diretamente relacionada à presença de uma variedade de hospedeiros na região, que serve como fonte de alimento e abrigo para esses artrópodes.

Além disso, identificou-se a presença de patógenos transmitidos por carrapatos em algumas das amostras coletadas. *Rickettsia* spp. foi detectada em quatro amostras, enquanto *Borrelia* spp. foi encontrada em uma amostra, de *Amblyomma varium*, nunca relatada antes. Esses patógenos representam potenciais riscos para a saúde humana e animal, destacando a importância de uma maior compreensão sobre a ecologia dos carrapatos na Mata Atlântica e suas implicações para a saúde pública.

Os resultados também destacaram diferenças significativas na infestação de carrapatos entre as espécies hospedeiras estudadas, que podem ser influenciadas por fatores como a suscetibilidade do hospedeiro e a disponibilidade de recursos ecológicos. Essas informações são cruciais para o desenvolvimento de estratégias de controle e prevenção visando reduzir os riscos de infestação e transmissão de doenças.

No segundo capítulo, foi investigada a presença de *Borrelia* spp. no sangue de cães domésticos na região do entorno do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO). Os resultados revelaram a presença de anticorpos anti-*Borrelia* spp. em 34 cães por meio de análises sorológicas. No entanto, a técnica de PCR utilizada para detecção do agente nas amostras resultou negativa, indicando que não havia infecção ativa no momento da coleta. A distribuição geográfica dos cães positivos abrangeu três dos quatro municípios estudados, com os animais identificados em 12 bairros distintos da região. Essa distribuição sugere uma possível relação entre a presença de *Borrelia* spp. e a proximidade com a área de floresta.

A co-ocorrência entre a infecção por *Borrelia* spp. e a presença de carrapatos, pertencentes a três espécies diferentes, sugere uma possível associação entre a infestação por carrapatos e a transmissão da bactéria na área do estudo. No entanto, é importante ressaltar que a ausência de resultados positivos na PCR pode indicar limitações no ensaio.

Em conclusão, este estudo contribuiu para o entendimento da diversidade de carrapatos na Mata Atlântica, bem como para a identificação de potenciais agentes patogênicos transmitidos por esses artrópodes. Os resultados ressaltam a importância de medidas de controle e prevenção para reduzir os riscos de infestação e transmissão de doenças, bem como a necessidade de monitorar a presença de *Borrelia* spp. em animais domésticos, como cães, visando a melhor compreensão da epidemiologia da borreliose na região de estudo.

Essas descobertas podem subsidiar estratégias de conservação e manejo de populações de animais selvagens na região, contribuindo para a preservação da biodiversidade e promoção da saúde pública. No entanto, são necessárias mais pesquisas para aprofundar o conhecimento sobre os carrapatos e os patógenos transmitidos por eles na Mata Atlântica, visando a prevenção e o controle efetivos das doenças associadas a esses artrópodes.

4 REFERÊNCIAS GERAIS

- ACOSTA, I. C. L. Et al. First molecular detection of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in *Amblyomma ovale* ticks from Espírito Santo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, p. 420-422, 2018.
- AGUIAR, D. M. et al. Complete Genome Sequence of an Ehrlichia minasensis Strain Isolated from Cattle. **Microbiology Resource Announcements**, v. 8, n. 15, 2019.
- ALMEIDA, A.P. et al. Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in southeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 3, p. 640-646, 2013. <http://dx.doi.org/10.1603/ME12272>
- ANCHIETA, P. J. **Carta de São Vicente, 1560**. São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 1997. 53 p.
- ANDERSON, J. F. The natural history of ticks. **Tick-Borne Disease**, v. 86, n. 6, 2002.
- ANDERSON, J. F.; MAGNARELLI, L. A. Biology of Ticks. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 22, p. 195-215. 2008.
- ARRAGA-ALVARADO, C. M. et al. Case report: Molecular evidence of anaplasma platys infection in two women from venezuela. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 91, n. 6, p. 1161–1165, 2014.
- BAKKEN, J. S.; DUMLER, J. S. Human Granulocytic Anaplasmosis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 29, n. 2, p. 341-355, 2015.
- BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) vectors of diseases of man and animals. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 8, p. 161–376, 1972.
- BANETH, G. Tick-borne infections of animals and humans: A common ground. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 9, p. 591-596, 2014.
- BERMÚDEZ, S. et al. Molecular detection of rickettsial agents of hard ticks (Acari: Ixodidae) collected from wild birds of Panama. **Systematic and Applied Acarology**, v. 25, n. 4, p. 622–632, 2020.
- BETT, B. et al. Effects of climate change on the occurrence and distribution of livestock diseases. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 137, p. 119–129, 2017.
- BOCK, R. et al. Babesiosis of cattle. **Parasitology**, v. 129, p. 247–269, 2004. doi: 10.1017/S0031182004005190

BORREL, A.; MARCHOUX, E. Argas et spirilles. **CR Seances Soc. Biol. Fil.**, v. 58, p. 362–364, 1905.

BOULANGER, N. et al. Ticks and tick-borne diseases. **Medecine et Maladies**, v. 49, n. 2, 87-97, 2019.

