



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA**
Instituto de Ciências Biomédicas
**Programa de Pós-graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas**



Carrapatos e riquétsias em javaporcos (*Sus scrofa scrofa*) em uma fazenda do município de Tupaciguara - Minas Gerais e Análise proteômica da saliva dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma parvum*

Ana Carolina Prado Sousa

Uberlândia – MG

Janeiro 2022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-graduação em Imunologia e
Parasitologia Aplicadas**



Carrapatos e riquetsias em javaporcos (*Sus scrofa scrofa*) em uma fazenda do município de Tupaciguara - Minas Gerais e Análise proteômica da saliva dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma parvum*

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas como parte de obtenção do título de Doutor.

Ana Carolina Prado Sousa

Discente

Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabo

Orientador

Uberlândia – MG

Janeiro 2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em
Imunologia e Parasitologia Aplicada
Av. Amazonas, s/n, Bloco 4C, Sala 4C218 - Bairro Umarama,
Uberlândia-MG, CEP 38400-902 Telefone: (34) 3225-8672 -
www.imunoparasito.ufu.br - coipa@ufu.br



ATA DE DEFESA - PÓS-GRADUAÇÃO

Programa de Pós-Graduação em:	Imunologia e Parasitologia Aplicadas				
Defesa de:	Tese de Doutorado nº 143				
Data:	vinte e oito de janeiro de dois mil e vinte dois	Hora de início:	13:00	Hora de encerramento:	18:18
Matrícula do Discente:	11723IPA001				
Nome do Discente:	Ana Carolina Prado Sousa				
Título do Trabalho:	Carrapatos e riquetsias em javaporcos (<i>Sus scrofa scrofa</i>) do município de Tupaciguara - Minas Gerais e Análise proteômica da saliva dos carrapatos <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Amblyomma parvum</i>				
Área de concentração:	Imunologia e Parasitologia Aplicadas				
Linha de pesquisa:	Epidemiologia das Doenças Infecciosas e Crônico-Degenerativas				
Projeto de Pesquisa de vinculação:	Sistemática, Ecologia E Aspectos Moleculares de Carrapatos E Zoonoses transmitidas por Carrapatos em Diferentes Biomas Do Brasil				

No dia 28/01/2022, reuniu-se, por vídeo conferência, a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, assim composta pelos titulares: Matias Pablo Juan Szabó - FAMEV -PPIPA-UFU - Presidente (Orientador da candidata); Carlo José Freire Oliveira - UFTM; Carolina Fonseca Osava - IF Goiano; Jair Pereira da Cunha Junior - ICBIM- PPIPA -UFU; Paula de Souza Santos - Pós-Doc - UFU.

Iniciando os trabalhos o presidente da mesa, Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó, apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradeceu a presença do público, e concedeu à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram conforme as normas do Programa.

A seguir o senhor(a) presidente concedeu a palavra, pela ordem sucessivamente, aos(às) examinadores(as), que passaram a arguir o(a) candidato(a). Ultimada a arguição, que se desenvolveu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu o resultado final, considerando o(a) candidato(a):

APROVADO (A)

Esta defesa faz parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor.

O competente diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, a legislação pertinente e a regulamentação interna da UFU.

Nada mais havendo a tratar foram encerrados os trabalhos. Foi lavrada a presente ata que após lida eachada conforme foi assinada pela Banca Examinadora.



Documento assinado eletronicamente por **Matias Pablo Juan Szabo, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/01/2022, às 18:19, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Jair Pereira da Cunha Junior, Professor(a) do Magistério Superior**, em 28/01/2022, às 18:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paula de Souza Santos, Usuário Externo**, em 28/01/2022, às 18:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carolina Fonseca Osava, Usuário Externo**, em 28/01/2022, às 18:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Carlo José Freire de Oliveira, Usuário Externo**, em 28/01/2022, às 18:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3336229** eo código CRC **6E310E22**.

Referência: Processo nº 23117.089606/2021-15

SEI nº 3336229

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

S725 2022	<p>Sousa, Ana Carolina Prado, 1987- Carrapatos e riquetsias em javaporcos (<i>Sus scrofa scrofa</i>) em uma fazenda do município de Tupaciguara - Minas Gerais e Análise proteômica da saliva dos carrapatos <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Amblyomma parvum</i> [recurso eletrônico] / Ana Carolina Prado Sousa. - 2022.</p> <p>Orientador: Matias Pablo Juan Szabo. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. Modo de acesso: Internet. Disponível em: http://doi.org/10.14393/ufu.te.2022.12 Inclui bibliografia. Inclui ilustrações.</p> <p>1. Imunologia. I. Szabo, Matias Pablo Juan, 1965-, (Orient.). II. Universidade Federal de Uberlândia. Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU: 612.017</p>
--------------	---

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Agradecimentos

À Deus, por me conceder a vida e por me dar sustentação para vivê-la.

À Universidade Federal de Uberlândia pela oportunidade concedida de tantos anos de aprendizado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, seus Professores e Funcionários, pelo apoio e compreensão durante todo este período.

Ao Instituto de Genética e Bioquímica, principalmente o Laboratório de Nanobiotecnologia, pelo apoio e gentileza em atender nossas necessidades e pela disponibilidade da estrutura utilizada, e ao Professor Dr. Luiz Ricardo Goulart e sua equipe (Paula, Mário, Larissa e todos que auxiliaram na análise proteômica da saliva dos carrapatos), pelo apoio, paciência, inspiração e confiança.

Ao amigo, professor e orientador Dr. Matias Szabó, pelo apoio nos momentos mais difíceis que encontrei nesta caminhada, pelos ensinamentos tanto na área acadêmica quanto pessoal. Obrigado pela confiança e paciência que sempre demonstrou comigo, pela oportunidade de fazer parte do LABIX e por poder aprender tanto. Sem você nada disso teria acontecido.

Às secretarias da Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas, Lucileide, Lucélia e Cláudia, pela amizade, apoio e paciência.

Às agências de financiamento e pesquisa, CAPES, CNPQ e FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

Ao grupo de controladores da fauna exótica que auxiliou na captura dos javaporcos (Vitor, Carla, Rogério), e ao proprietário das fazendas, Sr. Fábio Machado, por permitir o acesso a propriedade para realização do estudo.

Aos membros da banca Dr. Carlo José Oliveira, Dra. Carolina Fonseca Osava, Dr. Jair Pereira da Cunha Jr., Dra. Paula de Souza Santos, Dra. Maria Marlene Martins e Dra. Bruna Cristina

Borges, pela disponibilidade e pronto atendimento em aceitar o convite para participar desse processo avaliativo.

Aos amigos do LABIX, Marlene, Adriane, Laís, Vinícius, Raíssa, Rodrigo, Amanda, Lorena, pelo apoio, incentivo, sugestões, paciência, pela amizade e por tudo o que foi possível ser feito para me tirar da fossa nos momentos difíceis deste período; pelo suporte no desenvolvimento da parte experimental deste trabalho, além das sugestões durante a execução do mesmo e auxílio no desenvolvimento da Tese.

Aos meus pais, Márcio e Elenice, pelo infinito amor, pelos conselhos, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida e por serem modelos de conduta de vida.

Aos meus familiares pelo apoio direto ou indiretamente durante toda minha vida.

Ao meu esposo, José Antônio, pelo amor, companheirismo, carinho, dedicação e paciência durante estes quase treze anos que estamos juntos. Obrigada por nunca me deixar desistir, por ser meu suporte, meu apoio logístico para o campo, por me ajudar em tudo o que pode e não pode, por não desistir de mim. Sem você nada disso seria possível. Eu te amo!

Ao meu filho, Gustavo, por ser a luz da minha vida e fonte de inspiração para todas as minhas atitudes. Eu te amo muito!

Enfim, em toda minha vida nunca caminhei sozinha, no entanto, há pessoas que já se foram, pessoas que permanecem presentes e pessoas que, por algum motivo, seguiram outros caminhos. Peço desculpas àquelas que não tiveram seus nomes citados nos agradecimentos, pois precisaria de muito espaço para tal feito. Portanto, agradeço a todos que me ajudaram e ajudam-me a seguir o meu caminho, ensinando-me a ser uma pessoa melhor!

Lista de Tabelas

CAPÍTULO I - Carrapatos e riquetsias em javaporcos (*Sus scrofa scrofa*) em uma fazenda do município de Tupaciguara - Minas Gerais

Tabela 1. Descrição ambiental dos locais de coleta de carrapatos na Fazenda Várzea/ 7 abelhas, no município de Tupaciguara, Minas Gerais, entre 2020 e 2021.....	34
Tabela 2. Registro das armadilhas fotográficas de mamíferos e aves detectados na Fazenda Várzea/ 7 abelhas em Tupaciguara-MG, no período entre janeiro a junho de 2021.....	43
Tabela 3. Carrapatos encontrados em todos os locais de coleta, nas estações seca/ chuvosa...	46
Tabela 4. Parâmetros de infestação por carrapatos em javaporcos.....	48
Tabela 5. Origem geográfica e taxas mínimas de infecção por riquetsias do Grupo da Febre Maculosa (SFG) ou <i>Rickettsia bellii</i> de carrapatos <i>Amblyomma dubitatum</i> coletados do ambiente e animais.....	50
Tabela 6. Resultados da sororreatividade de javaporcos da Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Estado de Minas Gerais, para cinco espécies de <i>Rickettsia</i>	54

CAPÍTULO II - Análise proteômica da saliva dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma parvum*

Tabela 1. Distribuição das proteínas identificadas na saliva do carrapato <i>A. parvum</i> e <i>A. sculptum</i> , em relação às faixas de cobertura dos peptídeos.....	109
Tabela 2. Proteínas identificadas na saliva do carrapato <i>A. parvum</i>	111
Tabela 3. Proteínas da saliva do carrapato <i>A. sculptum</i> , alimentados em coelhos infestados em laboratório.....	115
Tabela 4. Proteínas da saliva do carrapato <i>A. sculptum</i> , alimentados em cavalos naturalmente infestados.....	119
Tabela 5. Proteínas do coelho identificadas na saliva do carrapato <i>A. parvum</i>	130
Tabela 6. Proteínas identificadas na saliva do carrapato <i>A. sculptum</i> derivadas de ambos os hospedeiros.....	131

Lista de Figuras

CAPÍTULO I - Carrapatos e riquetsias em javaporcos (*Sus scrofa scrofa*) em uma fazenda do município de Tupaciguara - Minas Gerais

Figura 1. Imagens de nascente em uma propriedade rural privada antes (A) e após (B) invasão dos javaporcos.....	24
Figura 2. Javaporco em propriedade rural privada; imagem capturada por armadilha fotográfica.....	25
Figura 3. Sinais indicativos da presença dos javaporcos.....	27
Figura 4. Localização do município de Tupaciguara-MG e imagem da entrada da Fazenda Várzea/ 7 abelhas, onde foi realizada a coleta de carrapatos do ambiente e captura dos javaporcos.....	33
Figura 5. Área da Fazenda 7 abelhas/ Várzea Grande onde foram realizadas as coletas do material de estudo.....	35
Figura 6. Exemplos de disposição das armadilhas fotográficas nos locais definidos.....	37
Figura 7. Técnicas de coleta de carrapato no ambiente.....	38
Figura 8. Animais com maior número de registros nas armadilhas fotográficas.....	45
Figura 9. Imagens dos ambientes de coleta registradas durante as estações chuvosa e seca...47	
Figura 10. Carrapatos <i>A. sculptum</i> fixados na região ventral de um javaporco.....	48
Figura 11. Título máximo dos resultados encontrados na sorologia dos javaporcos.....	53

CAPÍTULO II - Análise proteômica da saliva dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma parvum*

Figura 1. Amostras de carrapatos utilizados para coleta de saliva.....	103
Figura 2. Coleta de saliva de carrapatos.....	105
Figura 3. Famílias de proteína de carrapato presentes na saliva de carrapato <i>Amblyomma parvum</i>	110
Figura 4. Famílias de proteína de carrapato presentes na saliva de carrapato <i>Amblyomma sculptum</i> , alimentados em coelhos.....	115

Figura 5 – Principais famílias de proteína de carrapato presentes na saliva de carrapato *Amblyomma sculptum*, alimentados em cavalos.....129

Lista de Abreviações

% - porcentagem
°C – graus Celsius
µg - Micrograma
µL – Microlitro
µm – Micrometro
µM – Micromolar
cm – Centímetro
Da – Dalton
kDa – Quilodalton
kV – Quilovolt
mM – Milimolar
mL – Mililitro
mg – Miligrama
mm - Milímetro
ng – Nanograma
ppm – Parte Por Milhão
psi - Pound-Force per Square Inch/ libra-força por polegada quadrada
BCA - ensaio proteico Pierce baseado no ácido bicinchonínico
BOD - Demanda biológica de oxigênio
BSF - Brazilian Spotted Fever
cDNA - Ácido desoxirribonucleico complementar
CTF – Cadastro Técnico Federal
DNA - Ácido desoxirribonucleico
EGF – Fator de Crescimento Epidermal
FMB: Febre maculosa brasileira
GMF: Grupo da febre maculosa
GT: Grupo do tifo
GTPases - Guanosina-trifosfatases
IFN-γ – Interferon gama
IgG – Imunoglobulina G

IL-2 – Interleucina 2

LC-MS/MS – Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massa

mRNA – Ácido ribonucleico mensageiro

NCBI - National Center for Biotechnology Information

PBS – Solução salina tamponada com fosfatos

PCR – Reação em Cadeia de Polimerase

QTOF - Tecnologia de Quadrupolo e Tempo de Voo

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta

RMSF - Rocky Mountain Spotted Fever

TFA – Ácido Trifluoroacético

TGF- β – Fator transformador de crescimento tipo beta

Th1 – T helper 1

Th2 – T helper 2

TLR - Receptor tipo Toll

TNF – α – Fator de necrose tumoral alfa

UNIPROT – Universal Protein

SUMÁRIO

CAPÍTULO I - Carrapatos e riquetsias em javaporcos (<i>Sus scrofa scrofa</i>) em uma fazenda do município de Tupaciguara - Minas Gerais.....	17
RESUMO.....	18
ABSTRACT.....	19
1. INTRODUÇÃO.....	20
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
2.1.Javali/ javaporco na América do Sul.....	23
2.2.Carrapatos do gênero <i>Amblyomma</i> e riquetsias.....	28
3. JUSTIFICATIVA.....	31
4. OBJETIVOS.....	32
4.1.Objetivo Geral.....	32
4.2.Objetivos específicos.....	32
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
5.1.Área e período de estudo.....	33
5.2.Fauna de hospedeiros vertebrados na área utilizadas por javaporcos.....	36
5.3.Coleta de carrapatos do ambiente.....	37
5.4.Coleta de amostras de javaporcos.....	39
5.5.Pesquisa de <i>Rickettsia</i> spp. nos carrapatos.....	40
5.6.Sorologia.....	41
5.7.Análise dos dados.....	42
6. RESULTADOS.....	43
6.1.Fauna de hospedeiros vertebrados na área utilizadas por javaporcos.....	43
6.2.Carrapatos do Ambiente.....	45

	15
6.3.Carrapatos de javaporcos.....	47
6.4.Riquetsias em carrapatos do ambiente e dos javaporcos.....	49
6.5.Sorologia dos javaporcos.....	53
7. DISCUSSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	61
ANEXOS.....	80
<hr/>	
CAPÍTULO II - Análise proteômica da saliva dos carrapatos <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Amblyomma parvum</i>.....	85
RESUMO.....	86
ABSTRACT.....	87
1. INTRODUÇÃO.....	88
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	90
2.1.Características gerais dos carrapatos e papel da saliva na hematofagia.....	90
2.2. <i>Amblyomma sculptum</i> e seu ciclo de vida.....	92
2.3. <i>Amblyomma parvum</i> e seu ciclo de vida.....	93
2.4.A utilização de saliva de carrapato em pesquisa	95
2.5.A aplicação da abordagem proteômica no estudo da saliva de carrapatos.....	96
2.6.O estudo da saliva do carrapato <i>A. sculptum</i> e <i>A. parvum</i>	98
3. JUSTIFICATIVA.....	101
4. OBJETIVOS.....	102
4.1.Objetivo geral.....	102

4.2.Objetivos específicos.....	102
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	103
5.1. Origem dos Carrapatos.....	103
5.2.Coleta de saliva dos carrapatos.....	104
5.3.Digestão protéica com tripsina.....	106
5.4.Espectrometria de massa.....	106
5.5.Identificação de proteína e análise.....	107
5.6.Anotação e classificação funcional das proteínas.....	108
5.7.Aspectos éticos.....	108
6. RESULTADOS.....	109
6.1.Visão geral da proteômica anotada da saliva de carrapato <i>A. parvum</i>	110
6.2.Visão geral da proteômica anotada da saliva do carrapato <i>A. sculptum</i>	114
6.3.Proteínas dos hospedeiros identificadas na saliva dos carrapatos <i>A. parvum</i> e <i>A. sculptum</i>	129
7. DISCUSSÃO.....	133
8. CONCLUSÃO.....	143
REFERÊNCIAS.....	144

CAPÍTULO I - Carrapatos e riquetsias em javaporcos (*Sus scrofa scrofa*) em uma fazenda do município de Tupaciguara -
Minas Gerais

RESUMO

Os javalis ou suínos ferais são considerados pelo IBAMA como espécie exótica invasora através do javali-europeu (*Sus scrofa*), em todas as suas formas (nativa, doméstica, asselvajada e miscigenada), linhagens, raças e diferentes graus de cruzamento com o porco doméstico. Em território brasileiro são classificados na "Categoria I de espécies exóticas invasoras" por alterarem processos bióticos e ocasionarem prejuízos no âmbito social e econômico, além de atuarem como hospedeiros para algumas espécies de carrapatos, inclusive do gênero *Amblyomma*. Este gênero se destaca na saúde animal e pública devido à grande variedade de hospedeiros utilizados pelas espécies de carrapatos e serem vetores de patógenos, alguns zoonóticos, como as bactérias do gênero *Rickettsia*. Em virtude disso, a proposta deste trabalho foi identificar as espécies de carrapatos presentes no ambiente e parasitando javaporcos em uma fazenda do estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil, além de rastrear e avaliar o grau de exposição desses artrópodes às espécies de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa e *R. bellii* através de sorologia. No total, 3585 carrapatos foram coletados, sendo identificadas três espécies de carrapatos: *Amblyomma sculptum*, *A. dubitatum* e *Rhipicephalus* sp. A espécie mais abundante e coletada em todos os locais do estudo foi *A. sculptum*. Foram capturados 31 javaporcos e coletados 415 carrapatos, todos da espécie *A. sculptum*. Em nenhuma amostra dos carrapatos *A. sculptum* e *Rhipicephalus* sp. coletados do ambiente ou *A. sculptum* dos javaporcos houve a amplificação do gene do *gltA* (presentes nas bactérias do GFM); no entanto, todos os carrapatos *A. dubitatum* apresentaram amplificação da sequência específica do gene *gltA* da riquetsia *R. bellii*, e nenhuma amplificação dos genes *OmpA* e *OmpB*. Das 31 amostras de soro de javaporcos, 24 reagiram com pelo menos um antígeno de *Rickettsia*, visto que destes, 07 indivíduos apresentaram reação a possível antígeno homólogo (PAH) de três espécies de riquetsias, *R. rickettsii* (n=3), *R. amblyommatis* (n=3) e *R. rhipicephali* (n=1). Estes resultados fornecem subsídios para apoiar ações de saúde pública na prevenção de doenças transmitidas por vetores em áreas de sobreposição de capivaras, javaporcos e demais animais silvestres e domésticos, posto que estudos adicionais se fazem necessários para estabelecer a capacidade dos javalis/ javaporcos em se infectar por carrapatos, amplificar a bactéria e seu papel no ciclo de transmissão/ manutenção da *Rickettsia* spp.

ABSTRACT

Wild boars or feral pigs are considered by IBAMA as an invasive exotic species through the European wild boar (*Sus scrofa*), in all its forms (native, domestic, feral and mixed), lineages, breeds and different degrees of crossing with the domestic pig. In Brazilian territory they are classified in "Category I of invasive exotic species" because they alter biotic processes and cause social and economic damage, in addition to acting as hosts for some tick species, including the genus *Amblyomma*. This genus stands out in animal and public health due to the wide variety of hosts used by tick species and being vectors of pathogens, some zoonotic, such as bacteria of the genus *Rickettsia*. Therefore, the purpose of this work was to identify the species of ticks present in the environment and parasitizing wild boars on a farm in Minas Gerais state, Southeastern Brazil, in addition to tracking the presence of rickettsiae and the degree of exposure of vertebrate hosts in these arthropods to rickettsiae species of Spotted Fever Group and *R. bellii* through serology. In total, 3585 ticks were collected, and three species of ticks were identified: *Amblyomma sculptum*, *A. dubitatum* and *Rhipicephalus* sp. The most abundant and collected species in all study sites was *A. sculptum*. A total of 31 wild boars were captured and 415 ticks were collected, all *A. sculptum* species. In no sample of *A. sculptum* and *Rhipicephalus* sp. collected from the environment or *A. sculptum* of javaporcos there was amplification of the *gltA* gene; however, all *A. dubitatum* ticks showed amplification of the specific sequence of the *gltA* gene of the *R. bellii*, and no amplification of the *OmpA* and *OmpB* genes. Of the 31 wild boar serum samples, 24 reacted with at least one *Rickettsia* antigen; 07 individuals showed reaction to a possible homologous antigen (PAH) of three rickettsia species, *R. rickettsii* (n=3), *R. amblyommatis* (n=3) and *R. rhipicephali* (n=1). These results provide subsidies to support public health actions in prevention of vector-borne diseases in areas of overlapping capybaras, wild boars and other wild and domestic animals, since additional studies are needed to establish the capacity of wild boar/javaporcos to become infected by ticks, amplify the bacteria and its role in the transmission/maintenance cycle of *Rickettsia* spp.

1. INTRODUÇÃO

Considera-se espécie exótica invasora aquela que, quando introduzida por meio de soltura ou escape, difunde-se em região diferente do local de origem, ameaçando a biodiversidade nativa (IAP, 2011). O processo de invasão biológica em ambientes constitui-se como uma ameaça ao meio ambiente, acarretando prejuízos à economia, à biodiversidade de ecossistemas naturais, além dos riscos à Saúde Única (LEÃO et al., 2011). Os javalis ou suínos ferais são considerados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA) como espécie exótica invasora do javali-europeu (*Sus scrofa*), em todas as suas formas (nativa, doméstica, asselvajada e miscigenada), linhagens, raças e diferentes graus de cruzamento com o porco doméstico” (FRANKENBERG, 2005). Os animais provenientes do cruzamento entre o javali e o porco doméstico são híbridos férteis, estes podem reproduzir-se entre si, ou com javalis puros ou mesmo com suínos domésticos e originar animais com três diferentes números cromossômicos: 36, 37 e 38. Os espécimes são conhecidos popularmente como javaporco (BOSMA, 1976). Não são um problema exclusivo do Brasil, e, segundo a União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN), estão entre as mais de 100 espécies invasoras de maior agravo no mundo com populações distribuídas em todos os continentes, exceto a Antártica (LOWE et. al, 2000). Em território brasileiro, os javalis são classificados na "Categoria I de espécies exóticas invasoras” pelo IBAMA, por alterarem processos bióticos e ocasionarem prejuízos no âmbito social e econômico. Sua liberação, soltura ou disseminação na natureza são proibidas sob quaisquer circunstâncias (IAP, 2011). Estes animais são encontrados em todos os seis biomas nacionais (Amazônia, cerrado, caatinga, mata atlântica, pantanal e pampa), sendo citados em mais de 500 municípios de 11 estados brasileiros, principalmente nas regiões sul e sudeste (SALVADOR; FERNANDEZ, 2017). Os efeitos da presença dos javalis na epidemiologia de doenças infecciosas de transmissão para seres humanos e animais no Brasil ainda é pouco estudado (RAMOS et. al, 2014). O impacto ambiental, social e econômico da invasão dos javalis no Brasil corroborou para autorização, pela Instrução Normativa nº 03/2013 de 31 de janeiro de 2013, do seu controle através da captura e abate, sendo comum o uso de cães para o rastreamento (IBAMA, 2013). Estes animais são conhecidos como invasores de áreas naturais e antrópicas, não apenas competindo por recursos com animais selvagens nativos e espécies de gado, mas também contribuindo nos ciclos de vida de carrapatos e patógenos (MERRILLA et al., 2018).

Os javalis atuam como hospedeiros para algumas espécies de carrapatos do gênero *Amblyomma*. Este gênero se destaca na saúde animal e pública devido à grande variedade de

hospedeiros utilizados pelas espécies de carrapatos e serem vetores de patógenos, alguns zoonóticos (GUGLIELMONE et al. 2003, 2006a, 2006b; ONOFRIO et al., 2006; RAMOS et al., 2014). Por exemplo, o carrapato *Amblyomma sculptum* é uma espécie amplamente distribuída no Brasil e está associada à transmissão da *Rickettsia rickettsii*, o agente da febre maculosa brasileira (LABRUNA, 2009). Esta espécie de carrapato é frequentemente detectada em mamíferos, incluindo humanos, bem como em aves, répteis e anfíbios (LABRUNA et al., 2004; GUEDES et al., 2005; ONOFRIO et al., 2006; PINTER E LABRUNA, 2006; SABATINI et al., 2010; SPOLIDORIO et al., 2010).

O gênero *Rickettsia* (família Rickettsiaceae; ordem Rickettsiales) é formado por bactérias intracelulares obrigatórias gram-negativas, classificados filogeneticamente, com reservas, no grupo da febre maculosa (GFM), grupo tifo, grupo ancestral e transicional (MERHEJ & RAOULT, 2011; PAROLA et al., 2013). As riquetsias transmitidas por carrapatos pertencem ao grupo GFM e podem causar infecção em animais e humanos (PAROLA, RAOULT, 2001; PAROLA et al., 2013), participando de ciclos enzoóticos ou epizoóticos entre vertebrados e vetores artrópodes (TELFORD; PAROLA, 2007). Os carrapatos da família Ixodidae têm sido descritos como os principais reservatórios e vetores das riquetsias na natureza, principalmente devido à capacidade de transmissão transestadial e transovariana (SOCOLOVSKI et al., 2009). *Rickettsia rickettsii*, o principal agente etiológico da febre maculosa no Brasil, é transmitido aos seres humanos pelos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma aureolatum* (LABRUNA et al., 2009; LABRUNA et al., 2011; OGRZEWALSKA et al., 2012). Os carrapatos *A. sculptum* podem ser caracterizados pelo seu comportamento agressivo e parasitismo não espécie-específico, sendo a espécie de carrapatos de maior prevalência no bioma Cerrado e em áreas degradadas da Mata Atlântica (SZABÓ et al., 2009; MARTINS et al., 2016). Por outro lado, os carrapatos *A. aureolatum* são encontrados principalmente em áreas preservadas da Mata Atlântica, as quais proporcionam condições abióticas favoráveis e presença de carnívoros que são seus hospedeiros primários (OGRZEWALSKA et al., 2012). Em áreas endêmicas do Brasil para febre maculosa, capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) são reconhecidas como hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii* (POLO et al., 2015). Nessas áreas no sudeste do Brasil, a densidade populacional de capivaras foi 40 vezes superior do que a registrada em ambientes naturais, provavelmente devido à alta produção e distribuição espacial de cultivos de cana (FERRAZ et al., 2007; POLO et al., 2015). Da mesma forma, as populações de javalis também podem ser encontradas nas áreas de cultivo de cana-de-açúcar do centro-oeste, sudoeste e sul do Brasil (PEDROSA et al., 2015). Ademais, Osava et al. (2016) registrou infestação ambiental intensa pelo carrapato *A.*

sculptum mantida por suínos domésticos. Portanto, essa sobreposição de habitat de javalis e capivaras pode influenciar as populações de carrapatos e doenças transmitidas por esses vetores.

Apesar da importância dos carrapatos em uma perspectiva de saúde única (One-health), o conhecimento sobre o potencial dos porcos selvagens como hospedeiros desses ectoparasitas e dos patógenos que eles podem transmitir são limitados. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar as espécies de carrapatos presentes no ambiente e parasitando javaporcos em uma fazenda do estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil. Além disso, rastrear nesses artrópodes a presença de riquetsias e o grau de exposição dos hospedeiros vertebrados às espécies de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa e *R. bellii* através de sorologia.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Javali/ javaporco na América do Sul

Os primeiros registros da introdução do javali (*Sus scrofa*) na América do Sul datam aproximadamente de 1904 e 1906, quando alguns animais foram trazidos da Europa para a província de La Pampa, na Argentina, para uso recreacional (caça privada). Em 1914, houve a fuga em massa desses animais e como consequências sua difusão e proliferação no ambiente de forma não controlada (JACKSON, 1989). Anos mais tarde, uma nova remessa de javalis foi importada, e a fuga ou soltura com propósitos cinegéticos, concomitante ao cruzamento com suínos domésticos, levaram ao estabelecimento das primeiras populações asselvajadas da espécie (DEBERDT E SCHERER, 2007).

No Brasil, principalmente nas regiões Sul e Sudeste, o javali (*Sus scrofa*) começou a ser notado como espécie invasora devido a sua capacidade de se estabelecer e dispersar fora de sua área de distribuição geográfica, gerando impactos negativos para o ecossistema local (IUCN, 2011). Apesar de relativamente recentes em nosso território, estão presentes em 472 municípios brasileiros, 253 destes na Região Sudeste e 133 na Região Sul (PEDROSA et al., 2015). São nativos da Europa Ocidental e Norte da África, e os registros mais antigos apontam que no Brasil sua introdução ocorreu através do estado do Paraná, na década de sessenta (DEBERDT E SCHERER, 2007). São classificados pela União Internacional para a Conservação da Natureza (IUCN) como uma das cem piores espécies exóticas invasoras devido aos impactos causados de cunho econômico, social e ambiental (IUCN, 2014).

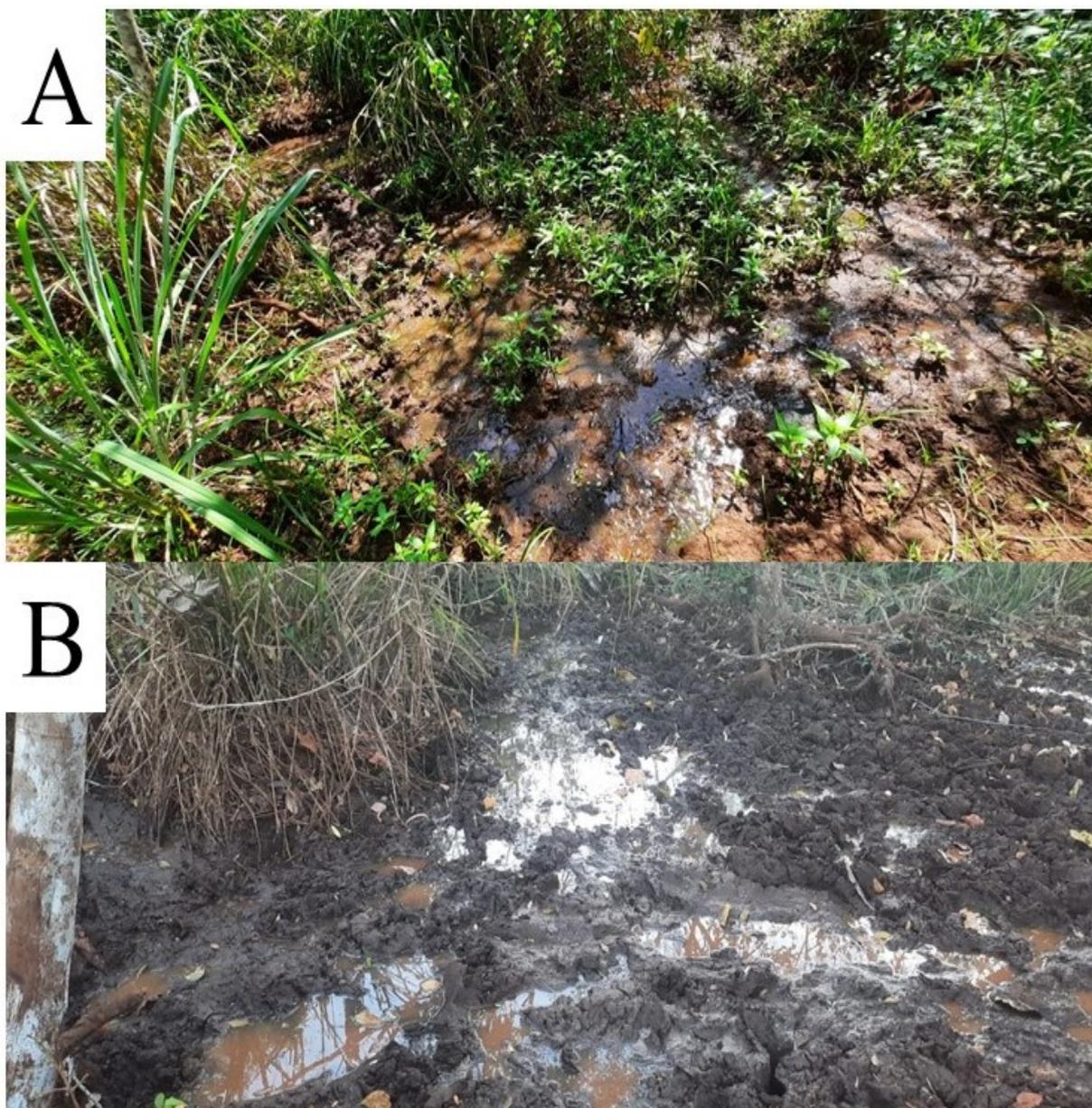


Figura 1 - Imagens de nascente em uma propriedade rural privada antes (A) e após (B) invasão dos javaporcos. Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Tupaciguara-MG, 2021.

Durante muitos anos, foi referido que a invasão dos javalis no território brasileiro ocorreu pela fronteira sudoeste do Rio Grande do Sul com o Uruguai, possivelmente causada pela diminuição da disponibilidade de alimentos no país vizinho ou a uma estiagem em 1989 que resultou na diminuição do nível da água do Rio Jaguarão, permitindo a travessia dos animais. Entretanto, há um consenso que grande parte dos animais foram trazidos de maneira irregular do Uruguai, tanto para a caça quanto para a criação e comercialização da carne. Na década de 1960, surgiram relatos e indícios do aparecimento dos animais no estado do Paraná, no município de Palmeira. Além disso, entre os anos de 1996 e 1997, foram realizadas

importações de javalis da Europa e Canadá, para criadores do Rio Grande do Sul e São Paulo (DEBERDT e SCHERER, 2007).



Figura 2 - Javaporco em propriedade rural privada; imagem capturada por armadilha fotográfica. Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Tupaciguara-MG, 2021.

Há relatos da presença de javalis em quase todos os continentes do mundo, com exceção da Antártida, demonstrando estarem adaptados a diferentes condições ambientais (BARRIOS-GARCIA E BALLARI, 2012). Os javalis apresentam hábito onívoro oportunista e alta plasticidade da dieta, se alimentam de raízes de plantas, sementes, pequenos anfíbios, répteis, aves e ovos de espécies que nidificam no solo como o quero-quero (*Vanellus chilensis*) e ema (*Rhea americana*), por exemplo. Podem modificar o nicho ecológico de uma infinidade de espécies vegetais e animais, por meio da variação de disponibilidade e fluxo de nutrientes e de recursos físicos e competir em nível desigual com espécies de porcos-do-mato nativos e ameaçados de extinção, como o cateto (*Pecari tajacu*) e queixada (*Tayassu pecari*) (CROOKS, 2002).

O javaporco é um híbrido do porco doméstico (*Sus scrofa domesticus*) e do javali (*Sus scrofa*). A sua hibridação foi realizada de forma intencional em alguns criadores para consumo da carne. Contudo, espécies do javali que escaparam dos criadouros se adaptaram ao ambiente

natural, eventualmente cruzando com o porco doméstico. Essa espécie assume diferentes formas: nativa, doméstica, asselvajada e miscigenada (SILVA, 2011).

A Instrução Normativa Ibama nº 03/2013, de 31 de janeiro de 2013 considerou, para a finalidade de controle como javali, a espécie exótica invasora javali-europeu, de nome científico *Sus scrofa*, em todas as suas formas, linhagens, raças e diferentes graus de cruzamento com o porco doméstico. Portanto, ambas as espécies (*Sus scrofa scrofa* e *Sus scrofa*) são abrangidas pela referida instrução normativa (IBAMA, 2013).

Tanto o javali quanto o javaporco possuem taxas reprodutivas altas, com média de seis a dez filhotes por gestação, hábito noturno, habitam desde áreas agrícolas e urbanas, até áreas naturais abertas e florestais. Se alimentam de frutos, sementes, folhas, raízes, brotos, bulbos, animais, fungos e carniça. O javali pode pesar cerca de 80kg e medir em média de 1,30 a 1,40 e o javaporco pode pesar mais de 130kg com comprimento médio de 1,30 a 1,80 metros (SILVA, 2011). No Brasil, a expressiva presença de javalis mestiços (javaporcos) acontece por sua rápida expansão e fácil acesso às culturas agrícolas, a exemplo de cereais que se tornaram fontes abundantes de alimento (por exemplo a soja, o milho, o sorgo). Dessa forma, esses javalis podem causar sérios prejuízos econômicos à agricultura, destruindo plantações de milho, cevada, trigo, arroz, sorgo, batatas, centeio e aveia (SCHLEY E ROPER, 2003). Com até duas ninhadas por ano e média de 4 a 6 leitões (podendo chegar a 12 filhotes), a ausência de predadores naturais e sua alta capacidade adaptativa possibilitam seu aumento populacional (BYWATER et al., 2010) podendo chegar a 150% ao ano (MASSEI E GENOV, 2004).

Porcos selvagens, o porco-monteiro, na planície de inundação do Pantanal representam uma situação incomum para a biologia da conservação. A introdução de uma espécie invasora e a caça à carne de animais silvestres, duas grandes ameaças à biodiversidade, estão ajudando na conservação da vida selvagem, uma vez que ocorre a preferência pelo abate dos animais exóticos em relação à fauna silvestre local (DESBIEZ et al., 2011). Em toda a região Neotropical, a menos que uma área seja bem protegida ou de difícil acesso, queixadas, veados *Mazama* sp., Anta *Tapirus* sp. e a capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* são caçadas e são uma importante fonte de proteína animal ou renda (Robinson & Bennett, 2000). O Pantanal brasileiro é uma das poucas regiões desprotegidas dos Neotrópicos onde as pessoas vivem, mas raramente caçam essas espécies nativas. Os porcos selvagens se constituem em uma espécie que substitui a caça da vida selvagem nativa porque fornecem uma fonte constante, culturalmente aceitável, prontamente disponível e gratuita de carne e óleo para fazendas isoladas (DESBIEZ et al., 2011).

Os javalis e outros porcos-selvagens atuam como sentinelas de várias doenças, devido à sua capacidade de albergar ou amplificar agentes bacterianos, virais e parasitários, tornando-se hospedeiro de ectoparasitas transmissores de doenças, como os carrapatos. Como espécies de mamíferos de grande porte, não nativas e invasoras, os porcos selvagens têm sido considerados hospedeiros potenciais de carrapatos de *A. sculptum* no bioma Pantanal (LOWE et al. 2000; RAMOS et al., 2014).

A espécie apresenta o hábito de chafurdar o solo e raízes de plantas em busca de alimentos, causando perda de nutrientes e lixiviação, redução da cobertura vegetal e diversidade de herbáceas e arbustos (CUEVAS et al., 2012). O impacto se estende, ainda, para a exposição e homogeneização da estrutura do banco de sementes (WEBBER et al., 2010; BUENO et al., 2011), declínio da qualidade da água, diminuição de recursos alimentares através da competição com herbívoros nativos, predação de animais silvestres de pequeno porte, entre outros problemas (HEGEL & MARINI, 2013; ROSA et al., 2016; ROSA, 2016; ROSA et al., 2018). Eles são também responsáveis por conflitos com humanos, por utilizarem culturas agrícolas como fonte de recurso alimentar. Em alguns casos, destroem lavouras inteiras, além de hospedarem vários parasitas (helmintos, bactérias, vírus e protozoários) causadores de doenças de impacto comercial, como tuberculose, doença de Aujeszky, peste suína clássica, entre outras (JÄRVIS et al., 2007; NARANJO et al., 2008; RUIZ-FONS et al., 2008).

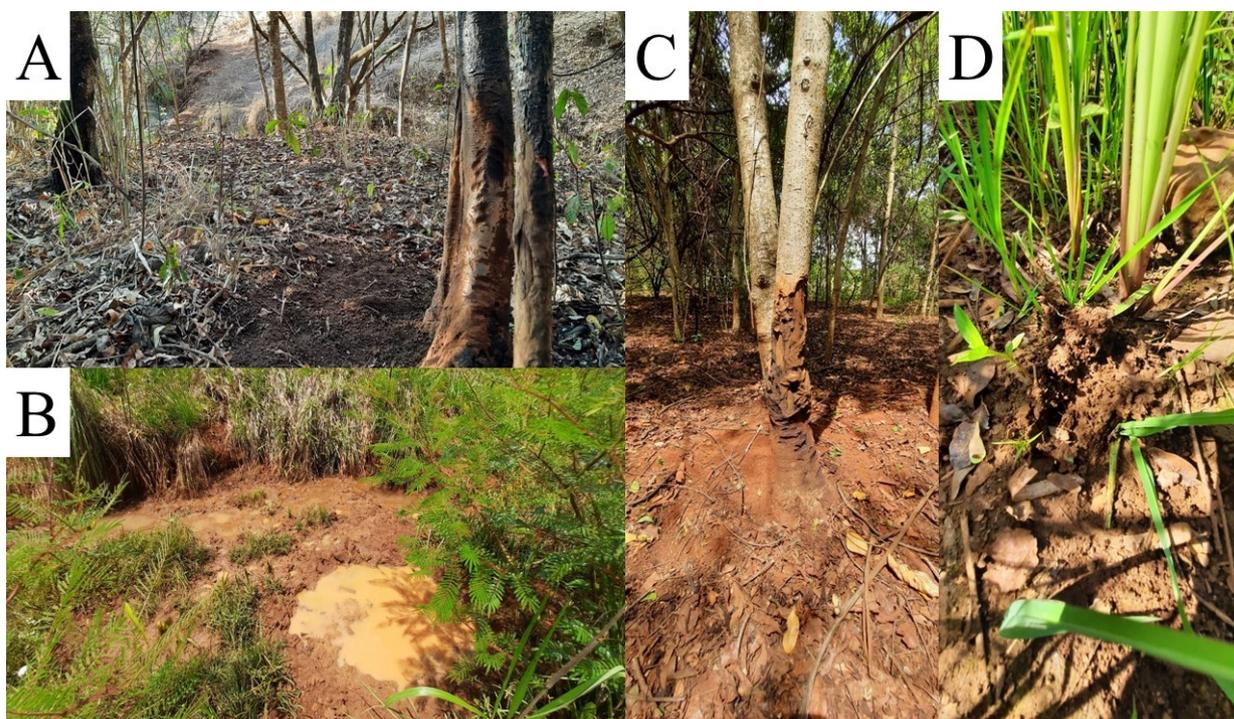


Figura 3. Sinais indicativos da presença dos javaporcos. Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Tupaciguara-MG, 2021. Em A e C, troncos de árvores desgastados pela ação dos animais; em B, local usado para chafurdar (lamaçal); em D, sinal de rastro e remexido pelos javalis em raiz de planta.