BROWNSTEIN, J. S.; HOLFORD, T. R.; FISH, D. Effect of climate change on lyme disease risk in North America. **EcoHealth**, v. 2, n. 1, p. 38–46, 2005.

BUDACHETRI, K. et al. An Entry-Triggering Protein of Ehrlichia Is a New Vaccine Candidate against Tick-Borne Human Monocytic Ehrlichiosis. **mBio**, v. 11, n. 4, 2020.

BUDACHETRI, K. et al. Efficacy and Immune Correlates of OMP-1B and VirB2-4 Vaccines for Protection of Dogs from Tick Transmission of Ehrlichia chaffeensis. **mBio**, v. 13, n. 6, 2022.

CABEZAS-CRUZ, A.; ZWEYGARTH, E.; AGUIAR, D. M. *Ehrlichia minasensis*, an old demon with a new name. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 4, p. 828-829, 2019.

CALCHI, A. C. et al. *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in Xenarthra mammals from Brazil, with evidence of novel ‘Candidatus *Anaplasma* spp.’ **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2020.

CARDOSO, L. et al. Molecular detection of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from the North of Portugal. **The Veterinary Journal**, v. 183, p. 232-233, 2010.

CARVALHO DE OLIVEIRA, R. et al. Out of the shadows, into the spotlight: Invisible zoonotic diseases in Brazil. **The Lancet Regional Health - Americas**, v. 8, p. 100-202, 2022.

CASCIO, A. et al. The socio-ecology of zoonotic infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 3, p. 336-342, 2011.

CERQUEIRA, E. J. L. et al. Considerações sobre pulgas (Siphonaptera) da raposa *Cercopithecus* da área endêmica de leishmaniose visceral de Jacobina, Bahia, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, n.1, p. 91-93, 2000.

CHAO, L. L. et al. First detection and molecular identification of *Babesia gibsoni* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Acta Tropical**, v. 166, p. 356–362, 2017. doi: 10.1016/j.actatropica.2016.09.022

COELHO, M.A.N. et al. Flora do estado do Rio de Janeiro: avanços no conhecimento da diversidade. **Rodriguésia**, v. 68, n. 1, p. 1-11, 2017.

CURTIS, C. F. **Dogs and Ectoparasitic Zoonoses**. In C.N.L. Macpherson, F. X. Meslin and A. I. Wandeler (eds.), *Dogs, Zoonoses and Public Health*. CABI Publishing: New York, pp. 257–272, 2000.

CUTLER, S. J. et al New *Borrelia* on the Block: *Borrelia Miyamotoi*—A Human Health Risk? **Eurosurveillance**, v. 24, n. 1, 2019.

- DANTAS-TORRES, F. Climate change, biodiversity, ticks and tick-borne diseases: The butterfly effect. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, n. 3, p. 452–461, 2015.
- DANTAS-TORRES, F. et al. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 6, 1 out. 2019.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife-Threats to Biodiversity and Human Health. **Science**, v. 287, 2000. Disponível em: <www.sciencemag.org>.
- DE AGUIAR, D. M. et al. Isolation and characterization of a novel pathogenic strain of *Ehrlichia minasensis*. **Microorganisms**, v. 7, n. 11, 2019.
- DEAN, W. **A ferro e fogo: a história e a devastação da Mata Atlântica brasileira**. São Paulo: Companhia das Letras, 1996.
- DE LA FUENTE, J. et al. Molecular characterization Anaplasma platys strains from dogs in Sicily, Italy. **BMC Veterinary Research**, v. 2, n. 24, 2006.
- DE LA FUENTE, J. et al. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Frontiers in Bioscience**, v. 13, 2008.
- DE LA FUENTE, J. The fossil record and the origin of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). *Experimental and Applied Acarology*, v. 29, p. 331-344, 2003.
- DITCHKOFF, S. S.; SAALFELD, S. T.; GIBSON, C. J. Animal behavior in urban ecosystems: Modifications due to human-induced stress. **Urban Ecosystems**, v. 9, n. 1, p. 5-12, 2006.
- DIZA, E. et al, A. Borrelia Valaisiana in Cerebrospinal Fluid. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, p. 1692–1693, 2004.
- DOBLER, G.; PFEFFER, M. Fleas as parasites of the family Canidae. **Parasites and Vectors**, v. 4, n. 1, 2011.
- DUMLER, J. S. et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and ‘HE agent’ as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p. 2145–2165, 2001.

EISEN, L. Vector Competence Studies with Hard Ticks and *Borrelia Burgdorferi* Sensu Lato Spirochetes: A Review. **Ticks Tick. Borne Diseases**, v. 11, 2020.

ESTRADAPEÑA, A. Climate changes decrease habitat suitability for some tick species (Acari: Ixodidae) in South Africa. **Journal of Veterinary Research**, v. 70, p. 79-93, 2003.

FACINNI-MARTÍNEZ, A. A. et al. Febre Maculosa por *Rickettsia parkeri* no Brasil: condutas de vigilância epidemiológica, diagnóstico e tratamento. **Revista de Saúde e Ciências biológicas**, v. 6, n. 3, p. 299-312, 2018.