2.2. Carrapatos do gênero *Amblyomma* e riquétsias

Na região Neotropical o gênero *Amblyomma* tem grande importância em saúde pública, podendo representar risco real ou potencial na transmissão de agentes patogênicos, já que muitas espécies são relatadas parasitando humanos (GUGLIELMONE et al., 2006). Aquelas autóctones e/ou introduzidas possuem, indubitavelmente, grande importância por seus efeitos deletérios sobre a produção animal, havendo entre elas, algumas de interesse para a saúde pública. Nesse contexto, destaca-se a espécie *Amblyomma sculptum* (Fabricius, 1787) por ser o principal vetor da bactéria *Rickettsia rickettsii* agente Febre Maculosa na região Neotropical, (Labruna, 2009). Outras espécies de carrapatos têm sido encontradas em humanos, mesmo que em registros acidentais que, para a América do Sul, correspondem a 21 espécies (GUGLIELMONE et al., 2006).

Conhecido como carrapato-estrela, carrapato-do-cavalo, rodoleiro, micuim ou carrapato vermelhinho, a espécie *A. sculptum* está presente na maioria dos estados brasileiros e causa prejuízos aos criadores de equídeos. Os principais hospedeiros para *A. sculptum* são os equinos, capivaras e antas. É um carrapato trioxeno, ou seja, necessita de três hospedeiros para completar seu ciclo de vida. Apresenta apenas uma geração anual, fato esse que é devido às larvas apresentarem um comportamento denominado diapausa comportamental. Nesse período as larvas permanecem inativas, até que fatores climáticos e sazonais, particularmente o fotoperíodo, ativem essas larvas para a busca por hospedeiros. As fases imaturas (larvas e ninfas) desse carrapato ocorrem nos períodos de outono e inverno, enquanto os adultos ocorrem com maior frequência nos meses mais quentes do ano, referentes à primavera e verão (revisado por RODRIGUES et al., 2015).

A transmissão de *Rickettsia rickettsii*, o agente etiológico da febre maculosa brasileira (FMB) é atribuída nas áreas endêmicas do Sudeste Brasileiro principalmente ao carrapato *Amblyomma sculptum*. Este carrapato possui baixa especificidade parasitária, principalmente nos estágios de larva e ninfa, parasitando indistintamente diferentes classes animais incluindo humanos (Szabó et al., 2013b). A segunda espécie de carrapato responsável pela transmissão

do agente etiológico na região metropolitana de São Paulo é *A. aureolatum* (Pallas, 1772) (PINTER et al., 2004).

Até o início dos anos 2000, *R. rickettsii* era a única espécie de *Rickettsia* em carrapatos conhecida no Brasil (LABRUNA, 2009). Durante as últimas décadas, oito espécies de *Rickettsia* em carrapatos foram relatadas no Brasil, a saber, do grupo da febre maculosa (spotted fever group - SFG) *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia amblyommatis*, *Rickettsia rhipicephali*, ‘Candidatus *Rickettsia andeanae*’, *Rickettsia* sp. cepa Colombiense, *Rickettsia* sp. cepa Pampulha e do grupo ancestral *Rickettsia bellii* e *Rickettsia monteiroi* (ALMEIDA et al., 2011; LABRUNA et al., 2011; NIERI-BASTOS et al., 2014; 2018; KARPATY et al., 2016; LUZ et al., 2018). Além da *R. rickettsii*, apenas a bactéria *R. parkeri* foi caracterizada como patogênica para humanos (NIERI-BASTOS et al., 2018).

Amblyomma dubitatum é uma espécie de carrapato da família Ixodidae distribuída na América do Sul, em áreas associadas a pântanos e cursos de água da Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai (NAVA et al. 2010). Embora *A. dubitatum* tenha sido registrado parasitando várias espécies de mamíferos e uma espécie de ave (NAVA et al. 2010; DANTAS-TORRES et al. 2010; DEBÁRBORA et al. 2012, 2014), o principal hospedeiro para todos os estágios parasitas deste carrapato é a capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* (Rodentia: Caviidae, Hydrochoerinae) (NAVA et al. 2010). A capivara é o hospedeiro primário de *A. dubitatum* (NAVA et al., 2010), e também está entre os principais hospedeiros da fase adulta de *A. sculptum* (PACHECO et al., 2007). Este roedor está envolvido na manutenção de *R. rickettsii* na natureza devido à capacidade da capivara de agir como hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* (SOUZA et al., 2009). Para que uma espécie de vertebrado seja considerada um bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, ela deve preencher alguns atributos: ser abundante na área endêmica para febre maculosa; ser um bom hospedeiro do carrapato vetor em condições naturais; ser susceptível à infecção por *R. rickettsii*, manter a bactéria circulante em níveis plasmáticos suficientes para infectar carrapatos que se alimentam nele e ter uma alta taxa de renovação populacional (BURGDORFER, 1988; LABRUNA, 2009).

Alguns estudos no Brasil relataram que diferentes populações de *A. dubitatum* foram infectadas por espécies distintas de *Rickettsia*. Labruna et al. (2004) identificaram que 40 e 7,5% de uma população de *A. dubitatum* (descrito no trabalho com *A. cooperi*) no estado de São Paulo estava infectada por *R. bellii* e um agente semelhante a *Rickettsia parkeri* (cepa Cooperi), respectivamente. Um agente semelhante a *Rickettsia tamurae* (cepa Pampulha) foi encontrado infectando 70,6–100% dos carrapatos de duas populações de *A. dubitatum* nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro (ALMEIDA et al., 2011, SPOLIDORIO et al., 2012).

Um estudo no estado de São Paulo mostrou que entre 16 populações de *A. dubitatum*, 10 (62,5%) estavam infectadas por *R. bellii*, com taxas de infecção variando de 6,1 a 44,9% (PACHECO et al., 2009). Em Luz et al. (2019), os pesquisadores não encontraram evidência sorológica de infecção por *R. rickettsii* em quatro áreas não endêmicas de FMB do estado de São Paulo, sendo observado evidências sorológicas de outras espécies de *Rickettsia*, especialmente *R. bellii*. Esse resultado pode estar relacionado à predominância de carrapatos *A. dubitatum* nessas áreas, uma vez que foi relatado que a maioria das populações de *A. dubitatum* estão infectadas por *R. bellii* (geralmente com altas taxas de infecção) em várias áreas no estado de São Paulo (LUZ et al., 2019). Nesse mesmo trabalho, os autores concluem que a predominância de *A. dubitatum* sobre *A. sculptum* também pode ter implicações diretas na ausência de *R. rickettsii* em áreas não endêmicas de FMB, especialmente porque populações de *A. dubitatum* foram encontradas naturalmente infectadas por *R. bellii* (LUZ et al., 2019). Um estudo mostrou que carrapatos *A. dubitatum* infectados com *R. bellii* eram parcialmente refratários a *R. rickettsii*, e não eram competentes para passar *R. rickettsii* pela via transovariana (SAKAI et al., 2014). Assim, enquanto *A. dubitatum* prevalecer em uma área, *R. rickettsii* pode não ser capaz de estabelecer uma infecção em *A. dubitatum* ou *A. sculptum*.

A infecção natural por duas ou mesmo três espécies de *Rickettsia* em um único espécime de carrapato foi relatada na literatura, incluindo *R. bellii* e *R. parkeri* cepa Mata Atlântica infectando um espécime de *Amblyomma ovale* (SZABÓ et al., 2013), *R. rickettsii* e *Rickettsia amblyommii* infectando um espécime de *A. americanum* (BERRADA et al., 2011), *R. bellii* e *Rickettsia rhipicephali* infectando um espécime de *Dermacentor variabilis* (WIKSWO et al., 2008), e uma infecção tripla por *R. bellii*, *Rickettsia montanensis* e *R. rickettsii* em um espécime de *D. variabilis* (CARMICHAEL E FUERST, 2010).

A bactéria *R. bellii* é considerada uma espécie simbiote de carrapatos, mas que poderia interferir na transmissão das espécies patogênicas para hospedeiros vertebrados (Krawczak et al., 2018). Trata-se da riquetsia de distribuição mais ampla sendo encontrada em mais de 25 espécies de carrapatos nas Américas (Krawczak et al., 2018). De fato, Sakai et al (2014) observaram uma possível interferência da transmissão da *R. rickettsii* pela riquetsia *R. bellii* em carrapatos *A. dubitatum* fato corroborado pela comparação de áreas endêmicas e não endêmicas para febre maculosa no Estado de São Paulo (Luz et al., 2019).

3. JUSTIFICATIVA

O bioma Cerrado na região Sudeste do Brasil está entre as áreas mais afetadas pela presença da espécie exótica invasora derivada do javali, o javaporco, e conta com o controle dessa invasão, principalmente através de pessoa física. As consequências da proximidade e interação entre javalis, seres humanos controladores (caçadores) e animais silvestres, particularmente os domésticos, são desconhecidas no que se refere a veiculação de doenças relevantes para Saúde Única como a Febre Maculosa Brasileira.

Diante do exposto, avaliamos a presença e identificação de carrapatos e riquetsias nos ambientes frequentados por javaporcos, além da verificação da ocorrência de soroconversão para as espécies de *Rickettsia* do GFM e *R. bellii*; e quais os animais silvestres e domésticos podem compartilhar o ambiente com essa espécie exótica invasora.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo geral

Avaliar a exposição a *Rickettsia* spp. e infestação por carrapatos de javaporcos e do seu ambiente em uma fazenda no município de Tupaciguara, Minas Gerais, indene para Febre Maculosa Brasileira.

4.2. Objetivos específicos

- Identificar animais silvestres e domésticos nos ambientes habitados pelos javaporcos, através do uso de armadilhas fotográficas.
- Identificar as espécies de carrapatos nos ambientes utilizados por javaporcos.
- Avaliar a prevalência e abundância da infestação de carrapatos em javaporcos.
- Pesquisar *Rickettsia* spp. através de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) em carrapatos coletados em javaporcos e ambiente.
- Pesquisar anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em javaporcos através da Técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI).
- Avaliar o papel de javaporcos na epidemiologia de riquetsioses e na manutenção e/ou incremento de populações de carrapatos no bioma Cerrado

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Área e período do estudo

Este estudo foi realizado na Fazenda Várzea/ 7 abelhas (18°36'28.8"S 48°33'57.4"W), no município de Tupaciguara, Minas Gerais, de 21 setembro de 2020 a 09 de agosto de 2021. A fazenda possui aproximadamente 720 hectares e localiza-se nas imediações dos rios Uberabinha e Araguari. Possui clima subtropical úmido, com temperatura média anual de 22°C (mínima em torno de 12°C e a máxima em torno de 28°C) e chuvas regulares, com índice pluviométrico médio de 1.477 mm/ano (www.climatempo.com.br, acesso em 18/08/2021). Esta fazenda desenvolve atividades de pecuária (leiteira, cria, recria e engorda) e agrícola (plantação de soja e milho de novembro a janeiro e milho e sorgo de janeiro a maio). Além disso, possui áreas de preservação permanente, com vegetação predominante de cerrado, formada por árvores com troncos tortuosos, arbustos e gramíneas, tanto na forma de fragmentos florestais no meio da área de plantio, que são de fácil acesso ao gado (mais degradada) quanto na beira dos rios que a circundam (mais conservada).



Figura 4. Localização do município de Tupaciguara-MG e imagem da entrada da Fazenda Várzea/ 7 abelhas, onde foi realizada a coleta de carrapatos do ambiente e captura dos javaporcos.

As coletas de sangue e carrapatos em javaporcos foram feitas na fazenda em locais de avistamento dos animais e conforme a conveniência dos controladores autorizados, sendo incluídos no estudo javaporcos capturados entre 21 de setembro de 2020 a 09 de agosto de 2021.

As coletas no ambiente iniciaram em 09 de novembro de 2020 e terminaram em 27 de julho de 2021 e foram realizadas em sete locais determinados por sinais indicativos da presença dos javaporcos, como por exemplo rastros, lamaceiros e vegetação pisoteada pela passagem ou atividades desses animais, além do avistamento conforme indicação dos controladores e funcionários da fazenda. Os pontos de coleta e suas características ambientais estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Descrição ambiental dos locais de coleta de carrapatos na Fazenda Várzea/ 7 abelhas, no município de Tupaciguara, Minas Gerais, entre 2020 e 2021.

Pontos de Coleta	Características ambientais
1 (Mata Seca)	Local distante de fontes de água, caracterizado pela presença de trilhas, demonstrando ser local de passagem/ deslocamento de animais domésticos (gado) e silvestres, com vegetação característica de cerrado, presença de árvores de galhos retorcidos, cipós e serrapilheira (amontoados de folhas secas no chão).
2 (Lamaçal)	Próximos a fontes de água, onde os javaporcos chafurdavam e pisoteavam na lama proveniente da água da chuva ou nascentes próximas; com a presença de vegetação mais baixa, com poucas/nenhuma árvore.
3 (Represa)	Área em torno de uma represa principal situada no meio da propriedade, que era utilizada tanto para fornecimento de água para a plantação quanto para consumo do gado e apresentava algumas árvores em seu entorno e bastante capim, além de um terreno mais lamacento.
4 (Milharal)	Mata semi-degradada (presença de vegetação típica de cerrado com degradação pontual), margeada por um lado pela plantação de milho e pelo outro pela foz Rio Uberabinha. Possuía uma nascente de água (posteriormente destruída pelos javaporcos) e servia como fonte de alimento, descanso e refúgio para os animais.
5 (Pinheiros)	Plantação de pinheiros, que servia como local de passagem, descanso e refúgio dos javaporcos, com serrapilheira e presença de nascente de água que corria em meio às árvores e desembocava em uma represa

	secundária que servia de fonte de água alternativa para a plantação e o gado.
6 (Lamaçal 02)	Anterior à represa principal situada no meio da fazenda, apresentava árvores médias, cipós e serrapilheira, com duas nascentes de água que desembocavam na represa principal.
7 (Rio)	Situado às margens do Rio Uberabinha, próximo a sua foz no Rio Araguari. Apresentava vegetação espinhosa, gramíneas e algumas árvores isoladas, além de evidências não só da presença dos javaporcos, como também de capivaras (fezes frescas e avistamento dos animais frequentemente).

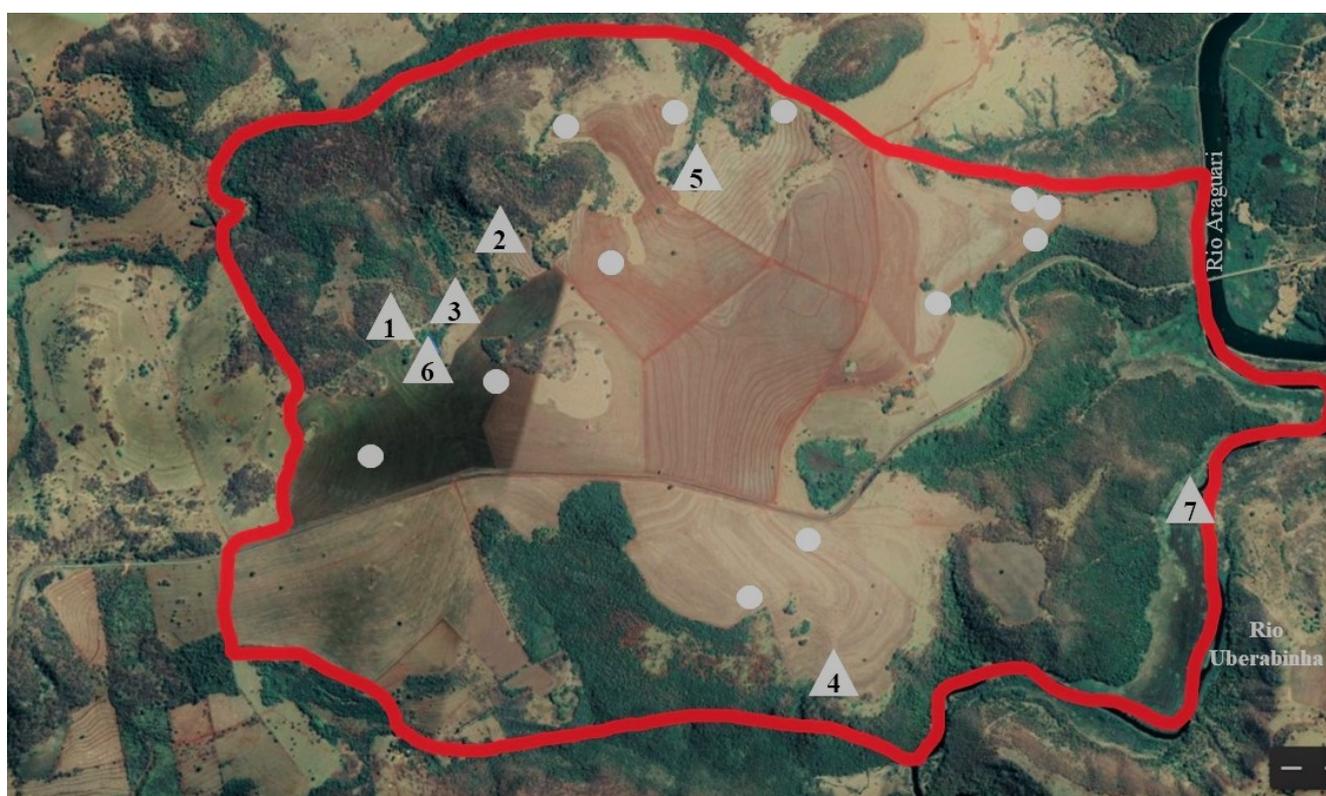


Figura 5 - Área da Fazenda 7 abelhas/ Várzea Grande onde foram realizadas as coletas do material de estudo. Os círculos indicam os locais onde foram capturados os javaporcos. Nos triângulos, os locais onde foram realizadas as coletas de carrapato do ambiente: 1. Mata Seca; 2. Lamaçal; 3. Represa; 4. Milharal; 5. Pinheiros; 6. Lamaçal 2 e 7. Rio. Tupaciguara, Minas Gerais, 2021

5.2.Fauna de hospedeiros vertebrados na área utilizadas por javaporcos

Armadilhas fotográficas são usualmente usadas para amostragem de mamíferos, pássaros e répteis em vários ecossistemas terrestres (BURTON et al., 2015). Para estimar a abundância relativa, riqueza de espécies da comunidade de hospedeiros vertebrados de carrapatos na área utilizadas por javaporcos foram utilizadas três armadilhas fotográficas (Bushnell Nature View modelo 119740) em sistema de rodízio contínuo entre os locais de estudo instaladas em 25 janeiro de 2021 e foram retirados em 21 junho de 2021. As armadilhas fotográficas ficaram ativas 24 horas por dia e registravam a imagem fotográfica e filme com intervalos de dois minutos entre registros sequenciais. Os locais das armadilhas foram escolhidos por conveniência e mantidos por períodos variáveis nos diversos pontos de estudo de acordo com os registros prévios obtidos. As armadilhas foram inspecionadas a cada 07 dias e não foram usadas iscas para atração dos vertebrados.

Os animais vertebrados foram identificados com base em guias de identificação (REIS et al., 2006; SIGRIST, 2007; PAGLIA et al., 2012; PRIST et al., 2020) e consultas a especialistas. Animais que não puderam ser identificados no nível de espécie foram registrados no nível taxonômico de gênero ou em níveis taxonômicos superiores (i.e., Família, Ordem ou Classe). Nesse estudo foram considerados os registros de mamíferos não-voadores e aves, pois esses animais são hospedeiros de várias espécies de carrapatos (LUZ et al., 2017; LAMATTINA et al., 2018).



Figura 6 - Exemplos de disposição das armadilhas fotográficas nos locais definidos.

5.3. Coleta de carrapatos do ambiente

A avaliação das infestações ambientais foi realizada em 04 ocasiões entre novembro de 2020 e julho de 2021, duas durante o período chuvoso (09/11/2020 e 25/01/2021) e duas no período da seca (26/04/2021 e 26/07/2021). Foram utilizadas três técnicas de coleta de carrapatos: inspeção visual de vegetação, arraste de flanela e armadilha de gelo seco, conforme demonstra a figura 7. As técnicas foram utilizadas em todas as expedições, nas estações seca e chuvosa.

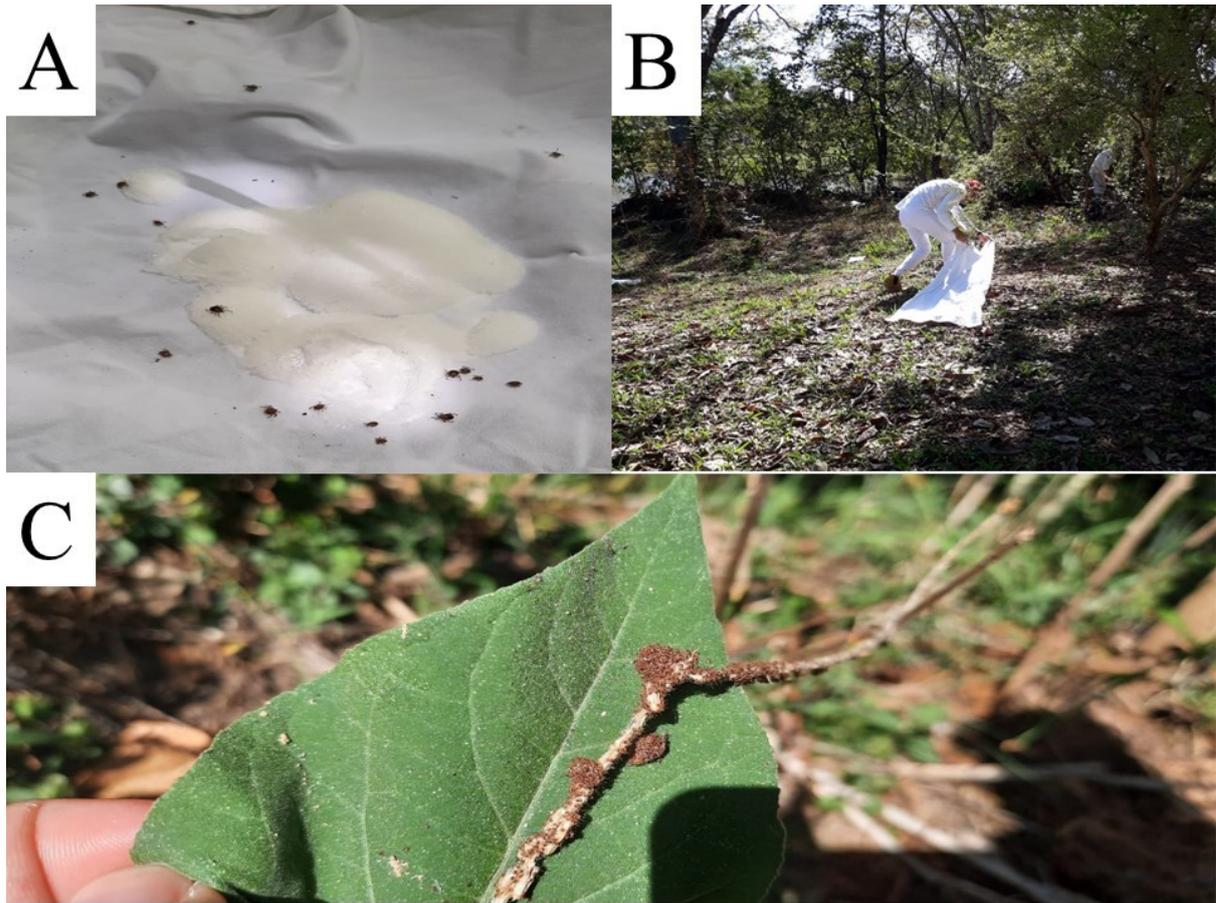


Figura 7 - Técnicas de coleta de carrapato no ambiente. A. Presença de *A. sculptum* adultos em armadilha de gelo seco. B. Pesquisador realizando arraste de flanela/ pano branco. C. Agregado de larvas encontrado através de inspeção visual. Tupaciguara, Minas Gerais, 2021

A inspeção visual da vegetação foi realizada com base no trabalho de Terassini et al. (2010) e consiste em pesquisa visual por carrapatos sobre a vegetação em trilhas de animais. A busca por carrapatos foi feita em conjunto com o arraste de flanela ao longo de grande parte do terreno dos pontos de coleta. Esta técnica se restringe à amostragem de carrapatos que se encontram na superfície da vegetação, principalmente carrapatos em comportamento de espreita. Tem a vantagem de permitir a avaliação da altura de tocaia do carrapato, o que pode auxiliar na compreensão do tipo e tamanho de hospedeiro que esses carrapatos esperam encontrar.

O arraste de flanela é uma das técnicas mais utilizadas na avaliação da infestação ambiental por carrapatos e consiste em arrastar um tecido felpudo e claro sobre solo e vegetação para retirar carrapatos (ARZUA & BRESCOVIT, 2006). Foi utilizado um tecido de flanela de um metro de largura por um metro e meio de comprimento, para que o tecido tocasse tanto o solo quanto os estratos mais baixos da vegetação, sendo determinado um tempo de 30 minutos por ponto de coleta, tentando abranger a maior área possível do terreno durante esse tempo. A

cada 02 minutos ou 10 metros percorridos o pesquisador inspecionou o tecido, coletou e acondicionou os carrapatos em tubos de acrílico (adultos) ou microtubos preenchidos com álcool 70% (larvas e ninfas). Essa técnica também coleta carrapatos que se encontram na superfície da vegetação e do solo, em tocaia.

A técnica da armadilha de gelo seco (dióxido de carbono em estado sólido) consiste em colocar uma porção de gelo seco (aproximadamente 300g) sobre um tecido branco e colocado sobre o solo (OLIVEIRA et al., 2000). A sublimação do gelo resulta na liberação de gás carbônico que atrai os carrapatos por imitar o processo de expiração de um hospedeiro. Os carrapatos ficam sobre ou sob o tecido. Foram utilizadas um total de 40 armadilhas por expedição, distribuídas nas áreas do entorno onde ficavam as armadilhas fotográficas. As armadilhas foram colocadas sobre ou próximas a serrapilheiras, com a presença de sinais recentes dos javalis, de preferência em locais sem exposição à luz solar direta para não acelerar o processo de sublimação do gelo seco, por um período de duas horas. Os carrapatos capturados, eram acondicionados em potes de acrílico (adultos) ou em microtubos de 1,5 mL preenchidos com álcool 70% (ninfas e larvas). Esse método de coleta é mais eficiente para carrapatos atraídos pelo CO₂, particularmente carrapatos de ataque (aqueles que vão atrás do hospedeiro quando são atraídos por estimuladores sensoriais, por exemplo, o CO₂) (Sonenshine e Roe, 2014).

Os carrapatos coletados foram encaminhados ao Laboratório de Ixodologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (LABIX-UFU) para identificação taxonômica seguindo o padrão das chaves morfológicas e comparação com coleção de referência (ARAGÃO E FONSECA, 1961; BARROS-BATTESTI et al., 2006; MARTINS et al., 2010) e em seguida armazenados em ultrafreezer -70°C até o uso.

5.4. Coleta de amostras de javaporcos

Amostras, carrapatos e/ou sangue foram coletados de 31 javaporcos abatidos por controladores autorizados conforme Instrução Normativa nº 03/2013 de 31 de janeiro de 2013 (trata do controle de espécie exótica invasora através da captura e abate). O manejo foi regulamentado conforme Cadastro Técnico Federal (CTF), com registro nº 7747098, sob autorizações do IBAMA nº 7941944748MG2020, e nº 5215429932MG2021, no período entre 21/09/2020 à 10/08/2021.

Amostras de sangue de javaporcos foram coletadas por punção intracárdica imediatamente após a morte, com agulhas 40x12 em seringas de 10 mL, colocadas em tubos à

vácuo seco, próprios para soro (BD Vacutainer®) e acondicionadas sob refrigeração até serem encaminhados ao Laboratório de Ixodologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (LABIX-UFU), onde foram centrifugadas e armazenadas até realização da sorologia.

Para a coleta de carrapatos dos javaporcos, foi utilizada a técnica descrita por Ramos et al., (2014), denominada coleta padronizada, que consiste em, inicialmente, coletar todos os carrapatos em uma área de 100 cm² na interface dorso-ventre, no ponto médio entre os membros. Em seguida, realizar a coleta durante um minuto nas regiões da cabeça, períneo e interface dorso/ventre, em apenas um dos lados do corpo. Após a coleta, os carrapatos foram acondicionados em frascos de acrílico e encaminhados ao LABIX-UFU para identificação morfológica e pesquisa de riquetsias.

5.5. Pesquisa de *Rickettsia* spp. nos carrapatos

A extração de DNA dos carrapatos foi realizada pela técnica guanidina isotiocianato fenol de acordo com Sangioni, et al. (2005) e posteriormente, foi executada a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), para a detecção de genes de *Rickettsia*.

Para confirmar o sucesso da extração de DNA foi realizada uma PCR para amplificação do gene mitocondrial 16S rDNA de carrapatos (MANGOLD et al, 1998). Confirmado o sucesso da extração, cada amostra de DNA foi testada para presença de material genético de *Rickettsia* por uma sequência PCRs usando os primers CS-78 e CS-323, visando um fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (gltA), comum ao gênero *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2004). Amostras que apresentaram fragmento visível do tamanho esperado, foram então testadas usando os iniciadores Rr190.70p e Rr190.701n que amplificam um fragmento do gene que codifica uma proteína de membrana externa de 190-kDa (ompA) presentes apenas em riquetsias do GFM (REGNERY et al., 1991). Amostras que produziram fragmentos de DNA visíveis para o gene gltA, mas não apresentaram produtos para o gene ompA, eram então submetidas a uma última amplificação usando iniciadores específico para um fragmento de 338 pb do gene gltA da *Rickettsia bellii* (SZABÓ et al., 2013). Cada reação de PCR incluiu controles negativos (água ultrapura) e positivos (*Rickettsia vini* para gene gltA e ompA e *R. bellii* para gene específico da *R. bellii*).

Amostras positivas foram purificadas com o kit PureLink® (Invitrogen Life Technologies) e enviadas para sequenciamento em laboratório credenciado de acordo com

protocolo do fabricante. As sequências parciais obtidas foram editadas manualmente pelo programa SeqMan Pro da Lasergene versão 15 (DNASTAR, Inc. Madison, WI, EUA) e comparadas através do programa BLASTn (ALTSCHUL et al., 1990).

Foram testadas amostras de carrapatos *A. sculptum* de cada um dos locais de coleta e de todas as expedições. Como foram coletados em número reduzido, todos os carrapatos da espécie *A. dubitatum* foram testados. As duas larvas de *Rhipicephalus* sp. encontradas foram processadas em um pool. 237 carrapatos coletados no ambiente (160 adultos, 40 larvas e 37 ninfas) foram selecionadas aleatoriamente e submetidas individualmente (adultos) ou em pequenos grupos (02 indivíduos para ninfas e 10 indivíduos para larvas) a extração de DNA.

Uma amostra de 79 carrapatos coletados nos javaporcos (55 adultos, 02 larvas e 22 ninfas) foram submetidos a análise molecular, sendo processados individualmente (adultos e ninfas). Para carrapatos adultos, foram utilizados apenas a metade do corpo para extração de DNA, enquanto as ninfas foram utilizadas inteiras. As larvas foram processadas juntas, por terem sido retiradas do mesmo animal.

5.6.Sorologia

As amostras de soro coletadas dos javaporcos foram testadas individualmente por ensaio de imunofluorescência indireta (IFA) para cinco isolados brasileiros de *Rickettsia*: *R. rickettsii* cepa Taiaçu, *R. parkeri* cepa At24, *R. amblyommatis* cepa Ac37, *R. rhipicephali* cepa HJ5 e *R. bellii* cepa Mogi como descrito anteriormente (HORTA et al., 2004; KMETIUK et al., 2019) e cedidos pelo Prof. Marcelo Labruna da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia Universidade de São Paulo. Os soros foram triados em uma diluição de 1:64 contra cada um dos antígenos usando conjugado de IgG de coelho anti-porco marcada com isotiocianato de fluoresceína em uma diluição de 1: 1.000 (IgG, Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, lote 048K4842). Em cada lâmina foi testado um soro previamente não reativo (controle negativo), provenientes de suínos domésticos e um soro reativo conhecido (controle positivo) provenientes de porcos monteiros (RAMOS et al., 2014). No caso de reatividade a 1:64 do soro em teste, diluições em série em incrementos de duas vezes foram avaliadas para titulação do soro. Um animal com título para uma espécie de *Rickettsia* pelo menos quatro vezes maior do que as para as todas as outras foi considerado hospedeiro com reação homóloga para aquela *Rickettsia* (HORTA et al., 2004; KMEUTIK et al., 2019).

5.7. Análise dos dados

O período total de registro da fauna usando armadilhas fotográficas, o esforço de captura, foi definido por: [número de armadilhas fotográficas X número de dias de amostragem], onde cada dia corresponde a um período de 24 horas, e o sucesso de amostragem diário de animais (total) e por espécie foi expresso em porcentagem, através da relação: [(número de registros/esforço de captura) X 100].

A infestação dos javaporcos foram calculados para cada período do ano (período chuvoso – de Outubro a Abril - e período da seca – Maio a Setembro) de acordo com os seguintes parâmetros: prevalência de carrapatos, intensidade média de infestação e a abundância média, considerando a estação da seca compreendida entre os meses de abril a setembro e a estação chuvosa os meses de outubro a março. A prevalência considera o número de hospedeiros infestados/número hospedeiros examinados \times 100; a intensidade média se refere ao número total de carrapatos/número de hospedeiros infestados; e a abundância média o número total de carrapatos/número de hospedeiros vistoriados (BUSH et al., 1997).

A sororreatividade dos animais positivos foi comparada entre as espécies de *Rickettsia* através da comparação das medianas dos títulos máximos por meio de um teste de Kruskal-Wallis seguido de um teste de comparações múltiplas de Student-Newman-Keuls (ZAR, 1999). O nível de significância adotado foi de 5%.

6. RESULTADOS

6.1. Fauna de hospedeiros vertebrados na área utilizadas por javaporcos

O esforço de captura total foi de 444 armadilhas/dia com um sucesso de amostragem/dia de 190,76%. Foram gerados 874 registros de animais vertebrados e um total de 1688 indivíduos. Foi possível a identificação no menor nível taxonômico de 11 espécies de aves (todas selvagens) e 15 espécies de mamíferos (14 selvagens). Os javaporcos foram os animais mais frequentemente registrados (327 registros), seguido de bovinos (*Bos taurus*, 160 registros), quatis (*Nasua nasua*, 69 registros) e catetos (*Pecari tajacu*, 53 registros) (figura 8). Os grupos taxonômicos e quantidades de indivíduos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Registro das armadilhas fotográficas de mamíferos e aves detectados na Fazenda Várzea/ 7 abelhas em Tupaciguara-MG, no período entre janeiro a junho de 2021.

Família	Espécie (nome popular/ nome científico)	Nº de indivíduos	Nº de registros	Sucesso de amostragem/dia (%)
Suidae	Javaporco (<i>Sus scrofa scrofa</i>)	682	327	73,65
Bovidae	Bovinos (<i>Bos taurus</i>)	256	160	36,03
Procyonidae	Quati (<i>Nasua nasua</i>)	238	69	15,54
Tayassuidae	Cateto (<i>Pecari tajacu</i>)	179	53	11,93
Canidae	Cachorro-do-mato (<i>Cerdocyon thous</i>)	33	25	5,63
	Cão doméstico (<i>Canis lupus familiaris</i>)	9	6	1,35
	Lobo-guará (<i>Chrysocyon brachyurus</i>)	3	3	0,67
Myrmecophagidae	Tamanduá-bandeira (<i>Myrmecophaga tridactyla</i>)	13	12	2,70
	Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	3	2	0,45
Cervidae	Veado-catingueiro (<i>Mazama gouazoubira</i>)	20	20	4,50
Dasypodidae	Tatu (<i>Dasypus</i> sp.)	1	1	0,22
Cuniculidae	Paca (<i>Cuniculus paca</i>)	3	3	0,67
Felidae	Jagatirica (<i>Leopardus pardalis</i>)	2	2	0,45

	Onça parda (<i>Puma concolor</i>)	1	1	0,22
	Gato-mourisco (<i>Herpailurus yagouaroundi</i>)	1	1	0,22
Cebidae	Macaco-prego-amarelo (<i>Sapajus libidinosus</i>)	7	6	1,35
Ordem: Chiroptera	Morcego	1	1	0,22
Classe: Aves	NI*	9	9	2,02
Cracidae	Mutum-de-penacho (<i>Crax fasciolata</i>)	60	32	7,20
	Jacu (<i>Penelope</i> sp.)	4	3	0,67
Cariamidae	Seriema (<i>Cariama cristata</i>)	28	28	6,30
Rallidae	Saracura (<i>Aramadis saracura</i>)	38	33	7,43
Columbidae	Pombo (<i>Columba</i> sp.)	13	4	0,90
	Juriti (<i>Leptotila</i> sp.)	2	2	0,45
	Juriti-pupu (<i>Leptotila verreauxi</i>)	71	51	11,48
Tyrannidae	Viuvinha (<i>Flavicola nengeta</i>)	2	2	0,45
Anatidae	Pato selvagem (<i>Cairina moschata</i>)	2	1	0,22
Threskiornithidae	Coró-coró (<i>Mesembrinibis cayennensis</i>)	1	1	0,22
Cuculidae	Anu-preto (<i>Crotophaga ani</i>)	1	1	0,22
Picidae	Pica-pau-de-banda-branca (<i>Dryocopus lineatus erythroptus</i>)	1	1	0,22
Turdidae	Sabiá-barranco (<i>Turdus leucomelas</i>)	1	1	0,22
Thraupidae	Canário-da-terra (<i>Sicalis flaveola</i>)	1	1	0,22
Ordem: Passeriformes	NI*	2	2	0,45

NI* - não identificado

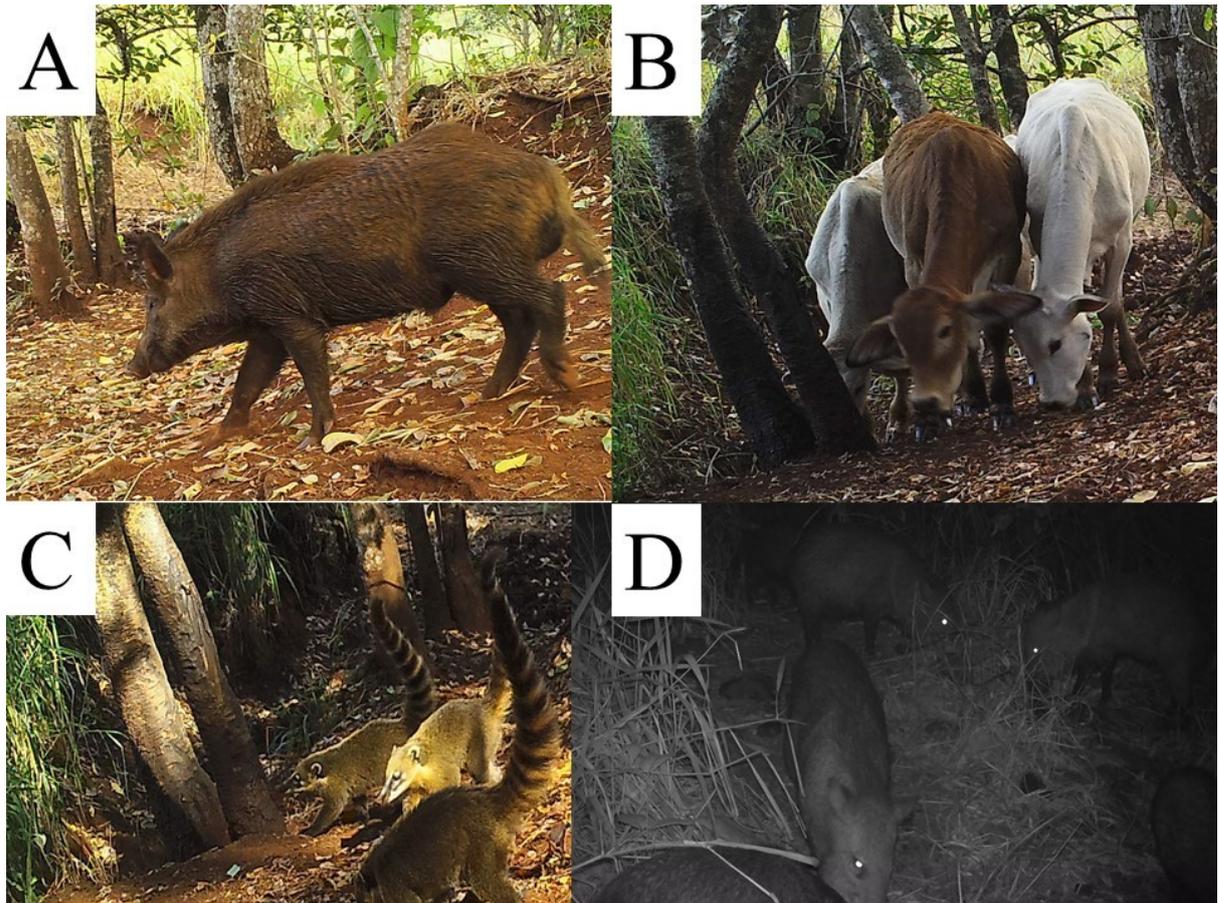


Figura 8 - Animais com maior número de registros nas armadilhas fotográficas na Fazenda Várzea/ 7 abelhas em Tupaciguara-MG, 2021. A. Javaporco; B. Vacas; C. Quatis e D. Catetos.

6.2. Carrapatos do Ambiente

No total, 3585 carrapatos foram coletados na fazenda no período do estudo. Foram identificadas três espécies de carrapatos, sendo eles *Amblyomma sculptum*, *A. dubitatum* e *Rhipicephalus* sp. A espécie mais abundante e coletada em todos os locais do estudo foi *A. sculptum* (41,58% do total de carrapatos) seguida de o *A. dubitatum* (0,39% do total de carrapatos) encontrado apenas nas margens da Represa e do rio. Apenas 02 (duas) larvas de *Rhipicephalus* sp. foram encontradas, uma no Lamaçal outra na beira da Represa. Larvas de *Amblyomma* spp constituíram 2078 (57,89%) dos carrapatos coletados. Os números de carrapatos por espécie, estágio e mês de coleta estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Carrapatos encontrados em todos os locais de coleta, nas estações seca/ chuvosa, na Fazenda Várzea/ 7 abelhas, em Tupaciguara-MG, Brasil, coletados entre janeiro e junho de 2021

Espécie e estágio de desenvolvimento	Meses de coleta				Total
	Novembro	Janeiro	Abril	Julho	
<i>Amblyomma</i> spp. (larvas)	14	0	1227	837	2078
<i>A. sculptum</i>					
Ninfas	83	5	17	1049	1154
Adultos	164	153	21	3	341
<i>A. dubitatum</i>					
Ninfas	1	2	0	1	4
Adultos	4	6	0	0	10
<i>Rhipicephalus</i> spp. (larvas)	1	0	0	1	2

O método mais eficaz de captura foi a armadilha de gelo seco (2364 carrapatos; 949 larvas, 1081 ninfas, 334 adultos), seguida pela técnica do arraste (1022 carrapatos; 927 larvas, 78 ninfas, 17 adultos) e inspeção visual (203 carrapatos em 01 agregado de larva a 64 cm de altura). A estação com o maior número de carrapatos coletados foi a seca com 3140 indivíduos coletados (2065 larvas e 1075 ninfas). Dentre os adultos de *A. sculptum* coletados no ambiente, 156 eram machos e 195 fêmeas (relação M:F = 0,80).

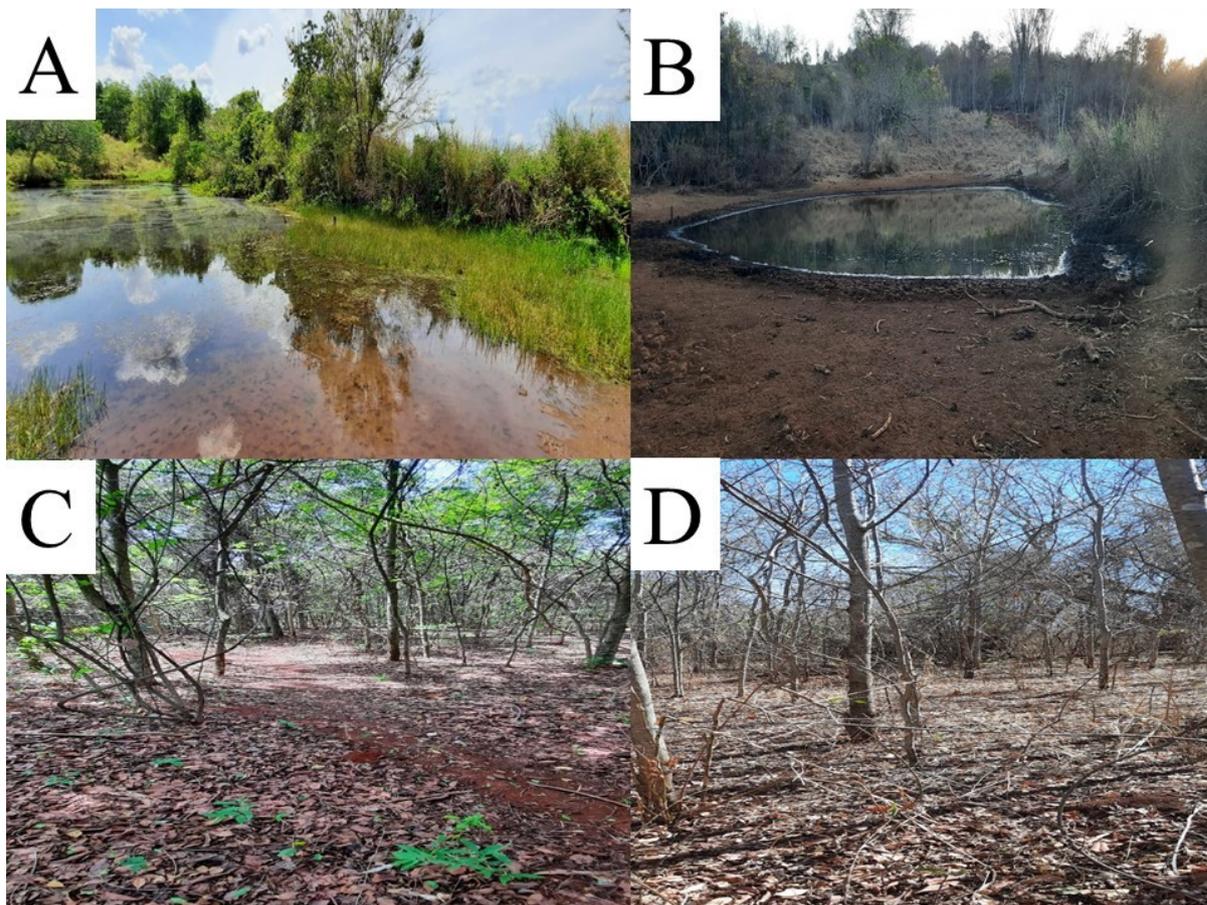


Figura 9 - Imagens dos ambientes de coleta registradas durante as estações chuvosa (A e C) e seca (B e D). Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Tupaciguara-MG, 2021.

6.3. Carrapatos de javaporcos

Infestação por carrapatos foi avaliada em 31 javaporcos e coletados 415 carrapatos, todos da espécie *A. sculptum* e as larvas do gênero *Amblyomma* sp. Desses carrapatos, encontrou-se duas larvas (0,48%), 24 ninfas (5,78%) e 389 adultos (93,74%) (Figura 10). Entre os adultos foram coletados 257 machos e 132 fêmeas (M:F = 1,9) com proporção entre sexos semelhante na estação chuvosa (M:F = 0,97) e discrepante na estação seca (M:F = 2,7).

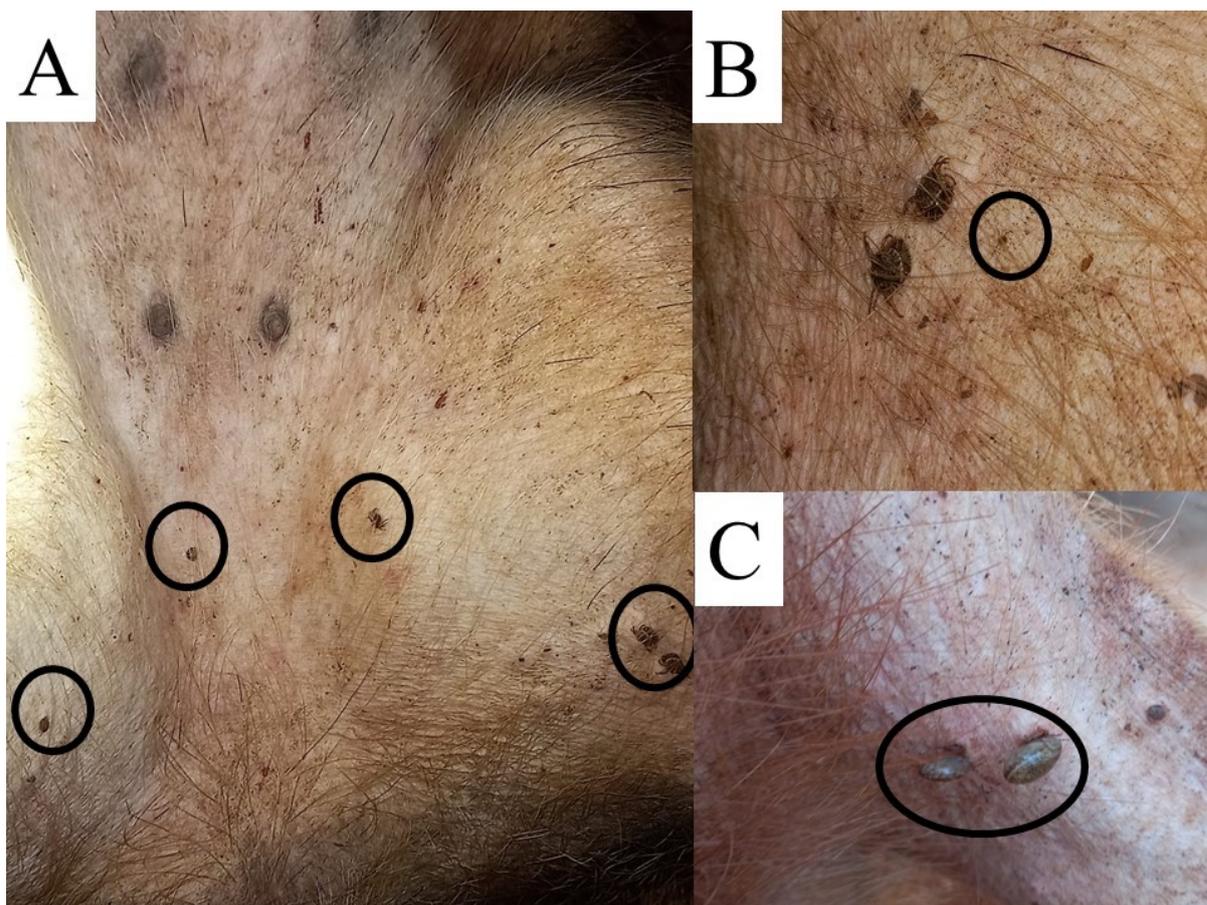


Figura 10 - Carrapatos *A. sculptum* fixados na região ventral de um javaporco. Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Tupaciguara-MG, 2021. A- espécimes de *A. sculptum* ainda fixados no animal. B - 04 adultos de *A. sculptum*, e uma larva. C - *A. sculptum* fêmea semi-ingurgitada fixada no hospedeiro. Tupaciguara-MG, 2021.

A infestação média por animal foi de 13,8 carrapatos/javaporco variando de 0 até 50 carrapatos por animal. A maior prevalência de infestação por carrapatos em javaporcos (100%) foi observada no período chuvoso. A intensidade média e a abundância média de infestação foram cerca de três vezes maiores no período chuvoso em relação ao período seco (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros de infestação por carrapatos em javaporcos na Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Tupaciguara-MG, 2021.

Estação	Estágio				Padrões de infestação			
	Larva	Ninfa	Adulto		Nº infestados/Nº capturados	Prevalência	Intensidade média	Abundância média
			F	M				
Seca	2	24	72	195	25/27	92,6	11,7	10,9
Chuvosa	0	0	60	62	4/4	100	30,5	30,5

6.4. Riquetsias em carrapatos do ambiente e dos javaporcos

O sucesso da extração de DNA foi confirmado em todos os carrapatos (amplificação do gene 16S). Em nenhuma amostra dos carrapatos *A. sculptum* e *Rhipicephalus* sp. coletados do ambiente (n=237) ou *A. sculptum* dos javaporcos (n=79 carrapatos) que foram testados, houve a amplificação do gene do *gltA*. Em todos os carrapatos *A. dubitatum* houve a amplificação da sequência específica do gene *gltA* da riquetsia *R. bellii*, e nenhuma amplificação dos genes *OmpA* e *OmpB*. Uma das amostras que amplificaram para o gene específico *gltA* de *R. bellii* foi purificada e enviada para sequenciamento, apresentando 100% de homologia com *Rickettsia bellii*, detectada em *A. dubitatum* nos estados do Rio de Janeiro (número de acesso no Genbank KF195974) e Minas Gerais (KX020409). Número de acesso da sequência do presente trabalho depositada no Genbank: Banklt2536858 Seq1 OM158727.

Considerando a elevada taxa de infecção pela bactéria *R. bellii* em carrapatos *A. dubitatum* coletados no ambiente em nosso estudo acoplado à ausência do DNA de outras espécies de bactérias deste gênero, investigou-se uma possível relação entre estas infecções em estudos realizados em populações do carrapato nas Américas. Para esse fim buscou-se na literatura dados sobre taxas de infecção em carrapatos *A. dubitatum* e pesquisados espécies de riquetsia tanto do GFB quanto *R. bellii* (Tabela 4). As respectivas taxas de infecção foram extraídas ou ainda calculadas a partir dos dados disponíveis nos artigos. Aplicou-se o teste de correlação de Spearman ($P < 0.05$) e observou-se uma correlação negativa moderada entre as duas taxas de infecção ($r_s = -0.5443$; $n=23$; $P=0.0072$).

Tabela 5 - Origem geográfica e taxas mínimas de infecção por riquetsias do Grupo da Febre Maculosa (SFG) ou *Rickettsia bellii* de carrapatos *Amblyomma dubitatum* coletados do ambiente e animais.

Fonte	Abrangência geográfica das amostras	Estado ou País	Local de coleta (ambiente ou hospedeiro)	Nº Carrapatos Testados	Infectados com <i>R. bellii</i>	Infectados com Rickettsias SFG
Durães et al., 2021	Estado Paraná	PR	Ambiente	5785	83 (1,43%)	0
Horta et al., 2007	São Paulo	SP	Hospedeiro (gambá)	23	4 (17.39%)	0
Quadros et al., 2021	Distrito Federal	DF	Hospedeiro (capivara)	108	25 (23.14%)	2 (1.85%) - (<i>Rickettsia</i> sp. cepa COOPERI)
Brites- Neto et al., 2015	Americana	SP	Ambiente	303	11 (3.63%)	0
Montenegro et al., 2017	Estado Rio de Janeiro	RJ	Hospedeiro (capivara)	Dados não mostrados	1	1 (<i>R. rickettsii</i>)
Brites- Neto et al., 2013	Americana	SP	Ambiente	1040	41 (3.94%)	0
Szabó et al., 2018	Serra da Canastra	MG	Ambiente	1	1 (100%)	0
Spolidório et al., 2012	Serra dos Órgãos	RJ	Ambiente	17	0	12 (70.58%) - (<i>Rickettsia</i> sp. cepa Pampulha)
Lado et al., 2014	Durazno	Uruguai	Hospedeiro (capivara)	11	0	3 (27.27%) - (<i>Rickettsia parkeri</i> cepa Maculatum)
Monje et al., 2015	Região Nordeste	Argentina	Ambiente/ Hospedeiro	374	19 (5.08%)	02 (0,53%) - (<i>Rickettsia</i> sp. cepa COOPERI) e 01 (0,26%) - <i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica

Dantas Torres et al., 2021	Recife	PE	Ambiente	648	0	66 (10,1%) - (<i>Rickettsia</i> sp. cepa Pampulha) e 21 (3,24%) - <i>R. tamurae</i>
Weck et al., 2017	Estado Rio Grande do Sul	RS	Hospedeiro (capivara)	14	0	4 (28,57%) - (<i>R. parkeri</i> clone RS)
Machado-Ferreira et al., 2012	São José do Xingu	MT	Hospedeiro (cachorro)	1 Pool (10 indivíduos)	0	1 pool (100%) - (<i>Rickettsia amblyommii</i>)
Pacheco et al., 2009	Estado São Paulo	SP	Ambiente/ Hospedeiro (capivara)	2666	634 (23.8%)	0
Almeida et al., 2011	Belo Horizonte	MG	Ambiente	9	0	9 (100%) - (<i>Rickettsia</i> sp. strain Pampulha)
Sakai et al., 2014	Jambeiro	SP	Hospedeiro (capivara)	10	10 (100%)	0
Matias et al., 2015	Campo Grande	MS	Ambiente	10	0	1 (10%) - (<i>R. parkeri</i>)
Labruna et al., 2004 (<i>A. cooperi</i>)	São Paulo	SP	Ambiente	40	16 (40%)	3 (7,5%) - (<i>Rickettsia</i> sp. cepa COOPERI)
Gruhn et al., 2019	Rio Branco	AC	Ambiente/ Hospedeiro (capivara)	246	6 (2.4%)	0
de Lemos et al., 1996 (<i>A.cooperi</i>)	Pedreira	SP	Hospedeiro (capivara)	3	0	1 (33,3%) - <i>Rickettsia</i> spp.

Estrada et al., 2006 (<i>A. cooperi</i>)	Campinas	SP	Ambiente/ Hospedeiro (capivara)	133	4 (3%)	0
Serpa et al., 2021	Americana/ Araras	SP	Hospedeiro (pequenos mamíferos)	77	4 (5,19%)	0
Este trabalho, 2021	Tupaciguara	MG	Ambiente	14	14 100%)	0

6.5. Sorologia dos javaporcos

Das 31 amostras de soro de javaporcos, 24 (77,4%) reagiram com pelo menos um antígeno de *Rickettsia*. A prevalência da sororreatividade específica foi de 60% (18/ 30), 33.33% (10/ 30), 50% (15/30), 36.66% (11/ 30) e 36.66% (11/ 30) para *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommatis*, *R. rhipicephali* e *R. bellii*, respectivamente, com títulos variando de 1:64 a 1:1024 (Tabela 5). Sete indivíduos apresentaram reação a possível antígeno homólogo (PAH) de três espécies de riquetsias, *R. rickettsii* (n=3), *R. amblyommatis* (n=3) e *R. rhipicephali* (n=1) (Tabela 5).

De forma geral, a mediana dos títulos sorológicos foi baixa (Figura 11). Dentre os animais sororeagentes (n = 24) houve diferença significativa entre as espécies de riquetsias (H = 11,133; DF= 4; P= 0,025), sendo aqueles para *R. rickettsii* maiores do que *R. parkeri* e *R. bellii*; e *R. amblyommatis* maior do que *R. parkeri* e *R. bellii* (Figura 11).

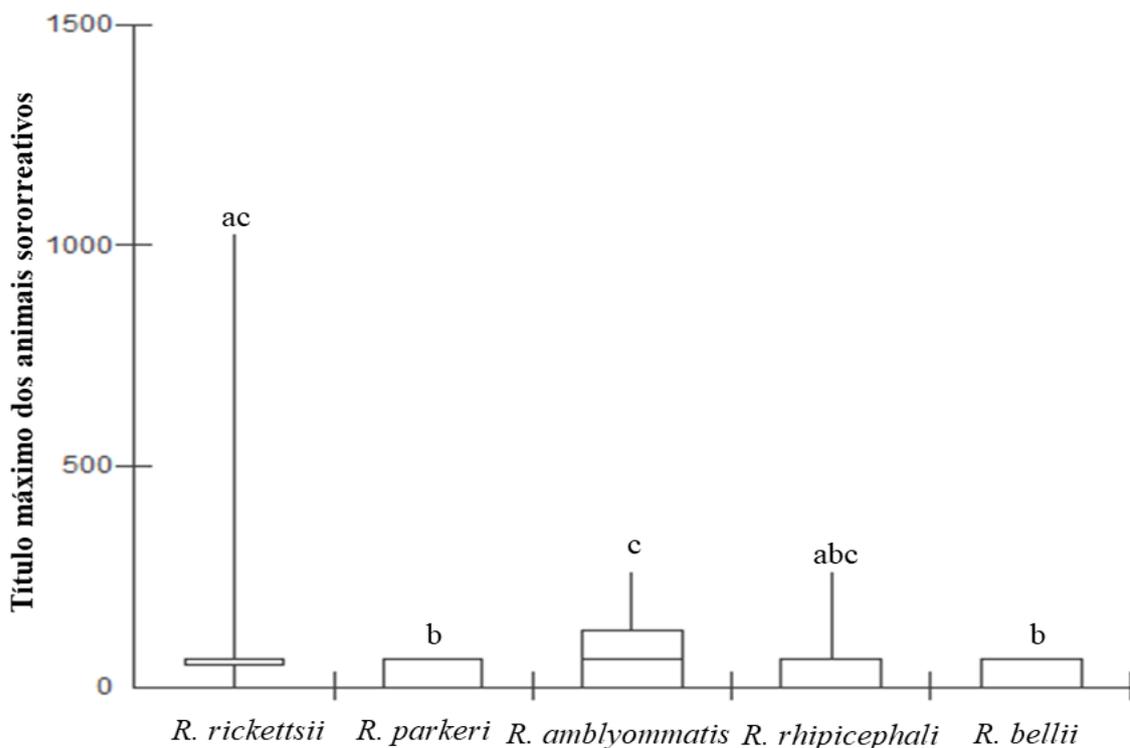


Figura 11 - Título máximo dos resultados encontrados na sorologia dos javaporcos. As letras na figura correspondem a diferença estatística entre as espécies de *Rickettsia*. Caixas indicam intervalo interquartil, linhas dentro das caixas representam a mediana e linhas verticais indicam os valores máximos e mínimos. Tupaciguara-MG, 2021.

Tabela 6 - Resultados da sororreatividade de javaporcos da Fazenda Várzea/ 7 abelhas, Estado de Minas Gerais, para cinco espécies de *Rickettsia* (Setembro de 2020 a Agosto de 2021), Tupaciguara-MG.

Animais	Antígenos do GFM e <i>R. belli</i> testados					Provável Antígeno Homólogo (PAH)
	<i>Rickettsia rickettsii</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia belli</i>	
JV 1 (fêmea/adulta)	512	64	128	-	-	-
JV 2 (fêmea/adulta)	1024	-	256	-	-	<i>R. rickettsii</i>
JV 3 (fêmea/adulta)	-	64	64	-	-	-
JV 4 (macho/filhote)	-	-	-	-	-	-
JV 5 (fêmea/filhote)	64	-	64	-	-	-
JV 6 (macho/adulto)	64	64	-	-	-	-
JV 7 (fêmea/adulta)	64	64	-	-	-	-
JV 8 (fêmea/adulta)	64	64	128	64	64	-
JV 9 (fêmea/adulta)	64	64	128	64	64	-
JV 10 (fêmea/adulta)	-	-	-	-	-	-
JV 11 (fêmea/adulta)	-	-	-	-	-	-
JV 12 (macho/adulto)	-	-	-	-	-	-
JV 13 (fêmea/adulta)	64	-	-	-	64	-
JV 14 (macho/adulto)	-	-	-	-	-	-
JV 15 (fêmea/adulta)	-	-	64	256	64	<i>R. rhipicephali</i>
JV 16 (fêmea/adulta)	-	-	128	256	64	-

JV 17 (fêmea/ adulta)	256	-	64	64	64	<i>R. rickettsii</i>
JV 18 (macho/ adulto)	64	-	64	64	64	-
JV 19 (macho/ adulto)	64	-	-	-	64	-
JV 20 (macho/ adulto)	64	-	-	64	-	-
JV 21 (macho/ adulto)	64	-	256	-	-	<i>R. amblyommatis</i>
JV 22 (fêmea/ adulta)	-	-	64	64	-	-
JV 23 (fêmea/ adulta)	-	-	256	64	-	<i>R. amblyommatis</i>
JV 24 (fêmea/ adulta)	256	-	-	64	-	<i>R. rickettsii</i>
JV 25 (fêmea/ adulta)	-	64	-	-	-	-
JV 26 (macho/ adulto)	64	64	-	-	-	-
JV 27 (macho/ adulto)	64	64	128	-	64	-
JV 28 (macho/ adulto)	64	64	256	64	64	<i>R. amblyommatis</i>
JV 29 (fêmea/ adulta)	-	-	-	-	-	-
JV 30 (fêmea/ adulta)	-	-	-	-	-	-
JV 31 (fêmea/ adulta)	64	-	-	-	64	-

7. DISCUSSÃO

Durante o trabalho da coleta no ambiente, foi constatado que o gênero de carrapato predominante foi *Amblyomma* sp., com uma prevalência de 99,86% dos espécimes, (principalmente larvas) e o restante (0,14%) correspondem às 02 larvas do gênero *Rhipicephalus* sp. Do gênero *Amblyomma* sp. apenas duas espécies foram identificadas: *A. sculptum* e *A. dubitatum*. Enquanto o *A. sculptum* também foi encontrado em todos os locais amostrados na coleta ambiental, o *A. dubitatum* foi encontrado apenas na borda da represa e beira do rio. Estas observações reforçam estudos anteriores indicando a elevada prevalência e ampla disseminação ambiental do *A. sculptum* no Cerrado e a restrição do *A. dubitatum* às áreas mais úmidas próximas à corpos de água. Em Barbieri et al. (2019), o *A. sculptum* foi encontrado em todos os locais de coleta no ambiente, sendo também o carrapato encontrado em maior número absoluto. De acordo com os autores, o número de espécimes de vida livre de *A. sculptum* superaram *A. parvum* e *A. triste* em todas as quatro fitofisionomias do Parque Nacional de Grande Sertão Veredas, indicando uma alta plasticidade de *A. sculptum* para diferentes tipos de ambiente identificados no parque. Nesse mesmo estudo, também foi encontrado um pequeno número de carrapatos da espécie *A. dubitatum* (04 adultos e 9 ninfas) em um dos locais mais úmidos do estudo, denominado Vereda (BARBIERI et al., 2019). Luz et al. (2020) em um estudo comparando a sobrevivência de *A. sculptum* e *A. dubitatum* em diferentes níveis de temperatura e umidade, encontrou resultados que sugerem que *A. dubitatum* é mais adaptado a habitats úmidos e / ou que sofrem inundações sazonais do que *A. sculptum*, enquanto esta última espécie deve ser mais adaptada do que *A. dubitatum* a habitats mais secos. Em Pajuaba Neto et al. (2018), os pesquisadores observaram que *A. dubitatum* estava restrito ao microambiente mais úmido; enquanto em áreas mais secas *A. sculptum* encontra-se mais disseminado o que aumenta a chance de exposição humana. De fato, os locais onde realizamos as coletas ambientais demonstravam-se mais predispostos a permanecerem secos durante o ano todo, independente da estação, o que favoreceria a predominância da presença do *A. sculptum*.

Embora não tenham sido identificados ao nível de espécie supomos que as larvas de *Rhipicephalus* sp. sejam o carrapato bovino *Rhipicephalus microplus*. A única outra espécie de *Rhipicephalus* no Brasil, o *Rhipicephalus sanguineus* é um carrapato nidícola de ambientes antropizados e não encontrado em áreas verdes (SZABÓ et al., 2013). Um resultado aparentemente paradoxal foi a quantidade reduzida destes carrapatos *Rhipicephalus* spp. encontrada uma vez que os bovinos, principais mamíferos responsáveis pela manutenção da espécie *Rhipicephalus microplus*, foram a segunda espécie de animais mais detectada pelas

armadilhas fotográficas. Podemos supor que a inadequação dos prováveis locais de queda dos carrapatos ingurgitados da nossa amostragem em matas do Cerrado tenham sido um fator importante uma vez que carrapatos necessitam de condições ideais de temperatura e umidade para desenvolvimento do seu ciclo fornecidos para *R. microplus* por pastos (OSHIRO et al., 2021). Siqueira et al. (2021) obteve um resultado semelhante em sua pesquisa em uma fazenda em Uberlândia, Minas Gerais. Esses autores detectaram a infestação frequente de pastos por *R. microplus* e apenas ocasional na mata adjacente apesar de sua utilização pelos bovinos. De fato, essa espécie de carrapato é tipicamente de campos abertos em pastagens (FURLONG et al., 2002), paisagem essa que não estava presente nos locais de coleta do presente estudo.

A predominância dos javaporcos nos registros fotográficos já era esperado, uma vez que as câmeras eram dispostas em locais sombreados (matas) com sinais e rastros desses animais. Ressalta-se que javaporcos acessam áreas abertas, sobretudo agrícolas, que utilizam como alimento (BALLARI & BARRIOS GARCÍA, 2014; HERRERO et al., 2006; THURFJELL et al., 2009) enquanto áreas florestais, fornecem abrigo e proteção contra predadores, caçadores e do calor (BERTOLOTTI, 2010; SAITO et al., 2012; LEWIS et al., 2017). Nas áreas avaliadas no presente estudo, o ambiente era composto principalmente por plantações de grãos (soja, milho, sorgo, por exemplo), entremeada por faixas de vegetação de cerrado, constituindo dois dos principais elementos para presença dos javaporcos.

Diversas outras espécies de animais selvagens do bioma cerrado foram registrados assim como de outros animais domésticos, como por exemplo os mamíferos quati (*Nasua nasua*), o cateto (*Pecari tajacu*), Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*), Lobo-guará (*Chrysocyon brachyurus*), Tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), Tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*), Veado-catingueiro (*Mazama gouazoubira*), Paca (*Cuniculus paca*), Jaguaritica (*Leopardus pardalis*), Onça parda (*Puma concolor*), Gato-mourisco (*Herpailurus yagouaroundi*), Macaco-prego-amarelo (*Sapajus libidinosus*); e as aves Mutum-de-penacho (*Crax fasciolata*), Jacu (*Penelope* sp.), Seriema (*Cariama cristata*), Saracura (*Aramadis saracura*), Pombo (*Columba* sp.), Pica-pau-de-banda-branca (*Dryocopus lineatus erythroptus*), Sabiá-barranco (*Turdus leucomelas*), Canário-da-terra (*Sicalis flaveola*). Essa diversidade de vertebrados indica diversos hospedeiros potenciais para *A. sculptum* e *A. dubitatum*, bem como potencial para manutenção de outras espécies de carrapatos não detectados no ambiente investigado. O estabelecimento de *A. sculptum* parece depender da presença de pelo menos uma de suas espécies hospedeiras primárias para a fase adulta, consideradas antas, capivaras ou cavalos no Brasil (LABRUNA et al., 2001) (descrito como *A. cajennense* no artigo) e provavelmente queixadas (LABRUNA et al., 2005). Entretanto, essa espécie de carrapato pode

apresentar uma gama de hospedeiros muito ampla, sendo encontrada em vários mamíferos e também em aves (ARAGÃO, 1936; ROJAS et al.; 1999; CAMPOS-PEREIRA et al., 2000; LABRUNA et al., 2002; GUGLIELMONE et al., 2003). Assim, a possibilidade de infestação e manutenção do ciclo de vida do *A. sculptum* por diferentes animais silvestres e animais domésticos pode ser considerada uma característica comum. Notavelmente, a infestação de uma cascavel por um *A. sculptum* adulto descrita por Szabó et al. (2007) aumenta sua variedade de espécies hospedeiras.

A elevada prevalência e a intensidade de infestação de *A. sculptum* nos javaporcos parasitados, a observação de todos os estágios de vida desses carrapatos parasitando esses mamíferos, bem como espécimes ingurgitando sugerem que o javaporco, mamífero representando biomassa expressiva na região, é um bom hospedeiro para este carrapato. Neste contexto, o *A. sculptum* já foi reportado como parasita de porcos domésticos e porcos asselvajados em outras regiões do Brasil (CANÇADO, 2008; RAMOS et al., 2014). No estudo de Osava et al. (2016), foi observado que suínos domésticos podem ser considerados hospedeiros primários para *A. sculptum* e a criação de suínos ao ar livre, ao fornecer um ambiente permissivo, estabelece um limite mínimo para a manutenção das populações de carrapatos. Nesse sentido, como o javaporco é uma espécie exótica (introduzida na fauna local), o resultado encontrado indica uma boa adaptação de *A. sculptum* a este hospedeiro. No conjunto essas observações indicam que o javaporco contribui de forma expressiva para a manutenção de populações de carrapato *A. sculptum* no Cerrado.

O número maior de *A. sculptum* encontrado no ambiente e javaporcos na estação seca, com predominância dos estágios imaturos, em comparação com a chuvosa permitiu inferências sobre a sazonalidade do carrapato. Este padrão está de acordo com o ciclo de vida de 1 ano descrito para populações de *A. sculptum* no sudeste do Brasil em ambientes antropizados (SERRA-FREIRE 1982; LABRUNA et al., 2002) ou no Cerrado (VERONEZ et al., 2010), indicando um padrão sazonal generalizado para a espécie.

Todos os carrapatos da espécie *A. sculptum* analisados, tanto do ambiente quanto dos javaporcos, em todos seus estágios pesquisados, foram negativos tanto para as riquetsias do grupo da febre maculosa quanto para *R. bellii*. Não se trata de um resultado inesperado pois, apesar dessa espécie ser o principal vetor da *R. rickettsii* para seres humanos, as taxas de infecção das populações são extremamente baixas, mesmo em áreas endêmicas (LABRUNA, 2009; SZABÓ et al., 2013).

Por outro lado, todos os carrapatos da espécie *A. dubitatum* coletados no ambiente foram positivos para a espécie de riquetsia *R. bellii*. De fato, *Rickettsia bellii* é comum em várias

espécies de carrapatos duros do Brasil, considerada não patogênica (LABRUNA, 2009) e está altamente associada a populações de carrapatos *A. dubitatum* onde pode atingir uma prevalência de infecção de 100% (PACHECO et al., 2009; SAKAI et al., 2014), corroborando os resultados encontrados no presente estudo. Além disso outras espécies de *Rickettsia* são comuns em carrapatos *A. dubitatum* (ALMEIDA et al., 2011; LABRUNA et al., 2004; LADO et al., 2014; PACHECO et al., 2009). Apesar de *A. dubitatum* ser comumente relatado como o carrapato capivara, Labruna et al. (2007) mostraram que essa espécie de carrapato pode ocasionalmente parasitar humanos durante qualquer estágio de alimentação. Porém o papel dessa espécie de carrapato na epidemiologia da Febre Maculosa Brasileira é ainda desconhecido (SZABÓ et al., 2013).

Os resultados sorológicos, com sete indivíduos reagindo de forma homóloga a três espécies de riquetsias do grupo da febre maculosa indicam que, se as populações de *A. sculptum* que infestam javaporcos estivessem infectados por uma riquetsia do grupo da febre maculosa (SFG) mas com uma taxa de infecção muito baixa ou que foram expostos a espécies de carrapatos não detectadas em nosso estudo. De fato, a baixa soropositividade para riquetsioses pode ser resultado da rara infecção por riquetsioses em carrapatos *A. sculptum* (PACHECO et al., 2009; COSTA et al., 2017). Por outro lado, a ausência de reação sorológica homóloga contra *R. bellii* poderá ter ocorrida pela exposição reduzida a carrapatos *A. dubitatum* dos javaporcos (nenhum carrapato dessa espécie foi encontrado nos animais) ou ainda a não inoculação dessa espécie de riquetsia nos hospedeiros. *R. bellii* é considerado um simbiote de carrapatos e não patogênica para seres humanos se mantendo na natureza pela transmissão transovariana e transestadial no artrópode (KRAWCZAK et al., 2018).

Foi sugerido que javalis desempenham um papel potencial na ecoepidemiologia das riquetsioses. Na Catalunha, Espanha, 12/23 (52,2%) e 19/23 (82,6%) de javalis amostrados foram soropositivos para *Rickettsia slovaca*, classificados no SFG e associados a carrapatos *Dermacentor marginatus* (ORTUÑO et al., 2007). No Mississippi, EUA, 17/58 (29,3%) suínos selvagens foram soropositivos para o patógeno SFG *R. parkeri* (CASTELLAW et al., 2011). Embora as capivaras tenham sido reconhecidas como o principal hospedeiro de *A. sculptum* e espécies amplificadoras da infecção por *R. rickettsii* no Brasil (LABRUNA, 2009), estudos futuros devem ser realizados para estabelecer o papel dos javalis/ javaporcos como hospedeiros, amplificadores e sua associação com humanos e casos de febre maculosa causada por *R. rickettsii*. Principalmente considerando a distribuição sobreposta de javaporcos e capivaras no Brasil, que pode levar à disseminação sinérgica de carrapatos vetores, principalmente da FMB (KMEUTIK, 2019).

Os javaporcos ainda apresentam uma característica adicional devido à sua capacidade altamente adaptativa, espalhando-se por áreas intactas e degradadas de todos os seis biomas brasileiros, incluindo Mata Atlântica (floresta tropical), Cerrado (savana tropical), Pampa (campos abertos), Pantanal (inundação planícies), Amazônia (floresta tropical) e Caatinga (semi-árido), como recentemente reconhecido pelo Ministério da Agricultura do Brasil (BRASIL,2004). Como já mencionado, a febre maculosa brasileira e outros agentes riquetsiais supostamente se sobrepõem à ocorrência de capivara, portanto javalis podem carregar carrapatos e doenças transmitidas por carrapatos fora das áreas originais da capivara, atualmente restritas a florestas de galeria e savanas sazonalmente inundadas, como a Mata Atlântica, Pantanal e Cerrado (MOREIRA et al., 1997).

Portanto os resultados aqui apresentados fornecem subsídios para apoiar ações de saúde pública na prevenção de doenças transmitidas por vetores em áreas de sobreposição de capivaras, javaporcos e demais animais silvestres e domésticos. Indubitavelmente estudos adicionais se fazem necessários para estabelecer a capacidade dos carrapatos em infectar javalis/ javaporcos, bem como seu papel no ciclo de transmissão/ manutenção da *Rickettsia* spp.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, A.P. Pesquisa de *Rickettsia*, *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia*, *Hepatozoon* e *Leishmania* em Cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de vida livre do Estado do Espírito Santo. Dissertação de Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada, Universidade de São Paulo, SP. 80p. 2011.

ALMEIDA, A.P.; CUNHA, L.M.; BELLO, A.C.; DA CUNHA, A.P.; DOMINGUES, L.N.; LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B. A novel *Rickettsia* infecting *Amblyomma dubitatum* ticks in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011 Dec;2(4):209-12. doi: 10.1016/j.ttbdis.2011.08.003. Epub 2011 Oct 17. PMID: 22108014.

ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:403–410. 1990.

ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1936;31(4): 759-844.

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia VIII. Lista e chave para representantes da fauna Ixodológica Brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 2, p. 115-129, 1961.

ARZUA, M.; BRESOVIT, A.D. Métodos de coleta e preservação para identificação. Pp. 183-189 *In: BARROS-BATTESTI, D.M.; M. ARZUA & G.H. BECHARA (eds.). Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.* Vox, São Paulo. pp 182–189. 2006.

BARBIERI, A.R.M.; SZABÓ, M.P.J.; COSTA, F.B.; MARTINS, T.F.; SOARES, H.S.; PASCOLI, G.; TORGA, K.; SARAIVA, D.G.; RAMOS, V.N.; OSAVA, C.; GERARDI, M.; DIAS, R.A.; MORAES, E.A. Jr; FERREIRA, F.; CASTRO, M.B.; LABRUNA, M.B. Species richness and seasonal dynamics of ticks with notes on rickettsial infection in a Natural Park of the Cerrado biome in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019 Feb;10(2):442-453. doi: 10.1016/j.ttbdis.2018.12.010. Epub 2018 Dec 31. PMID: 30611725.

BARRIOS-GARCIA, M. N. I; BALLARI, S. A. Impact of wild boar (*Sus scrofa*) in its introduced and native range: a review. *Biol Invasions*. v. 14, p. 283–2300, 2012.

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

BERRADA, Z.; GOETHERT, H.; CUNNINGHAM, J.; TELFORD, S. *Rickettsia rickettsii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) from Kansas. *J. Med. Entomol.* 2011; 48:461–467. [PubMed: 21485390]

BRASIL. Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply (MAPA). Programa Nacional de Sanidade dos Suídeos — PNSS. Instrução Normativa nº 47, 18 June 2004. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 2004. Acessado em 22 de setembro de 2021.

BRITES-NETO, J.; BRASIL, J.; RONCATO DUARTE, K.M. Epidemiological surveillance of capybaras and ticks on warning area for Brazilian spotted fever. *Vet World*. Sep;8(9):1143-9. doi: 10.14202/vetworld.2015.1143-1149. Epub 2015 Sep 30. PMID: 27047211; PMCID: PMC4774785.

BRITES-NETO, J.; NIERI-BASTOS, F.A.; BRASIL, J.; DUARTE, K.M.; MARTINS, T.F.; VERÍSSIMO, C.J.; BARBIERI, A.R.; LABRUNA, M.B. Environmental infestation and rickettsial infection in ticks in an area endemic for Brazilian spotted fever. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2013 Jul-Sep;22(3):367-72. doi: 10.1590/S1984-29612013000300008. PMID: 24142167.

BUENO, C.G.; REINÉ, R.; ALADOS, C.L. & GÓMEZ-GARCÍA, D. Effects of large wild boar disturbances on alpine soil seed banks. *Basic Applied Ecology*, 12: 2011. 125-133.

BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rock Mountain spotted fever and scrub typhus. In DH Walker, *Biology of Rickettsial Diseases*, vol.1, CRC Inc, Boca Raton, p. 33-50, 1988.

BURTON, C. & N.; ERIC & M.A.; DARIO & LADLE; ANDREW & STEENWEG; ROBIN & FISHER; JASON & BAYNE; ERIN & BOUTIN, S.. REVIEW: Wildlife camera trapping: a review and recommendations for linking surveys to ecological processes. *Journal of Applied Ecology*. 52. 2015. 10.1111/1365-2664.12432.

BUSH, A.O.; LAFFERTY, K.D.; LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited: *The Journal of Parasitology*, Aug., 1997, Vol. 83, No. 4, pp. 575-583 Published by: Allen Press on behalf of The American Society of Parasitologists Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/3284227>

BYWATER, K. A.; APOLLONIO, M.; CAPPAL, N.; STEPHENS, P. A. Litter size and latitude in a large mammal: the wild boar *Sus scrofa*. *Mammal Review*. v.40, n.3, p. 212–220, 2010.

CARMICHAEL, J.R.; FUERST, P.A. Molecular detection of *Rickettsia bellii*, *Rickettsia montanensis*, and *Rickettsia rickettsii* in a *Dermacentor variabilis* tick from nature. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010; 10:111–115.

CASTELLAW, A.H.; CHENNEY, E.F.; VARELA-STOKES, A.S. Tick-borne disease agents in various wildlife from Mississippi. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2011;11(4): 439–442. 10.1089/vbz.2009.0221

COSTA, F.B.; DA COSTA, A.P.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; SOARES, H.S.; RAMIREZ, D.G.; et al. *Rickettsia amblyommatis* infecting ticks and exposure of domestic dogs to *Rickettsia* spp. in an Amazon-Cerrado transition region of northeastern Brazil. *PLoS One*. 2017;12(6): e0179163 10.1371/journal.pone.017916

CROOKS, J. A. Characterizing ecosystem-level consequences of biological invasions: the role of ecosystem engineers. *Oikos*. v. 97, n.2, p.153–166, 2002.

CUEVAS, M. F.; MASTRANTONIO, L.; OJEDA, R. A.; JAKSIC, F. M. Effects of wild boar disturbance on vegetation and soil properties in the Monte Desert, Argentina. *Mammalian Biology*, v, 77, p. 299-306. 2012.

DANTAS-TORRES, F.; MELO, M.F.; SALES, K.G.D.S.; SOUSA-PAULA, L.C.; DA SILVA, F.J.; FIGUEREDO, L.A.; LABRUNA, M.B. Seasonal dynamics and rickettsial infection in

free-living *Amblyomma dubitatum* in the Atlantic forest biome in north-eastern Brazil. *Acta Trop.* 2021 May;217:105854. doi: 10.1016/j.actatropica.2021.105854. Epub 2021 Feb 6. PMID: 33561429.

DANTAS-TORRES, F. et al. Ticks on captive and free-living wild animals in northeastern Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, v.50, p.181-189, 2010a. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19693679>,doi:10.1007/s10493-009-9296-5

DE LEMOS, E.R.; MELLES, H.H.; COLOMBO, S.; MACHADO, R.D.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A.; SANSEVERINO, S.R.; MOURA, A. Primary isolation of spotted fever group rickettsiae from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996 May-Jun;91(3):273-5. doi: 10.1590/s0074-02761996000300003. PMID: 9040845.

DEBÁRBORA, V.N.; NAVA, S.; CIRIGNOLI, S.; GUGLIELMONE, A.A.; POI, A.S.G. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing endemic and exotic wild mammals in the Esteros del Iberá wetlands, Argentina. *Syst Appl Acarol* 17: 2012. 243–250.

DEBÁRBORA, V.N.; MANGOLD, A.J.; OSCHEROV, E.B. *et al.* Study of the life cycle of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) based on field and laboratory data. *Exp Appl Acarol* **63**, 93–105 (2014). <https://doi.org/10.1007/s10493-014-9767-1>

DEBERDT, A. J.; SCHERER, S. B. O javali asselvajado: ocorrência e manejo da espécie no Brasil. *Natureza & Conservação*, v. 5, n. 2, p. 31-44. 2007.

DESBIEZ, J.A.; KEUROGHLIAN, A.; PIOVEZAN, U.; BODMER, R. Invasive species and bushmeat hunting contributing to wildlife conservation: The case of feral pigs in a Neotropical wetland. *Oryx*, 2011, 45(1), 78-83. doi:10.1017/S0030605310001304

DURÃES, L.S.; BITENCOURTH, K.; RAMALHO, F.R.; NOGUEIRA, M.C.; NUNES, E.C.; GAZÊTA, G.S. Biodiversity of Potential Vectors of Rickettsiae and Epidemiological Mosaic of Spotted Fever in the State of Paraná, Brazil. *Front Public Health.* 2021 Mar 12;9:577789. doi: 10.3389/fpubh.2021.577789. PMID: 33777873; PMCID: PMC7994328.