FÉLIX, M. L. et al. Molecular characterization of novel *Ehrlichia* genotypes in *Ixodes auritulus* from Uruguay. **Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 1, 2021.

FERNANDEZ, F. **O Poema Imperfeito. Crônicas de Biologia, conservação da natureza e seus heróis**. Curitiba: Editora UFPR, 3ª. Ed., 2011.

FERROLHO, J. et al. Detection and phylogenetic characterization of *Theileria* spp. and *Anaplasma marginale* in *Rhipicephalus bursa* in Portugal. **Ticks Tick Borne Diseases**, v. 7, p. 443–438, 2016. doi: 10.1016/j.ttbdis.2016.01.004

GÂNDAVO, P. M. **A primeira história do Brasil: história da província Santa Cruz a que vulgarmente chamamos Brasil**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar Editor, 2004. 207 p.

GILLESPIE, J. J. et al. *Rickettsia* phylogenomics: Unwinding the intricacies of obligate intracellular life. **PLoS ONE**, v. 3, n. 4, 16 abr. 2008.

GEIGER, A. et al. Adult blood-feeding tsetse flies, trypanosomes, microbiota and the fluctuating environment in sub-Saharan Africa. **Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology**, v. 9, p. 1496–1507, 2015.

GOODMAN, J. L. et al. **Tick-borne diseases of humans**. Washington, DC: ASM Press; 2005.

GOMES, S. N. **Helmintofauna parasitária de *Dasypus novemcinctus* (Xenarthra: Dasypodidae) no sul do Rio Grande do Sul, Brasil**. Dissertação. Universidade Federal de Pelotas, 58 p., 2010.

GOTTWALT, A. Impacts of Deforestation on Vector-borne Disease Incidence. **Journal of Global Health**, v.3, p. 16-19, 2013.

GORIROSSI-BOURDEAU, F. A documentation in stone of Acarina at the Roman Temple of BACCHUS in Baalbek, Lebanon about 150 AD". **Bulletin et annales de la Société entomologic de Belgique**, v. 131, 1995.

GORTAZAR, C. et al. Crossing the Interspecies Barrier: Opening the Door to Zoonotic Pathogens. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 6, 2014.

GRAIPEL, M. E. et al. **Mamíferos da Mata Atlântica**. In: Revisões em Zoologia: Mata Atlântica, Curitiba: Ed. UFPR, 528p., 2017.

GUIMARÃES, A. et al. Infecção de *Ehrlichia* spp. em gatos domésticos da Grande Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 1, p. 180-185, 2019.

HAAG, C. **Entre o homem e a natureza**. Pesquisa Fapesp, v. 176, p. 86-89, 2010.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Mapa de Vegetação do Brasil**. Diretoria de Geociências. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2ª Ed., 2000.

ICMBio/MMA. Instituto Chico Mendes de Biodiversidade/Ministério do Meio Ambiente. **Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção**. Volume I, 1ª ed., 2018.

JANSEN, A. M. et al. Marsupiais Didelfídeos: gambás e cuícas A FAMÍLIA DIDELPHIDAE: O GAMBÁ DIDELPHIS MARSUPIALIS. **Editora Fiocruz**, p. 388, 2002.

JOHNSON, C.K., et al., Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. **Proceedings of the Royal Society Biology Sciences**, v. 287, n. 1924, 2020.

JONES, B. A. et al. Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 21, p. 8399–8404, 21 maio 2013.

JONES, K. E. et al. Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990–993, 21 fev. 2008.

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

KAUFMAN, W. R., SAUER, J. R. **Ion and water balance in feeding ticks: mechanisms of tick excretion**. In: Physiology of ticks. Oxford (UK): Pergamon Press; 1982. p. 213–44.

KEIRANS, J. E., DURDEN, L. A. **Tick systematics and identification**. In: Goodman JL, Dennis DT, Sonenshine DE, editors. Tick-borne diseases of humans. Washington, DC: ASM Press; 2005. P. 401.

KEMP, D. H. et al. **Tick attachment and feeding: role of the mouthparts, feeding apparatus, salivary gland secretions, and the host response**. In: Obenchain FD, Galun R, editors. Physiology of ticks. Oxford (UK): Pergamon Press; 1982. p. 119–68.

KLOMPEN, H.; GRIMALDI, D. First Mesozoic Record of a Parasitiform Mite: a Larval Argasid Tick in Cretaceous Amber (Acari: Ixodida: Argasidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 94, n. 1, 2001. Disponível em: <<https://academic.oup.com/aesa/article/94/1/10/120956>>.

KNULLE, W., RUDOLPH, D. **Humidity relationships and water balance of ticks.** In: Physiology of ticks. Oxford (UK): Pergamon Press; 1981. p. 43–70.

KRASNOV, B. R. et al. Similarity in ectoparasite faunas of Palaearctic rodents as a function of host phylogenetic, geographic or environmental distances: which matters the most? **International Journal of Parasitology**, v. 40, n.7, p. 807-817, 2010.

KRASNOV, B. R. Functional and Evolutionary Ecology of Fleas. **Cambridge University Press**, New York, 2008.