ESTRADA, D.A.; SCHUMAKER, T.T.; SOUZA, C.E.; RODRIGUES NETO, E.J.; LINHARES, A.X. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP [Rickettsiae detection in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) collected in the urban area of Campinas City, SP]. Rev Soc Bras Med Trop. 2006 Jan-Feb;39(1):68-71. Portuguese. doi: 10.1590/s0037-86822006000100013. Epub 2006 Feb 23. PMID: 16501770.

FERRAZ, K.M.P.M.B.; FERRAZ, S.F.B.; MOREIRA, J.R.; COUTO, H.T.Z.; VERDADE, L.M. Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) distribution in agroecosystems: a crossscale habitat analysis. Journal of Biogeography. 2007;34(2):223-230.

FRANKENBER, S.T. Levantamento e avaliação da Portaria 138/02 e Instrução Normativa 25/04, que regulamentaram o controle do javali (*Sus scrofa*) no Rio Grande do Sul no período compreendido entre 2003 e 2005. Produto PNUD, Projeto BRA/01/037. Porto Alegre: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 2005.

FURLONG, J.; CHAGAS, A.C.S.; NASCIMENTO, C.B. Comportamento de larvas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens*. Braz J Vet Res Anim Sci 39:213–217. 2002.

GRUHN, K.D.; OGRZEWALSKA, M.; ROZENTAL, T.; FARIKOSKI, I.O.; BLANCO, C.; DE SOUZA FREITAS, L.; DE LEMOS, E.R.S.; RIBEIRO, V.M.F. Evaluation of rickettsial infection in free-range capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) (Rodentia: Caviidae) and ticks (Acari: Ixodidae) in the Western Amazon, Brazil. Ticks Tick Borne Dis. 2019 Aug;10(5):981-986. doi: 10.1016/j.ttbdis.2019.04.007. Epub 2019 Apr 16. PMID: 31109835.

GUEDES, E.; LEITE, R.C.; PACHECO, R.C.; SILVEIRA, I.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma* ticks from an area endemic for Brazilian spotted fever in Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2011 Oct-Dec;20(4):308-11. doi: 10.1590/s1984-29612011000400009. PMID: 22166385.

GUGLIELMONE, A.A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; NAVA, S.; VENZAL, J.M.; MANGOLD, A.J.; SZABÓ, M.P.; MARTINS, J.R.; GONZALEZ-

ACUNA, D.; ESTRADA-PEÑA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp Appl Acarol.* 2006; 40:83–100.

GUGLIELMONE, A.A.; ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A.J. et al. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. *Veterinary Parasitology*, 113 (3-4). 2003: 273-288.

GUGLIELMONE, A.A.; NAVA, S. Las garrapatas del género *Amblyomma* como parásitos de humanos em la Argentina. In: Juan Carlos Abuin et al. (Eds) *Temas de Zoonosis*. Asociación Argentina de Zoonosis. Buenos Aires. 2006. 432p.

HEGEL, C.G.Z. & MARINI, M.A. Impacto do javali europeu, *Sus scrofa*, em um fragmento da Mata Atlântica brasileira. *Neotropical Biology and Conservation*, 8(1): 17-24. 2013.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; LINARDI, P.M.; SCHUMAKER, T.T. Rickettsia infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007 Nov;102(7):793-801. doi: 10.1590/s0074-02762007000700003. PMID: 18094887.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T. T. S.; & Walker, D. H. 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, *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene Am J Trop Med Hyg*, 71(1), 2004, 93-97.

IAP. Planos de conservação para aves e mamíferos ameaçados no Paraná - Planos Completos. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná (IAP). 2011.

IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente. Plano Nacional de Prevenção, Controle e Monitoramento do Javali (*Sus scrofa*) no Brasil. 2017. Brasília: Ministério do Meio Ambiente e Ministério da Agricultura, IBAMA. 2013. Instrução Normativa Ibama Nº 03 de 31 de janeiro de 2013 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis (IBAMA). Brasília: Ministério do Meio Ambiente (MMA).

IUCN – International Union for Conservation of Nature, Invasive Species. 2011. Disponível:http://www.iucn.org/about/union/secretariat/offices/iucnmed/iucn_med_programme/species/invasive_species/>. Acesso em: 11 outubro 2021.

IUCN - International Union for Conservation of Nature. The IUCN red list of threatened species. 2014. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/search/details>. Acesso em 07 de outubro de 2021.

IUCN & UNEP-WCMC. The World Database on Protected Areas (WDPA). International Union for Conservation of Nature (IUCN)/World Conservation Monitoring Centre of United Nations Environment Programme (UNEP-WCMC). 2016. Disponível em: www.protectedplanet.net. Acessado em 28/09/2021.

JACKSON, John. Jabalíes y Chanchos Salvajes. *Presencia*. v. 3. n.17, p. 8-10, 1989.

JÄRVIS, T.; KAPEL, C.; MOKS, E.; TALYIK, H. & MÄGI, E. Helminths of wild boar in the isolated population close to the northern border of its habitat area. *Veterinary Parasitology*, 2007; 150(4): 366-369.

KARPATHY, S.E.; SLATER, K.S.; GOLDSMITH, C.S.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group Rickettsia associated with multiple species of *Amblyomma* ticks in North, Central and South America. *Int J Syst Evol Microbiol* 66:5236–5243. 2016.

KMETIUK, L.B.; KRAWCZAK, F.S.; MACHADO, F.P.; PAPLOSKI, I.A.D.; MARTINS, T.F.; TEIDER-JUNIOR, P.I.; SERPA, M.C.A.; BARBIERI, A.R.M.; BACH, R.V.W.; BARROS-FILHO, I.R.; LIPINSKI, L.C.P.; DOS SANTOS, A.; LABRUNA, M.B.; BIONDO, A.W. Ticks and serosurvey of anti-Rickettsia spp. antibodies in wild boars (*Sus scrofa*), hunting dogs and hunters of Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019 May 30; 13(5): e0007405. doi: 10.1371/journal.pntd.0007405. PMID: 31145746; PMCID: PMC6542515.

KRAWCZAK, F. S.; LABRUNA, M. B.; HECHT, J. A.; PADDOCK, C. D.; KARPATY, S. E. Genotypic characterization of *Rickettsia bellii* reveals distinct lineages in the United States and South America. *BioMed research international*, 2018.

KRAWCZAK, F.S.; NIERI-BASTOS, F.A.; NUNES, F.P.; SOARES, J.F.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. *Parasit Vectors*. 2014;7: 7 10.1186/1756-3305-7-7

LABRUNA, M.B.; KRAWCZAK, F.S.; GERARDI, M.; BINDER, L.C.; BARBIERI, A.R.M.; PAZ, G.F.; et al. Isolation of *Rickettsia rickettsii* from the tick *Amblyomma sculptum* from a Brazilian spotted fever-endemic area in the Pampulha Lake region, southeastern Brazil. *Vet Parasitol Reg Stud Rep*. 2017;8: 82–85. 10.1016/j.vprsr.2017.02.007

LABRUNA, M.B.; OGRZEWALSKA, M.; SOARES, J.F.; MARTINS, T.F.; SOARES, H.S.; MORAES-FILHO J, et al. Experimental Infection of *Amblyomma aureolatum* Ticks with *Rickettsia rickettsii*. *Emerg Infect Dis*. 2011;17: 829-834. doi: 10.3201/eid1705.101524

LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUVER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. Rickettsia species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol*. 2004 Jan;42(1):90-8. doi: 10.1128/JCM.42.1.90-98.2004. PMID: 14715737; PMCID: PMC321730.

LABRUNA, MB. Ecology of *Rickettsia* in South America. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1166(1): 156–166. 10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x

LABRUNA, M.B. Epidemiologia da Febre Maculosa no Brasil e nas Américas. *Anais I Simpósio Brasileiro de Acarologia – I SIBAC*, p. 63-78, 11 a 12 de maio, Viçosa, Minas Gerais, 2006.

LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z. Agentes transmitidos por carrapatos na região Neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. (Org.).

Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para a identificação de espécies. 1ª ed. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. p. 155-163.

LADO, P.; CASTRO, O.; LABRUNA, M.B.; et al. First molecular detection of *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma tigrinum* and *Amblyomma dubitatum* ticks from Uruguay. Ticks Tick-borne Dis 2014; 5: 660-2.

LAMATTINA, D.; COSTA, S.A.; ARRABAL, J.P.; VENZAL, J.M.; GUGLIELMONE, A.A.; NAVA, S. Factors associated with hard tick (Acari: Ixodidae) parasitism in medium-sized mammals in the Atlantic Rainforest region of Argentina. Ticks Tick-Borne Dis. 2018. 9,1451–1458. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.06.009>.

LEÃO, T. C. C.; ALMEIDA, W. R.; DECHOUM, M.; ZILLER, S. R. Espécies Exóticas Invasoras no Nordeste do Brasil: Contextualização, Manejo e Políticas Públicas. Centro de Pesquisas Ambientais do Nordeste e Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental. 2011. Recife, PE. 99 p.

LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S. & DE POORTER, M. 100 of the world's worst invasive alien species a selection from the Global Invasive Species Database. The Invasive Species Specialist Group (ISSG) of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN). 2000. 12p.

LUZ, H.R.; COSTA, F.B.; BENATTI, H.R.; RAMOS, V.N.; SERPA, M.C.A.; MARTINS, T.F.; ACOSTA, I.C.L.; RAMIREZ, D.G.; MUÑOZ-LEAL, S.; RAMIREZ-HERNANDES, A.; BINDER, L.C.; CARVALHO, M.P.; ROCHA, V.; DIAS, T.C.; SIMEONI, C.L.; BRITES-NETO, J.; BRASIL, J.; NIEVAS, A.M.; MONTICELLI, P.F.; MORO, M.E.G.; LOPES, B.; AGUIAR, D.M.; PACHECO, R.C.; SOUZA, C.E.; PIOVEZAN, U.; JULIANO, R.; FERRAZ, K.M.P.M.B.; SZABÓ, M.P.J.; LABRUNA, M.B. Epidemiology of capybara-associated Brazilian spotted fever. PLOS Neglected Tropical Diseases, 13(9), e0007734 - September 2019 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007734>

LUZ, H.R.; SILVA-SANTOS, E.; COSTA-CAMPOS, C.E.; ACOSTA, I.; MARTINS, T.F.; MUÑOZ-LEAL, S.; et al. Detection of *Rickettsia* spp. in ticks parasitizing toads (*Rhinella marina*) in the northern Brazilian Amazon. Exp Appl Acarol 2018; 75(3): 309-318. <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-018-0270-y>. PMID:29846852.

LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H.; MCINTOSH, D. 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 Dis.* 2017. 8, 657–665. <https://doi.org/10.1016/J.TTBDIS.2017.04.012>.

MANGOLD, J. J., BARGUES, M. D. & MAS-COMA, S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among *Metastrata* (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research.* 1998. 84, 478–484.

MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.R.M.; COSTA, F.B.; TERASSINI, F.A.; CAMARGO, L.M.A.; PETERKA, C.R.L.; et al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (*sensu lato*) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (*sensu stricto*). *Parasit Vectors.* 2016;9: 186 [10.1186/s13071-016-1460-2](https://doi.org/10.1186/s13071-016-1460-2)

MARTINS, T.F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. *Ticks and Tickborne Diseases.* 2010. 1: 75–99. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.03.002>

MASSEI, G.; GENOV, P. V. The environmental impact of Wild Boar. *Galemys.* v. 16, p. 135-145, 2004. ISSN. 1137-8700.

MATIAS, J.; GARCIA, M.V.; CUNHA, R.C.; AGUIRRE, A.de A.; BARROS, J.C.; CSORDAS, B.G.; ANDREOTTI, R. Spotted fever group Rickettsia in *Amblyomma dubitatum* tick from the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015 Mar;6(2):107-10. doi: [10.1016/j.ttbdis.2014.10.001](https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.10.001). Epub 2014 Nov 8. PMID: 25454606.

MERHEJ, V.; RAOULT, D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* 2011. 86, 379–405

MERRILLA, M.M.; BOUGHTONB, R.K.; LORDC, C.C.; SAYLER, K.A.; WIGHT, B.; ANDERSON, W.M.; et al. Wild pigs as sentinels for hard ticks: A case study from south-central Florida. *Int J Parasitol Parasites Wildl.* 2018;7: 161–170. [pmid:29988828](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29988828/)

MONJE, L.D.; NAVA, S.; EBERHARDT, A.T.; et al. Molecular detection of the human pathogenic *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in *Amblyomma dubitatum* ticks from Argentina. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2015; 15: 167-9.

MONTENEGRO, D.C.; BITENCOURTH, K.; DE OLIVERIA, S.V.; BORSOI, A.P.; CARDOSO, K.M.; SOUSA, M.S.B.; GIORDANO-DIAS, C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N.M.; GAZÊTA, G.S.; BRAZIL, R.P. Spotted Fever: Epidemiology and Vector-*Rickettsia*-Host Relationship in Rio de Janeiro State. *Front Microbiol.* 2017 Mar 30;8:505. doi: 10.3389/fmicb.2017.00505. PMID: 28424664; PMCID: PMC5371726.

MOREIRA, J.R.; MACDONALD, D.W. Técnicas de manejo de capivaras e outros ~~gats~~ roedores na Amazônia. Pp. 186-213 in C. Valladares-Padua, R. E. Bodmer & L.Cullen Jr. (eds.). *Manejo e Conservação de Vida Silvestre no Brasil*. Sociedade Civil Mamirauá, 1997.

NARANJO, V.; GORTAZAR, C.; VICENTE, J., DE LA FUENTE, J. Evidence of the role of European wild boar as a reservoir of *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Veterinary Microbiology*, 2008, 127(1): 1-9.

NAVA, S. et al. First record of *Amblyomma longirostre* (Koch 1844) (Acari: Ixodidae) from Peru, with a review of this tick's host relationships. *Systematic and Applied Acarology*, v.15, n.1, p.21-30, 2010.

NIERI-BASTOS, F.A.; MARCILI, A.; SOUSA, R.; PADDOCK, C.D.; LABRUNA, M.B. Phylogenetic evidence for the existence of multiple strains of *Rickettsia parkeri* in the New World. *Appl Environ Microbiol.* 2018;84:e02872–3017.

NIERI-BASTOS, F. A. et al. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* [online]. 2014, v. 109, n. 2, pp. 259-261. Available from: <<https://doi.org/10.1590/0074-0276140283>>. ISSN 1678-8060. <https://doi.org/10.1590/0074-0276140283>.

OGRZEWALSKA, M.; SARAIVA, D. G.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T. F.; COSTA, F. B.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic

Forest, state of São Paulo, Brazil. *Parasitology*, v. 139, n. 10, p. 1283-1300, 2012. doi: <http://dx.doi.org/10.1017/S0031182012000546>.

OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C. Population dynamics of free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Vet Parasitol* 2000; 92(4): 295-301. [http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017\(00\)00322-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0304-4017(00)00322-8).

ONOFRIO, V.C.; LABRUNA, M.B.; BARROS-BATTESTI, D.M. Comentários e chaves para as espécies do gênero Ixodes. In: Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de importância médico veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan; 2006. p. 41-51.

ONOFRIO, V. C. Revisão do gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) no Brasil. 2007. 224 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2007.

ORTUÑO, A.; QUESADA, M.; LÓPEZ-CLAESSES, S.; CASTELLÀ, J.; SANFELIU, I.; ANTÓN, E.; et al. The Role of Wild Boar (*Sus scrofa*) in The Eco-epidemiology of *R. slovacin* Northeastern Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2007;7(1): 59–64. 10.1089/vbz.2006.0576

OSAVA, C.F.; RAMOS, V.D.N.; RODRIGUES, A.C.; DOS REIS NETO, H.V.; MARTINS, M.M.; PASCOAL, J.O.; YOKOSAWA, J.; SZABÓ, M.P.J. *Amblyomma sculptum* (*Amblyomma cajennense* complex) tick population maintained solely by domestic pigs. *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 2016 Dec;6:9-13. doi: 10.1016/j.vprsr.2016.11.002. Epub 2016 Nov 29. PMID: 31014529.

OSHIRO, L.M.; DA SILVA RODRIGUES, V.; GARCIA, M.V.; HIGA, L.D.O.S.; SUZIN, A.; BARROS, J.C.; ANDREOTTI, R. Effect of low temperature and relative humidity on reproduction and survival of the tick *Rhipicephalus microplus*. *Experimental and Applied Acarology*, 83(1), 95-106, 2021.

PACHECO, R.C.; HORTA, M.C.; PINTER, A.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; NARDI, M.S.; SOUZA, S.S.; SOUZA, C.E.; SZABÓ, M.P.; RICHTZANHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de Rickettsia spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo [Survey of *Rickettsia* spp in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum* in the State of São Paulo]. Rev Soc Bras Med Trop. 2009 May-Jun;42(3):351-3. Portuguese. doi: 10.1590/s0037-86822009000300023. PMID: 19684990.

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

PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B. da; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; et al. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. In *Occasional papers in conservation biology*. 2012. Belo Horizonte: Conservação Internacional.

PAJUABA NETO, A.A.; RAMOS, V.D.N.; MARTINS, M.M.; OSAVA, C.F.; PASCOAL, J.O.; SUZIN, A.; YOKOSAWA, J.; SZABÓ, M.P.J. 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 Tick Borne Dis. 2018 Jan;9(1):67-71. doi: 10.1016/j.ttbdis.2017.10.007. Epub 2017 Oct 16. PMID: 29050834.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSKI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. Clin. Microbiol. Rev. 26, 2013, 657–702. <https://doi.org/10.1128/CMR.00032-13>

PAROLA, P. & RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, 32, 2001. 897-928. <https://doi.org/10.1086/319347>

PEDROSA, F.; SALERNO, R.; PADILHA, F.V.B.; GALETTI, M. Current distribution of invasive feral pigs in Brazil: economic impacts and ecological uncertainty. *Natureza & Conservação*, v.13, p.84-87, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ncon.2015.04.005>.

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*, 1078, 2006: 523-529. <https://doi.org/10.1196/annals.1374.103>

PINTER, A.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 41, n. 3, p. 324-332, 2004. doi: <http://dx.doi.org/10.1603/0022-2585-41.3.324>

POLO, G.; LABRUNA, M.B.; FERREIRA, F. Satellite hyperspectral imagery to support tick-borne infectious diseases surveillance. *PLoS One* 2015; 10(11): e0143736. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0143736>. PMID:26599337.

PRIST, P. & SILVA, M. & PAPI, B. Guia de rastros de mamíferos neotropicais de médio e grande porte. 2020. 10.24328/2020/86911.00.

QUADROS, A.P.N.; RÊGO, G.M.S.D.; SILVA, T.F.D.; CARVALHO, A.M.; MARTINS, T.F.; BINDER, L.C.; CASTRO, M.B.; MATTOS, P.S.R.; LABRUNA, M.B.; PALUDO, G.R. Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) exposure to *Rickettsia* in the Federal District of Brazil, a non-endemic area for Brazilian spotted fever. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2021 May 28;30(2):e028720. doi: 10.1590/S1984-29612021035. PMID: 34076060.

RAMOS, V.D. N.; PIOVEZAN, U.; FRANCO, A.H.; OSAVA, C.F.; HERRERA, H.M.; SZABÓ, M.P. Feral pigs as hosts for *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) populations in the Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Exp Appl Acarol.* 2014 Nov;64(3):393-406. doi: 10.1007/s10493-014-9832-9. Epub 2014 Jul 19. PMID: 25037743.

REGNERY, R.L.; SPRUILL, C.L.; PLIKAYTIS, B.D. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J. Bacteriol.*, 1991. 173, 1576–1589.

REIS, N.R.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A. & LIMA, I.P. Mamíferos do Brasil. Imprensa da UEL, 2006, Londrina. 437p.

ROBINSON, J.G. & BENNETT, E.L. Hunting for Sustainability in Tropical Forests. Columbia University Press, New York, USA, 2000.

RODRIGUES, V. DA S.; PINA, F. T. B.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Carrapato-estrela (*Amblyomma sculptum*): ecologia, biologia, controle e importância. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2015. 10 p. (Embrapa Gado de Corte. Comunicado Técnico, 132).

ROSA, C.A. 2016. Mamíferos Exóticos Invasores no Brasil: situação atual, riscos potenciais e impactos da invasão de porcos selvagens em Florestas Tropicais. Tese (Doutorado em Ecologia Aplicada). Universidade Federal de Lavras. 160p.

ROSA, C.A.; WALLAU, M.O. & PEDROSA, F. Hunting as the main technique used to control wild pigs in Brazil. *Wildlife Society Bulletin*, 2018. 42(1): 111-118.

ROSA, C.A.; WALLAU, M.O.; SALERNO, R.; PEDROSA, F.; DE SOUZA, A.C.; PUERTAS, F.; DOS REIS, T.X. & MENDINA FILHO, L.H. An overview of feral hog control in Brazil after three years of control regulation. In: *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference 27*. University of California-Davis. 2016.

RUIZ-FONS, F.; SEGALÉS, J. & GORTÁZAR, C. A review of viral diseases of the European wild boar: effects of population dynamics and reservoir role. *The Veterinary Journal*, 2008. 176(2): 158-169.

SABATINI, G.S.; PINTER, A.; NIERI-BASTOS, F.A.; MARCILI, A.; LABRUNA, M.B. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the state of São Paulo, Brazil. *J Med Entomol*. 2010. 47: 913-916.

SAKAI, R.K.; COSTA, F.B.; UENO, T.E.; RAMIREZ, D.G.; SOARES, J.F.; FONSECA, A.H.; LABRUNA, M.B.; BARROS-BATTESTI, D.M. Experimental infection with *Rickettsia rickettsii* in an *Amblyomma dubitatum* tick colony, naturally infected by *Rickettsia bellii*. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014 Oct;5(6):917-23. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.07.003. Epub 2014 Aug 7. PMID: 25108783.

SALVADOR, C.; FERNANDEZ, F. Biological Invasion of Wild Boar and Feral Pigs *Sus scrofa* (Suidae) in South America: Review and Mapping with Implications for Conservation of Peccaries (Tayassuidae). In M. Melletti & E. Meijaard (Eds.), *Ecology, Conservation and Management of Wild Pigs and Peccaries* 2017. (pp. 313-324). Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/9781316941232.031

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F. F; VIDOTTO, O.; LABRUNA M. B. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerg. Infect. Dis.* V.11, 2005. N.2, p. 265-270.

SCHLEY, L.; ROPER, T. J. Diet of Wild Boar (*Sus scrofa*) in Western Europe, with particular reference to consumption of agricultural crops. *Mammal Review* v. 33, n. 1, p. 43-56, 2003.

SERPA, M.C.A.; LUZ, H.R.; COSTA, F.B.; WECK, B.C.; BBENATTI, H.R.; MARTINS, T.F.; CORREA, L.S.; RAMIREZ, D.G.; ROCHA, V.; DIAS, T.C.; CORREA, L.R.; BRASIL, J.; BRITES-NETO, J.; NIEVAS, A.M.; SUZIN, A.; MONTICELLI, P.F.; MORO, M.E.G.; LOPES, B.; PACHECO, R.C.; AGUIAR, D.M.; PIOVEZAN, U.; SZABÓ, M.P.J.; FERRAZ, K.M.P.M.B.; PERCEQUILLO, A.R.; LABRUNA, M.B.; RAMOS, V.N. Small mammals, ticks and rickettsiae in natural and human-modified landscapes: Diversity and occurrence of Brazilian spotted fever in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021 Aug 13;12(6):101805. doi: 10.1016/j.ttbdis.2021.101805. Epub ahead of print. PMID: 34411793.

SIGRIST, T. Guia de campo: aves do Brasil oriental. São Paulo, Brasil: Avis Brasilis, 448 p. 2007.

SILVA, J. A. Rendimentos de abate e aspectos tecnológicos de Javaporco (*Sus scrofa scrofa* javaporco). 2011. 62 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, 2011. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/88435>>.

SOCOLOVSKI, C.; MEDIANNIKO, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and ixodid ticks. *Vet Res.* 2009 Mar-Apr;40(2):34. doi: 10.1051/vetres/2009017. Epub 2009 Apr 10. PMID: 19358804; PMCID: PMC2695030.

SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWALSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.; et al. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vet Parasitol.* 2009;161(1):116–121.

SPOLIDORIO, M.G.; ANDREOLI, G.S.; MARTINS, T.F.; BRANDÃO, P.E.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in ticks collected from road-killed wild animals in Rio de Janeiro, Brazil. *J Med Entomol.* 2012 Nov;49(6):1510-4. doi: 10.1603/me12089. PMID: 23270184.

SPOLIDORIO, M. G.; LABRUNA, M. B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P. E.; RICHTZANHAIN, L. J.; YOSHINARI, N. H. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 2010. 16(3), 521-523. <https://doi.org/10.3201/eid1603.091338>.

SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS (SUCEN). Manual de Vigilância Acarológica. Superintendência de Controle de Endemias. São Paulo: Secretaria do Estado da Saúde. 2004. 62p.

SZABÓ, M.P.; LABRUNA, M.B.; GARCIA, M.V.; PINTER, A.; CASTAGNOLLI, K.C.; PACHECO, R.C.; CASTRO, M.B.; VERONEZ, V.A.; MAGALHÃES, G.M.; VOGLIOTTI, A.; DUARTE, J.M. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. *Ann Trop Med Parasitol.* 2009 Jan;103(1):57-72. doi: 10.1179/136485909X384956. PMID: 19173777.

SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, M.M.; DE CASTRO, M.B.; PACHECO, R.C.; TOLESANO-PASCOLI, G.V.; DOS SANTOS, K.T.; MARTINS, T.F.; DE SOUZA, L.G.A.; MAY-

JUNIOR, J.A.; YOKOSAWA, J.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) in the Serra da Canastra National Park in Minas Gerais, Brazil: species, abundance, ecological and seasonal aspects with notes on rickettsial infection. *Exp Appl Acarol.* 2018 Nov;76(3):381-397. doi: 10.1007/s10493-018-0300-9. Epub 2018 Oct 13. PMID: 30317459.

SZABÓ, M.P.J.; NIERI-BASTOS, F.A.; SPOLIDORIO, M.G.; MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. *Parasitology*, 2013. 140, 719–728. <https://doi.org/10.1017/S0031182012002065>.

TELFORD III, S.R.; PAROLA, P. Arthropods and Rickettsia. In: Raoult, D., Parola, P. (Eds.), *Rickettsial Diseases*. Informa Healthcare, 2007, New York, pp. 27–36.

TERASSINI, F.A.; BARBIERI, F.S.; ALBUQUERQUE, S.; SZABÓ, M.P.J.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian Forest. *Ticks Tick Borne Dis.*, 2010. 1, 194–196, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.08.002>

WEBBER, B.; NORTON, B.A.; WOODROW, I.E. Disturbance affects spatial patterning and stand structure of a tropical rainforest tree. *Austral Ecology*, 2010. 35(1): 423-434.

WECK, B.; DALL'AGNOL, B.; SOUZA, U.; WEBSTER, A.; STENZEL, B.; KLAFKE, G.; MARTINS, J.R.; RECK, J. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma dubitatum* ticks in a spotted fever focus from the Brazilian Pampa. *Acta Trop.* 2017 Jul; 171:182-185. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.03.028. Epub 2017 Mar 28. PMID: 28359827.

WICKLINE, K. “*Sus scrofa*” “Wild Boar” (On-line). Animal Diversity Web. 2014. [Acesso em 04 mai 2021]. Disponível em: https://animaldiversity.org/accounts/Sus_scrofa/

WIKSWO, M.E.; HU, R.; DASCH, G.A.; KRUEGER, L.; ARUGAY, A.; JONES, K.; HESS, B.; BENNETT, S.; KRAMER, V.; EREMEEVA, M.E. Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in *Dermacentor* species from southern California. *Journal of Medical Entomology*, 2008. 45(3):509–516 DOI 10.1603/0022-2585

ZAR, J. Biostatistical Analyses. Prentice-hall, 1999, Inc, Upper Saddle River, 944p.

ZIMMERMAN, R.H.; GARRIS, G.I. Use of Taylor's power law in examining the spatial distribution of freeliving *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) larvae in pasture in Puerto Rico. Exp Appl Acarol, 1987. 3:207–211. Pecuária e Abastecimento.

ANEXOS

ANEXO 1 – Cadastro Técnico Federal autorizando manejo de espécie exótica invasora.

 Ministério do Meio Ambiente Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis CADASTRO TÉCNICO FEDERAL CERTIFICADO DE REGULARIDADE - CR 			
Registro n.º	Data da consulta:	CR emitido em:	CR válido até:
7747098	29/09/2021	29/09/2021	29/12/2021
Dados básicos:			
CPF: 078.632.006-01			
Nome: ANA CAROLIN A PRADO SOUSA			
Endereço:			
logradouro: PRACA AUGUSTO DINIZ			
N.º: 75		Complemento:	
Bairro: JARDIM DAS HORTENCIAS		Município: ARAGUARI	
CEP: 38441-551		UF: MG	
Cadastro Técnico Federal de Atividades Potencialmente Poluidoras e Utilizadoras de Recursos Ambientais – CTF/APP			
Código	Descrição		
21-58	Manejo de espécie exótica invasora - Resolução CONABIO nº 7/2018		
Conforme dados disponíveis na presente data, CERTIFICA-SE que a pessoa física está em conformidade com as obrigações cadastrais e de prestação de informações ambientais sobre as atividades desenvolvidas sob controle e fiscalização do Ibama, por meio do CTF/APP.			
O Certificado de Regularidade emitido pelo CTF/APP não desobriga a pessoa inscrita de obter licenças, autorizações, permissões, concessões, alvarás e demais documentos exigíveis por instituições federais, estaduais, distritais ou municipais para o exercício de suas atividades			
O Certificado de Regularidade emitido pelo CTF/APP não habilita o transporte e produtos e subprodutos florestais e faunísticos.			
Chave de autenticação		ZZCHMK5Z7ZD9M4XD	

ANEXO 2 – Autorização de manejo de javali (e subespécies) na propriedade Fazenda Várzea, no município de Tupaciguara, MG.



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA



Autorização de Manejo de Javali

Número: 7941944748MG2020
Situação: Autorizada

Solicitação

Solicitante: JOSÉ ANTÔNIO PEREIRA DA SILVA
CTF: 7331421
Data da solicitação: 28/09/2020
Data da autorização: 28/09/2020
Espécie: Javali
Tipo(s) de manejo: Perseguição com cães , Busca sem cães
Proprietário do local do manejo: Não
Uso de armadilhas: Não
Voluntário: Não
Manejo em unidade de conservação: Não
Sou Manejador: Sim
Métodos de abate: Arma de fogo, Arma Branca (p. ex. faca, zagala, balestra)
Período
Início: 28/09/2020
Fim: 28/12/2020

Local(is) do manejo:

Propriedade	CAR	Matrícula	Nome do proprietário	Endereço	Cidade
Fazenda Várzea	14668		Paulo Machado	zona rural	Tupaciguara/MG

ANEXO 3 - Autorização de manejo de javali (e subespécies) na propriedade Fazenda 7 abelhas, no município de Tupaciguara, MG.



MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS - IBAMA



Autorização de Manejo de Javali

Número: 5215429932MG2021
Situação: Autorizada

Solicitação

Solicitante: JOSÉ ANTÔNIO PEREIRA DA SILVA
CTF: 7331421
Data da solicitação: 03/08/2021
Data da autorização: 03/08/2021
Espécie: Javali
Tipo(s) de manejo: Perseguição com cães , Busca sem cães
Proprietário do local do manejo: Não
Uso de armadilhas: Não
Voluntário: Não
Manejo em unidade de conservação: Não
Sou Manejador: Sim
Métodos de abate: Arma de fogo, Arma Branca
Período
Início: 03/08/2021
Fim: 03/11/2021

Local(is) do manejo:

Propriedade	CAR	Matricula	Nome do proprietário	Endereço	Cidade
FAZENDA MATO GROSSO E RIO BONITO	MG-3169604-EB8 424C212D94C4D 97D7A59E6ADF9 C00		Paulo machado	Fazenda 7 abelhas estrada de Araguari-MG para Tupaciguara	Tupaciguara/MG



Participantes do manejo:

CTF	CPF	Nome
7747098	07863200601	ANA CAROLIN A PRADO SOUSA
7331421	90211189120	JOS ANTONIO PEREIRA DA SILVA
7591985	09003674653	CARLA CRISTINA FERREIRA DE C SOUSA
7130973	09397177605	VITOR ALVES SOUSA
7181966	07930986652	ROGERIO HENRIQUE DE ANDRADE

ESTA AUTORIZAÇÃO NÃO PERMITE:

1. A entrada em propriedade particular sem o consentimento do proprietário.
2. A entrada em Unidade de Conservação sem o consentimento do gestor.

CONDICIONANTES

1. Condições gerais

- 1.1 Autorização válida somente sem emendas e/ou resumas;
- 1.2 O IBAMA, mediante decisão motivada, poderá modificar as condicionantes, bem como suspender ou cancelar esta Autorização caso ocorra:

- a) violação ou inadequação de quaisquer condicionantes ou normas legais;
- b) omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição da Autorização;
- c) superveniência de graves riscos ambientais e de saúde.

1.3 Todas as pessoas físicas ou jurídicas durante as atividades de manejo deverão portar:

- a) Documento de identidade com foto
- b) Autorização de controle de Javali
- c) Certificado de Regularidade no Cadastro Técnico Federal do IBAMA

1.4 O Relatório de Manejo deverá ser encaminhado por meio do site eletrônico do SIMAF/IBAMA ao finalizar o período de vigência desta autorização. No caso de atraso, o usuário será bloqueado no sistema, e se em 15 dias não promover a correção da pendência poderá ser autuado nos termos do Art. 81 do Decreto 6.514.

2. Condições específicas

- 2.1 A caça de animais silvestres é crime, assim como a prática de maus tratos, conforme previsto na Lei 9605/98 e Decreto 6.514/08, devendo os infratores serem responsabilizados integralmente por suas condutas.
- 2.2 Esta autorização não dá ao controlador o direito de realizar as ações de controle sem o consentimento do detentor de direito de uso da área.
- 2.3 Em caso de uso de armadilhas, estas devem ser visitadas diariamente para o abate de javalis ou liberação de animais



nativos.

2.4 Em caso de uso de cães, os animais devem portar identificação vinculada ao responsável. Além disso, o responsável deve portar o atestado de saúde de animais emitido por médico veterinário e a carteira de vacinação devidamente atualizada.

2.6 Os javalis capturados devem ser abatidos no local do manejo, sendo proibido o transporte de animais vivos.

2.7 Os produtos e subprodutos obtidos por meio do manejo de javalis não poderão ser distribuídos ou comercializados.

Omitir, em documento público, declaração que nele devia constar, ou nele inserir ou fazer inserir declaração falsa ou diversa da que devia ser escrita, com o fim de prejudicar direito, criar obrigação ou alterar a verdade sobre fato juridicamente relevante, é crime, devendo o responsável responder pelos atos praticados.

IBAMA
MMA

Capítulo II - Análise Proteômica da saliva dos carrapatos

Amblyomma sculptum e *Amblyomma parvum*

RESUMO

Carrapatos são ectoparasitos hematófagos obrigatórios que possuem a habilidade de parasitar um extenso conjunto de hospedeiros vertebrados, integrando o segundo principal grupo de agentes vetores de importância médica e veterinária. Quando se alimentam, a saliva produzida possui inúmeras moléculas farmacologicamente ativas envolvidas na fixação à pele dos hospedeiros, e no controle das reações hemostática, inflamatória e imune desses, dentre outras funções. Dentre as principais espécies de carrapatos de importância médico-veterinária no Brasil, destaca-se o carrapato *Amblyomma sculptum*, um dos vetores da Febre Maculosa Brasileira; o *Amblyomma parvum*, que parasita humanos com frequência, está associado com microrganismos patogênicos, como a *Coxiella burnetti*. A identificação e especificação desses elementos constituintes da saliva auxiliam na compreensão de como os carrapatos modulam as respostas de defesa do hospedeiro. Portanto, uma análise proteômica através da cromatografia líquida associada ao espectrômetro de massa (LC-MS/MS) foi feita das salivas dos carrapatos *A. sculptum*, alimentados em dois hospedeiros diferentes (experimentalmente em coelhos e naturalmente em cavalos) e *A. parvum*, alimentados em coelhos, para verificar a diversidade de substâncias encontradas e relacionar com bancos de dados estabelecidos. No perfil proteômico da saliva do carrapato *A. parvum* foram reconhecidas 130 proteínas, pertencentes a 30 famílias diferentes. Destas 130, 117 pertenciam ao carrapato (90%), e apenas 13 ao hospedeiro de coelhos vertebrados (10%); a maior quantidade de proteínas identificadas são pertencentes à família dos inibidores de protease (15,6%), que representa um dos principais componentes da biologia molecular da saliva do carrapato responsáveis pelo sucesso da alimentação. Foram identificadas 106 proteínas na saliva de carrapatos fêmeas de *A. sculptum* alimentados em coelhos, sendo grande parte correspondente à família PPIASE tipo ciclofilina, que podem estar envolvidas com o início da ativação das células T; e 347 proteínas na saliva de fêmeas de *A. sculptum* alimentadas em cavalos naturalmente infestados, visto que as famílias Actina e Fosfoproteína foram as mais frequentes. Ainda do *A. sculptum*, 06 proteínas (1,72%) pertenciam ao hospedeiro vertebrado cavalo e apenas 03 (2,83%) do hospedeiro coelho. A maioria das proteínas identificadas dos hospedeiros correspondiam a proteínas relacionadas à resposta imunológica. As diferentes abordagens utilizadas na separação das proteínas, aquisição de espectros de massa e análise de dados possibilitaram a identificação e caracterização de um significativo número de proteínas possíveis alvos para candidatos vacinais e/ou moléculas farmacologicamente ativas.

ABSTRACT

Ticks are obligate hematophagous ectoparasites that have the ability to parasitize an extensive set of vertebrate hosts, integrating the second main group of vector agents of medical and veterinary importance. When they feed, the saliva produced has numerous pharmacologically active molecules involved in fixation to the hosts' skin, and in the control of their hemostatic, inflammatory and immune reactions, among other functions. Among the main tick species of medical and veterinary importance in Brazil, *Amblyomma sculptum* tick stands out, one of the vectors of Brazilian Spotted Fever; *Amblyomma parvum*, which frequently bites humans, is associated with pathogenic microorganisms such as *Coxiella burnetti*. The identification and specification of saliva constituent elements help to understand how ticks modulate host defense responses; therefore, a proteomic analysis using liquid chromatography associated with a mass spectrometer (LC-MS/MS) was performed on the saliva of *A. sculptum* ticks, fed on two different hosts and *A. parvum*, fed on rabbits, to verify the diversity of ticks. substances found and relate to established databases. In the proteomic profile of *A. parvum* saliva, 130 proteins belonging to 30 different families were recognized. Of these, 117 belonged to the tick (90%), and only 13 to the vertebrate rabbit host (10%); the largest amount of proteins identified were protease inhibitor family (15.6%), which represents one of the main components of the molecular biology of tick saliva responsible for feeding success. 106 proteins were identified in *A. sculptum* tick saliva fed on rabbits, most of which correspond to the cyclophilin-type PPIASE family, which may be involved in the initiation of T cell activation; and 347 proteins in *A. sculptum* saliva fed on naturally infested horses, as the Actin and Phosphoprotein families were the most frequent. Also from *A. sculptum*, 06 proteins (1.72%) belonged to the horse vertebrate host and only 03 (2.83%) to the rabbit host. Most of the identified host proteins corresponded to proteins related to the immune response. The different approaches used in protein separation, acquisition of mass spectra and data analysis allowed the identification and characterization of a significant number of possible target proteins for vaccine candidates and/or pharmacologically active molecules.

1. INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitos hematófagos obrigatórios pertencentes à ordem Acari e classe Arachnida, difundidos nos mais variados ecossistemas, em todos os continentes do globo, exceto no continente Antártico (PAROLA AND RAOULT, 2001). Hábeis em parasitar um extenso conjunto de hospedeiros vertebrados, integram o segundo principal grupo de agentes vetores de importância médica e veterinária, permanecendo atrás apenas dos culicídeos (MASSARD & FONSECA, 2004). As glândulas salivares são órgãos que denotam fundamental importância para o desenvolvimento do carrapato. Para não desidratarem na fase não parasitário do seu ciclo de vida, as glândulas salivares dos carrapatos produzem uma solução hipertônica que secretada para a parte externa do hipostoma capta a umidade do ar. Além disso, quando os carrapatos iniciam sua alimentação, esse órgão produz saliva com inúmeras moléculas farmacologicamente ativas envolvidas na fixação à pele dos hospedeiros, e no controle das reações hemostática, inflamatória e imune desses, dentre outras funções (FRANCISCHETTI, 2010). Muitos são os relatos na literatura sobre a composição salivar e da variação na expressão de seus componentes em artrópodes hematófagos como barbeiros (SANTOS et al., 2007; ASSUMPCÃO et al., 2008) e mosquitos (ARCÀ et al., 2005; CALVO & RIBEIRO, 2006; CALVO et al., 2007).

Dentre as principais espécies de carrapatos de importância médico-veterinária no Brasil, destaca-se o carrapato *Amblyomma sculptum*, do complexo do *Amblyomma cajennense*. Esta espécie pode ser encontrada em extensas áreas do Brasil abrangendo o Sudeste e Centro-oeste, nas regiões do Norte da Argentina, Bolívia e Paraguai (OLIVEIRA et al., 2000; CAMARGO-NEVES, et al., 2004; BARROS-BATTESTI, et al., 2006; NAVA et al., 2014). Comumente conhecido como carrapato-estrela na forma adulta, o *A. sculptum* pode parasitar um grande número de vertebrados selvagens e domésticos, incluindo homens (CAMARGO-NEVES, et al., 2004).

O carrapato *Amblyomma parvum* é neotropical e possui ampla distribuição geográfica sendo encontrado da Argentina ao Sul do México (GUGLIELMONE et al., 2003). Esta espécie pica humanos com frequência (GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2020) e está associada a micro-organismos patogênicos. A bactéria intracelular *Rickettsia rickettsii*, agente de uma doença de elevada letalidade, a febre maculosa brasileira, foi isolado desta espécie de carrapato no México (DZUL-ROZADO et al., 2013). A bactéria *Coxiella burnetii*, o agente causador da febre Q aguda foi também isolado desta espécie de carrapato na Argentina (PACHECO et al., 2013). Além disso, o carrapato *A. parvum* tem sido encontrada com

frequência em animais domésticos (GUGLIELMONE et al., 1990; SZABÓ et al., 2007; NAVA et al., 2008, RAMOS et al., 2016). Em uma revisão, Nava et al. (2008) observaram que os registros nesta espécie de carrapato eram de ambientes secos.

Carrapatos que parasitam seres humanos com frequência como o *A. sculptum* e *A. parvum*, são necessariamente dotados de saliva com constituintes com capacidade de controle das reações deste hospedeiro. A detecção e reconhecimento dos componentes salivares dos carrapatos caracteriza um importante avanço no estudo da fisiologia desses parasitos. A identificação e especificação desses elementos constituintes da saliva auxiliam na compreensão de como os carrapatos modulam as respostas de defesa do hospedeiro, gerando não só dados para a melhor compreensão da relação parasito- hospedeiro, mas também produzindo bases para novos estudos sobre a caracterização molecular e bioquímica das proteínas salivares. Estes estudos podem auxiliar no desenvolvimento de novos métodos de controle e/ou novos compostos farmacológicos com aplicações biotecnológicas.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1.O papel da saliva na hematofagia de carrapatos

Os carrapatos estão globalmente distribuídos em três famílias: Ixodidae, Argasidae e Nuttalliellidae. As duas primeiras são conhecidas popularmente como carrapatos duros e moles, respectivamente. A terceira família, Nuttalliellidae, é representada por apenas uma espécie, *Nuttalliella namaqua*, é restrita ao continente africano, e apresenta características intermediárias entre as famílias Ixodidae e Argasidae (BARROS-BATTESTI et al., 2006). No Brasil 75 espécies de carrapatos são endêmicas e estão distribuídas de forma variável pelo país (Martins et al., 2019; 2021; Muñoz-Leal et al., 2020) e pertencem aos gêneros *Argas*; *Antricola*; *Carios*; *Ornithodoros*; *Amblyomma*; *Dermacentor*; *Haemaphysalis*; *Ixodes* e *Rhipicephalus* (DANTAS-TORRES et al., 2009).

Todos os carrapatos realizam hematofagia em algum momento do seu ciclo de vida e para esse fim se fixam a hospedeiros vertebrados por períodos variados de alguns minutos a diversos dias. Entre os órgãos internos destes ácaros, as glândulas salivares estão implicadas com a manutenção do equilíbrio hidrodinâmico do carrapato, produzindo e secretando a saliva, uma substância que possui inúmeras moléculas atuantes no processo de fixação na pele do hospedeiro vertebrado e na modulação de sua resposta imune e hemostática visando a hematofagia (SONENSHINE & ROE, 2014).

Durante a alimentação, os carrapatos vão alternando ciclos de ingestão de sangue e salivação (BINNINGTON, 1978; BINNINGTON & KEMP, 1980). Ao contrário da maioria dos artrópodes hematófagos, onde o processo hematofágico dura desde minutos até horas, os carrapatos duros permanecem fixados ao hospedeiro por diversos dias. No processo de fixação ao hospedeiro os carrapatos produzem o cimento, uma substância formada por proteínas, lipídeos e carboidratos. O cimento apresenta função adesiva e é fundamental na constituição do cone de cimento, uma estrutura que permitirá que os carrapatos permaneçam fixados no hospedeiro durante todo o período de alimentação (KEMP et al., 1982). Quando plenamente fixados ao local de alimentação no hospedeiro, os carrapatos ixodídeos se nutrem na fase de ingurgitamento lento por diversos dias. Durante essa fase, além da aquisição lenta de sangue, transcorre o início do desenvolvimento de tecidos relacionados com reprodução, desenvolvimento das glândulas salivares, e o crescimento da cutícula. Essa fase permitirá que a fêmea do carrapato, após o acasalamento, expanda o seu tamanho no período de ingurgitamento rápido, quando os carrapatos ingerem as maiores quantidades de sangue, aumentando

consideravelmente de tamanho e peso. As fêmeas podem aumentar de 100-200 vezes o seu peso ao final dessa fase, e a quantidade de sangue ingerido é decisivo no número de ovos produzidos (FLYNN & KAUFMAN, 2011).

Ao ocasionar laceração dos tecidos e vasos sanguíneos, o sangue e fluídos tissulares concentrados no local da lesão são ingeridos pelos carrapatos. Esses elementos constituirão os nutrientes para o desenvolvimento do parasito. O material é ingerido pela bomba faríngea, passando pelo esôfago e alcançando assim o intestino, onde o sangue e os fluídos ingeridos serão digeridos (FRANTA *et al.*, 2010). Além de ser essencial para o desenvolvimento dos parasitos, a hematofagia é o processo pelo qual os carrapatos transmitem patógenos para o hospedeiro, e a saliva secretada o veículo pela qual os patógenos são inoculados nos hospedeiros. O processo de transmissão de patógenos se dá principalmente na fase de ingurgitamento lento (BOWMAN *et al.*, 1997; NUTTALL & LABUDA, 2004; HOVIUS, 2009).

Os carrapatos e outros artrópodes hematófagos podem parasitar uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados e para que possam alcançar sua fonte de alimento, desenvolveram diversos recursos. Os hospedeiros vertebrados apresentam três eficientes sistemas de defesa que dificultam a aquisição de sangue: o sistema hemostático, a imunidade inata e a imunidade adquirida (RIBEIRO *et al.*, 1985; RIBEIRO, 1987; RIBEIRO, 1995). Portanto, os carrapatos, assim como outros artrópodes hematófagos, manipulam uma série de recursos para assegurar o aporte sanguíneo e continuar se alimentando, mesmo diante da ativação das reações de defesa do hospedeiro (RIBEIRO, 1995). Nessa circunstância, a saliva inoculada no hospedeiro durante a alimentação possui um papel chave no processo hematofágico.

A saliva do carrapato é constituída por moléculas fisiologicamente ativas que são fundamentais para permanência da fixação do carrapato no hospedeiro ou para a transmissão de patógenos (RAMAMOORTHY *et al.*, 2005), interagindo com mecanismos do hospedeiro, incluindo coagulação e fibrinólise, imunidade e inflamação e angiogênese (FUKUMOTO *et al.*, 2006; MARITZ-OLIVIER *et al.*, 2007). Embora importantes avanços tenham sido realizados na pesquisa desse assunto, a atividade farmacológica de poucas moléculas da saliva de carrapatos foi esclarecida. Kazimirová *et al.* (2013), revisaram as descrições de diversas substâncias identificadas na saliva com grande importância na pesquisa, como por exemplo, as substâncias tHRF (tick Histamine Release Factor) da saliva do carrapato *Ixodes scapularis* e IRS-2 (*Ixodes ricinus* Serpin – 2) da saliva do *Ixodes ricinus*, substâncias vasoativas que tem potencial de atuar na modulação da permeabilidade vascular (DAI *et al.*, 2010; CHMELAR *et al.*, 2011). Inibidores de agregação plaquetária e da cascata de coagulação também foram

caracterizados, além de substâncias ligadas diretamente à resposta imune do hospedeiro (KAZIMIROVÁ e STIBRANIOVÁ, 2013).

Uma análise proteômica da saliva do carrapato *Rhipicephalus microplus* comprovou a existências de várias moléculas bioativas que inibem a defesa do hospedeiro contra a atividade de alimentação do parasita, lipocalinas, peptidases, peptídeos antimicrobianos dentre outras (TIRLONI et al., 2014).

Em vista disso, o potencial de muitas dessas moléculas com efeitos variados ainda está por ser esclarecido dentro do amplo espectro de carrapatos já descritos no Brasil e nas quase 931 espécies no mundo (NAVA et al., 2017). As potenciais diversificações nos constituintes da saliva podem decorrer das diversas condições ecológicas e de especificidade por hospedeiros das espécies de carrapato (SONENSHINE et al., 2002). Portanto, uma vez que as moléculas usadas por esses ectoparasitos para evadir das respostas imune e homeostática possuem alta eficiência, e baixa imunogenicidade para o homem e para os animais pode-se considerar que a saliva dos carrapatos é uma fonte importante de substâncias com propriedades farmacológicas e terapêuticas.

2.2.O carrapato *Amblyomma sculptum*

O complexo *Amblyomma cajennense* é constituído de seis espécies de carrapatos distribuídos do sul dos Estados Unidos, passando pela América Central e Brasil até o Norte da Argentina (NAVA et al., 2014). Dentre estes o carrapato *Amblyomma sculptum*, é prevalente no Brasil particularmente no Sudeste e Centro-Oeste (MARTINS et al., 2016) e é uma espécie particularmente agressiva aos seres humanos (GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2020). Esta espécie de carrapato é também considerada o mais importante vetor da *Rickettsia rickettsii* ao homem no Brasil (SZABÓ et al., 2013).

Amblyomma sculptum é um carrapato heteroxeno, ou seja, necessita de mais de um hospedeiro para completar seu ciclo de vida. No estágio de adulto, o *A. sculptum* demonstra predileção por mamíferos de médio e grande porte, como equinos, bovinos, antas, capivaras, mas pode ser detectada infestando animais domésticos como cães, gatos, coelhos e cabras. As formas imaturas do *A. sculptum* são registradas em outros grupos de animais, como aves domésticas e silvestres, e ocasionalmente em répteis e anfíbios (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

Uma única fêmea ingurgitada de *A. sculptum* pode ovipor entre 5.000 a 10.000 ovos (GUGLIELMONE et al., 2006). As larvas do carrapato *A. sculptum*, conhecido popularmente como micuim, sobem na vegetação, formando grandes aglomerados permanecendo à espreita, esperando a passagem de um hospedeiro vertebrado. No hospedeiro, estas larvas se alimentam por um período de dois a quatro dias e, após seu desprendimento, retornam ao solo, onde sofrem ecdise (muda) para o estágio ninfal. Após um período de pré-muda (de 4 a 8 semanas), 15 dias após a muda, as ninfas sobem na vegetação em busca de um novo hospedeiro. Nesse segundo momento, ao encontrarem um hospedeiro competente, as ninfas se alimentam por um período entre três a sete dias e retornam ao solo ao se desprenderem, e sofrem muda para o estágio adulto, em um período entre 4 a 8 semanas. Assim que o exoesqueleto se tornar endurecido (cerca de duas semanas após a muda), os adultos apresentam-se prontos para infestarem outro hospedeiro vertebrado; no entanto, podem permanecer vários meses sem alimentação. Durante um período de 7 a 10 dias após a fixação no hospedeiro vertebrado e a fecundação, a fêmea do *A. sculptum* inicia o ingurgitamento sanguíneo, desprendendo-se e caindo ao solo, para a realização da oviposição. Com a eclosão dos ovos e a geração das larvas, o ciclo do *A. sculptum* é finalizado (OLIVEIRA et al., 2000; GUGLIELMONE et al., 2006).

Além da capacidade vetorial exercida durante o repasto sanguíneo em hospedeiros vertebrados susceptíveis, os carrapatos podem se constituir em reservatórios de agentes patogênicos através da transmissão transtádial e transovariana de microrganismos. Neste contexto o *A. sculptum* é considerado o principal reservatório da bactéria *R. rickettsii* em áreas endêmicas no Brasil (LABRUNA, 2009; CUNHA et al., 2007).

2.3.O carrapato *Amblyomma parvum*

Amblyomma parvum Aragão, 1908 é uma espécie de carrapato de ampla distribuição geográfica, sendo verificado nos países Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Costa Rica, El Salvador, Guiana Francesa, Guatemala, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai e Venezuela (NAVA et al., 2008). A lista de hospedeiros conhecidos na região Neotropical é extensa (79 espécies) com carrapatos adultos coletados em membros de pelo menos nove ordens de mamíferos de médio e grande porte inclusive os seres humanos (NAVA et al., 2017).

Diante da grande diversidade dentro a fauna Ixodidea brasileira, grande parte dos carrapatos silvestres ainda são pouco conhecidos, sendo escassos alguns dados referentes à biologia, distribuição, hospedeiros habituais, susceptíveis ou primários e a capacidade vetorial

de bioagentes. Dentre essas espécies encontra-se o *Amblyomma parvum*, que segundo Nava et al. (2006), formas imaturas desse carrapato (larvas e ninfas) na Argentina dependem de roedores cavídeos para completar seu ciclo de vida na natureza, e que os adultos podem ser comuns em bovinos e cabras. Já no Paraguai, Durden et al. (2006) identificaram grande número de *A. parvum* em felídeos selvagens. Em outros locais, como exemplo o Chaco Boliviano, Fiorello et al. (2006) registraram esse carrapato em pequenos carnívoros, como cachorro-domato (*Cerdocyon thous*) e raposinha (*Pseudalopex gymnocercus*). Jones et al. (1972) registram esta espécie de carrapato em eqüinos (*Equus caballus*), bovinos (*Bos taurus*), cães (*Canis familiares*), tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*), veado-campeiro (*Ozotoceros bezoarticus*), capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*).

No Brasil, adultos desta espécie já foram encontrados parasitando diversas ordens de mamíferos. Pereira et al. (2000) localizaram *A. parvum* no Pantanal brasileiro em veado-catingueiro (*Mazama gouzoubira*) e quatis (*Nasua nasua*). Martins et al. (2004) registraram essa espécie de carrapatos em tamanduá-bandeira e tamanduá-mirim na região do Pantanal Mato-Grossense. Labruna et al. (2005) revisaram a respeito de carrapatos em hospedeiros carnívoros e constataram a presença desse ácaro em sete espécies de diferentes hospedeiros. Olegário (2010) concluiu que, em condições laboratoriais, o melhor hospedeiro para adultos de *A. parvum* é o cão e para formas imaturas a cobaia, constatando também que os equinos são excelentes hospedeiros para este carrapato. Conseqüentemente, refere-se a um carrapato generalista, não limitado pela presença de hospedeiros, mais provavelmente limitado por exigências ambientais e pelo comportamento do próprio carrapato quando em busca de seus hospedeiros na natureza (OLEGÁRIO, 2010).

Segundo Cançado (2008), diferente do que acontece com *A. sculptum*, a picada dos adultos de *A. parvum* é praticamente indolor, desta forma, o carrapato pode não ser percebido e permanecer fixado por um período longo, aumentando assim o risco de transmissão de *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. e outros patógenos. Szabó et al. (2020) em um levantamento realizado após diversas expedições de pesquisa no Cerrado brasileiro, constataram que o *A. parvum* era a principal espécie no estágio adulto que picava seres humanos. Dzul-Rosado et al. (2013) relacionaram *A. parvum* como potencial vetor de *Rickettsia rickettsii* no sudeste do México, podendo desempenhar um papel fundamental na natureza como um potencial hospedeiro, simultaneamente a outros vetores que são responsáveis pela transmissão da doença a seres humanos. Pacheco et al. (2013), na província de Córdoba, Argentina, coletaram *A. parvum* em preás e encontraram dois (15,4%) dos 13 adultos coletados infectados com *Coxiella burnetii*.

Observa-se pelos expostos que o *A. parvum*, à semelhança do *Amblyomma sculptum*, aparenta capacidade de se fixar e parasitar uma ampla gama de hospedeiros entre animais domésticos, selvagens e até seres humanos, apresentando também um ciclo de vida heteroxeno e exibindo baixa especificidade parasitária. Essa capacidade de diversidade alimentar torna o *A. parvum* um potencial veiculador de patógenos entre hospedeiros, inclusive o homem.

2.4.A saliva de carrapatos em pesquisa

As glândulas salivares são órgãos encarregados de diversas funções na fisiologia dos carrapatos, sendo estruturas vitais tanto para o desenvolvimento dos parasitos, assim como para a extensão, manutenção e transmissão de patógenos (BOWMAN & SAUER, 2004). Além da secreção de compostos proteicos e lipídicos com atividades farmacológicas que modulam as respostas de defesa do hospedeiro, a salivação executa outras importantes funções para a fisiologia dos carrapatos, incluindo a absorção de vapor de água por carrapatos de vida livre e a excreção do excesso de água ingerida durante a alimentação, objetivando a concentração do sangue ingerido (SAUER et al., 1995; SAUER et al., 2000; SIMO et al., 2012).

Em fêmeas, três tipos de ácinos podem ser característicos da composição estrutural da glândula salivar dos carrapatos: os ácinos tipo I estão associados com osmosegulação; os ácinos do tipo II e III estão envolvidos na síntese e secreção de proteínas e no transporte de água (BINNINGTON, 1978; SAUER et al., 1995). Estudos morfológicos e estruturais têm demonstrado que a glândula salivar dos carrapatos passa por alterações durante os mecanismos de busca ao hospedeiro, fixação e alimentação (BINNINGTON, 1978; BINNINGTON & KEMP, 1980; BOWMAN & SAUER, 2004). Ao longo da alimentação, as glândulas salivares sofrem notáveis modificações morfológicas, principalmente os ácinos de tipo II e tipo III. Essas mudanças morfológicas são acompanhadas principalmente pelo aumento na síntese de proteínas (BINNINGTON, 1978; MCSWAIN et al., 1982).

A saliva do carrapato contém uma mistura complexa de moléculas bioativas com propriedades anti-coagulação, agregação antiplaquetária, vasodilatadora, antiinflamatória e imunomoduladora para neutralizar os mecanismos de defesa do hospedeiro (HAJDUSEK et al., 2013; KAZIMÍROVÁ e ŠTIBRANÍOVÁ, 2013; KOTÁL et al., 2015; ŠIMO et al., 2017). Além de facilitar a alimentação do carrapato, as propriedades anti-hemostáticas e imunomoduladoras da saliva do carrapato também podem beneficiar a sobrevivência e o estabelecimento de patógenos no hospedeiro (KAZIMÍROVÁ e ŠTIBRANÍOVÁ, 2013; ŠIMO et al., 2017).

Portanto, a identificação e caracterização de moléculas bioativas na glândula salivar (SG) e saliva do carrapato podem ajudar a elucidar os mecanismos moleculares de interação entre carrapatos, patógenos e hospedeiros vertebrados, revelando novos alvos vacinais para controlar os carrapatos e os patógenos que eles transmitem (ESTEVEZ et al., 2017).

A ocorrência e o conhecimento sobre doenças transmitidas por carrapatos aumentaram significativamente nos últimos anos (STEERE et al., 2004; DUMLER et al., 2005), resultando numa ampliação acentuada da pesquisa relacionada com as interações parasito-hospedeiro. Como resultado, o conhecimento das moléculas presentes na saliva do carrapato e suas funções têm se expandido de forma gradual (NUTTAL, 2019).

2.5.A aplicação da abordagem proteômica no estudo da saliva de carrapatos

Considerando o sucesso da hematofagia de carrapatos em diferentes hospedeiros vertebrados, mesmo em face de diversos tipos de respostas imunes, a identificação das moléculas responsáveis por essas funções podem proporcionar um melhor entendimento na interface patógeno-carrapato-hospedeiro vertebrado. Tal conhecimento pode ser determinante no desenvolvimento de estratégias de controle tanto do artrópode, quanto do agente infeccioso a ele relacionado (RENESTO et al., 2006; RACHINSKY et al., 2008; RIBEIRO et al., 2011).

A identificação das proteínas e seu nível de expressão podem ser realizadas através de abordagens proteômicas (FEI-YU et al., 2009), bem como podem ser preditas por meio de abordagens transcriptômicas (ALARCON-CHAIDEZ et al., 2007; ANATRIELLO et al., 2010).

Nos últimos anos, com o desenvolvimento e aplicação de técnicas de análise molecular em grande escala, como a transcriptômica e a proteômica, novas informações sobre a composição molecular de diferentes tecidos/estágios dos carrapatos foram obtidas e geraram informações importantes sobre a fisiologia desses parasitos. Os sialotranscritomas (do grego, *sialo* = saliva) são particularmente de interesse por revelarem o potencial de transcrição na glândula salivar desses parasitos (RIBEIRO & FRANCISCHETTI, 2003; FRANCISCHETTI et al., 2009). Por este motivo, os sialotranscritomas de diversas espécies de carrapatos ixodídeos foram descritos, como dos carrapatos *Amblyomma americanum* (MULENGA et al., 2007; ALJAMALI et al., 2009; KARIM & RIBEIRO, 2015), *Amblyomma maculatum* (KARIM et al., 2011), *Amblyomma triste*, *A. parvum*, *A. cajennense* (GARCIA et al., 2014), *Amblyomma variegatum* (NENE et al., 2002; RIBEIRO et al., 2011), *Hyalomma marginatum*

(FRANCISCHETTI et al., 2011), *Ixodes scapularis* (VALENZUELA et al., 2002; RIBEIRO et al., 2006), *Ixodes ricinus* (LEBOULLE et al., 2002; SCHWARZ et al., 2014; KOTSYFAKIS et al., 2015), *Ixodes. pacificus* (FRANCISCHETTI et al., 2005), *Rhipicephalus pulchellus* (TAN et al., 2015), *Haemaphysalis flava* (XU et al., 2015), *Rhipicephalus sanguineus* (OLIVEIRA et al., 2013) dentre outros.

Os sialotranscritomas proporcionam uma visão global dos perfis de expressão gênica em glândulas salivares do carrapato. No entanto, a inferência direta de que a presença de certos transcritos em glândula salivar remete diretamente ao que é secretado no hospedeiro através da saliva é um tópico a ser abordado com cautela. Recentemente, um trabalho da análise de transcritos e proteínas realizado com glândulas salivares de *I. ricinus* revelou que a dinâmica entre transcritos e proteínas não é totalmente concordante (SCHWARZ et al., 2014; KOTSYFAKIS et al., 2015). Além disso, os sialotranscritomas por si só não fornecem informações únicas sobre proteínas que de fato são secretadas na saliva. Nesse contexto, a análise proteômica dos componentes salivares representa um potencial a ser abordado e estudado.

Em condições experimentais os carrapatos produzem reduzida quantidade de saliva, fazendo com que seja difícil de trabalhar com esse material biológico, verificando-se que muitos pesquisadores optem por trabalhar com glândula salivar (FRANCISCHETTI et al., 2008; FRANCISCHETTI et al., 2011; SCHWARZ et al., 2014; TAN et al., 2015).

Artificialmente, a salivação em carrapatos pode ser induzida através da administração de dopamina, um neurotransmissor que compele a produção da secreção pela glândula salivar, ou pelo uso da pilocarpina, um agente colinomimético que estimula a liberação de dopamina nos nervos salivares resultando em salivação (MCSWAIN et al., 1992; SAUER et al., 2000).

Atualmente, devido aos progressos em distintas áreas da proteômica é possível identificar um número significativo de proteínas utilizando reduzidas alíquotas de amostra (na ordem de microgramas). Os avanços em técnicas de elaboração de amostra, na separação de proteínas/peptídeos por cromatografia líquida (LC), na sensibilidade e acurácia dos espectrometros de massa (MS), e nos avanços em análise computacional são fatores de relevante importância para o avanço das análises proteômicas (YATES, III, 2013). Análises proteômicas baseadas em espectrometria de massas de alta resolução permitem a identificação e quantificação de milhares de proteínas, bem como suas modificações e localização (YATES, III, 2013; MEISSNER & MANN, 2014). Em proteômica, o termo *bottom-up* refere-se à identificação de proteínas por análises de peptídeos gerados através de proteólise. Quando as análises *bottom-up* são realizadas a partir de uma mistura de proteínas, o termo *shotgun*

proteomics é usado (em analogia ao *shotgun genomic sequencing*) (YATES, III, 1998; YATES, III, 2013; ZHANG *et al.*, 2013). Análises proteômicas por *shotgun proteomics* fornecem uma medida indireta de proteínas por meio dos peptídeos derivados a partir da proteólise de proteínas intactas. Essa mistura de peptídeos gerada é fracionada e analisada por LC-MS/MS. A identificação dos peptídeos é realizada por comparação dos espectros de massa derivados da fragmentação dos peptídeos com os espectros de massa teóricos gerados a partir de digestão *in silico* de um banco de dados de proteínas do organismo em estudo. A inferência da identidade da proteína é realizada através da identificação dos peptídeos nas sequências de aminoácidos presentes no banco de dados utilizados nas buscas. Devido ao fato de que os peptídeos identificados podem ser unicamente atribuídos a uma única proteína, ou, partilhados por mais de uma proteína, métodos estatísticos podem ser utilizados para aprimorar a identificação e/ou confirmação de uma dada proteína (TABB *et al.*, 2002; MCDONALD *et al.*, 2004).

A identificação dos compostos salivares dos carrapatos simboliza um importante passo no estudo fisiológico desses parasitos. O reconhecimento e caracterização desses componentes auxiliam na compreensão de como os carrapatos modulam as respostas de defesa do hospedeiro, produzindo não somente dados para aprimorar a compreensão da relação parasito- hospedeiro, mas também gerando bases para novos estudos sobre a caracterização molecular e bioquímica das proteínas salivares. Esses estudos podem contribuir com o desenvolvimento de novos métodos de controle e/ou novos compostos com aplicações biotecnológicas e farmacológicas.

2.6.A saliva dos carrapatos *A. sculptum* e *A. parvum*

Estudos prévios com saliva de carrapato *A. sculptum* (denominado *A. cajennense* em trabalhos anteriores a 2014) demonstraram sua ação sobre os mecanismos reativos de hospedeiros. Castagnolli *et al.* (2008) observaram que camundongos BALB/c não desenvolvem resistência às ninfas dessa espécie de carrapato e a proliferação de linfócitos desse hospedeiro é inibida pela saliva do carrapato, extrato de ninfas ou infestações. Esses autores ainda observaram que a proliferação linfócitos de cavalos também é inibida pela saliva do carrapato e que linfócitos de camundongos sob o efeito da saliva do carrapato, extrato de ninfal ou infestações exibem uma predominância padrão de produção de citocinas Th-2. Carvalho-Costa *et al.* (2015) observaram que a saliva do *A. cajennense* inibiu a diferenciação de células dendríticas em cultivo celular de medula óssea murina. Esta inibição foi associada a uma redução expressão de CCR5 (o receptor para RANTES) ou CCR7 (o receptor para MIP-3 β). A

saliva do carrapato também inibiu IL-12p40, IL-6 e TNF- α enquanto potencializou a produção de citocinas IL-10 pelas células dendríticas. Costa et al. (2021) caracterizaram três moléculas salivares de *A. sculptum* e avaliaram seu potencial como antígenos vacinais para o desenvolvimento de novos métodos de controle de carrapatos. Todas as três proteínas mostraram atividades anti-hemostática e anti-complemento e promissoras eficácias anti-carrapato, o que as torna potenciais antígenos vacinais contra *A. sculptum*.

No trabalho de Simons et al. (2011), foi demonstrado que a saliva bruta de *A. cajennense* mantém a fluidez sanguínea inibindo as atividades do FXa e da trombina, além de reduzir a agregação plaquetária. Além disso, a saliva de *A. cajennense* também inibiu a agregação plaquetária induzida por ADP, ristocetina, ácido araquidônico e colágeno (SIMONS et al., 2011). Em consonância com estes trabalhos foi observado por Batista et al. (2008) que a biblioteca de cDNA das glândulas salivares de *A. cajennense* apresenta diversos genes codificadores de substâncias que afetam o sistema hemostático do hospedeiro.

Esteves et al. (2017) evidenciaram que a alimentação com sangue exerce um forte efeito no perfil de expressão gênica das glândulas salivares (SG) de *A. sculptum*, regulando positivamente a transcrição de supostas proteínas secretadas, que podem desempenhar papel fundamental durante o processo de alimentação.

Devido ao fato deste carrapato apresentar uma ampla gama de hospedeiros, o sialotranscriptoma de carrapatos fêmeas de *A. cajennense* alimentados com coelhos contendo mais de 4.600 sequências de codificação, foi relatado no trabalho de Esteves et al. (2017). Já Maruyama et al. (2010), apresentou conjunto de dados originado das glândulas salivares de carrapatos fêmeas de *A. cajennense* alimentados com cavalos, com aproximadamente 1.147 sequências de codificação.

Tendo em vista a disponibilidade restrita de carrapatos *A. parvum* em colônias de laboratório, os trabalhos com saliva/glândula salivar com esta espécie são raras. Em um estudo de Garcia et al. (2014), os autores descrevem o sialotranscriptoma de três espécies de carrapatos *Amblyomma*, *A. triste*, *A. parvum* e *A. cajennense*, usando 454-baseado em RNA-seq., sendo a primeira vez que o perfil transcricional de um tecido dos carrapatos *A. parvum* e *A. triste* foi gerado e analisado. Nesse estudo, foram utilizadas fêmeas semi-ingurgitadas de *A. parvum*, alimentadas em cachorro para obtenção do *pool* de glândulas salivares a serem testadas. A biblioteca de *A. parvum* forneceu 243.567 leituras de pirosequenciamento e, em média, 20% das leituras nos três sialotranscriptomas foram anotadas como proteínas secretadas putativas, enquanto a maioria das leituras (variando de 62,9% a 68,9%) foram anotadas como genes de

manutenção e cerca de 13% das leituras resultaram nas categorias *Unknown* e *Unknown Secreted Proteins*.

Sousa et al. (2018) avaliaram o efeito da saliva de *A. sculptum*, *A. parvum* e *Rhipicephalus sanguineus* nas linhagens celulares de câncer de mama MCF-7, MDA-MB-231 e na linha celular não neoplásica MCF-10A. Os autores observaram que a saliva do carrapato das três espécies de carrapato exerceu citotoxicidade sobre as células tumorais (MCF-7, MDA-MB-231), mas não para as células não tumorais (MCF-10A). Além disso, as alterações morfológicas na superfície das células tumorais MCF-7 e MDA-MB-231 não ocorreram nas células MCF-10A. Esses autores demonstraram que as células tumorais morriam por apoptose induzida pela atividade da caspase-3 e da caspase-7, sugerindo que a apoptose da via intrínseca pode ser desencadeada pela saliva do carrapato.

Tendo em vista os expostos este estudo procurou expandir a caracterização molecular da saliva dos carrapatos *A. parvum* e *A. sculptum*. O dinamismo da produção salivar foi avaliado através da comparação do sialoma de carrapatos alimentados em coelhos, em condições laboratoriais com aqueles alimentados em cavalos naturalmente infestados (*A. sculptum*). Para este fim utilizou-se uma abordagem proteômica para avaliação das proteínas mais abundantes e das possíveis diferenças observadas entre as diferentes amostras.

3. JUSTIFICATIVA

A aplicação de tecnologias como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS) e a utilização de aparatos de bioinformática permitiram identificar e caracterizar as proteínas mais abundantes na saliva de fêmeas dos carrapatos *A. parvum*, e *A. sculptum*, possibilitando a comparação entre o repertório dessas proteínas presentes na saliva de fêmeas da segunda espécie alimentadas laboratorialmente em coelhos, e naturalmente em cavalos, e da primeira alimentadas apenas em coelhos. Essas informações podem auxiliar a compreensão da biologia desses importantes vetores, bem como de possíveis compostos moleculares que possam indicar candidatos a alvos no controle dessas espécie e prevenção de transmissão de patógenos.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo Geral

Identificação e caracterização das proteínas mais abundantes na saliva de fêmeas dos carrapatos *A. parvum* e *A. sculptum* através de análise proteômica.

4.2. Objetivos específicos

- Extrair a saliva de *A. parvum* e *A. sculptum* alimentados em coelhos e *A. sculptum* alimentados em cavalos;
- Separar os peptídeos das proteínas da saliva das duas espécies de carrapatos, utilizando cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS/MS);
- Identificar as proteínas das salivas de *A. parvum* e *A. sculptum* através de comparação entre a lista de peptídeos trípticos sequenciados e bancos de dados anotados no NCBI e UNIPROT;
- Avaliar a ocorrência e diferenças entre as proteínas identificadas na saliva do carrapato *A. sculptum* quando alimentados em coelhos ou em cavalos.

5. METODOLOGIA

5.1. Origem dos carrapatos

As amostras laboratoriais de carrapatos *Amblyomma parvum* e *Amblyomma sculptum* foram criadas e mantidas no Laboratório de Ixodologia da Faculdade de Medicina Veterinária, na Universidade Federal de Uberlândia (LABIX-UFU). As infestações foram realizadas dentro de câmaras de alimentação, de material plástico, fixadas com uma cola no dorso tricotomizado de coelhos brancos New Zealand saudáveis (Figura 1). Para tanto, cilindros de plástico transparente foram colados a uma peça de borracha cortada em formato de disco contendo uma janela central com diâmetro equivalente ao do cilindro utilizado. Sob o disco de borracha foi colado um tecido de algodão de dimensão e formato iguais ao do disco, com o objetivo de tornar a superfície do disco adequada para a fixação na pele. A câmara de alimentação então foi fechada com uma tampa perfurada, após colocação dos carrapatos na referida câmara. Os coelhos são utilizados para alimentação dos carrapatos tanto para coleta de saliva, quanto para perpetuação das colônias das espécies citadas, sendo estas mantidas em uma estufa incubadora umidificada, a uma temperatura de 29°C.

Já os *A. sculptum* alimentados em cavalo foram obtidos de animais naturalmente infestados de uma propriedade rural do município de Araguari-MG (Figura 1). Os cavalos eram examinados por toda a superfície corporal, sem limite de tempo, e as fêmeas ingurgitadas de *A. sculptum* encontradas eram retiradas e acondicionadas em cilindros de acrílico transparente até a coleta de saliva.



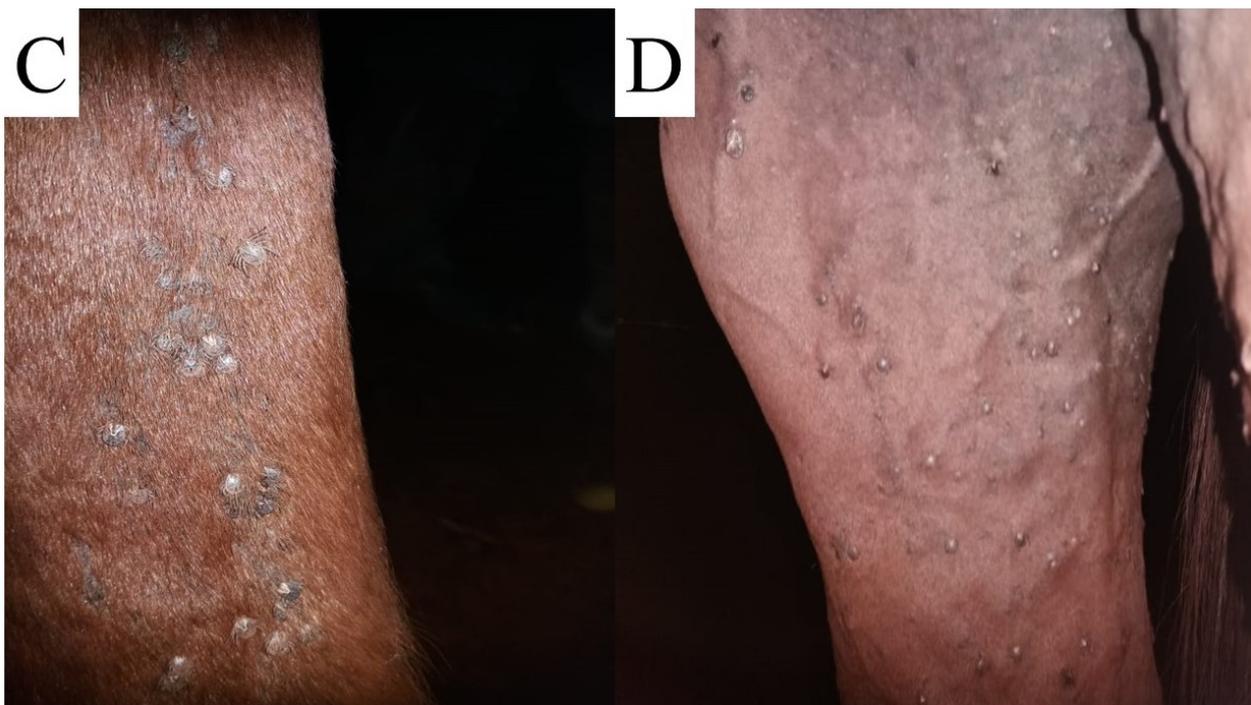


Figura 1 - Amostras de carrapatos utilizados para coleta de saliva. A. *A. sculptum* em câmara de alimentação em coelho; B. *A. parvum* em câmara de alimentação em coelho; C e D. *A. sculptum* em pernas de cavalo naturalmente infestado. Uberlândia e Araguari, MG 2018 - 2019

5.2. Coleta de saliva dos carrapatos

Para a coleta de saliva dos carrapatos mantidos em laboratório, foram realizadas infestações com 05 câmaras de alimentação em cada coelho (coelho branco New Zealand) sem contato prévio com carrapatos. Em cada câmara foram liberados, em média, 25 fêmeas e 10 machos de carrapatos de cada espécie e coelhos diferentes foram utilizados para cada espécie de carrapato. Após cerca de 07 a 10 dias, dependendo da espécie, as fêmeas dos carrapatos semi-ingurgitadas foram recolhidas, higienizadas com PBS 10% em temperatura ambiente (25°C), e foi inoculado na hemocele cerca de 10 μ L de solução de Dopamina a 0,2% (Figura 2), com auxílio de uma agulha 12,5 x 0,33 mm. Os carrapatos foram então fixados em uma fita crepe, previamente disposta em uma superfície plana, rígida e limpa com álcool a 70%. A coleta da secreção salivar foi realizada com uma pipeta automática (Figura 2), sendo a saliva armazenada em microtubos de 2,0 mL mantidos em banho de gelo. Em seguida, foram filtradas em filtros com poros de 22 μ m e armazenadas a -80°C até o uso. A concentração de proteínas foi quantificada através do método de Bradford e ensaio de BCA. As coletas foram realizadas durante os anos de 2018 e 2019.

A coleta de saliva dos carrapatos *A. sculptum* de cavalos naturalmente infestados foi realizada no local de coleta. Após a coleta dos ectoparasitos dos animais, em fase de semi-ingurgitamento, estes foram lavados em água corrente e depois higienizados em uma solução de PBS 10% em local limpo e arejado. Após a limpeza, os carrapatos foram fixados em uma fita crepe, previamente disposta em uma superfície plana, rígida e limpa com álcool a 70% e a coleta de saliva realizada como descrita para os carrapatos do laboratório. A saliva coletada na propriedade rural foi acondicionada em caixa de isopor com gelo reciclável durante o transporte até o LABIX-UFU, onde foram filtradas em filtros com poros de 22 μm e armazenadas a -80°C até o uso. A concentração de proteínas foi quantificada através do método de Bradford e ensaio de BCA. As coletas foram realizadas no ano de 2019.

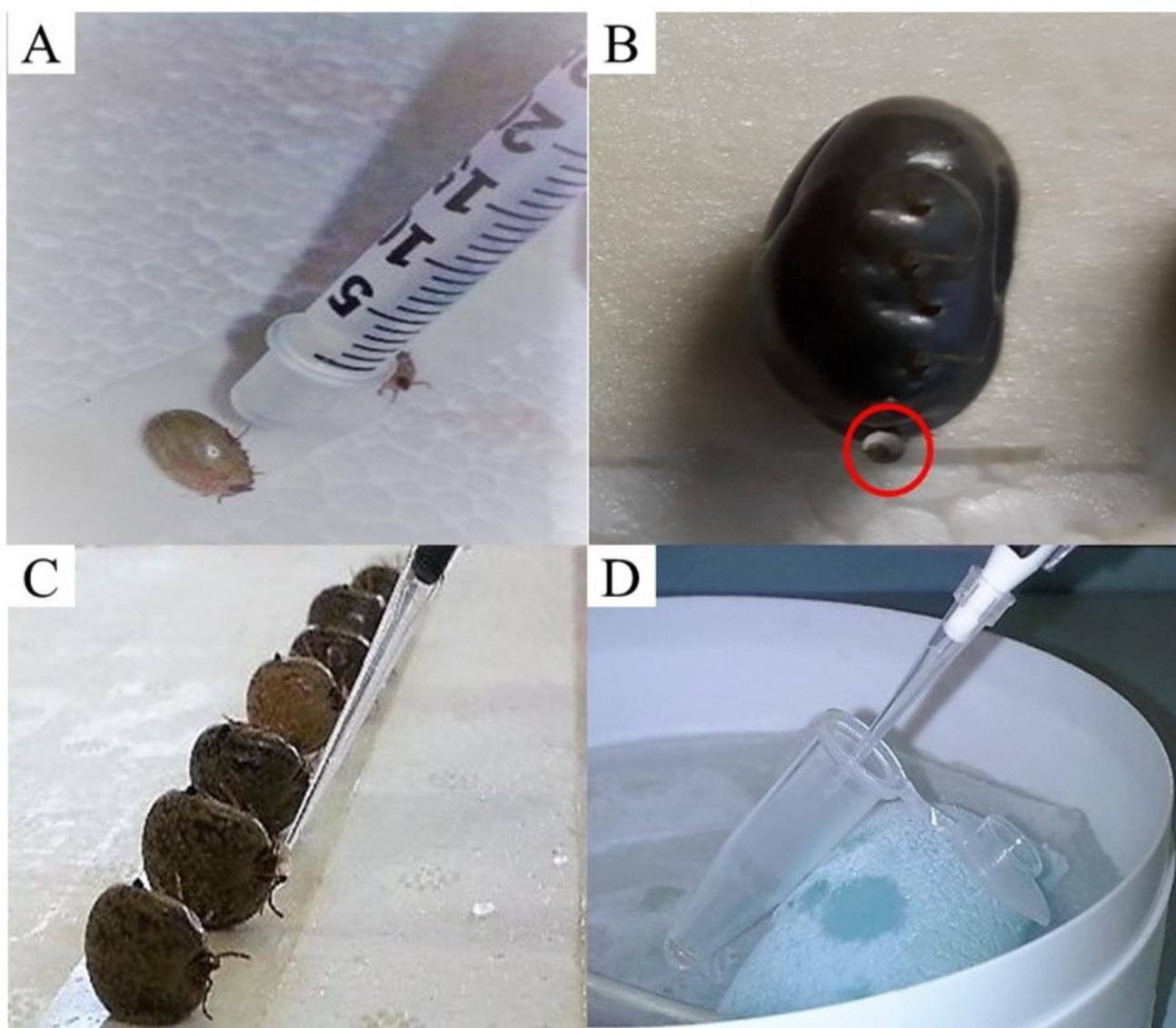


Figura 2 - Coleta de saliva de carrapatos. A. Após fixar os carrapatos em superfície limpa com fita, é injetado uma solução de Dopamina a 0,2% na hemocele do carrapato; B. gota de saliva no hipostômio do carrapato; C. coleta com pipeta da saliva e, D. acondicionamento da saliva coletada em microtubo disposto na cama de gelo para manter saliva resfriada até armazenamento no ultrafreezer -70° C ou uso. Uberlândia, MG 2019.

5.3. Digestão proteica com tripsina

Após a quantificação das proteínas, 100µg de proteínas foram submetidas à digestão com tripsina. O surfactante RapiGest SF (Waters) foi utilizado para melhorar a eficiência da digestão enzimática. Após redução com Ditioneitol (Sigma-Aldrich) e alquilação com Iodoacetamida (Sigma-Aldrich), a amostra foi submetida à digestão com tripsina (Promega) a 37°C por 16 horas. A atividade enzimática foi interrompida pela adição de solução de ácido trifluoroacético (TFA) 0,5% (Sigma-Aldrich). Os peptídeos obtidos foram então submetidos à purificação com ponteira de C18 (Agilent Bond Elut OMIX). Após secagem em um concentrador de amostra (Genevac miVac Duo Concentrator), a amostra foi solubilizada em 0,1% de TFA e colocada em um frasco específico para injeção no Espectrômetro de Massa.