KRASNOV, B. R. et al. Trait-based and phylogenetic associations between parasites and their hosts: a case study with small mammals and fleas in the Palearctic. **Oikos**, v. 125, n.1, p. 29-38, 2016.

KRAWCZAK, F. et al. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-7, 2014.

KUBIAK, K. et al. *Borrelia Miyamotoi*—An Emerging Human Tick-Borne Pathogen in Europe. **Microorganisms**, v. 9, n. 154, 2021.

LABRUNA, M. B. et al. *Rickettsia species* infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 90-98, 2004.

LABRUNA, M. B. 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, 2004.

LEDERBERG, J. et al. Emerging Infections: Microbial Threats to Health in the United States. Institute of Medicine Committee on Emerging Microbial Threats to Health, National Academies Press: Washington DC, USA, 1992.

LEIBY, D. A. Babesiosis and blood transfusion: flying under the radar. **Vox Sang**, v. 90, p. 157–165, 2006. doi: 10.1111/j.1423-0410.2006.00740.x

LÉRY, J. **Viagem à terra do Brasil, 1576.** São Paulo: Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, 1998. 69 p.

LEWIS, S. L., MASLIN, M. A. **The Human Planet. How we created the Anthropocene.** New Haven: Yale University Press, 2018.

LEWIS, R. E.; GRIMALDI, D. A Pulicid Flea in Miocene Amber from the Dominican Republic (Insecta: Siphonaptera: Pulicidae). **American Museum of Natural History**, n. 3205, p. 1-9, 1997.

LIMA, M. L. F. et al. Molecular Detection of *Anaplasma platys* In A Naturally-Infected Cat In Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, p. 381–385, 2010.

LOURDES, V. D. et al. Occurrence of *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* in clinically affected cattle in western Santa Catarina, Brazil. **Revista Brasileira de Saude e Producao Animal**, v. 21, p. 1–10, 10 ago. 2020.

MACHADO, R. Z. et al. Migratory and Carnivorous Birds in Brazil: Reservoirs for Anaplasma and Ehrlichia Species? **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 8, p. 75–708, 2012.

MADISON-ANTENUCCI, S. et al. Emerging Tick-Borne Diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 2, 2020.

MANS, B. J. et al. *Nuttalliella namaqua*: A living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: Implications for the evolution of blood-feeding in ticks. **PLoS ONE**, v. 6, n. 8, 2011.

MARGOS, G. et al. Published Data Do Not Support the Notion That *Borrelia Valaisiana* Is Human Pathogenic. **Infection**, v. 45, p. 567–569 2017.

MARGOS, G. et al. There is inadequate evidence to support the division of the genus *Borrelia*. **International Journal of Systematics Evolution on Microbiology**, v. 67, p. 1081–1084, 2017.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. A Hora Veterinária. **A Hora Veterinária**, v. 135, n. 1, p. 15-23, 2004.

MAZZOTTI, G. A. et al. Investigação molecular de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Anaplasma phagocytophilum* e *Rickettsia* spp. em felídeos selvagens cativos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, p. 528-535, 2018.

MCINTOSH, D. et al. Detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma longirostre* (Acari: Ixodidae) from Bahia state, Northeast Brazil. **Journal of Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 879-883, 2015.

MEDEIROS, R.; GARAY, I. **Singularidades do sistema de áreas protegidas no Brasil e sua importância para a conservação da biodiversidade e o uso sustentável de seus componentes**. In: Garay e Becker eds. Dimensões humanas da biodiversidade: o desafio de novas relações sociedade-natureza no século XXI. Ed. Vozes, 1ª.ed., p. 159-184, 2006.

MELO, A. L. T. et al. Serological evidence of *Ehrlichia minasensis* infection in Brazilian dogs. **Acta Tropica**, v. 219, 1 jul. 2021.

MILARÉ, E. **Direito do ambiente: doutrina, prática, jurisprudência, glossário**. São Paulo: Editora Revista dos Tribunais, 2007.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Download de dados geográficos**. Disponível em: <http://mapas.mma.gov.br/i3geo/datadownload.htm> Acesso em 20 de outubro de 2020.

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Mapa de vegetação nativa na área de aplicação da Lei no 11428/2006**. Lei da Mata Atlântica (Ano base 2009). Disponível em: http://www.mma.gov.br/images/arquivos/biomas/mata_atlantica/Relatorio%20Final%20Atualizacao%20do%20Mapa%20de%20cobertura%20vegetal%20nativa%20da%20Mata%20Atlantica%201.pdf Acesso em: 10 agosto 2022.

MOENS, M. A. J.; PÉREZ-TRIS, J. Discovering potential sources of emerging pathogens: South America is a reservoir of generalist avian blood parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 1, p. 41–49, 2016.

MONGRUEL, A. C. B., et al. Detection of *Anaplasma* sp. Phylogenetically related to *A. phagocytophilum* in a free-living bird in Brazil. **Brazil Journal of Veterinary Parasitology**, v. 26, n. 4, p. 505-510, 2017.