5.4. Espectrometria de massa

As análises de espectrometria de massa foram realizadas em cromatógrafo líquido (Agilent Infinity 1260), acoplado a espectrômetro de massa de alta resolução com fonte de ionização por eletrospray (Agilent 6520B Q-TOF), alocado no Laboratório de Nanobiotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia. A coluna utilizada foi um modelo de mapeamento de peptídeos Agilent AdvanceBio, diâmetro interno de 2,1 mm, 10 cm de comprimento, partículas de 2,7 µm. Os parâmetros cromatográficos utilizaram água (A) e acetonitrila (B) como fase móvel, ambas acidificadas com ácido fórmico (0,1% vv- 1), com o gradiente: 2% B (0 min), 2% B (10 min), 15% B (40 min), 50% B (150 min), 70% B (200 min), 98% B (220 min), 98% B (300 min), 100% B (301 min) e 100% B (400 min), em um fluxo de 400 µL / min. Os parâmetros de ionização foram pressão do nebulizador de 45 psi, gás de secagem a 8L / min a uma temperatura de 325 ° C e energia de 4kV aplicada ao capilar.

5.5. Identificação de proteína e análise

A identificação das proteínas foi realizada levando-se em consideração a massa de alta resolução (erro com a massa exata menor que 10 ppm) e os espectros de massa / massa (EM / EM), dados estes cruzados com um banco de dados. A análise foi realizada por meio do programa Spectrum Mill MS Proteomics Workbench (Agilent Technologies), por meio do banco de dados NCBI, disponível online (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

As planilhas de identificação exportadas após a análise foram manualmente verificadas e uma só planilha construída com os resultados obtidos. Nessa planilha, as proteínas foram separadas pelo número e sequência de seus peptídeos identificados. Os critérios utilizados para a construção dessa planilha foram: (I) cada proteína deveria apresentar pelo menos, uma sequência de peptídeo não compartilhada com nenhuma outra; (II) a sequência de peptídeo deveria ser encontrada em, pelo menos, uma das repetições analisadas para carrapatos coletados e diferentes hospedeiros.

5.6. Anotação e classificação funcional de proteínas

As massas moleculares teóricas das proteínas identificadas foram obtidas do UniProt (<http://www.uniprot.org>). Além disso, pesquisas BLASTP em vários bancos de dados foram realizadas para anotar as proteínas correspondentes. Para verificar a identidade das proteínas do carrapato, os seguintes bancos de dados foram usados: Acari e refseq-invertebrado do NCBI, Acari do Uniprot, o subconjunto GeneOntology (GO) FASTA, banco de dados MEROPS e o banco de dados de domínios conservados de NCBI contendo os motivos COG, PFAM e SMART. A classificação funcional foi realizada da seguinte maneira: comparação entre as sequências das proteínas identificadas com aquelas previstas pelos transcritos de *A. cajennense*, *A. triste* e *A. parvum* (Garcia et al., 2014) e agrupados segundo critérios previamente descritos por Karim et al., (2011).

Aquelas proteínas que não puderam ser associadas diretamente aos carrapatos foram verificadas quanto à similaridade com às já descritas para os hospedeiros vertebrados utilizados na pesquisa. Para verificar as proteínas de coelho, os seguintes bancos de dados foram usados: bancos de dados de *Oryctolagus cuniculus* e refseq-vertebrados do NCBI, *O. cuniculus* da

Uniprot, o subconjunto GeneOntology (GO) FASTA do banco de dados de domínios conservados do NCBI, contendo os motivos COG, PFAM e SMART.

Para verificar as proteínas do cavalo, os seguintes banco de dados foram utilizados: bancos de dados de *Equus caballus* e refseq-vertebrados do NCBI, *E. caballus* da Uniprot, o subconjunto GeneOntology (GO) FASTA do banco de dados de domínios conservados do NCBI, contendo os motivos COG, PFAM e SMART.

O catálogo com anotações funcionais para cada conjunto de dados foi selecionado manualmente e inserido em uma planilha Excel com hiperlink (Tabelas).

5.7.Aspectos éticos

Todos os experimentos com animais foram realizados de acordo com os protocolos aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Uberlândia (CEUA-UFU, 033/14 e 069/18).

6. RESULTADOS

Foram coletados um total de 700, 1350 e 950 μ l de saliva de, respectivamente 193, 225 e 118 carrapatos *A. parvum*, *A. sculptum* alimentados em coelhos e *A. sculptum* alimentados em equinos.

As proteínas identificadas na saliva dos carrapatos *A. parvum* (alimentados em coelhos) e do carrapato *A. sculptum*, alimentados em coelhos e cavalos, foram agrupadas em quatro faixas de percentual de cobertura (o número de peptídeos identificados na sequência) (0-10%, 11-20%, 21-40% e 41-100%), representadas conforme Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição das proteínas identificadas na saliva do carrapato *A. parvum* e *A. sculptum*, em relação às faixas de cobertura dos peptídeos.

Taxa de Cobertura	Proteínas <i>A. parvum</i> (n=130) / Porcentagem	Proteínas <i>A. sculptum</i> coelho (n=106) / Porcentagem	Proteínas <i>A. sculptum</i> cavalo (n=347) / Porcentagem
0-10%	34/ 26,15%	57/ 53,77%	206/ 59,36%
11-20%	25/ 19,23%	16/ 16,09%	42/ 12,10%
21-40%	50/ 38,46%	21/ 19,81%	39/ 11,23%
41-100%	21/ 16,15%	12/ 11,32%	60/ 17,29%

As proteínas identificadas na saliva do carrapato *A. parvum* apresentaram um maior percentual na faixa de cobertura entre 21-40%, seguido pelo percentual na faixa de cobertura menor de 0-10%. Embora as proteínas identificadas tenham mostrado uma distribuição similar entre faixas de cobertura na saliva do carrapato *A. sculptum*, quando comparamos apenas as proteínas detectadas na saliva de alimentados em coelho ou em cavalo, observamos uma diferença mais expressiva nas faixas de 21-40% e de 41-100%. O maior percentual de proteínas identificadas está localizado na faixa de cobertura menor, no entanto, pelo menos, 220 proteínas

no total apresentaram a sua identificação com cobertura maior que 11%, dentre essas uma proteína Actina 5C (XP_029833158.1), detectada na saliva de *A. sculptum* alimentados em cavalo, foi identificada com cobertura de 75%.

6.1. Visão geral da proteômica anotada da saliva de carrapato *A. parvum*

No perfil proteômico da saliva do carrapato *A. parvum* foram reconhecidas 130 proteínas, pertencentes a 30 famílias diferentes. Destas 130, 117 pertenciam ao carrapato (90%), e apenas 13 ao hospedeiro de coelhos vertebrados (10%). Das 117 proteínas identificadas como pertencentes ao carrapato, 47 foram descritas pela análise de espectrometria de massa como proteínas não caracterizadas, possivelmente pela não identificação do peptídeo obtido. As outras proteínas do carrapato (70) foram identificadas em sua forma original, ou em isoformas. Os resultados encontrados das proteínas identificadas, foram apresentados na Tabela 2 e ilustrados na Figura 3.

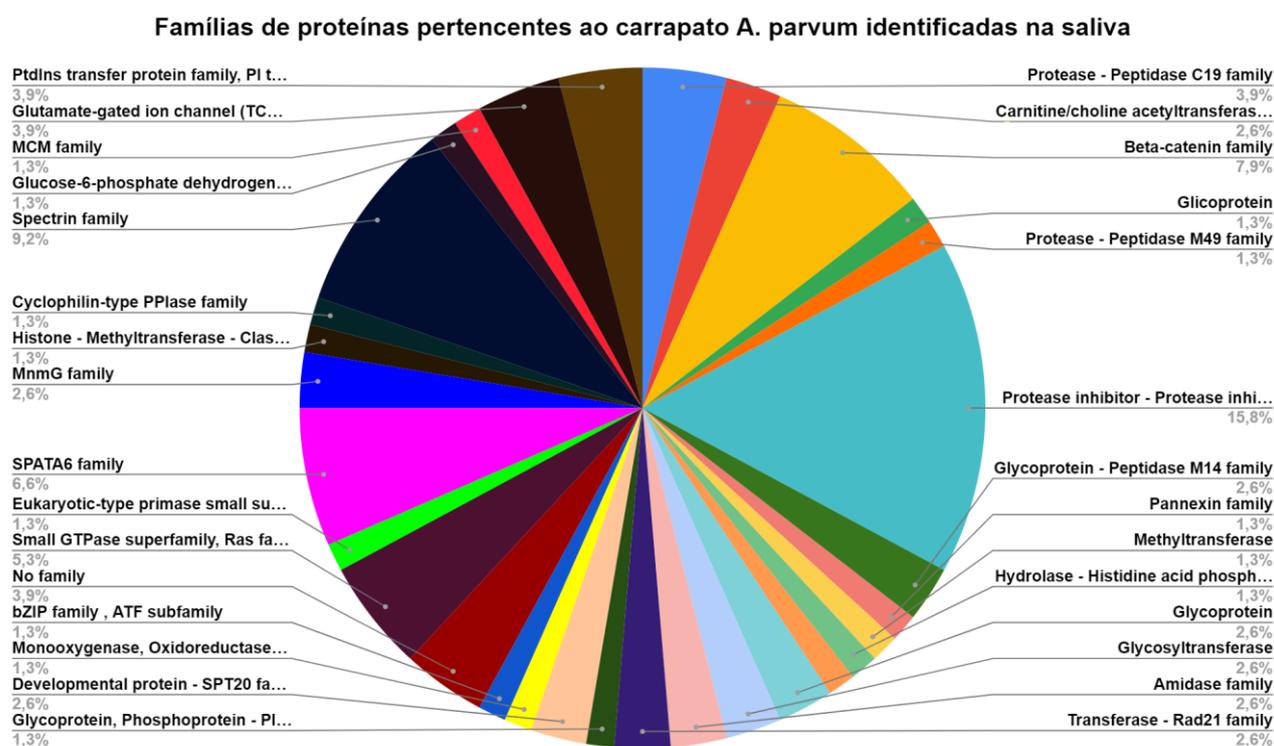


Figura 3. Famílias de proteína de carrapato presentes na saliva de carrapato *Amblyomma parvum*. A maior quantidade de proteínas identificadas é pertencente à família dos inibidores de protease (15,6%), que representa um dos principais componentes da biologia molecular da saliva do carrapato responsáveis pelo sucesso da alimentação e perpetuação do carrapato. Uberlândia, MG, 2022.

Tabela 2. Proteínas identificadas na saliva do carrapato *A. parvum*, Uberlândia-MG, 2022.

Número de Acesso ao Banco de Dados	Nome	Família	Peso Molecular MW (Da)	Sequência Peptídica
XP_029826390.1	ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 24 (e Isoformas X1 e X2)	Protease - Peptidase C19 family	207601.2	(K)FLSPK(L)
XP_029846437.1	dipeptidyl peptidase 3	Protease - Peptidase M49 family	82847.8	(K)NVSLGNVINADDk(S)
XP_029830549.1	carboxypeptidase D (Isoformas X1 e X2)	Glycoprotein - Peptidase M14 family	184582.7	(R)FLAEAK(E)
XP_029834419.1	alpha-1-macroglobulin (Isoformas X1, X2, X5 a X10)	Protease inhibitor I39 (alpha-2-macroglobulin) family	170274.8	(K)VSVFNYLEK(C)
XP_029834424.1	alpha-2-macroglobulin-like protein 1 (Isoformas X3 e X4)	Protease inhibitor I39 (alpha-2-macroglobulin) family	169110.5	(K)VSVFNYLEK(C)
XP_029831190.1	spectrin beta chain (Isoformas X1 a X7)	Spectrin family	277913.5	(K)MKAETVQGK(R)
XP_029825566.1	spermatogenesis-associated protein 20 (Isoformas X1 a X5)	SPATA6 family	96605.3	(R)DLsHQSGGFYSAE DADSLPEASSGEKK(E)
XP_029827191.1	armadillo repeat protein deleted in velo-cardio-facial syndrome isoform X1	Beta-catenin family	126051.3	(K)kkNEALEk(Q)
XP_029827193.1	catenin delta-2 (Isoformas X2 a X4)	Beta-catenin family	122971.8	(K)kkNEALEk(Q)
XP_002404799.2	protein D1	Reaction center PufL/M/PsbA/D family	18195.2	(R)ISERDVHLPEARGLK(F)

XP_029826319.1	NF-kappa-B inhibitor-interacting Ras-like protein 1	Small GTPase superfamily, Ras family, KappaB-Ras subfamily	22296.1	(K)EkkELAFVLVIGNk(A)
XP_029850182.1	glutamate receptor ionotropic, kainate 2 (Isoformas X1 a X3)	Glutamate-gated ion channel (TC 1.A.10.1) family	101277.7	(R)cHSNPLGK(T)
XP_029833725.1	protein retinal degeneration B (Isoformas X1 a X3)	PtdIns transfer protein family, PI transfer class IIA subfamily	149096.1	(R)LLSAPPPR(R)
XP_029829301.1	MAM and LDL-receptor class A domain-containing protein 1	Glicoprotein	787174.2	(K)RDHTLGAVGGHV LAVDtFGk(K)
XP_029830538.1	disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 11-like isoform X3	Glicoprotein	126301.1	(R)LIASIPSR(I)
XP_029846645.1	disintegrin and metalloproteinase domain-containing protein 11	Glicoprotein	127985.0	(R)LIASIPSR(I)
XP_029830629.1	piezo-type mechanosensitive ion channel component 2	Glycoprotein, Phosphoprotein - PIEZO (TC 1.A.75) family	274714.1	(R)CHMPERLVSLIGL NR(L)
XP_029825258.1	alpha-(1,6)-fucosyltransferase (Isoformas X1 e X2)	Glycosyltransferase	64986.5	(K)VVDQIRK(K)
XP_029834042.1	fatty-acid amide hydrolase 2-A-like (Isoformas X1 e X2)	Amidase family, Lipocalin	57984.9	(R)NKLLLETATQLAD K(I)
XP_029836569.1	carnitine O-palmitoyltransferase 1, liver isoform-like (Isoformas X1 e X2)	Carnitine/choline acetyltransferase family	90997.0	(R)LLYLR(S)
XP_029823064.1	protein MTO1 homolog, mitochondrial (Isoformas X1 e X2)	MnmG family	75357.0	(R)tIDYSNLKIQLGDD PPEPFSYSNsSVWIK(A)

XP_029838436.1	transcription factor SPT20 homolog (Isoformas X1 e X3)	Developmental protein - SPT20 family	78970.8	(K)HNVQDLTESR(I)
XP_002433826.2	innexin shaking-B	Pannexin family	44793.3	(R)EKKELLVEYLISHLR(Q)
XP_029836718.1	LOW QUALITY PROTEIN: histone-lysine N-methyltransferase 2C	Methyltransferase	619115.9	(K)FLEtEVGK(L)
XP_002410320.1	testicular acid phosphatase homolog	Hydrolase - Histidine acid phosphatase family	42674.8	(R)LEIPGCEGFR(C)
XP_029831845.1	E3 ubiquitin-protein ligase MARCH8	Transferase	28307.9	(R)VIYVQDAPVPDK(G)
XP_002405700.2	cytochrome P450 4C1	Monoxygenase, Oxidoreductase - Cytochrome P450 family	63290.4	(R)ENkYATtRIFSIIR(D)
XP_029830346.1	cyclic AMP-dependent transcription factor ATF-2	bZIP family , ATF subfamily	61452.8	(K)TVDSIAPAAKLEcAKtsVLR(A)
XP_029847563.1	DNA primase large subunit-like	Eukaryotic-type primase small subunit family	60396.3	(K)AAHAEDIIDSSRDLTATk(L)
XP_029847019.1	DNA replication licensing factor mcm5	MCM family	83108.7	(R)SRGRPQEKSNIgIR(A)
XP_029829505.1	histone-lysine N-methyltransferase SETDB1-B isoform X2	Histone-lysine methyltransferase family, Suvar3-9 subfamily	153194.1	(K)IEEVGGVVyRK(K)
XP_002410624.1	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B	Cyclophilin-type PPIase family	21526.2	(K)HTEPGTLSMANAGk(N)
XP_029835037.1	glucose dehydrogenase	Glucose-6-phosphate dehydrogenase family	66513.1	(R)SSNPDDAPLIDPR(Y)
XP_029829185.1	THAP domain-containing protein 7-like	No family	18945.2	(R)SPPPVGRAs(-)
XP_029841953.1	WD repeat and FYVE domain-containing protein 3 (Isoformas X1 e X2)	No family	396589.9	(R)KGLHVQTENVYK(S)

6.2. Visão geral da proteômica anotada da saliva do carrapato *A. sculptum*

Foram identificadas 106 proteínas na saliva de carrapatos fêmeas de *A. sculptum* alimentados em coelhos, laboratorialmente (Tabela 2 e Figura 4); 46 proteínas (43,39%) foram descritas pela análise de espectrometria de massa como proteínas não caracterizadas, pela provável não identificação do peptídeo gerado. Foram identificadas 347 proteínas na saliva de fêmeas de *A. sculptum* alimentadas em cavalos naturalmente infestados (Tabela 3 e Figura 5); dessas, 70 (20,17%) foram descritas pela análise de espectrometria de massa como proteínas não caracterizadas. Das 453 proteínas identificadas do carrapato *A. sculptum* (tanto alimentados em cavalos quanto em coelhos), cerca de 315 (69,53%) foram detectadas apenas em carrapatos alimentados em cavalos, 92 (20,30%) apenas em carrapatos alimentados em coelhos e apenas 03 (0,66%) foram detectadas em ambas as amostras (coelho e cavalo).

Dentre as proteínas identificadas na saliva de fêmeas de *A. sculptum*, 24 (6,91%) foram classificadas como “putative secreted proteins” por meio da comparação entre as sequências das proteínas identificadas com as depositadas no Uniprot. Dessas, 16 (66,66%) pertencem aos *A. sculptum* alimentados em cavalos e 08 (33,33%) pertencem àqueles alimentados em coelhos.

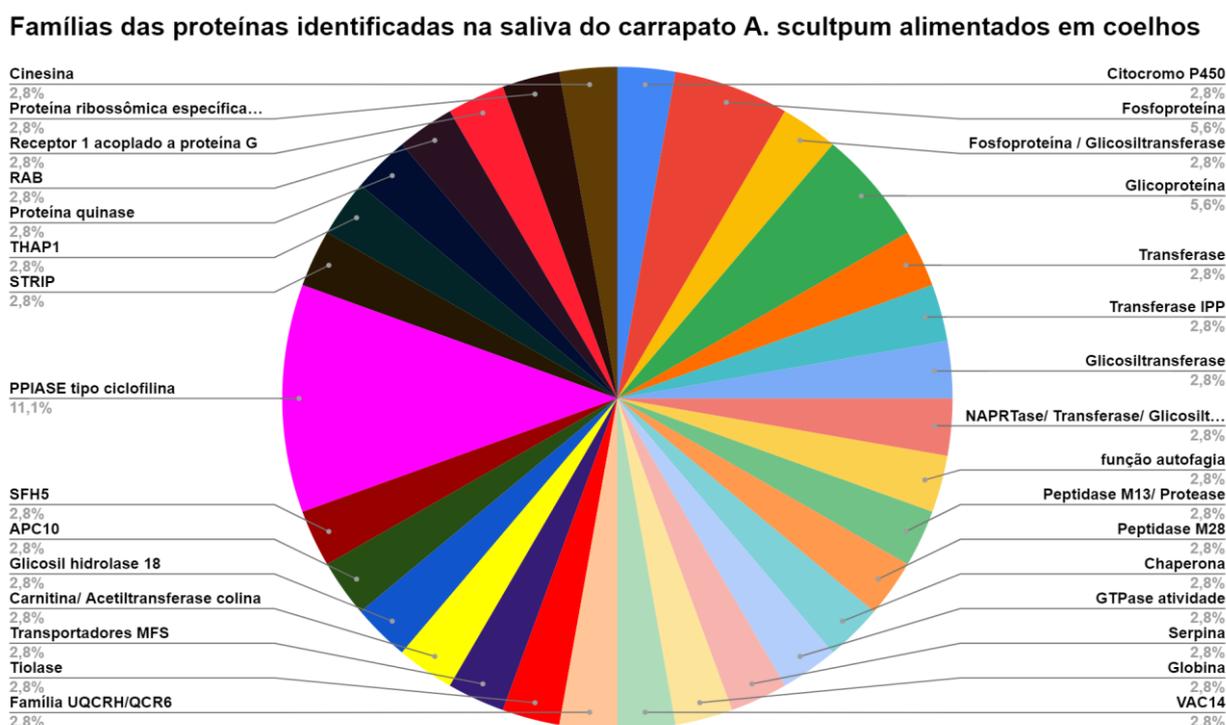


Figura 4 - Famílias de proteína de carrapato presentes na saliva de carrapato *Amblyomma sculptum*, alimentados em coelhos. A maior quantidade de proteínas identificadas pertence à família PPIASE tipo ciclofilina (11,1%), que

pode estar envolvida em eventos, como aqueles que ocorrem no início da ativação de células T, que são suprimidos pela ciclosporina A (TAKAHASHI et al., 1989), agindo na imunomodulação do hospedeiro. Uberlândia-MG, 2022.

Tabela 3. Proteínas da saliva do carrapato *A. sculptum*, alimentados em coelhos infestados em laboratório, identificadas através da análise proteômica por espectrometria de massa. Uberlândia-MG, 2022.

Acesso ao Banco de Dados	Nome	Família	MW Proteína (Da)	Sequência Peptídica
XP_029828446.1	Citocromo P450 3A9	Citocromo P450	57157.7	(K)KHPLMVCFE K(L)
XP_029851618.1	Subunidade D3 do complexo condensina-2	Fosfoproteína	177314.1	(K)KANAASPTA K(Q)
XP_029827135.1	Proteína 2 expressa de derivados do coração e da crista neural	Fosfoproteína	22399.9	(K)DLAHAMQAA QSEK(R)
XP_029826337.1	Proteína PRRC2A (isoformas X5-X11)	Fosfoproteína / Glicosiltransferase	175137.1	
XP_029830823.1	Venom metalloproteinase antarease-like TtrivMP_A	Glicoproteína	63685.3	(R)IFSDPSFGPNk (T)
XP_029841229.1	PROTEÍNA DE BAIXA QUALIDADE: subunidade alfa-1 da laminina	Glicoproteína	360579.3	(K)ACVGGVCQC DER(G)
XP_029826783.1	Tirosina-proteína quinase SYK	Transferase	106476.3	(K)WYAPEcIyFF K(F)
XP_029826115.1	tRNA dimetilaliltransferase	Transferase IPP	54332.1	(K)LDSLTK(V)
XP_029826317.1	Proteína Pcf11 do complexo de	Glicosiltransferase	179340.6	(R)GSAKDDGVS KsPPK(K)

	clivagem pré-mRNA 2 (isoformas X1-X4, X8)			
XP_029842754.1	Nicotinato de fosforibosiltransferase (isoformas X1-X4)	NAPRTase/Transferase/Glicosiltransferase	65903.3	(K)QPALGCVyKLVEVKQQScIk(L)
XP_029832444.1	Domínio de homologia de pleckstrina contendo membro da família M 1	função autofagia	82719.3	(K)KMSSVFNSGNEkIPDFWPVAMVYsHK(N)
XP_002414631.2	Metallo-endopeptidase de membrana like 1	Peptidase M13/Protease	86449.4	(R)VLDEGHVSPAWYR(V)
XP_029846290.1	Amino-peptidase NAALADL1	Peptidase M28	82620.8	(K)GFPVFsDLLyYINK(L)
XP_002406923.2	dnaJ homólogo subfamília C membro 30, mitocondrial	Chaperona	23989.5	(R)TKYDEETIGtRsPLR(Q)
XP_029848552.1	Semelhante à proteína de ligação a nucleotídeo de guanina 1	GTPase atividade	64474.8	(K)VVsVSRTPGHTk(H)
XP_002416681.2	Inibidor de elastase leucocitária	Serpina	44265.3	(K)GkISDIVSEGS LR(E)
XP_002401213.1	Proteína de ligação SAP30 (isoformas X1-X2)	Globina	33598.0	(K)LYERk(L)
XP_029840300.1	Homólogo de proteína VAC14 (X1-X2)	VAC14	84332.9	
XP_029850990.1	PROTEÍNA DE BAIXA QUALIDADE: subunidade 6 do complexo citocromo b-c1,	Família UQCRH/QCR6	11959.2	(R)EkCRGHcSALGDK(L)

	mitocondrial			
XP_002414159.2	Proteína de transferência de lipídios não específica	Tiolase	43901.5	(R)RVFVVGVGM tkFAKPGDk(K)
XP_029851117.1	Transportador de monocarboxilato semelhante a 3 (isoformas X1-X2)	Transportadores MFS	57588.8	(R)VVsVATSHEk AR(H)
XP_029831159.1	Carnitina O-acetiltransferase	Carnitina/ Acetiltransferase colina	70307.7	(K)YLIDR(D)
XP_029843550.1	Provável quitinase 10	Glicosil hidrolase 18	293367.3	
XP_029849871.1	Subunidade 1 do complexo promotor de anáfase	APC10	205534.5	
XP_029831278.1	Proteína 2 semelhante a SEC 14	SFH5	45888.2	(R)NSLNGADsVN GADSVQSTTVSV ER(R)
XP_002407917.1	Isomerase de peptidil-prolil cis-trans	PPIASE tipo ciclofilina	22097.0	(K)TAENFR(A)
XP_029836748.1	Peptidil-prolil cis-trans isomerase D-like (isoformas X1-X2)	PPIASE tipo ciclofilina	46851.5	
XP_029840731.1	Peptidil-prolil cis-trans isomerase D	PPIASE tipo ciclofilina	41476.8	
XP_029840732.1	Peptidil-prolil cis-trans isomerase 7	PPIASE tipo ciclofilina	34784.2	
XP_029841004.1	Homólogo de proteína 1 que interage com estriatina (isoformas X1-X2)	STRIP	93981.2	(R)QEVALR(L)
XP_029850594.1	Repressor de 52 kDa do inibidor da proteína quinase-	THAP1	34782.3	

	like			
XP_029822890.1	Potencial transitório de receptor de canal catiônico subfamília M membro 7 (isoformas X1-X2)	Proteína quinase	175279.5	(K)EVGDAVGAE LGRR(Q)
XP_029841636.1	Membro da família de domínio TBC1 semelhante a 10B	RAB	34249.2	(K)yLRGyYSPGL HLcR(T)
XP_029826722.1	Malha de proteína	Receptor 1 acoplado a proteína G	132365.8	(K)SHYTGSNGD FSkFK(E)
XP_029838727.1	Homólogo de proteína PTCD3, mitocondrial	Proteína ribossômica específica da mitocôndria mS39	76676.9	(R)ETRksWk(D)
XP_029826091.1	Proteína semelhante a cinesina unc-104 (isoformas X1-X5)	Cinesina	202975.1	(R)EVTDSTR(L)

Tabela 4. Proteínas da saliva do carrapato *A. sculptum*, alimentados em cavalos naturalmente infestados, identificadas através da análise proteômica por espectrometria de massa. Uberlândia-MG, 2022.

Acesso ao Banco de Dados	Nome	Família	MW Proteína (Da)	Sequência Peptídica
XP_029833158.1	Actin-5C	Actina	42192.4	(K)DSYVGDEAQSK(R)
XP_029850485.1	Actin, clone 403	Actina	42222.5	(K)DLYANTVLSGGT TMYPGIADR(M)
XP_029833580.1	LOW QUALITY PROTEIN: protein cordon-bleu	Actina	156867.7	(R)GASPCRSEPPTTI TsRVVPVv(K)
XP_029839243.1	LOW QUALITY PROTEIN: protein cordon-bleu-like	Actina	158364.3	(-))MLTEAPVLTIFDPA RPTk(V)
XP_029850864.1	Protein flightless-1	Actina	143947.3	(K)INkNERk(N)

XP_029826417.1	Vitellogenin-1/ putative	Lipase	177629.1	(R)FLILAR(S)
XP_029826419.1	Vitellogenin-6 (3)	Lipase	176696.4	(K)KGVLSIFQLDLV K(G)
XP_029838393.1	Pancreatic triacylglycerol lipase	Lipase/ AB hidrolase	49863.5	(K)APYcKKW(-)
XP_029844006.1	Inactive pancreatic lipase-related protein 1-like	Lipase/ AB hidrolase	49942.5	(K)ISHVtEPLRk(L)
XP_029829668.1	Valacyclovir hydrolase-like	Lipase (AB hidrolase)	32912.5	(R)HIALSKLcVIPEGk (H)
XP_029844202.1	Pancreatic lipase- related protein 2 (isoformas X1 e X2)	Lipase/ AB hidrolase	58601.6	(K)MPGCDLGSRIKfF VtEGLVGGAR(A)
XP_029829529.1	Serine hydrolase- like protein isoform X2	Hidrolase	33278.9	(R)LDDSASGSGEAK LRLER(E)
XP_029825871.1	Protein phosphatase methylsterase 1 (isoformas X1 - X5)	AB Hidrolase	50679.6	(R)VAALDIR(G)
XP_002402622.1	Histone H2A (isoformas X1 a X8)	Histona H2A	13363.4	(R)HLQLAIR(N)
XP_029837577.1	Histone H2B (6 número de acesso diferentes)	Histona H2B	13861.9	(R)STITSR(E)
XP_002402623.1	Histone H4 (3)	Histona H4	11367.1	(R)KLPFQR(L)
XP_002415926.2	Heat shock protein 68 (3)	Chaperona	70423.2	(K)VEIANDQGNR(T)
XP_029827198.1	Heat shock protein 68-like (14)	Chaperona	70344.1	(R)VQVLAR(T)
XP_029837103.1	Heat shock protein 70 B2	Chaperona	70494.6	(R)sFRNKR(T)
XP_029834818.1	Heat shock protein HSP 90-alpha	Chaperona	84790.5	(K)GVVDSIDLPLNIS R(E)
XP_002407132.1	Heat shock 70 kDa protein cognate 4 (2)	Chaperona/ Heat Shock Protein 70	71334.3	(K)DAGTIAGLNVLK (I)

XP_029842893.1	T-complex protein 1 subunit beta	TCP-1 chaperonin/ Chaperona	58147.9	(M)ANVGSLNAVR(I)
XP_029829426.1	14-3-3 protein zeta (Isoformas X1 - X3)	Família 14-3-3	28189.0	(K)AYQEAFDISK(S)
XP_029834419.1	Alpha-1-macroglobulin (isoformas X1 - X10)/ secretada	Inibidor de Protease I39	170274.8	(K)AQPIVR(W)
XP_029827703.1	CD109 antigen (isoformas X1-X3)	Inibidor de Protease I39	164730.1	(K)DVTVPAQDGVP VSFLITPTK(L)
XP_029834424.1	Alpha-2-macroglobulin-like protein 1 (isoformas X3 e X4)	Inibidor de Protease I40	169110.5	(K)SAVEVR(N)
XP_002434347.1	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase 2 (isoformas X1 e X2)	Gliceraldeído-3-fosfato-dehidrogenase 2	36236.8	(K)VINDNFGIVEGL MSTVHATTATQK(T)
XP_029833725.1	Protein retinal degeneration B (isoformas X1 - X3)	PtdIns Transfer Protein	149096.1	(R)LLSAPPPR(R)
XP_029830864.1	Acanthoscurrin-1/ putative	Defensina	23527.2	(K)YGHSSSYGDSK(N)
XP_002402153.2	Malate dehydrogenase, mitochondrial	MDH tipo 1	36161.2	(K)VAVLGASGGIGQ PLSLLK(Q)
XP_029828413.1	PiggyBac transposable element-derived protein 4-like (3)	piggyBac/ Transposase	67485.7	(R)KSLkWWR(K)
XP_029829894.1	PiggyBac transposable element-derived protein 2-like	piggyBac/ Transposase	68104.3	(K)kVEIPQPAcVK(A)
XP_029850844.1	PiggyBac transposable element-derived protein 4-like	piggyBac/ Transposase	50614.7	(K)REkPSsNGLAFDV VTKLCSK(Y)

XP_029825830.1	Lysophosphatidylcholine acyltransferase 1 (isoformas X1 e X2)	Aciltransferase/ Transferase	61939.3	(K)LFAENV(R)
XP_029837485.1	LOW QUALITY PROTEIN: mRNA (2'-O-methyladenosine-N(6)-methyltransferase	Fosfoproteína	90254.2	(K)LEASRYK(R)
XP_029826113.1	Myocardin-related transcription factor A isoform X1	Fosfoproteína	126844.4	(R)GWSQLRNLI GAPI GPCAFK(R)
XP_029847170.1	Tether containing UBX domain for GLUT4 isoform X4	Fosfoproteína	59377.3	(M)AtSVSVVVLCPN GR(R)
XP_029833276.1	Serine/arginine repetitive matrix protein 2-like (2)	Fosfoproteína	73099.1	(R)RPVDIR(R)
XP_029836332.1	Squamous cell carcinoma antigen recognized by T-cells (3)	Fosfoproteína	105921.9	(R)TQVsLMPR(A)
XP_029845817.1	General transcription factor IIE subunit 1	TFB1/ Fosfoproteína	45559.1	(K)MLLPLLPsGsRLE K(T)
XP_029829693.1	Rho-associated protein kinase 1 (isoformas X1 - X5)	Fosfoproteína/ AGC Ser/Thr protein kinase	149582.6	(K)ASTLPSR(K)
XP_029834670.1	Trithorax group protein osa (isoformas X1 e X2)	Fosfoproteína/ Glicoproteína	67764.1	(R)DFVQSK(S)
XP_029825033.1	Basic salivary proline-rich protein 2/ putative	Fosfoproteína/ Glicoproteína	67693.0	(K)VVNTSDRPVQVG SHYHFTETSk(Y)
XP_029829864.1	Down syndrome cell adhesion	Fosfoproteína/ Glicoproteína	158072.3	(R)EVSLHVREPPQFk (E)

	molecule homolog, partial			
XP_029842908.1	Dimethylaniline monooxygenase	FMO/ fosfoproteína	60206.5	(R)LGTDGTLTVL DLDSGREFE ETFDSVLVcTGHHAT PSIPKFPGLEK(F)
XP_029831463.1	Tenascin-R	Tenascina/ Fosfoproteína	176829.5	(K)DLFPGQSYK(A)
XP_029826115.1	tRNA dimethylallyltransfe rase/ putative	IPP Transferase	54332.1	(K)LDSLTK(V)
XP_029844096.1	Nicotinamide N- methyltransferase/ putative	NNMT/PNMT/TE MT	34046.4	(K)FILVAR(R)
XP_029840457.1	Nicotinamide N- methyltransferase- like (5)/ putative	NNMT/PNMT/TE MT	32596.9	(K)FILVAR(R)
XP_002402152.1	Tubulin alpha chain (5)	Tubulina	50699.2	(K)VGINYQPPTVVP GGDLAK(V)
XP_029831858.1	Tubulin alpha-1C chain (2)	Tubulina	50470.1	(M)FSKENIPATGR(G)
XP_002406661.1	Tubulin beta chain (3)	Tubulina	50400.6	(R)AILVDLEPGTMD SVR(S)
XP_029843590.1	Tubulin beta-2 chain	Tubulina	21193.0	(K)RktPASAPATPVT PPSASSAR(L)
XP_029836799.1	TNF receptor- associated factor 5 isoform X2/ Putative	TNF receptor- associated factor	40003.4	(R)DSIDVKNKHDLEIL K(G)
XP_029833723.1	G patch domain- containing protein 3 (2)/ putative	MOS2	59914.0	(K)LGLEFPR(S)
XP_029823678.1	Glutamine synthetase/ putative	Glutamina Sintetase	45327.1	(K)VTEVLVR(T)
XP_029851191.1	Rootletin (isoformas X1 - X4)	Rootletina	195271.2	(R)VELEQTR(T)
XP_029832971.1	Lysosomal alpha- glucosidase/ putative	Glicosil Hidrolase 31	98939.9	(R)FVPPVPR(I)

XP_029832905.1	DIS3-like exonuclease 2 (isoformas X1 - X3)	RNR ribonuclease	139058.1	(R)QsPkELQGIAEHC NDKk(F)
XP_029848435.1	L-2-hydroxyglutarate dehydrogenase, mitochondrial/ putative	L2HGDH	52689.5	(R)LDALEEKGIk(N)
XP_029845702.1	Nucleolar protein dao (5)	NOLC1	81029.9	(K)LtPAKTPAKPtPA K(K)
XP_029826054.1	Fasciclin-2 isoform X1	Glicoproteína	96278.2	(K)ELLSGPDEKTR(D)
XP_029838971.1	P2X purinoceptor 7-like (isoformas X1- X9)	Glicoproteína	23926.2	(R)ELHNVVR(M)
XP_029845672.1	Venom metalloproteinase antarease-like TtrivMP_A	Glicoproteína/ Venom metalloproteinase (M12B)	52453.2	(K)kLksFPVDAAK(L)
XP_029850784.1	Vacuolar protein sorting-associated protein 13D (isoformas X1 - X3)	VPS13	483241.0	(K)KQTEMLRkPDG R(R)
XP_029847137.1	Male-specific lethal 3 homolog (isoformas X1 e X2)	MSL-3	57348.1	(K)LPELLVK(M)
XP_029838127.1	Pleckstrin homology-like domain family B member 1 (isoformas X1 - X3)	PHLDA1	136892.9	(R)LCLHVPDIAVNR(L)
XP_029844353.1	Intraflagellar transport protein 27 homolog	Rab	20449.8	(K)ADLKER(H)
XP_029823694.1	Rab GTPase-activating protein 1 (3)	Rab	119127.9	(K)LLIAR(E)
XP_029834164.1	Rab-like protein 2A	Rab	25462.4	(K)SFNFGkKHR(M)

XP_029822151.1	Ecotropic viral integration site 5 ortholog (isoformas X1- X4)	Rab	100419.8	(K)LSNLESQMkEER MNAR(I)
XP_029832405.1	Transient receptor potential cation channel subfamily A member 1 homolog/ secretada	Transient receptor (TC 1.A.4)	131427.9	(K)LLIAR(E)
XP_029832741.1	Gamma-tubulin complex component 6 (isoformas X1 - X3)	TUBGCP	153079.0	(K)LkLRACQHPsSSV VK(-)
XP_029844566.1	HEAT repeat-containing protein 5B (isoformas X1 - X3)	HEATR5	231487.2	(R)VHLRPAIcDKARK (K)
XP_029845098.1	Serine/threonine-protein kinase atr (isoformas X1 - X5)	PI3/PI4-kinase	290766.2	(R)ASEDVIGAAACV LDSEGRVsQLFSR(E)
XP_029849124.1	DNA polymerase theta (isoformas X1 e X2)/ putative	DNA polimerase tipo A	197850.7	(K)LTDkENAAQFFA VRNQG(G)
XP_029850452.1	F-box only protein 21/ putative	Proteína quinase	74599.3	(-))MCEHPSLARNATG LsAALTR(D)
XP_002401020.1	Cyclin-dependent kinase 2 (2)	CKS/ Proteína quinase	34577.7	(R)WEPQSLTK(L)
XP_002435664.2	Glutathione S-transferase omega-1	Omega (GST)	27270.1	(R)tLLMLR(A)
XP_029827316.1	UDP-N-acetylglucosamine--dolichyl-phosphate N-acetylglucosaminephosphotransferase (isoformas X1 e X2)	Glicosiltransferase 4	45612.3	(R)LPRYNAGEDkME VStVR(F)
XP_002399322.2	LOW QUALITY PROTEIN: UDP-	Glicosiltransferase 4	176235.1	(K)IIFVDADQVVVR(A)

	glucose:glycoprotein glucosyltransferase 1			
XP_029845535.1	Alpha-(1,6)-fucosyltransferase, partial	Glicosiltransferase 23	44022.8	(R)SIEKNQNER(N)
XP_029843377.1	Polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 1/putative	Glicosiltransferase 2	71196.7	(K)LLFHINKFNLLVSDk(I)
XP_029849702.1	Glucoside xylosyltransferase 1	Glicosiltransferase 8	38110.2	(R)DQDLFNIVLHDHPDR(V)
XP_029839332.1	ATP synthase subunit beta, mitochondrial	Eukaryotic ATPase B chain	56475.7	(R)GIAELGIYPAVDP LDSTSR(I)
XP_029842018.1	Tigger transposable element-derived protein 6	Tigger transposable element derived protein	57746.0	(K)VHVVPVDWASNK(S)
XP_002400796.2	Mannose-1-phosphate guanyltransferase alpha-B	Transferase hexapeptide repeat	46249.4	(R)HYLELYR(R)
XP_029842158.1	Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit	Toll- like receptor	39841.3	(K)MAVIEDFAFAGLGK(V)
XP_029824756.1	Insulin-like growth factor-binding protein complex acid labile subunit	Toll- like receptor	120727.8	(R)GLGKVDQPIANLTISK(A)
XP_029849148.1	Solute carrier family 22 member 7-like (2)	Proton-dependent oligopeptide transporter (POT/PTR)	64114.1	(R)LDSPLkR(K)
XP_029828174.1	Bifunctional purine biosynthesis protein PURH	PurH	64931.0	(K)ISGVALSSDAFFPFR(D)
XP_029835491.1	Metabotropic glutamate receptor	G-protein coupled receptor 3	100917.2	(R)LEAMLFAIDR(I)

XP_029833545.1	Angiotensin-converting enzyme	Peptidase M2/ Glicoproteína	73107.7	(K)IVADMKGNHAA Ak(I)
XP_029832796.1	Metalloprotease mig-17-like, partial	Peptidase M12	28664.0	(K)NDGYIMAPyTLG K(N)
XP_029822100.1	Membrane metallo- endopeptidase-like 1	Peptidase M13	86449.4	(R)VLDEGHVSPA WR(V)
XP_029849142.1	Probable cytosolic oligopeptidase A	Peptidase M3	83869.8	(R)NLYLVNK(R)
XP_029829156.1	Nepriylsin-1-like	Peptidase M13	85410.9	(K)DINIAtKIAQDIFD FEVNLtk(K)
XP_029831845.1	Nepriylsin-1	Peptidase M13/ Glicoproteína	82746.8	(K)KVDPKSKPAEST R(L)
XP_029832406.1	Serine proteinase stubble	Peptidase S1	45735.3	(R)YILSFPQk(C)
XP_029835059.1	Trypsin-1-like	Peptidase S1	33525.0	(K)STGGPSSPHLLG VSPVISHKicNLTTL R(R)
XP_002413034.2	Atrial natriuretic peptide receptor 1/ putative	Peptidase S1/ Glicoproteína	29829.8	(K)QVLDTFK(T)
XP_029822560.1	Ubiquitin domain- containing protein UBFD1 (isoformas X1 e X2)	Protease/ Peptidase	32667.7	(K)DSLDPVPLsGMV NK(S)
XP_002409735.2	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 6	COG6	68758.8	(K)LNKLLEVRDND R(E)
XP_029827080.1	Exosome complex component RRP4	RRP4	32032.7	(R)SLkYGK(L)
XP_029849140.1	Fatty acid synthase	ELO	274611.4	(R)LkEIGGsAAPQR(A)
XP_029836569.1	Carnitine O- palmitoyltransferase 1, liver (isoformas X1 e X2)	Carnitine/choline acetyltransferase	90997.0	(R)LLYLR(S)
XP_029829995.1	Poly (5)	UPP sintase	268065.5	(K)YRPVQLEK(R)
XP_029840169.1	Multidrug resistance- associated protein 1	ABCC	162973.4	(R)IIEPR(N)