MURARO, L. S. et al. First evidence of *ehrlichia minasensis* infection in horses from Brazil. **Pathogens**, v. 10, n. 3, p. 1–12, 1 mar. 2021.

OBENCHAIN, F. D., GALUN R. **Physiology of Ticks**. Oxford, Pergamon Press, 1982.

ONOFRIO, V. C. et al. **Família Ixodidae: características gerais, comentários e chaves para gêneros**. In: BARROS-BATTESTI, D. M., ARZUA, M., BECHARA, G. H. (Eds.) Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006a. p. 29-39.

ONOFRIO, V. C. et al. **Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma***. In: BARROS-BATTESTI, D. M., ARZUA, M., BECHARA, G. H. (Eds.). Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006b. p. 53-113.

ORD, R. L.; LOBO, C. A. (2015). Human babesiosis: pathogens, prevalence, diagnosis and treatment. **Current Clinical Microbiology Report**, v. 2, p. 173–181. doi: 10.1007/s40588-015-0025-z

PANTI-MAY, J. A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I. Canine babesiosis: A literature review of prevalence, distribution, and diagnosis in Latin America and the Caribbean. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 21, 2020.

PAROLA, P. et al. **Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach**. **Clinical Microbiology Reviews**, out. 2013.

PENG, Y. et al. The first detection of *Anaplasma capra*, an emerging zoonotic *Anaplasma* sp., in erythrocytes. **Emerging Microbes and Infections**, v. 10, n. 1, p. 226–234, 2021.

PETER, T. F. et al. *Ehrlichia ruminantium* infection (heartwater) in wild animals. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 5, 2002.

PETROVEC, M. et al. Detection of *Ehrlichia* spp., *Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., and other Eubacteria in ticks from the Thai-Myanmar and Vietnam. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 1600–1608, 1997.

PFÄFFLE, M. et al. **The ecology of tick-borne diseases. International Journal for Parasitology**, nov. 2013.

PIESMAN, J., DOLAN, M. C. Protection against Lyme disease spirochete transmission provided by prompt removal of nymphal *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 39, p. 509–12, 2002.

PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of New York Academy Sciences**, v. 1078, p. 523–529, 2006.

POINAR, G. O. First fossil soft ticks, *Ornithodoros antiquus* n. sp. (Acari: Argasidae) in Dominican amber with evidence of their mammalian host. **Experientia**, v. 51, n. 4, p. 384–387, abr. 1995.

POINAR, G. Spirochete-like cells in a Dominican amber *Amblyomma* tick (Arachnida: Ixodidae). **Historical Biology**, v. 27, n. 5, p. 565–570, 4 jul. 2015.

RADOLF, J. D. et al. Lyme Disease in Humans. **Current. Issues on Molecular Biology**, v. 42, p. 333–384, 2020.

RANJBAR-BAHADORI, S. et al. Babesia ovis as the main causative agent of sheep babesiosis in Iran. **Parasitology Research**, v. 110, p. 1531–1536, 2012. doi: 10.1007/s00436-011-2658-z

RYMASZEWSKA, A; GREINDA, S. Bacteria of the genus *Anaplasma* – characteristics of *Anaplasma* and their vectors: a review. **Veterinarni Medicina**, v. 53, n. 11, p. 573–584, 2008.

SACCHI, A. B. V. et al. Prevalence and molecular characterization of Anaplasmataceae agents in free-ranging Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 35, n. 4, p. 325–334, 2012.

SAITO, T.B. et al. Canine infection by *Rickettsiae* and *Ehrlichiae* in southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.**, v. 79, n. 1, p. 102–108, 2008.

SAITO, T.B., WALKER, D.H. Ehrlichioses: An Important One Health Opportunity. **Veterinary sciences**, v. 3, n. 3, 2016.

SALJE, J. Cells within cells: *Rickettsiales* and the obligate intracellular bacterial lifestyle. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, p. 375–390, 2021.

SANTOS, H. A. et al. Molecular epidemiology of the emerging zoonosis agent *Anaplasma phagocytophilum* (Foggie, 1949) in dogs and ixodid ticks in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 6, n. 348, 2013. Disponível em: <<http://www.parasitesandvectors.com/content/6/1/348>>.

SEA. Secretaria de Estado do Ambiente. Rio de Janeiro. **Abrace essas dez! Defenda todas as espécies ameaçadas de extinção**. Rio de Janeiro: SEA, 1ª ed., 2015.

SILVEIRA, J. A. et al. Isolation and attempted cultivation of an *Anaplasma marginale* strain from Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fisher, 1814) in the tick cell line IDE8. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 7, n. 6, p. 1102-1108, 2016.

SHAYAN, P. et al. Determination of *Rhipicephalus* spp. as vectors for *Babesia ovis* in Iran. **Parasitology Research**, v. 101, p. 1029–1033, 2007. doi: 10.1007/s00436-007-0581-0

SHOPE, R. Global climate change and infectious diseases. **Environmental Health Perspectives**, v. 96, p. 171–174, 1991.

SILVEIRA, J. A. et al. Post-mortem hemoparasite detection in free-living Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 206-215, 2014.