	(isoformas X1 e X2)/ putative			
XP_029837919.1	Regulator of telomere elongation helicase 1 homolog (2)	Helicase	71600.2	(R)LVGkEK(L)
XP_029849117.1	Muscle-specific protein 20	Calponina	20949.4	(K)INTSGGQFK(M)
XP_029838310.1	Potassium voltage-gated channel protein Shaw (isoformas X1 e X2)	Potassium channel	66667.5	(K)IETAttKQLRR(S)
XP_029826499.1	Maleylacetoacetate isomerase-like (class: Arachnida ord: Acari)	Zeta (GST)	25725.4	(R)IDMTPFPTIMRIyC ALMELPAFk(V)
XP_029845777.1	Importin-4 (isoformas X1 e X2)	Importina beta	121218.5	(K)AAYLAMAVIAE GcSEAIR(E)
XP_029834703.1	Choline transporter-like protein 4 (isoformas X1 - X4)	CTL (choline transporter-like)	84598.7	(K)GNKDELR(S)
XP_002414631.2	Histone-lysine N-methyltransferase SETDB1 isoform X2	Fosfoproteína/ Histone-lysine methyltransferase	138315.8	(K)FDERLGyNLVGK (K)
XP_029829491.1	BTB/POZ domain-containing protein 17	Tdpoz	53865.9	(R)ARLNGYRHR(Y)
XP_029834551.1	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 12-like protein (2)	Mediator complex subunit 12	260887.7	(R)FERQPLSQSk(A)
XP_029828921.1	60S ribosomal protein L10	Universal ribosomal protein uL10	26035.0	(K)YLVkTcGKDAFH LR(M)
XP_002399224.1	E3 ubiquitin-protein ligase MARCH8	Transferase	28307.9	(R)VIYVQDAPVPDK (G)

XP_029826893.1	Egalitarian protein homolog	Ribonuclease H	83645.3	(R)FSRDTYSR(M)
XP_029832195.1	SKI family transcriptional corepressor 1 homolog-B-like (2)	SKI	92667.1	(R)LcKsFLTDTPPPK(L)
XP_002408041.2	Transcriptional regulator ATRX-like (2)	SNF2/RAD54 helicase	107719.9	(K)EFTNR(F)
XP_029827132.1	Zinc finger protein 532 (isoformas X1 e X2)	Krueppel C2H2-type zinc-finger	87028.7	(R)RHLSR(R)
XP_029838655.1	Fat storage-inducing transmembrane protein	FIT	37743.6	(R)yRHGSFTQk(E)
XP_029825035.1	tRNA (uracil(54)-C(5))-methyltransferase homolog-B	RNA M5U methyltransferase family	57406.9	(K)RVYKVDQENK(Y)
XP_029844825.1	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 17 (3)	Mediator complex subunit 17 family	70713.5	(K)IDFGK(S)
XP_029822336.1	Glutamate receptor ionotropic, NMDA 3A	Glutamate-gated ion channel (TC 1.A.10.1)	124215.0	(R)ARMPVLAYTGGYLDR(A)
XP_029825806.1	LOW QUALITY PROTEIN: myosin-7-like	Miosina	149285.4	(K)AQLDSLTAQFNAEASRLRTSLTESDR(A)
XP_029844112.1	Endothelial zinc finger protein induced by tumor necrosis factor alpha (isoformas X1 - X13)	Sem família	16350.2	(R)HVKIHTGVRPFQCDVcSR(K)
XP_029843675.1	Centrosomal protein of 135 kDa isoform X2	Sem família	93796.6	(K)LGATSARNTDALPR(T)

XP_029836000.1	IQCJ-SCHIP1 readthrough transcript protein (isoformas X1 - X3)	Sem família	62763.8	(K)kWLPEGK(-)
----------------	---	-------------	---------	---------------

Famílias de proteínas identificadas na saliva do carrapato *A. sculptum* alimentados em cavalos

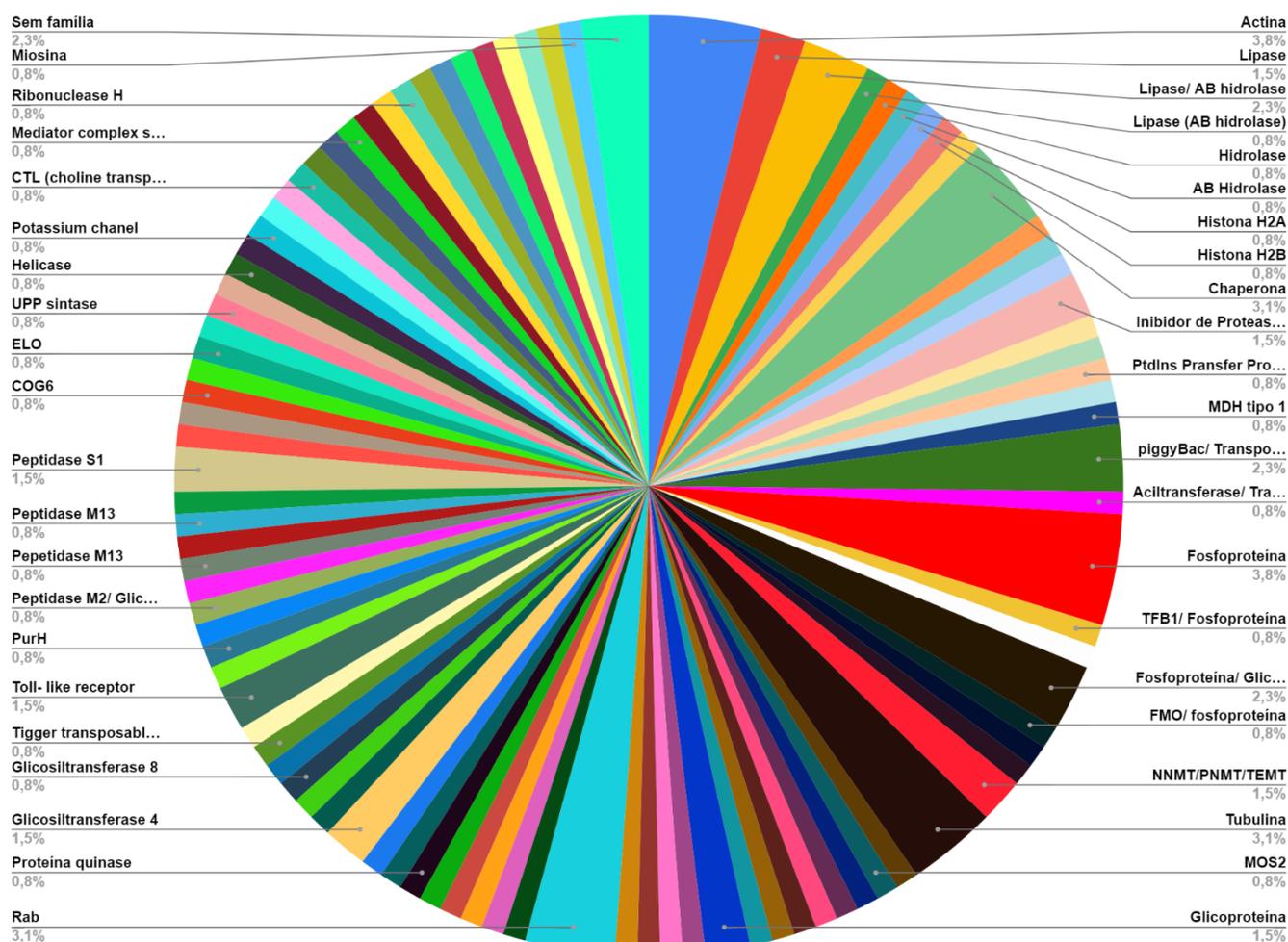


Figura 5 – Principais famílias de proteína de carrapato presentes na saliva de carrapato *Amblyomma sculptum*, alimentados em cavalos. A maior quantidade de proteínas identificadas pertencem à família da Actina e Fosfoproteína (3,8% cada), que estão envolvidas com arranjo do citoesqueleto (Actina) e, principalmente, modulação da resposta imune dos hospedeiro (Fosfoproteína). Uberlândia-MG, 2022.

6.3. Proteínas dos hospedeiros identificadas na saliva dos carrapatos *A. parvum* e *A. sculptum*

Foram identificadas 12 proteínas do coelho na análise proteômica da saliva do carrapato *A. parvum* (Tabela 5). A maior parte das proteínas encontradas foram da família das

Fosfoproteínas (23,1%), seguida das Chaperonas, TRAIP e Receptores de transição, todos com 15,4% de ocorrência e com atuação na resposta imune do hospedeiro.

Tabela 5. Proteínas do coelho identificadas na saliva do carrapato *A. parvum*. Uberlândia-MG, 2022.

Número de Acesso ao Banco de Dados	Nome	Família	Massa Molecular (Da)	Sequência de Peptídeos
XP_029840143.1	E3 ubiquitin-protein ligase TRAIP-like	TRAIP family	42848.4	(R)NLLESkLRSMk(K)
XP_029840150.1	E3 ubiquitin-protein ligase TRAIP-like	TRAIP family	46702.0	(R)NLLESkLRSMk(K)
XP_029826956.1	phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit gamma	Phosphoprotein - PI3K p85 subunit family	88779.9	(R)FLAEAK(E)
XP_029841361.1	interleukin enhancer-binding factor 2	Phosphoprotein	42513.2	(K)VLEEVKAADPALk(V)
XP_029836255.1	transducin beta-like protein 3	Phosphoprotein	88430.8	(K)VLNVEDGk(V)
XP_029838390.1	transducin beta-like protein 3	Phosphoprotein	88454.9	(K)VLNVEDGk(V)
XP_029822890.1	transient receptor potential cation channel subfamily M member 7 isoform X1	transient receptor	175279.5	(K)EVGDAVGAE LGRR(Q)
XP_029822891.1	transient receptor potential cation channel subfamily M member 7 isoform X2	transient receptor	175151.4	(K)EVGDAVGAE LGRR(Q)
XP_002414574.2	dnaJ homolog	Chaperone	28617.9	(R)FLAEAK(E)

	subfamily C member 9			
XP_029824351.1	dnaJ homolog subfamily C member 7	Chaperone	58185.0	(R)ALLHHPDR(H)
XP_002413575.2	unconventional prefoldin RPB5 interactor	RNA polymerase II subunit 5-mediating protein family	38699.4	(R)LRESQQKGL QSCDAK(L)
XP_002405898.2	histone H4 transcription factor	Histone	56597.6	(R)THVLFHAFHT K(I)

Com relação à análise proteômica da saliva do carrapato *A. sculptum*, foram identificadas seis proteínas (1,72%) pertencentes ao hospedeiro vertebrado cavalo e apenas 03 (2,83%) do hospedeiro coelho (Tabela 6). Assim como nas proteínas encontradas na saliva do *A. parvum*, algumas das proteínas encontradas na saliva do *A. sculptum* pertencentes aos hospedeiros estão também relacionadas e envolvidas com a resposta imune dos hospedeiros, como a Hydroxyacid-oxoacid transhydrogenase, mitochondrial e o Transcription factor IIIB 90 kDa subunit, de carrapatos alimentados em cavalos, e o Potenciador de polycomb homólogo 1, dos *A. sculptum* alimentados em coelhos.

Tabela 6. Proteínas identificadas na saliva do carrapato *A. sculptum* derivadas de ambos os hospedeiros.

Acesso ao Banco de Dados	Nome	Família	MW Proteína (Da)	Sequência Peptídica
Proteínas de <i>A. sculptum</i> alimentados em cavalo				
XP_029835123.1	DNA polymerase subunit gamma-1	DNA polimerase tipo A	124874.7	(K)GHtVVETQTDKG DLER(G)

XP_029830035 .1	Transcription factor IIIB 90 kDa subunit (isoformas X1 - X6)	Fosfoproteína	82023.4	(K)MLQEkkISNk(I)
XP_029842760 .1	Hydroxyacid-oxoacid transhydrogenase, mitochondrial	Fosfoproteína	51980.3	(R)VTkLSPR(S)
XP_029823642 .1	POU domain, class 4, transcription factor 3	POU transcription factor	44360.8	(K)QPSSMPLPPLGG AAAAAAGtCFSGR(Y)
XP_029839184 .1	Inhibitory POU protein	POU transcription factor	36266.9	(R)IQDLFPSDNLR(L)
XP_029841396 .1	DNA topoisomerase 2-alpha	Eukaryotic ribosomal protein eL41	177904.3	(K)RKAYMLGLLTAE Ak(R)
Proteínas de <i>A. sculptum</i> alimentados em coelho				
XP_029829755.1	Potenciador de polycomb homólogo 1	Fosfoproteína	85893.2	(K)GSGQQVVtL NEAk(T)
XP_029826663.1	Provável RNA polimerase 1 dependente de RNA	Transferase	126743.3	(R)TWMGDFsG IPNIAk(K)
XP_029832731.1	PROTEÍNA DE BAIXA QUALIDADE: provável RNA helicase DDX43 dependente de ATP	Helicase	77015.3	(R)EERTGPSCL VLAPtR(E)

7. DISCUSSÃO

A primeira descrição de mRNAs e proteínas salivares de carrapatos em 2002 ocorreu em *Ixodes scapularis* e sugeriu presença de componentes salivares que subvertiam diversos mecanismos imunológicos do hospedeiro e a de famílias de proteínas multigênicas (VALENZUELA et al, 2002). As mesmas famílias de proteínas foram posteriormente identificadas em outras espécies de carrapatos e o termo "sialome" (do grego sialo = saliva) foi introduzido para descrever abordagens de alto rendimento para identificar centenas de genes e proteínas transcritos expressos em carrapatos salivares glândulas (MARTINS et al., 2020).

Através da abordagem proteômica utilizada neste trabalho, pode-se obter pela primeira vez, a análise proteômica da saliva do carrapato *A. parvum*; além de em parâmetro comparativo da análise proteômica da saliva do carrapato *A. sculptum* alimentado em coelhos e em cavalos. Pode-se observar a variedade de proteínas presentes em todas as análises e a diferença marcante na diversidade entre a saliva de uma mesma espécie de carrapato, *A. sculptum* quando alimentados em hospedeiros diferentes. Nos carrapatos alimentados em coelhos foram obtidos um total de 106 registros, enquanto nos alimentados em cavalos, foram obtidos 347. Além disso, de todas as proteínas identificadas, apenas três foram encontradas simultaneamente nas duas amostras, a tRNA dimethylallyltransferase (ligação de ácidos nucleicos), a membrane metallo-endopeptidase-like 1 (atividade de metaloendopeptidase) e a venom metalloproteinase antarease-like TtrivMP_A (atua como metaloprotease), sendo que todas as outras foram particulares a cada uma das salivas derivadas da alimentação em mamíferos diferentes.

Duas proteínas presentes em ambas as amostras de *A. sculptum* possuem um papel importante no desenvolvimento e sobrevivência do carrapato: a tRNA dimethylallyltransferase, uma classe de pequenas quinases solúveis envolvidas na biossíntese de precursores de nucleotídeos para ácidos nucleicos (XIE et al., 2007), e a membrane metallo-endopeptidase-like 1, que pode apresentar um papel importante no sucesso da alimentação do carrapato, mediado por complexas interações moleculares entre os processos imunológico, inflamatório e hemostático do hospedeiro (PERNER et al., 2020). De acordo com Fletcher et al. (2010), a proteína veneno metalloproteinase antarease-like na saliva do *A. sculptum* (ambos os hospedeiros), é ortólogo ao do escorpião brasileiro *Tityus serrulatus*, além de atuar como metaloprotease, penetra no tecido intacto e cliva especificamente a proteína 2 da membrana associada à vesícula (VAMP2) (parte do complexo SNARE) envolvida na secreção pancreática, interrompendo assim o tráfego vesicular normal. Sua função nos carrapatos é ainda desconhecida.

Garcia et al. (2014), relata que quase todas as famílias de transcritos obtidos de *A. cajennense*, alimentados em coelhos, tiveram expressão mais baixa em comparação com as outras bibliotecas, sugerindo que a quantidade e o conteúdo das proteínas produzidas pelas glândulas salivares exibidos nos perfis de transcrição dependem da espécie do carrapato e do estágio de vida, bem como do hospedeiro.

Na maior parte dos animais, a estrutura bioquímica do grupo heme faz parte da constituição dos citocromos presentes nos complexos II, III e IV da cadeia respiratória mitocondrial, responsável pela principal forma de produção de energia em sistemas biológicos, denominada fosforilação oxidativa (LUDWIG et al., 2001). Assim como no presente estudo, em carrapatos ixodídeos não foram encontradas muitas das enzimas responsáveis pela síntese do grupo heme, portanto, esses carrapatos são incapazes de sintetizar seu próprio heme, adquirindo essa molécula do hospedeiro por meio da alimentação (PERNER et al., 2016). Vitelogenina é uma proteína que se liga e sequestra o grupo heme e é responsável pelo transporte dessa molécula para tecidos periféricos do carrapato (HAJDUSEK et al., 2016). Além disso, a vitelogenina é a proteína precursora da vitelina, principal proteína do ovo, utilizada para o armazenamento de energia necessária à maturação e embriogênese dos ovócitos (BOLDBAATAR et al., 2010). Em carrapatos ixodídeos, a vitelogenina é sintetizada, principalmente, no “fat body” (JAMES et al., 1999). Após sintetizada, a vitelogenina é liberada para a hemolinfa e distribuída para todo o corpo do carrapato. Os hormônios ecdiesteróides são responsáveis pela regulação da expressão gênica da vitelogenina e sua secreção para a hemolinfa (THOMPSON et al., 2005). Há indícios que o repasto sanguíneo estimula o aumento da produção de hormônios ecdiesteróides em argásídeos, o que culmina com o aumento da produção de vitelogenina, induzindo a maturação e ovoposição de ovos em fêmeas desse grupo de carrapatos (OGIHARA et al., 2007). Em carrapatos da espécie *I. ricinus* o nível de expressão gênica para vitelogenina nas glândulas salivares foi aumentado de quatro a cinco vezes em fêmeas totalmente ingurgitadas (HAJDUSEK et al., 2016). Tendo em vista os relatos encontrados, é sugerido que uma das funções das vitelogeninas nas glândulas salivares seja o fornecimento do grupo heme para a manutenção do funcionamento da fosforilação oxidativa, fornecendo energia para esses órgãos. Outra hipótese seria a contaminação de glândulas salivares com partes do intestino durante a dissecação dos órgãos, o que pode ser refutado pela presença dessa proteína na saliva de carrapatos da espécie *Ornithodoros molbata* (DIAZ-MARTIN et al., 2013) e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (TIRLONI et al., 2014). Devido aos relatos de secreção salivar da vitelogenina por carrapatos, sugere-se que essa proteína possa desempenhar outras funções no hospedeiro, não esclarecidas até o momento.

Do total de proteínas identificadas neste trabalho 17% foram classificadas como proteínas não caracterizadas. Formada por um conjunto de proteínas que contém sítio de peptídeo sinal e outras características, a função destas proteínas permanece desconhecida, com poucos relatos sobre elas (KARIM et al., 2011). De forma similar, Díaz-Martín et al. (2013) encontraram duas proteínas secretadas com função desconhecida em glândulas salivares de machos de *O. moubata*, não tendo realizado a correlação do achado com a função da proteína.

Dentre o grupo das enzimas na saliva dos carrapatos em nosso estudo foram identificadas metiltransferases, peptidases e serinoproteases. A atividade destas enzimas é de grande importância para hematofagia do carrapato, inibindo a hemostasia no local da picada do carrapato e permitindo o livre aporte sanguíneo (FRANCISCHETTI et al., 2010; ALI et al., 2015). Tan et al. (2015) identificaram transcritos de metaloproteases mais abundantes na saliva de machos de *Rhipicephalus pulchellus*. Garcia et al. (2014) observaram um maior número de transcritos para metaloproteases em relação aos das outras enzimas identificadas em glândulas salivares de fêmeas de *A. cajennense*. Gobl et al. (2020) identificou e caracterizou funcionalmente o ortólogo da enzima metiltransferase de ligação de S-adenosilmetionina (SAM), *O. moubata*, um carrapato vetor do patógeno da febre recorrente causada por *Borrelia duttonii* e o vírus da febre suína africana. Segundo o autor, esta enzima desempenha de um papel essencial na regulação da muda larval e na alimentação das ninfas de segundo estágio de *O. moubata*.

Os inibidores de peptidase têm um papel crucial no parasitismo do carrapato por interferir com as peptidases relacionadas com mecanismos de defesa do hospedeiro, além de colaborar na transmissão de patógenos (PARIZI et al., 2018). No entanto, apesar de um pequeno número de enzimas secretadas identificadas, observamos a ocorrência frequente dessas enzimas, tanto nas análises da saliva do *A. sculptum* (alimentados em coelhos e cavalos) quanto do *A. parvum*.

A proteína 11 contendo o domínio de desintegrina e metaloprotease, outra molécula de glicoproteína identificada na saliva de *A. parvum*, é um membro da família de proteínas ADAM (uma desintegrina e metaloprotease). Os membros desta família são proteínas ancoradas na membrana estruturalmente relacionadas a desintegrinas de veneno de cobra e têm sido implicadas em uma variedade de processos biológicos envolvendo interações célula-célula e célula-matriz, incluindo fertilização, desenvolvimento muscular e neurogênese (SAGANE et al., 1998). A pré-proteína codificada é processada proteoliticamente para gerar a protease madura. Este gene representa um gene supressor de tumor candidato para câncer de mama humano com base em sua localização dentro de uma região mínima do cromossomo 17q21

previamente definida por mapeamento de deleção tumoral (KATAGIRI et al, 1995). Em Sousa et al. (2018), foi demonstrado o efeito antineoplásico da saliva de *A. parvum* em células tumorais de mama humanas, apresentando a possibilidade de que uma das proteínas descritas na presente pesquisa seja a responsável por esse efeito.

Através de várias análises transcriptômicas, Chmelar et al. (2015) verificaram que a classe de proteínas contendo domínio inibidor de proteinase como a maior família multigênica já identificada e descrita no sialoma dos carrapatos. Entre as várias e mais importantes substâncias já detectadas e caracterizadas, os inibidores de protease (ou peptidase) desempenham muitos papéis vitais nos carrapatos. Em nosso estudo, esses inibidores foram as proteínas identificadas em maior quantidade na saliva do *A. parvum*, também presentes na saliva do *A. sculptum* alimentados em cavalo. A expressão dessas moléculas nos tecidos sugere que eles estão envolvidos em várias vias biológicas importantes, incluindo imunidade inata, coagulação da hemolinfa, absorção de sangue, digestão e oviposição e postura de ovos (SCHWARZ et al., 2012). Na interface carrapato-hospedeiro, dado que as defesas do hospedeiro são predominantemente mediadas por cascatas de protease, os inibidores de protease do carrapato atuam para se evadir das reações do hospedeiro e facilitar o fluxo sanguíneo (SCHWARZ et al., 2012). Dentre os inibidores de protease identificados na saliva do *A. parvum*, destacamos a alfa-1-macroglobulina e isoformas (X1 a X10), que é uma lipocalina com propriedades imunossupressoras, e alfa-2-macroglobulina-like proteína 1 (isoformas X3 e X4) pertencente a alfa-2 -família da macroglobulina, que está intimamente relacionada à sobrevivência e transmissão de patógenos (MULENGA et al., 2003). Também foi identificada nesta análise da saliva de *A. parvum*, a ubiquitina hidrolase 24 do terminal carboxila (e isoformas X1 e X2), sugerindo um sistema de ubiquitinação completo e potencialmente funcional. A dipeptidil peptidase 3 pode participar da preservação da via hemoglobinolítica ao longo do período de alimentação do sangue, conforme descrito em Franza et al. (2010). Além disso, os inibidores da peptidase do carrapato apresentam funções como anti-hemostática, anti-inflamatória e imunomoduladora (FRANCISCHETTI et al., 2009; MANS, 2011). Essas substâncias foram encontradas entre as 82 famílias de inibidores de peptidase reconhecidos (PARIZI et al., 2017). Além das já citadas, dentre os representantes dessa família que identificamos neste trabalho, destacamos os inibidores de protease I39 (alpha-2-macroglobulin), presentes na saliva do carrapato *A. parvum* e do *A. sculptum* alimentado em cavalo. As moléculas descritas como sendo da família de proteínas com inibidor de proteases possuem, em sua maioria, função anti-hemostática e imunossupressora, das quais as serpinas e proteínas com domínio Kunitz ou TIL atuam como anticoagulantes, com as cistatinas atuando como anti-

inflamatório (CHMELAR et al., 2015). Tirlone et al. (2014) encontraram serpinas, Kunitz, TIL e cistatinas mais abundantes em fêmeas de *R. microplus*, parcialmente ingurgitadas. Porter et al. (2017) encontraram 1.595 sequências não redundantes de inibidores de proteases (IPs) putativas em 26 espécies de carrapatos ixodídeos, concluindo que os carrapatos parecem expressar repertórios grandes e diversos de IPs que visam principalmente as vias mediadas por serina protease, sendo que IPs altamente conservados podem atuar como candidatos potenciais para a vacina anti-carrapato de amplo espectro no controle de carrapatos (PORTER et al., 2017).

Proteínas associadas com o citoesqueleto foram detectadas apenas na saliva de carrapatos *A. sculptum* alimentados em cavalos. Há indícios que proteínas do citoesqueleto podem estar envolvidas com outras funções, além da contração muscular (LEAL et al., 2013; TIRLONI et al., 2015). Um exemplo é a proteína troponina I-like ter sido classificada como um potente inibidor de angiogênese (FUKUMOTO et al., 2006). Na análise proteômica da saliva de fêmeas e ninfas de *Haemaphysalis longicornis* também foi relatado a presença de diversas proteínas vinculadas com a estrutura celular, tais como: actina, tubulina, paramiosina, dentre outras, que também foram encontrados na saliva de *A. sculptum*, alimentados em cavalos desta pesquisa. Os autores do trabalho anterior discutem que a presença dessas proteínas na saliva de carrapatos é um indicativo que as mesmas desempenham outros papéis na fisiologia desse ácaro, diferentes da função estrutural (TIRLONI et al., 2015).

Algumas proteínas vinculadas com a maquinaria de modificação proteica também foram detectadas, mas apenas na saliva de fêmeas *A. sculptum* quando alimentadas em cavalos. As “heat shock proteins (HSPs)” executam muitas funções celulares e ajudam células a resistir a muitos tipos de estresse, como alta temperatura e estresse oxidativo. Além disso, como chaperonas moleculares, mantêm proteínas não dobradas em um estado solúvel competente para dobramento até a intervenção de HSPs de alto peso molecular para o redobramento subsequente de uma maneira dependente de ATP. Contribuem assim em outros processos celulares importantes, particularmente na formação e ativação da resposta imune dos mamíferos (SHAHEIN et al., 2010). Por esses papéis e a suprarregulação específica de um sHSP salivar do carrapato *I. scapularis* durante o ingurgitamento denominado FTSP-5 as HSPs são consideradas candidatas a vacinas anti-carrapatos (BUSBY et al., 2012).

Outra proteína interessante encontrada, a carboxipeptidase D (isoformas X1 e X2) identificada na saliva de *A. parvum* pode desempenhar função semelhante às demonstradas pelo grupo identificado como Inibidor da Carboxipeptidase do Carrapato (TCI), no carrapato ixodídeo *Rhipicephalus bursa* (AROLAS et al., 2005). Esse TCI recombinante estimula a fibrinólise in vitro e, portanto, pode ter potencial para aplicações na prevenção ou tratamento de

distúrbios trombóticos (WANG et al., 1998). Além disso, a TCI pode modular os mecanismos de defesa do hospedeiro durante a infecção parasitária por meio de processos inflamatórios (BAJZAR et al., 2004).

Uma molécula relevante identificada em nosso trabalho pertence à família de proteínas beta-cateninas. Alinhamentos múltiplos demonstram que a α -catenina é conservada molecularmente entre espécies de carrapatos e outros artrópodes, bem como em humanos (SUNYAKUMTHORN et al., 2012). Consistente com outros organismos, as características da sequência de aminoácidos deduzida mostram homologia com a proteína vinculina, contendo α - catenina - dimerização, domínio de ligação β - catenina e o domínio de ligação à actina (POKUTTA et al., 2008). A natureza conservada da molécula sugere função homóloga na estrutura celular dos carrapatos (SUNYAKUMTHORN et al., 2012). Em nosso estudo, identificamos a presença de catenina delta-2 (isoformas X2, X3 e X4) na saliva de *A. parvum*. Essa molécula ainda precisa ser mais investigada sobre sua função nos carrapatos. No entanto, sabe-se que a alfa-catenina é uma proteína do citoesqueleto que atua como reguladora do rearranjo da actina, formando um complexo de adesão E-caderina. Em *Dermacentor variabilis*, uma α -catenina putativa (Dv α -catenina) foi previamente identificada como diferencialmente regulada em ovários de carrapatos cronicamente infectados com *Rickettsia montanensis* (SUNYAKUMTHORN et al., 2012). Outra catenina identificada foi a proteína de repetição de armadillo deletada na síndrome velo-cardio-facial (e isoformas). As proteínas de repetição de armadillo (ARM) formam uma grande família com funções diversas e fundamentais em muitos eucariotos. A estrutura das repetições ARM permite que as proteínas que as contêm sejam funcionalmente muito versáteis (TEWARI et al., 2010). Em carrapatos, essa proteína foi identificada no genoma do carrapato *I. scapularis*, e sua função foi designada como interagir seletivamente e não covalentemente com a caderina, uma proteína de membrana do tipo I envolvida na adesão celular (<https://www.uniprot.org/uniprot/B7QNP2>).

As glicoproteínas, um dos componentes presentes em todas as células eucarióticas, estão frequentemente presentes na superfície das células, onde funcionam como proteínas na membrana plasmática ou como parte da matriz extracelular. Essas glicoproteínas de superfície celular desempenham um papel crítico nas interações célula-célula e nos mecanismos de infecção por bactérias e vírus. Podem ter função estrutural, enzimática, lubrificante e hormonal (NEELAKANTA et al., 2010). Na análise proteômica realizada neste trabalho, foram encontradas diferentes moléculas pertencentes a essa classe proteica, em todos os tipos de saliva testados. Por se tratar de uma molécula que desempenha diversas funções no organismo, diversas substâncias pertencentes a esta família relacionados a carrapatos já foram identificados.

Por exemplo, uma glicoproteína anticongelante *I. scapularis*, conhecida como IAFGP, foi identificada pelo pesquisador Neelakanta e colaboradores (2010), e foi demonstrada por meio de estudos de knockdown de RNAi a importância do IAFGP para a sobrevivência de carrapatos *I. scapularis* em ambiente frio. Outra glicoproteína relevante é um antígeno, BMA7, isolado do carrapato *R. microplus* e que induz imunidade parcial contra a infestação por carrapatos. Este antígeno é uma glicoproteína de 63 kDa isolada de carrapatos fêmeas adultas semi-ingurgitadas e é amplamente utilizado na pesquisa e produção de vacinas contra esta espécie de carrapato (MCKENNA et al., 1998). Na saliva de *A. parvum*, outra molécula do grande grupo de glicoproteínas encontrada foi a proteína 1 contendo o domínio A da classe A do receptor MAM e LDL, um receptor transmembrana helicoidal que contém pelo menos um domínio semelhante ao EGF, encontrado na sequência de fator de crescimento epidérmico (EGF), que pode estar envolvido no metabolismo lipídico após alimentação com sangue em carrapatos *Dermacentor marginatus* (HU et al., 2020).

Outras proteínas identificadas na saliva de *A. parvum* são muito semelhantes às aquelas de diferentes espécies de carrapatos. É o caso da sulfotransferase 1C2-like (família das transferases), que pode ter a mesma função que Ixosc Sult 1 e Sult 2 nas glândulas salivares do carrapato *I. scapularis*. Essas proteínas podem incluir a inativação do sinal de salivação via sulfonação de dopamina ou octopamina ou outra função (PICHU et al., 2011).

Um achado interessante em nossa pesquisa diz respeito à espectrina eritrocitária. A espectrina eritrocitária é um heterodímero composto por uma subunidade α de 280 kDa e uma subunidade β de 246 kDa associada em uma configuração lado a lado antiparalela para formar uma estrutura semelhante a uma haste de 100 nm. A espectrina em outros tecidos pode ser composta de subunidades α e β distintas, mas homólogas, e às vezes é chamada de fodrin (BENNETT & BAINES, 2001). Nossos resultados identificaram a cadeia beta da espectrina (isoformas X1 a X7) na saliva de *A. parvum*. Em células do intestino médio de *I. scapularis*, a regulação positiva da cadeia alfa de Spectrin ou Alfa-fodrin em resposta à infecção resulta na remodelação do citoesqueleto que é usada por *A. phagocytophilum* para facilitar a infecção (AYLLÓN et al., 2013). Embora não funcionalmente caracterizada, uma análise proteômica nas glândulas salivares do carrapato *I. ricinus* mostrou a sub-representação das proteínas do citoesqueleto em resposta à infecção por *Borrelia*, sugerindo que algumas cepas de *Borrelia* promovem um rearranjo do citoesqueleto em carrapatos (COTTÉ et al., 2014).

Além das famílias e proteínas já relatadas, um representante da família SPATA6 encontrada na análise proteômica do carrapato *A. parvum* foi a proteína 20 associada à espermatogênese (isoformas X1 a X5). No transcriptoma do singanglion feminino do carrapato

I. scapularis, realizado por Egekwu et al. (2014), o exame da sequência para a proteína associada à espermatogênese revelou que ela continha um domínio também encontrado na família de proteínas SSP411, comumente encontrada em espermátides e sugerindo uma função na regulação da fertilidade (EGEKWU et al., 2014).

A proteína D1 encontrada na saliva do *A. parvum* nesta pesquisa também foi identificada e caracterizada nas glândulas salivares (SG) de *I. scapularis* como receptor de dopamina (DA). Dentre os neurotransmissores / moduladores, o DA estimula diretamente a secreção salivar no SG isolado, provavelmente por meio do receptor do tipo D1 no hospedeiro vertebrado (ŠIMO et al., 2011).

Chaperonas identificadas, como a dnaJ homólogo da subfamília C membro 9, responsável pela expressão dos genes da proteína de choque térmico em respostas ao estresse de insetos (CHEN et al., 2019), também foram encontradas em nossa análise, tanto na saliva do *A. parvum* quanto na saliva do *A. sculptum* alimentados em coelho. Da mesma família também identificamos os membros 7 e 30 da subfamília C do homólogo dnaJ, que atua como co-chaperona regulando as chaperonas moleculares HSP70 e HSP90 no dobramento de receptores de esteróides, como o receptor de glicocorticóide e o receptor de progesterona. Propostos para atuar como um acompanhante de reciclagem, facilitam o retorno de substratos de acompanhante para os estágios iniciais de acompanhamento, quando necessário dobrar mais. In vitro, induz a dissociação independente de ATP de HSP90, mas não de HSP70 dos complexos chaperona-substrato. Recruta NR1I3 para o citoplasma (por similaridade) e também atua na regulação da resposta celular ao calor e é recrutador de anticorpos em mamíferos (SHEN et al., 2002).

HOSPEDEIRO

É importante destacar que, além das proteínas do carrapato, proteínas do hospedeiro também foram encontradas na saliva tanto do *A. sculptum* quanto do *A. parvum*. Identificamos treze proteínas na saliva do carrapato *A. parvum* derivadas do hospedeiro coelho, e nove na saliva do *A. sculptum*, sendo seis do hospedeiro cavalo e três do hospedeiro coelho. Encontrada nesta análise na saliva do *A. parvum* e derivada do hospedeiro coelho, a E3 ubiquitina-proteína ligase TRAIIP-like, pode atuar como um regulador negativo da sinalização imune inata, inibindo a ativação de NF-kappa-B mediada por TNF e pode participar na ativação do recrutamento do hospedeiro defesa contra a presença do parasita (ZHANG et al., 2012).

Outra proteína de coelho na saliva do carrapato *A. parvum*, Fosfatidilinositol (PI) -3-quinase, é necessária para a ativação e degranulação dos mastócitos (LAM et al., 2008). Além

das proteínas que participam da resposta imune do hospedeiro já mencionadas, também encontramos em nossa pesquisa na saliva de *A. parvum* quando alimentado em coelhos a proteína fator de ligação ao intensificador de interleucina 2, um complexo heterodimérico com ILF3. Este complexo pode regular a transcrição do gene IL2 durante a ativação das células T. Ele também pode promover a formação de complexos de holoenzima de proteína quinase dependente de DNA no DNA, sendo essencial para o remanejamento eficiente de ILF3 (isoforma 1 e isoforma 2) no núcleo e degranulação de neutrófilos (HARASHIMA et al., 2010).

A proteína 3 semelhante à transducina beta encontrada na saliva do *A. parvum* alimentado em coelho, muito semelhante à P40 do carrapato *I. scapularis*, e à proteína semelhante à transducina beta 2 de várias espécies animais, incluindo mamíferos, é encontrada em várias proteínas eucarióticas. Esta proteína está envolvida em diversas funções, incluindo processamento de pré-mRNA, transdução de sinal, montagem do citoesqueleto e controle do ciclo celular (SCHUIJT et al., 2011).

Praticamente todas as proteínas do hospedeiro encontradas na saliva do carrapato *A. parvum* em nosso estudo tinham funções relacionadas à resposta imune do hospedeiro, como o potencial do receptor transitório (TRP), canais iônicos como o TRPM8 (e família 1 a 8), que são essenciais para a supressão da inflamação por icilina, um potente agonista do canal TRPM8, em modelos de colite em camundongos (RAMACHANDRAN et al., 2013). A inibição dos canais TRPA1 também pode suprimir as respostas inflamatórias, conforme observado em modelos animais de asma, dermatite, artrite e outras condições inflamatórias. A analgesia mediada por canais TRPM8 provavelmente envolve a ativação de circuitos inibitórios centrais ativados por entrada de neurônios periféricos expressando canais TRPM8 (CACERES et al., 2017). Identificamos na saliva de *A. parvum* a proteína do hospedeiro coelho o receptor transiente potencial canal catiônico subfamília M membro 7 (isoforma X1 e X2), possivelmente envolvida nos processos de inflamação e analgesia como em outros membros de sua família (NILIUS, 2012).

O fator de transcrição da histona H4 que foi identificado na saliva do carrapato *A. parvum* alimentado em coelho pode estar envolvido na proteção antimicrobiana presente sob a pele do hospedeiro, pois segundo Boeuf et al. (2019), a Histona H4 pode estar associada a outras moléculas que modulam sua atividade antimicrobiana, tanto na pele do hospedeiro quanto nas glândulas salivares do carrapato.

Embora as informações aqui reunidas sobre as funções e a atividade dinâmica das proteínas da saliva dos carrapatos *A. parvum* e *A. sculptum* sejam apenas um arranhão na superfície do conhecimento, o conjunto de proteínas descoberto em um sialoma de *A. parvum*

ressalta a capacidade desse carrapato para o parasitismo. Esta espécie de carrapato tem uma ampla gama de hospedeiros, conforme determinado experimentalmente (OLEGÁRIO et al., 2011) e em ambientes naturais (PEREIRA et al., 2000; SZABÓ et al., 2007) e seu sialoma deve ser muito eficaz contra a diversidade de reações do hospedeiro. Essa característica do carrapato *A. parvum* foi cabalmente demonstrado no perfil proteico da saliva do *A. sculptum*. A identificação de um espectro de proteínas diferente na saliva de *A. sculptum* quando alimentado em cavalo ou coelho demonstra a flexibilidade, dinamismo e capacidade adaptação deste parasito às condições variáveis enfrentadas no período parasitário. Além do seu significado biológico para o carrapato, esta observação ressalta o cuidado a ser tomado nas interpretações sobre o sialoma obtido em condições artificiais (de carrapatos de colônias de laboratório). Em nosso caso deve-se considerar não apenas a diferença de espécies de hospedeiro, mas também o perfil imune destes; coelhos eram sempre primo-infestados enquanto a saliva de carrapatos coletados de equinos era de hospedeiros em exposição contínua e, portanto, sensibilizados por infestações anteriores. O estudo do sialoma de carrapatos parasitando hospedeiros de espécies diferentes e com sensibilização variável, poderá revelar mais sobre esta plasticidade na composição salivar, um melhor entendimento da ecologia desses ectoparasitas além de permitir a caracterização de novas moléculas, possíveis ferramentas biológicas na formulação de vacina e compostos farmacológicos de interesse para a saúde pública e animal.

8. CONCLUSÃO

Extraímos e identificamos por espectrometria de massa (LC-MS/MS) 130 proteínas de *A. parvum* e um total de 453 proteínas de *A. sculptum*, amplamente distribuídas nos em diferentes grupos, em conformidade com a complexidade de sialomas de outros carrapatos ixodídeos. A presença de proteínas ou suas isoformas em carrapatos *A. sculptum* diversa se alimentada em coelho ou cavalo sugere uma secreção salivar específica para o hospedeiro parasitado e seu estado imune. As diferentes abordagens utilizadas na separação das proteínas, aquisição de espectros de massa e análise de dados possibilitaram a identificação e caracterização de um significativo número de proteínas possíveis alvos para candidatos vacinais e/ou moléculas farmacologicamente ativas.

REFERÊNCIAS

ALARCON-CHAIDEZ, F.J.; SUN, J.; WIKEL, S.K. Transcriptome analysis of the salivary glands of *Dermacentor andersoni* Stiles (Acari: Ixodidae). *Insect Biochem. Molec.*, 37:48-71, 2007.

ALI, A.; KHAN, S.; ALI, I.; KARIM, S.; VAZ JR, I.S.; TERMIGNONI, C. Probing the functional role of tick metalloproteases. *Physiological Entomology*, 40:177-188, 2015.

ALJAMALI, M. N. et al. Transcriptome analysis of the salivary glands of the female tick *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Insect molecular biology*, v. 18, n. 2, p. 129-154, 2009.

ANATRIELLO, E.; RIBEIRO, J.M.C.; MIRANDA-SANTOS, I.K.F.; BRANDÃO, L.G.; ANDERSON, J.M.; VALENZUELA, J.G.; MARUYAMA, S.R.; SILVA, J.S.; FERREIRA, B.R. An insight into the sialotranscriptome of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *BMC Genomics*, 11(450):1-17, 2010.

ARCÀ, B.; LOMBARDO, F.; VALENZUELA, J.G.; FRANCISCHETTI, I.M.; MARINOTTI, O.; COLUZZI, M.; RIBEIRO, J.M. An updated catalogue of salivary gland transcripts in the adult female mosquito, *Anopheles gambiae*. *J Exp Biol.* 2005 Oct;208(Pt 20):3971-86. doi: 10.1242/jeb.01849. PMID: 16215223.

AROLAS, J. L.; LORENZO, J.; ROVIRA, A.; CASTELLA, J.; AVILES, F. X.; SOMMERHOFF, C. P. A carboxypeptidase inhibitor from the tick *Rhipicephalus bursa*. Isolation, cDNA cloning, recombinant expression, and characterization. *J. Biol. Chem.*, 280, pp. 3441-3448, 2005.

ASSUMPÇÃO, T.C.; FRANCISCHETTI, I.M.; ANDERSEN, J.F.; SCHWARZ, A.; SANTANA, J.M.; RIBEIRO, J.M. An insight into the sialome of the blood-sucking bug *Triatoma infestans*, a vector of Chagas' disease. *Insect Biochem Mol Biol.* 2008 Feb;38(2):213-32. doi: 10.1016/j.ibmb.2007.11.001. Epub 2007 Nov 17. PMID: 18207082; PMCID: PMC2262853.