SOLANO-GALLEGÓ, L. et al. A review of canine babesiosis: the European perspective. **Parasites and Vectors**, v. 9, n. 336, 2016. doi: 10.1186/s13071-016-1596-0

SONENSHINE, D. E. **Biology of Ticks**, Vol 2. New York, Oxford University Press, 1993.

SONENSHINE, D. E. **Biology of ticks**, vol. 1. New York: Oxford University Press; 1991.

SONENSHINE, D. E.; ROE, M. R. **Biology of Ticks**, 2nd Edn. New York, NY: Oxford University Press. 2014.

SOUZA, L. A. **Resenha do livro A ferro e fogo**. Aedos, v. 8, n. 264, 2011.

STANEK G; STRLE F. Lyme borreliosis-from tick bite to diagnosis and treatment. **FEMS Microbiology Review**, v. 42, p. 233–258, 2018.

STANEK, G.; REITER, M. The Expanding Lyme Borrelia Complex—Clinical Significance of Genomic Species? **Clinical Microbiology Infections**, v. 17, 487–493, 2011.

STEERE, A. C. et al. Lyme borreliosis. **Nature Review Diseases Primers**, v. 2, 2016.

SETELE, J., et al. **COVID-19 Stimulus Measures must Save Lives, Protect Livelihoods, and Safeguard nature to Reduce the Risk of Future Pandemics**. 2020. Disponível em: <https://ipbes.net/covid19stimulus>.

STEWART, A. et al. *Rickettsia Australis* and Queensland tick typhus: A rickettsial spotted fever group infection in Australia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, n. 1, p. 24-29, 2017.

SUTHERST, R. W.; BOURNE, A. S. The effect of desiccation and low temperature on the viability of eggs and emerging larvae of the tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini) (Ixodidae). **International Journal for Parasitology**, v. 36, n. 2, p. 193–200, fev. 2006.

SZABÓ, M., et al. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v. 140, n. 06, p. 719-728, 2013b.

SZABÓ, M.P.J., PINTER, A., LABRUNA, M.B. Ecology, biology and distribution of spotted- fever tick vectors in Brazil. **Front Cell Infect Microbiology**, v. 4, 2013a.

TALAGRAND-REBOUL, E. et al. **Frontiers of Cell Infection Microbiology**, v. 8, n. 98, 2018, 8, 98.

TATE, C. M. et al. *Anaplasma odocoilei* sp. nov. (family Anaplasmataceae) from white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 4, n. 1–2, p. 110–119, fev. 2013.

TAYLOR, L. H.; LATHAM, S. M.; WOOLHOUSE, M. E. J. Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 356, n. 1411, p. 983–989, 29 jul. 2001.

TREVISAN, G. et al. Borreliæ Part 1: Borrelia Lyme Group and Echidna-Reptile Group. **Biology (Basel)**, v. 12, n. 10, 2021. doi: 10.3390/biology10101036

VARJABEDIAN, R. Lei da Mata Atlântica: retrocesso ambiental. **Estudos Avançados**, v. 24, n. 147, 2010.

VIEIRA, R. F. C. et al. Ehrlichiosis in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 20, n. 1–12, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612011000100002>.

VOIGT, E. Ein Haareinschluss mit Phthirapteren-Eiern im Bernstein. *Mitt. Geologischen Staatsinstitut in Hamburg*, v. 21, p. 59–74, 1952.

WAPPLER, T.; SMITH, V. S.; DALGLEISH, R. C. Scratching an ancient itch: An Eocene bird louse fossil. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 271, n. SUPPL. 5, 7 ago. 2004.

WALADDE, S. M., RICE, M. J. **The sensory basis of tick feeding behaviour**. In: Obenchain FD, Galun R, editors. *Physiology of ticks*. Oxford (UK): Pergamon Press; 1982. p. 71–118.

WILCOX, B. A., ELLIS, B. Forests and emerging infectious diseases of humans. **Unasylva**, v. 57, n. 2, p. 11-18, 2006.

WOLF, R. W. et al. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non- volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 449- 456, 2016.

YODER, J. A. et al. Developmental profiles in tick water balance with a focus on the new Rocky Mountain spotted fever vector, *Rhipicephalus sanguineus*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 20, n. 4, p. 365–372, dez. 2006.

ANEXO 1

- Autorização emitida pela Comissão de Ética no Uso de Animais para realização dos capítulos I e II.



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Detecção e isolamento de hemoparasitos transmitidos por carrapatos e pulgas na região da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro.", protocolada sob o CEUA nº 6790010719 (ID 001552), sob a responsabilidade de **Adivaldo Henrique da Fonseca e equipe; Paula de Abreu Moraes; Matheus Dias Cordeiro** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 18/11/2019.

We certify that the proposal "Detection and isolation of hemoparasites transmitted by ticks and fleas in the Serra dos Órgãos region, Rio de Janeiro.", utilizing 20 Dogs (males and females), 15 Cats (males and females), protocol number CEUA 6790010719 (ID 001552), under the responsibility of **Adivaldo Henrique da Fonseca and team; Paula de Abreu Moraes; Matheus Dias Cordeiro** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 11/18/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2019** a **08/2023**

Área: **Doenças Parasitárias**

Origem:	Animais de proprietários			
Espécie:	Cães	sexo:	Machos e Fêmeas	idade: 06 a 240 meses N: 20
Linhagem:	n/a			Peso: 1 a 65 kg
Origem:	Animais de proprietários			
Espécie:	Gatos	sexo:	Machos e Fêmeas	idade: 06 a 240 meses N: 15
Linhagem:	n/a			Peso: 1 a 20 kg

Local do experimento: Os trabalhos experimentais serão realizados nos Laboratórios de Doenças Parasitárias (LDP) curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ. O estudo a campo será conduzido em Zonas de Amortecimento na região da Serra dos Órgãos, do estado do Rio de Janeiro. As Zonas de Amortecimento constituem o entorno de uma unidade de conservação, onde as atividades humanas estão sujeitas a normas e restrições específicas, com o propósito de minimizar os impactos negativos sobre a unidade (Lei n.º 9.985/2000 Art. 2º inciso XVIII). Uma lista com os bairros onde serão pesquisadas casas que se encaixem no perfil do estudo se encontra em anexo (Anexo LISTA DE BAIRROS ZONA DE AMORTECIMENTO). Este projeto será submetido a avaliação pela Comissão de Ética da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) para autorização prévia e ao Sisbio (Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014) para autorização de coleta de ectoparasitas em zonas de amortecimento do PARNASO.

Seropédica, 19 de novembro de 2019

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Carlos Alexandre Rey Matias
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

ANEXO 2

- Autorização emitida pelo SISBio para a realização do trabalho referente ao capítulo I.



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 69885-3	Data da Emissão: 15/06/2022 14:37:20	Data da Revalidação*: 01/05/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Paula de Abreu Moraes	CPF: 124.091.657-45
Título do Projeto: Detecção e isolamento de hemoparasitos transmitidos por carrapatos e pulgas na região da Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro.	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta de pulgas e carrapatos	09/2019	09/2022

Observações e ressalvas

1	Deve-se observar as as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
2	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
3	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
4	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
9	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
10	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0698850320220615

Página 1/4

ANEXO 3

- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelos proprietários dos cães participantes deste estudo.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Os animais sob sua guarda participarão de uma pesquisa, caso sejam selecionados. Após esclarecer as informações a seguir, no caso de aceitar a participação dos mesmos no estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa, você ou seu animal não serão penalizados de forma alguma. Todas as dúvidas serão respondidas pelo Pesquisador Responsável do estudo ou ainda por um Médico Veterinário designado por ele”.

TÍTULO DA PESQUISA: DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE HEMOPARASITOS TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS E PULGAS NA REGIÃO DA SERRA DOS ÓRGÃOS, RIO DE JANEIRO.

OBJETIVO: Detectar e isolar importantes hemoparasitos transmitidos por pulgas e carrapatos, que acometem animais domésticos e seres humanos.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Os animais que participarão do estudo serão avaliados quanto a presença de ectoparasitas, os quais serão retirados de forma manual com um auxílio de pente próprio. Os ectoparasitas retirados serão identificados no laboratório. Será realizado também, um exame de sangue do animal em questão, para avaliações hematológicas e bioquímicas. As avaliações serão realizadas por veterinários com formação em clínica e aptos a fazerem as avaliações necessárias. Não será administrado nenhum tipo de medicação ao animal.

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DO(S) ANIMAL(IS) NO ESTUDO

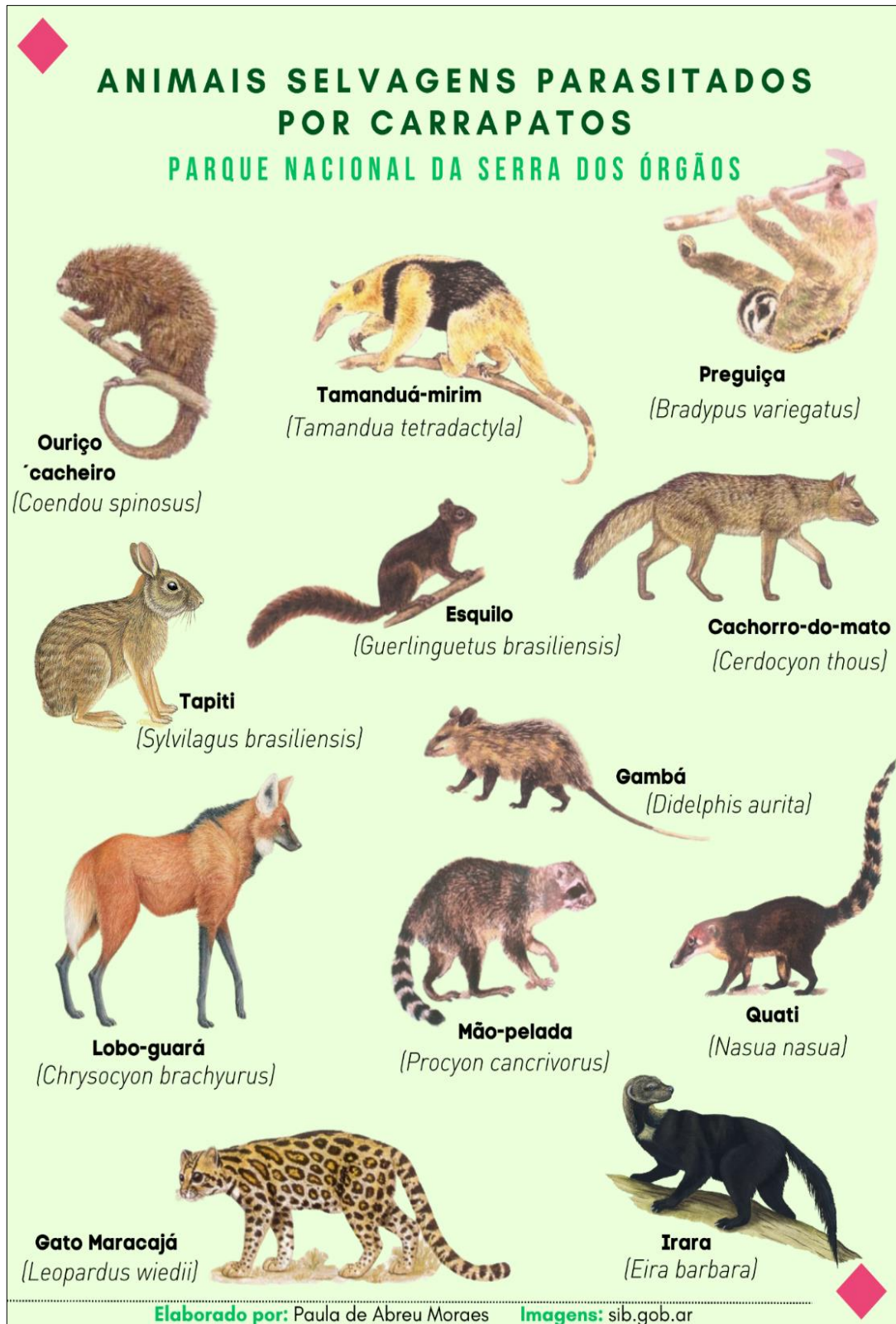
Eu, _____, RG: _____,
CPF: _____, abaixo assinado, responsável pela guarda do(s)
animal(is), concordo com a participação do(s) mesmo(s) no estudo acima descrito.
Fui devidamente informado e esclarecido sobre a pesquisa, os procedimentos
envolvidos, assim como os possíveis riscos decorrentes da participação no estudo.

Local e data: _____

Nome e Assinatura do tutor(a) do(s) animal(is) ou responsável

Pesquisador Responsável

APÊNDICE 1

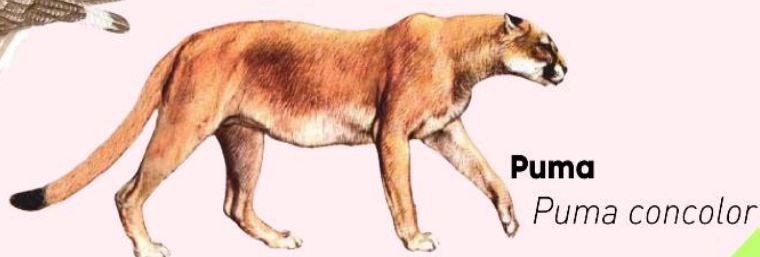
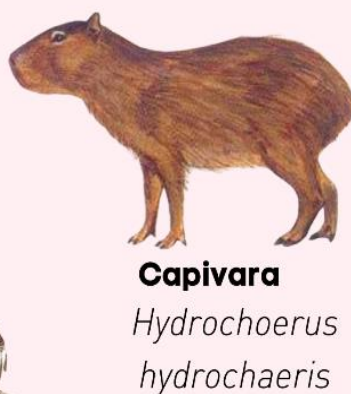
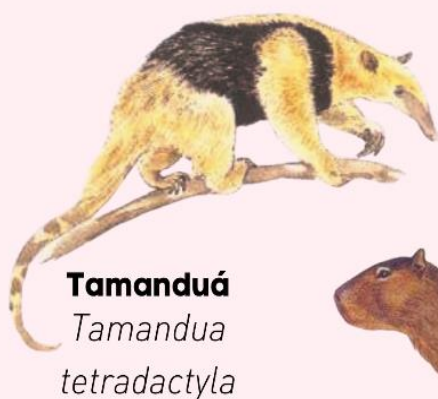


Pôster mostrando os animais selvagens do Parque Nacional da Serra dos Órgãos (PARNASO) em que foram encontrados carrapatos. Este pôster ficará exposto no Centro de Visitantes do parque.

APÊNDICE 2

ANIMAIS SELVAGENS PARASITADOS POR CARRAPATOS

CENTRO DE REABILITAÇÃO DE ANIMAIS SILVESTRES



Elaborado por: Paula de Abreu Moraes Imagens: sib.gob.ar

Espécies de animais selvagens em que foram encontrados carrapatos, provenientes do Centro de Reabilitação de Animais Selvagens do Rio de Janeiro (CRAS/RJ).