AYLLÓN, N.; VILLAR, M.; BUSBY, A. T.; KOCAN, K. M.; BLOUIN, E.; BONZÓN-KULICHENKO, E. F., et al. *Anaplasma phagocytophilum* inhibits apoptosis and promotes cytoskeleton rearrangement for infection of tick cells. *Infect. Immun.* 81, 2415–2425, 2013. doi: 10.1128/IAI.00194-13.

BAJZAR, L.; JAIN, N.; WANG, P.; WALKER, J. B. Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor: not just an inhibitor of fibrinolysis *Crit. Care Med.*, 32, pp. S320-S324, 2004.

BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 223p. 2006.

BATISTA, I. F.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A. M.; FARIA, F.; SIMONS, S. M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; ... & JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L. Expressed sequence tags (ESTs) from the salivary glands of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Toxicon*, 51(5), 823-834, 2008.

BENNETT, V.; BAINES, A. J. Spectrin and ankyrin-based pathways: metazoan inventions for integrating cells into tissues. *Physiol Rev.*; 81(3):1353-92, 2001. doi: 10.1152/physrev.2001.81.3.1353. PMID: 11427698.

BINNINGTON, K. C. Sequential changes in salivary gland structure during attachment and feeding of the cattle tick, *Boophilus microplus*. International journal for parasitology, v. 8, n. 2, p. 97-115, 1978.

BINNINGTON, K. C.; KEMP, D. H. Role of tick salivary glands in feeding and disease transmission. Advances in Parasitology, v. 18, p. 315-339, 1980.

BOLDBAATAR, D.; UMEMIYA-SHIRAFUJI, R.; LIAO, M.; TANAKA, T.; XUAN, X.; FUJISAKI, K. Multiple vitellogenins from the *Haemaphysalis longicornis* tick are crucial for ovarian development. Journal of Insect Physiology, 56:1587-1598, 2010.

BOWMAN, A. S., COONS, L. B., NEEDHAM, G. R., & SAUER, J. R. Tick saliva: recent advances and implications for vector competence. *Medical and veterinary entomology*, 11(3), 277-285, 1997.

BOWMAN, A.S.; SAUER, J.R. Tick salivary glands: function, physiology and future. Parasitology., United Kingdom, v. 129, p. 67-81, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 7ª ed. Brasília, 2009. 816 p.

BROSSARD, M.; WIKEL, S. K. Tick immunobiology. Parasitology, v. 129, n. S1, p. S161-S176, 2004.

BUSBY, A.T.; AYLLÓN, N.; KOCAN, K.M.; BLOUIN, E.F.; DE LA FUENTE, G.; GALINDO, R.C.; VILLAR, M.; DE LA FUENTE, J. Expression of heat shock proteins and subolesin affects stress responses, *Anaplasma phagocytophilum* infection and questing behaviour in the tick, *Ixodes scapularis*. Med Vet Entomol. 2012 Mar;26(1):92-102. doi: 10.1111/j.1365-2915.2011.00973.x. Epub 2011 Jul 22. PMID: 21781141.

CACERES, A. I.; LIU, B.; JABBA, S. V.; ACHANTA, S.; MORRIS, J. B.; JORDT, S. E. Transient Receptor Potential Cation Channel Subfamily M Member 8 channels mediate the anti-inflammatory effects of eucalyptol. *Br J Pharmacol.* 174(9):867-879. doi: 10.1111/bph.13760. Epub 2017 Mar 23. PMID: 28240768; PMCID: PMC5387001.

CALVO, E.; DAO, A.; PHAM, V.M.; RIBEIRO, J.M. An insight into the sialome of *Anopheles funestus* reveals an emerging pattern in anopheline salivary protein families. *Insect Biochem Mol Biol.* 2007 Feb;37(2):164-75. doi: 10.1016/j.ibmb.2006.11.005. Epub 2006 Nov 22. PMID: 17244545; PMCID: PMC1853278.

CALVO, E.; RIBEIRO, J.M. A novel secreted endonuclease from *Culex quinquefasciatus* salivary glands. *J Exp Biol.* 2006 Jul;209(Pt 14):2651-9. doi: 10.1242/jeb.02267. PMID: 16809456.

CAMARGO-NEVES, V.L.F. Manual de Vigilância Acarológica. Secretaria de Estado da Saúde Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN. São Paulo. 2004.

CAMPOS PEREIRA, M.; SZABÓ, M.P.J.; BECHARA, G.H.; MATUSHIMA, E.R.; DUARTE, J.M.B.; REHAV, Y. FIELDEN, L.; KEIRANS, J. E. Ticks on wild animals from the Pantanal region of Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 37(6): 979-983, 2000.

CANÇADO, P.H.D. Carrapatos de Animais Silvestres e Domésticos no Pantanal Sul Matogrossense (Sub-região da Nhecolândia): Espécies, Hospedeiros e Infestações em Áreas com Manejos Diferentes. 65f. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2008.

CARVALHO-COSTA, T. M.; MENDES, M. T.; DA SILVA, M. V.; DA COSTA, T. A.; TIBURCIO, M. G. S.; ANHÊ, A. C. B. M.; OLIVEIRA, C. J. F. Immunosuppressive effects

of *Amblyomma cajennense* tick saliva on murine bone marrow-derived dendritic cells. *Parasites & vectors*, 8(1), 1-13, 2015.

CASTAGNOLLI, K. C., FERREIRA, B. R., FRANZIN, A. M., DE CASTRO, M. B., & SZABÓ, M. P. J. Effect of *Amblyomma cajennense* ticks on the immune response of BALB/c mice and horses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1149(1), 230-234, 2008.

CHEN, N.; HUANG, Z.; LU, C.; SHEN, Y.; LUO, X.; KE, C.; YOU, W. Different Transcriptomic Responses to Thermal Stress in Heat-Tolerant and Heat-Sensitive Pacific Abalones Indicated by Cardiac Performance. *Front Physiol.* 9:1895, 2019. doi: 10.3389/fphys.2018.01895. PMID: 30687115; PMCID: PMC6334008.

CHMELAR, J.; KOTÁL, J.; KARIM, S.; KOPACEK, P.; FRANCISCHETTI, I.M.B.; PEDRA, J.H.F.; KOTSYFAKIS, M. Sialomes and Mialomes: A systems-biology view of tick tissues and tick-host interactions. *Trends in Parasitology*, 32(3):242-254, 2015.

CHMELAR, J.; OLIVEIRA, C.J.; REZACOVA, P.; FRANCISCHETTI, I.M.; KOVAROVA, Z.; PEJLER, G. A tick salivary protein targets cathepsin G and chymase and inhibits host inflammation and platelet aggregation. *Blood*, v. 117, p. 736–744, 2011.

COSTA, G. C. A.; RIBEIRO, I. C. T.; MELO-JUNIOR, O.; GONTIJO, N. F.; SANT'ANNA, M. R.; PEREIRA, M. H.; ARAUJO, R. N. *Amblyomma sculptum* Salivary Protease Inhibitors as Potential Anti-Tick Vaccines. *Frontiers in immunology*, 11, 3733, 2021.

COTTÉ, V.; SABATIER, L.; SCHNELL, G.; CARMI-LEROY, A.; ROUSSELLE, J. C.; ARSÈNE-PLOETZE, F.; et al. Differential expression of *Ixodes ricinus* salivary gland proteins in the presence of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex. *J. Proteomics*. 96, 29–43, 2014. doi: 10.1016/j.jprot.2013.10.033.

CUNHA, A.P.; BELLO, A.C.P.; LEITE, R.C.; BASTIANETTO, E.; RIBEIRO, A.C.C.L.; FREITAS, C.M.V.; OLIVEIRA, P.R. Controle estratégico de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE) em equinos, Minas Gerais, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 16(4):221-228, 2007.

DAI, J.; NARASHIMHAN, S.; ZHANG, L.; LIU, L.; WANG, P.; FIKRIG, E. Tick histamine release factor is critical for *Ixodes scapularis* engorgement and transmission of the Lyme disease agent. PLOS Pathogens, v. 24, e1001205, 2010.

DANTAS-TORRES, F.; MELO, M.F.; FIGUEREDO, L.A.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Ectoparasite infestation on rural dogs in the municipality of São Vicente Férrer, Pernambuco, Northeastern Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2009 Jul-Sep;18(3):75-7. doi: 10.4322/rbpv.01803014. PMID: 19772781.

DÍAZ-MARTIN, V.; MANZANO-ROMÁN, R.; VALERO, L.; OLEAGA, A.; ENCINAS-GRANDES, A.; PÉREZ-SÁNCHEZ, R. An insight into the proteome of the saliva of the argasid tick *Ornithodoros moubata* reveals important differences in saliva protein composition between the sexes. Journal of Proteomics, 80:216 - 235, 2013.

DUMLER, J. S.; WALKER, D. H. Rocky Mountain spotted fever—changing ecology and persisting virulence. N Engl J Med, v. 353, n. 6, p. 551-3, 2005.

DURDEN, L.A.; CUNNINGHAM, M.W.; MCBRIDE, R.; FERREE, B. Ectoparasites of free-ranging pumas and jaguars in the Paraguayan Chaco. Veterinary Parasitology. 2006 Apr;137(1-2):189-193. DOI: 10.1016/j.vetpar.2006.01.001. PMID: 16464533.

DZUL-ROSADO, K.; PENICHE-LARA, G.; TELLO-MARTÍN, R.; ZAVALAVELÁZQUEZ, J.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; SÁNCHEZ, E.C.; ZAVALACASTRO, J. *Rickettsia rickettsii* isolation from naturally infected *Amblyomma*

parvum ticks by centrifugation in a 24-well culture plate technique. Open Veterinary Journal, v. 3, n.2, p.101-105, 2013.

EGEKWU, N.; SONENSHINE, D. E.; BISSINGER, B. W.; ROE, R. M. Transcriptome of the Female Synganglion of the Black-Legged Tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) with Comparison between Illumina and 454 Systems. PLoS ONE 9(7): e102667, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102667>.

ESTEVEZ, E.; MARUYAMA, S. R.; KAWAHARA, R.; FUJITA, A.; MARTINS, L. A.; RIGHI, A. A.; ... & FOGAÇA, A. C. Analysis of the salivary gland transcriptome of unfed and partially fed *Amblyomma sculptum* ticks and descriptive proteome of the saliva. Frontiers in cellular and infection microbiology, 7, 476, 2017.

FEI-YU, X.; JIAN-WU, Z.; YONG-ZHI, Z.; ZHUANG, L.; HAI-YAN, G.; JIN-LIN, Z. Proteomic analysis of proteins in the salivary glands of the fed and unfed female tick *Rhipicephalus haemaphysaloides*. Agricultural Sciences in China, 8(1):121-127, 2009.

FIORIELLO, C. V.; ROBBINS, R.G.; MAFFED, L.; WADE, S.E.; Parasites of free-ranging small canids and felids in the Bolivian Chaco. Journal of Zoo and wildlife Medicine, v. 32, p. 130-134, 2006.

FLETCHER, P.L. JR.; FLETCHER, M.D.; WENINGER, K.; ANDERSON, T.E.; MARTIN, B.M. Vesicle-associated membrane protein (VAMP) cleavage by a new metalloprotease from the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus*. J Biol Chem. 2010 Mar 5;285(10):7405-16. doi: 10.1074/jbc.M109.028365. Epub 2009 Dec 21. PMID: 20026600; PMCID: PMC2844189.

FLYNN, P. C.; KAUFMAN, W. R. Female ixodid ticks grow endocuticle during the rapid phase of engorgement. Experimental and Applied Acarology, v. 53, n. 2, p. 167-178, 2011.

FRANCISCHETTI, I. M.; ANDERSON, J. M.; MANOUKIS, N.; PHAM, V. M.; RIBEIRO, J. M. An insight into the sialotranscriptome and proteome of the coarse bontlegged tick, *Hyalomma marginatum rufipes*. *Journal of proteomics*, 74(12), 2892-2908, 2011.

FRANCISCHETTI, I. M.; MANS, B. J.; MENG, Z.; GUDDERRA, N.; VEENSTRA, T. D.; PHAM, V. M.; RIBEIRO, J. M. An insight into the sialome of the soft tick, *Ornithodoros parkeri*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 38(1), 1-21, 2008.

FRANCISCHETTI, I. M.; PHAM, V. M.; MANS, B. J.; ANDERSEN, J. F.; MATHER, T. N.; LANE, R. S.; RIBEIRO, J. M. The transcriptome of the salivary glands of the female western black-legged tick *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). *Insect biochemistry and molecular biology*, 35(10), 1142-1161, 2005.

FRANCISCHETTI, I. M.; SA-NUNES, A.; MANS, B. J.; SANTOS, I. M.; RIBEIRO, J. M. The role of saliva in tick feeding. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 14, 2051, 2009.

FRANCISCHETTI, I.M. Platelet aggregation inhibitors from hematophagous animals. *Toxicon*. 2010 Dec 15;56(7):1130-44. doi: 10.1016/j.toxicon.2009.12.003. Epub 2009 Dec 24. PMID: 20035779; PMCID: PMC2888830.

FRANCISCHETTI, I.M.B.; SÁ-NUNES, A.; MANS, B.J.; SANTOS, I.M.; RIBEIRO, J.M.C. The role of saliva in tick feeding. *Front Biosc.*, 14:2051-2088, 2010.

FRANTA, Z.; FRANTOVÁ, H.; KONVIČKOVÁ, J.; HORN, M.; SOJKA, D.; MAREŠ, M.; KOPÁČEK, P. Dynamics of digestive proteolytic system during blood feeding of the hard tick *Ixodes ricinus*. *Parasites & Vectors* 3, n° 1, 119, 2010. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-119>.

FUKUMOTO, S.; SAKAGUCHI, T.; YOU, M.; XUAN, X.; FUJISAKI, K. Tick troponin I-like molecule is a potent inhibitor for angiogenesis. *Microvascular research*, 71(3), 218-221, 2006.

GARCIA, G.R.; GARDINASSI, L.G.; RIBEIRO, J.M.; ANATRIELLO, E.; FERREIRA, B.R.; MOREIRA, H.N.; MAFRA, C.; MARTINS, M.M.; SZABÓ, M.P.; DE MIRANDA-SANTOS, I.K.; MARUYAMA, S.R. The sialotranscriptome of *Amblyomma triste*, *Amblyomma parvum* and *Amblyomma cajennense* ticks, uncovered by 454-based RNA-seq. *Parasit Vectors*. 2014 Sep 8;7:430. doi: 10.1186/1756-3305-7-430. PMID: 25201527; PMCID: PMC4261526.

GOBL, J.; KUMAR SINHA, D.; SIMA, R.; PERNER, J.; KOPÁČEK, P.; VALDÉS, J.J.; REGO, R.O.M.; CABEZAS-CRUZ, A. Histone Methyltransferase DOT1L is Involved in Larval Molting and Second Stage Nymphal Feeding in *Ornithodoros Moubata*. *Vaccines (Basel)*. 2020 Apr 1;8(2):157. doi: 10.3390/vaccines8020157. PMID: 32244625; PMCID: PMC7349889.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BATTESTI, D. M. B.; LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; ESTRADA-PENA, A. Ticks (*Ixodidae*) on humans in South America. *Experimental & applied acarology* 40, 83–100, 2006. DOI: 10.1007/s10493-006-9027-0.

GUGLIELMONE, A.A.; ESTRADA-PENA, A.; KEIRANS, J.E.; ROBBINS, R.G. Ticks (Acari. Ixodidae) of the Neotropical Zoogeographic region. Special Publication of the International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases, ISBN 987-43-6828-4, Atlanta, Houten, The Netherlands, pp. 174, 2003.

GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.; VINABAL, A.E. Ticks (Ixodidae) parasitizing humans in four provinces of north-western Argentina. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 85, 539–542, 1990.

HAJDUSEK, O.; SIMA, R.; AYLLÓN, N.; JALOVECKÁ, M.; PERNER, J.; DE LA FUENTE, J.; KOPÁČEK, P. Interaction of the tick immune system with transmitted pathogens. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3, 26, 2013.

HAJDUSEK, O.; SIMA, R.; PERNER, J.; LOOSOVA, G.; HARCUBOVA, A.; KOPACEK, P. Tick iron and heme metabolism – New target for an anti-tick intervention. *Tick and Tick-borne Diseases*, 7:565-572, 2016.

HARASHIMA, A.; GUETTOUCHE, T.; BARBER, G.N. Phosphorylation of the NFAR proteins by the dsRNA-dependent protein kinase PKR constitutes a novel mechanism of translational regulation and cellular defense. *Genes Dev.* 2010 Dec 1;24(23):2640-53. doi: 10.1101/gad.1965010. PMID: 21123651; PMCID: PMC2994038.

HOVIUS, J.W.R. Spitting image: tick saliva assists the causative agent of Lyme disease in evading host skin's innate immune response. *Journal of investigative dermatology*, v. 129, n. 10, p. 2337-2339, 2009.

HU, E.; MENG, Y.; MA, Y.; SONG, R.; HU, Z.; LI, M.; BAYIN, C. De novo assembly and analysis of the transcriptome of the *Dermacentor marginatus* genes differentially expressed after blood-feeding and long-term starvation. *Parasites & vectors*, 13(1), 1-20; 2020.

JAMES, A.M.; ZHU, X.X.; OLIVER, JR J.H. Localization of vitellogenin production in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *Invertebrate Reproduction and Development*, 35(1):81-87, 1999.

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

KARIM, S.; RIBEIRO, J.M.C. An insight into the sialome of the lone star tick, *Amblyomma americanum*, with a glimpse on its time dependent gene expression. PLoS One, v. 10, n. 7, p. e0131292, 2015.

KARIM, S.; SINGH, P.; RIBEIRO, J.M.C. A deep insight into the sialotranscriptome of the gulf coast tick, *Amblyomma maculatum*. PloS one, v. 6, n. 12, p. e28525, 2011.

KATAGIRI, T.; HARADA, Y.; EMI, M.; NAKAMURA, Y. Human metalloprotease/disintegrin-like (MDC) gene: exon-intron organization and alternative splicing. Cytogenet Cell Genet.;68(1-2):39-44, 1995. doi: 10.1159/000133884. PMID: 7956356.

KAZIMÍROVÁ, M.; STIBRANIOVÁ, I. Tick salivary compounds: their role in modulation host defenses and pathogen transmission. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, p. 3-43, 2013.

KEMP, D. H., STONE, B. r. & BINNINGTON, K. C. Tick attachment and feeding: role of the mouthparts, feeding apparatus, salivary gland secretions and host response. In Physiology of Ticks, pp. 119-168, 1982. Edited by F. D. Obenchain & R. Galun. Oxford: Pergamon Press.

KOTÁL, J.; LANGHANSOVÁ, H.; LIESKOVSKÁ, J.; ANDERSEN, J. F.; FRANCISCHETTI, I. M.; CHAVAKIS, T.; ... & CHMELAŘ, J. Modulation of host immunity by tick saliva. Journal of proteomics, 128, 58-68, 2015.

KOTSYFAKIS, M.; SCHWARZ, A.; ERHART, J.; RIBEIRO, J. M. Tissue-and time-dependent transcription in *Ixodes ricinus* salivary glands and midguts when blood feeding on the vertebrate host. Scientific reports, 5(1), 1-10, 2015.

LABRUNA, M. B. Ecology of rickettsia in South America. *Ann NY Acad Sci*, 1166(1), 156-166, 2009.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A. Ticks (Acari:Ixodidae) on wild carnivores. *Experimental and Applied Acarology*, Dordrecht, v. 36, p. 149–163, 2005.

LAM, R. S.; SHUMILINA, E.; MATZNER, N.; ZEMTSOVA, I. M.; SOBIESIAK, M.; LANG, C.; FELDER, E.; DIETL, P.; HUBER, S. M.; LANG, F. Phosphatidylinositol-3-Kinase Regulates Mast Cell Ion Channel Activity. *Cell Physiol Biochem*. 22:169-176, 2008. doi: 10.1159/000149794.

LEAL, B.F.; SEIXAS, A.; MATTOS, R.T.; COUTINHO, M.L.; MASUDA, A.; VAZ JR, I.S.; FERREIRA, C.A.S. Tissue expression and the host's immunological recognition of a *Rhipicephalus microplus* paramyosin. *Veterinary Parasitology*, 197:304-311, 2013.

LEBOULLE, G.; CRIPPA, M.; DECREM, Y.; MEJRI, N.; BROSSARD, M.; BOLLEN, A.; GODFROID, E. Characterization of a novel salivary immunosuppressive protein from *Ixodes ricinus* ticks. *J Biol Chem.*; 277(12):10083-9. doi: 10.1074/jbc.M111391200. Epub 2002 Jan 15. PMID: 11792703.

LUDWIG, B.; BENDER, E.; ARNOLD, S.; HÜTTEMAN, M.; LEE, I.; KADENBACH, B. Cytochrome c Oxidase and regulation of oxidative phosphorylation. *ChemBiochem*, 2:392-403, 2001.

MANS, B.J. Evolution of vertebrate hemostatic and inflammatory control mechanisms in blood-feeding arthropods. *Journal of Innate Immunity*, 3, 41– 51, 2011.

MARITZ-OLIVIER, C.; STUTZER, C.; JONGEJAN, F.; NEITZ, A.W.; GASPAR, A.R. Tick anti-hemostatics: targets for future vaccines and therapeutics. *Trends in parasitology*, 23(9), 397-407, 2007.

MARTINS, J. R.; MEDRI, I. M.; OLIVEIRA, C. M.; GUGLIELMONE, A. A. Ocorrência de carrapato em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-Grossense, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, p. 293-295, 2004.

MARTINS, L. A.; KOTÁL, J.; BENSAOUD, C.; CHMELAŘ, J.; KOTSYFAKIS, M. Small protease inhibitors in tick saliva and salivary glands and their role in tick-host-pathogen interactions, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, Volume 1868, Issue 2, 2020. 140336, ISSN 1570-9639, <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2019.140336>.

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M.; ... & LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 62(1), 121-128, 2014.

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

MCDONALD, W. H.; TABB, D. L.; SADYGOV, R. G.; MACCOSS, M. J.; VENABLE, J.; GRAUMANN, J.; ... & YATES III, J. R. MS1, MS2, and SQT—three unified, compact, and easily parsed file formats for the storage of shotgun proteomic spectra and identifications. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 18(18), 2162-2168, 2004.

MCKENNA, R. V.; RIDING, G.A.; JARMEY, J. M.; PEARSON, R. D.; WILLADSEN, P. Vaccination of cattle against the *Boophilus microplus* using a mucin-like membrane glycoprotein. *Parasite Immunol.*; 20(7):325-36, 1998. doi: 10.1046/j.1365-3024.1998.00149.x. PMID: 9717194.

MCSWAIN, J. L.; ESSENBERG, R. C.; SAUER, J. R. Oral secretion elicited by effectors of signal transduction pathways in the salivary glands of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Journal of medical entomology*, v. 29, n. 1, p. 41-48, 1992.

MCSWAIN, J. L.; ESSENBERG, R. C.; SAUER, J. R. Protein changes in the salivary glands of the female lone star tick, *Amblyomma americanum*, during feeding. *The Journal of parasitology*, p. 100-106, 1982.

MEISSNER, F.; MANN, M. Quantitative shotgun proteomics: considerations for a high-quality workflow in immunology. *Nature immunology*, v. 15, n. 2, p. 112-117, 2014.

MULENGA, A.; BLANDON, M.; KHUMTHONG, R. The molecular basis of the *Amblyomma americanum* tick attachment phase. *Experimental and Applied Acarology*, v. 41, n. 4, p. 267-287, 2007.

MULENGA, A.; TSUDA, A.; ONUMA, M.; SUGIMOTO, C. Four serine proteinase inhibitors (serpin) from the brown ear tick, *Rhiphicephalus appendiculatus*; cDNA cloning and preliminary characterization, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, Volume 33, Issue 2, Pages 267-276, 2003. ISSN 0965-1748, [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(02\)00240-0](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(02)00240-0).

NAVA, S.; BEATI, L.; DUNLOP, J.; GUGLIELMONE, A.A. Reestablishment of *Amblyomma tenellum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Ticks Tick Borne Dis.* 2014 Oct;5(6):620-3. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.04.012. Epub 2014 Jul 10. PMID: 25017501.

NAVA, S.; GUGLIELMONE, A. A.; & MANGOLD, A. J. An overview of systematics and evolution of ticks. *Front Biosci*, 14(8), 2857-2877, 2009.

NAVA, S.; MANGOLD, A. T.; GUGLIELMONE, A. A. The natural hosts for larvae and nymphs of *Amblyomma neomanni* and *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, Dordrecht, v. 40, p. 123-31, 2006.

NAVA, S.; SZABÓ, M.P.J., MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE A.A. Distribution, hosts, 16s rDNA sequences and phylogenetic position of the Neotropical tick *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, v.102, n.5, p.409-425, 2008.

NAVA, S.; VENZAL, J. M.; ACUÑA, D. G.; MARTINS, T. F.; GUGLIELMONE, A. A. Ticks of the southern cone of America: diagnosis, distribution, and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Academic Press. 2017.

NEELAKANTA, G.; SULTANA, H.; FISH, D.; ANDERSON, J. F.; FIKRIG, E. *Anaplasma phagocytophilum* induces *Ixodes scapularis* ticks to express an antifreeze glycoprotein gene that enhances their survival in the cold. *The Journal of clinical investigation*, 120(9), 3179–3190, 2010. <https://doi.org/10.1172/JCI42868>.

NENE, V.; LEE, D.; QUACKENBUSH, J.; SKILTON, R.; MWAURA, S.; GARDNER, M. J.; BISHOP, R. AvGI, an index of genes transcribed in the salivary glands of the ixodid tick *Amblyomma variegatum*. *International journal for parasitology*, 32(12), 1447-1456, 2002.

NILIUS, B. Transient Receptor Potential (TRP) Channels in the Brain: The Good and the Ugly. *European Review*, 20(3), 343-355, 2012. doi:10.1017/S1062798711000597

NUTTALL, P. A. Wonders of tick saliva. *Ticks and tick-borne diseases*, v. 10, n. 2, p. 470-481, 2019.

NUTTALL, P. A.; LABUDA, M. Tick–host interactions: saliva-activated transmission. *Parasitology*, v. 129, n. S1, p. S177-S189, 2004.

OGIHARA, K.; HORIGANE, M.; NAKAJIMA, Y.; MORIBAYASHI, A.; TAYLOR, D. Ecdysteroid hormone titer and its relationship to vitellogenesis in the soft tick, *Ornithodoros moubata* (Acari: Argasidae). *General and Comparative Endocrinology*, 150:371-380, 2007.

OLEGÁRIO, M. M. M. *Biologia do Amblyomma parvum*, Aragão 1908 (Acari: Ixodidae) utilizando-se diferentes hospedeiros em condições de laboratório. 2010. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

OLEGÁRIO, M.M.M.; GERARDI, A.; TSURUTA, S.A.; SZABÓ, M.P.J. Life cycle of the tick *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae) and suitability of domestic hosts under laboratory conditions. *Veterinary Parasitology* 179: 203–208, 2011.

OLIVEIRA, C. J.; ANATRIELLO, E.; DE MIRANDA-SANTOS, I. K.; FRANCISCHETTI, I. M.; SÁ-NUNES, A.; FERREIRA, B. R.; RIBEIRO, J. M. C. Proteome of *Rhipicephalus sanguineus* tick saliva induced by the secretagogues pilocarpine and dopamine. *Ticks and tick-borne diseases*, 4(6), 469-477, 2013.

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

PACHECO, R.C.; ECHAIDE, I.E.; ALVES, R.N.; BELETTI, M.E.; NAVA, S.; LABRUNA, M.B. *Coxiella burnetii* in ticks, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2013 Feb;19(2):344-6. doi: 10.3201/eid1902.120362. PMID: 23343647; PMCID: PMC3559035.

PARIZI, L.F.; ALI, A.; TIRLONI, L.; OLDIGES, D.P.; SABADIN, G.A.; COUTINHO, M.L.; SEIXAS, A.; LOGULLO, C.; TERMIGNONI, C.; DA SILVA VAZ, I. JR. Peptidase inhibitors

in tick physiology. *Med Vet Entomol.* 2018 Jun;32(2):129-144. doi: 10.1111/mve.12276. Epub 2017 Nov 7. PMID: 29111611.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. *Clin Infect Dis.* 2001 Mar 15;32(6):897-928. doi: 10.1086/319347. Epub 2001 Mar 14. Erratum in: *Clin Infect Dis* 2001 Sep 1;33(5):749. PMID: 11247714.

PEREIRA, M. C.; SZABÓ, M. P. J.; BECHARA, G. H.; MATUSHIMA, E. R.; BARBANTE, M. J. D.; RECHAV, Y.; FIELDEN, L. Ticks (Acari: Ixodidae) Associated with Wild Animals in the Pantanal Region of Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 37, p. 979-983, 2000.

PERNER, J.; HELM, D.; HABERKANT, P.; HATALOVA, T.; KROPACKOVA, S.; RIBEIRO, J.M.; KOPACEK, P. The Central Role of Salivary Metalloproteases in Host Acquired Resistance to Tick Feeding. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Nov 18;10:563349. doi: 10.3389/fcimb.2020.563349. PMID: 33312963; PMCID: PMC7708348.

PERNER, J.; SOBOTKA, R.; SIMA, R.; KONVICKOVA, J.; SOJKA, D.; OLIVEIRA, P.L.; HAJDUSEK, O.; KOPACEK, P. Acquisition of exogenous haem is essential for tick reproduction. *eLIFE*, 5:e12318, 2016.

PICHU, S.; YALCIN, E. B.; RIBEIRO, J. M.; KING, R. S.; MATHER, T. N. Molecular characterization of novel sulfotransferases from the tick, *Ixodes scapularis*. *BMC Biochem.*;12:32, 2011. doi: 10.1186/1471-2091-12-32. PMID: 21708020; PMCID: PMC3150262.

PINHEIRO, M. da C. Estudos biológicos e moleculares de *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae) da Argentina e Brasil. 107 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2015.

POKUTTA, S.; DREES, F.; YAMADA, S.; NELSON, W. J.; WEIS, W. I. Biochemical and structural analysis of alpha-catenin in cell-cell contacts. *Biochemical Society transactions*, 36(Pt 2), 141–147, 2008. <https://doi.org/10.1042/BST0360141>.

PORTER, L.M.; RADULOVIĆ, Ž.M.; MULENGA, A. A repertoire of protease inhibitor families in *Amblyomma americanum* and other tick species: inter-species comparative analyses. *Parasit Vectors*. 2017 Mar 22;10(1):152. doi: 10.1186/s13071-017-2080-1. PMID: 28330502; PMCID: PMC5361777.

RACHINSKY, A.; GUERRERO, F.D.; SCOLES, G.A. Proteomic profiling of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* midgut responses to infection with *Babesia bovis*. *Vet. Parasitol.*, 152:294-313, 2008.

RAMACHANDRAN, R.; HYUN, E.; ZHAO, L.; LAPOINTE, T. K.; CHAPMAN, K.; HIROTA, C. L. et al. TRPM8 activation attenuates inflammatory responses in mouse models of colitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 7476–7481, 2013.

RAMAMOORTHY, N.; NARASIMHAN, S.; PAL, U.; BAO, F.; YANG, X.F.; FISH, D.; ... & FIKRIG, E. The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host. *Nature*, 436(7050), 573-577, 2005.

RAMOS, V. N.; PIOVEZAN, U.; FRANCO, A. H. A.; RODRIGUES, V. S.; NAVA, S.; SZABÓ, M. P. J. Nellore cattle (*Bos indicus*) and ticks within the Brazilian Pantanal: ecological relationships. *Experimental & Applied Acarology (Dordrecht. Online)*, v. 68, p. 227-240, 2016.

RENESTO, P.; SAMSON, L.; OGATA, H.; AZZA, S.; FOURQUET, P.; GORVEL, J.P.; HEINZEN, R.A.; RAOULT, D. Identification of two putative rickettsial adhesins by proteomic analysis. *Res. Microbiol.*, 157:605-612, 2006.

RIBEIRO, J. M.; ALARCON-CHAIDEZ, F.; FRANCISCHETTI, I. M.; MANS, B. J.; MATHER, T. N.; VALENZUELA, J. G.; WIKEL, S. K. An annotated catalog of salivary gland transcripts from *Ixodes scapularis* ticks. *Insect biochemistry and molecular biology*, 36(2), 111-129, 2006.

RIBEIRO, J.M.; FRANCISCHETTI, I.M. Role of arthropod saliva in blood-feeding: sialome and post-sialome perspectives. *Annual Reviews of Entomology*, v.48, p.73- 88, 2003.

RIBEIRO, J.M.; MAKOUL, G.T.; LEVINE, J.; ROBINSON, D. R.; & SPIELMAN, A. Antihemostatic, antiinflammatory, and immunosuppressive properties of the saliva of a tick, *Ixodes dammini*. *The Journal of experimental medicine*, 161(2), 332-344, 1985.

RIBEIRO, J.M.C. Insect saliva: function, biochemistry, and physiology. In: *Regulatory mechanisms in insect feeding*. Springer, Boston, MA, p. 74-97, 1995.

RIBEIRO, J.M.C. Role of saliva in blood-feeding by arthropods. *Annual review of entomology*, v. 32, n. 1, p. 463-478, 1987.

RIBEIRO, J.M.C.; ANDERSON, J.M.; MANOUKIS, N.C.; MENG, Z.; FRANCISCHETTI, I.M.B. A further insight into the sialome of the tropical bont tick, *Amblyomma variegatum*. *BMC Genomics*, 12(136):1-11, 2011.

SAGANE, K.; OHYA, Y.; HASEGAWA, Y.; TANAKA, I. Metalloproteinase-like, disintegrin-like, cysteine-rich proteins MDC2 and MDC3: novel human cellular disintegrins highly expressed in the brain. *Biochem J.* 1998 Aug 15;334 (Pt 1) (Pt 1):93-8. doi: 10.1042/bj3340093. PMID: 9693107; PMCID: PMC1219666.

SANTOS, A.; RIBEIRO, J.M.; LEHANE, M.J.; GONTIJO, N.F.; VELOSO, A.B.; SANT'ANNA, M.R.; NASCIMENTO ARAUJO, R.; GRISARD, E.C.; PEREIRA, M.H. The sialotranscriptome of the blood-sucking bug *Triatoma brasiliensis* (Hemiptera,

Triatominae). *Insect Biochem Mol Biol.* 2007 Jul;37(7):702-12. doi: 10.1016/j.ibmb.2007.04.004. Epub 2007 Apr 14. PMID: 17550826; PMCID: PMC1896098.

SAUER, J.R.; ESSENBERG, R.C.; BOWMAN, A.S. Salivary glands in ixodid ticks: control and mechanism of secretion. *Journal of Insect Physiology*, Oxford, v. 46, p. 1069-1078, 2000.

SAUER, J.R.; MCSWAIN, J.L.; BOWMAN, A.S.; ESSENBERG, R.C. Tick salivary gland physiology. *Annual Reviews of Entomology*, v. 40, p.245-267, 1995.

SCHUIJT, T. J.; NARASIMHAN, S.; DAFFRE, S.; DEPONTE, K.; HOVIUS, J. W.; VAN'T VEER, C.; VAN DER POLL, T.; BAKHTIARI, K.; MEIJERS, J. C.; BODER, E. T.; VAN DAM, A. P.; FIKRIG, E. Identification and characterization of *Ixodes scapularis* antigens that elicit tick immunity using yeast surface display. *PloS one*, 6(1), e15926, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015926>.

SCHWARZ, A.; CABEZAS-CRUZ, A.; KOPECKÝ, J.; VALDÉS, J.J. Understanding the evolutionary structural variability and target specificity of tick salivary Kunitz peptides using next generation transcriptome data. *BMC evolutionary biology*, 14(1), 1-16, 2014.

SCHWARZ, A.; VALDÉS, J. J.; KOTSYFAKIS, M. The role of cystatins in tick physiology and blood feeding. *Ticks and tick-borne diseases*, v. 3, n. 3, p. 117-127, 2012.

SHAHEIN, Y. E.; ABD EL-RAHIM, M. T.; HUSSEIN, N. A.; HAMED, R. R.; EL-HAKIM, A. E.; BARAKAT, M. M. Molecular cloning of a small heat shock protein (sHSP11) from the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* salivary gland. *International journal of biological macromolecules*, 47(5), 614-622, 2010.

SHEN, Y.; MEUNIER, L.; HENDERSHOT, L.M. Identification and characterization of a novel endoplasmic reticulum (ER) DnaJ homologue, which stimulates ATPase activity of BiP in vitro and is induced by ER stress. *J Biol Chem.* 2002 May 3;277(18):15947-56. doi: 10.1074/jbc.M112214200. Epub 2002 Feb 8. PMID: 11836248.

ŠIMO, L.; KAZIMIROVA, M.; RICHARDSON, J.; BONNET, S. I. The essential role of tick salivary glands and saliva in tick feeding and pathogen transmission. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 281, 2017.

ŠIMO, L.; KOČI, J.; ŽITŇAN, D.; PARK, Y. Evidence for D1 dopamine receptor activation by a paracrine signal of dopamine in tick salivary glands. *PloS one*, 6(1), e16158, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016158>.

ŠIMO, L.; ŽITŇAN, D.; PARK, Y.. Neural control of salivary glands in ixodid ticks. *Journal of insect physiology*, v. 58, n. 4, p. 459-466, 2012.

SIMONS, S.M.; SÁ-JÚNIOR, P.L.; FARIA, F.; BATISTA, I.F.C.; BARROS –BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A.M. The action of *Amblyomma cajennense* tick saliva in compounds of hemostatic system and cytotoxicity in tumor cell lines. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, United States, v. 65, p. 443-450, 2011.

SONENSHINE, D. E.; HYNES, W. L.; CERAUL, S. M.; MITCHELL, R.; BENZINE, T. Host blood proteins and peptides in the Midgut of the tick *Dermacentor variabilis* Contributeto bacterial control. *Experimental & applied acarology*, 36(3), 207-223, 2005.

SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. Mouthparts and digestive system. *Biology of ticks*, v. 1, p. 122-62, 2014.

SOUSA, A.C.P.; OLIVEIRA, C.J.F.; SZABÓ, M.P.J.; SILVA, M.J.B. Anti-neoplastic activity of *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma parvum* and *Rhipicephalus sanguineus* tick saliva on breast tumor cell lines. *Toxicon*. 2018 Jun 15;148:165-171. doi: 10.1016/j.toxicon.2018.04.024. PMID: 29705147.

STEEN, N. A.; BARKER S. C.; ALEWOOD, P. F. Proteins in the saliva of the Ixodida (ticks): pharmacological features and biological significance. *Toxicon*. 47(1):1-20, 2006. doi: 10.1016/j.toxicon.2005.09.010. Epub 2005 Dec 20. PMID: 16364387.

STEERE, A. C.; COBURN, J.; GLICKSTEIN, L. The emergence of Lyme disease. *The Journal of clinical investigation*, 113(8), 1093-1101, 2004.

SUNYAKUMTHORN, P.; PETCHAMPAL, N.; KEARNEY, M. T.; SONENSHINE, D. E.; MACALUSO, K. R. Molecular characterization and tissue-specific gene expression of *Dermacentor variabilis* α -catenin in response to rickettsial infection. *Insect molecular biology*, 21(2), 197–204, 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2011.01126.x>

SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.R.M.; COSTA, F.B.; SOARES, H.S.; TOLESANO-PASCOLI, G. V.; TORGA, K.; SARAIVA, D. G.; RAMOS, V. DO N.; OSAVA, C. F.; DE CASTRO, M.B.; LABRUNA, M.B. Ticks biting humans in the Brazilian savannah: Attachment sites and exposure risk in relation to species, life stage and season. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, v. 11, p. 101328, 2020.

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

SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 3, 27, 2013.

TABB, D. L.; MCDONALD, W. H.; YATES, J. R. DTASelect and Contrast: tools for assembling and comparing protein identifications from shotgun proteomics. *Journal of proteome research*, v. 1, n. 1, p. 21-26, 2002.

TAKAHASHI, N.; HAYANO, T.; SUZUKI, M. Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase is the cyclosporin A-binding protein cyclophilin. *Nature*. 1989 Feb 2;337(6206):473-5. doi: 10.1038/337473a0. PMID: 2644542.

TAN, A. W.; FRANCISCHETTI, I. M.; SLOVAK, M.; KINI, R. M.; RIBEIRO, J. M. Sexual differences in the sialomes of the zebra tick, *Rhipicephalus pulchellus*. *Journal of proteomics*, 117, 120-144, 2015.

TAN, A.W.L.; FRANCISCHETTI, I.M.B.; SLOVAK, M.; KINI, R.M.; RIBEIRO, J.M.C. Sexual differences in the sialomes of the zebra tick, *Rhipicephalus pulchellus*. *Journal of Proteomics*, 117:120-144, 2015.

TEWARI, R.; BAILES, E.; BUNTING, K. A.; COATES, J. C. Armadillo-repeat protein functions: questions for little creatures, *Trends in Cell Biology*, Volume 20, Issue 8, Pages 470-481, ISSN 0962-8924, <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2010.05.003>, 2010.

THOMPSON, D.M.; KHALIL, S.M.S.; JEFFERS, L.A.; ANANTHAPADMANABAN, U.; SONESHINE, D.E.; MITCHELL, R.D.; OSGOOD, C.J.; APPERSON, C.S.; ROE, R.M. In vivo role of 20- hydroxyecdysone in the regulation of the vitellogenin mRNA and egg development in the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say). *Journal of Insect Physiology*, 51:1105-1116, 2005.

TIRLONI, L.; ISLAM, M.S.; KIM, T.K.; DIEDRICH, J.K.; YATES III, J.R.; PINTO, A.F.M.; MULENGA, A.; YOU, M.J.; VAZ JR, I.S. Saliva from nymph and adult females of *Haemaphysalis longicornis*: a proteomic study. *Parasites & Vectors*, 8(338):1-23, 2015.

TIRLONI, L.; RECK, J.; TERRA, R.M.S.; MARTINS, J.R.; MULENGA, A.; SHERMAN, N.E.; FOX, J.W.; YATES III, J.R.; TERMIGNONI, C.; PINTO, A.F.M.; VAZ JR, I.S. Proteomic Analysis of cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* saliva: A comparison between partially and fully engorged females. *PLoS ONE*, 9(4):1-19, 2014.

VALENZUELA, J. G. Exploring tick saliva: from biochemistry to 'sialomes' and functional genomics. *Parasitology*, v. 129, n. S1, p. S83-S94, 2004.

VALENZUELA, J. G.; FRANCISCHETTI, I. M.; PHAM, V. M.; GARFIELD, M. K.; MATHER, T. N.; RIBEIRO, J. M. Exploring the sialome of the tick *Ixodes scapularis*. *Journal of Experimental Biology*, 205(18), 2843-2864, 2002.

WANG, W.; BOFFA, M. B.; BAJZAR, L.; WALKER, J.B.; NESHEIM, M.E. A study of the mechanism of inhibition of fibrinolysis by activated thrombin-activable fibrinolysis inhibitor. *J Biol Chem*. 273(42):27176-81, 1998. doi: 10.1074/jbc.273.42.27176. PMID: 9765237.

XU, X. L.; CHENG, T. Y.; YANG, H.; YAN, F.; YANG, Y. De novo sequencing, assembly and analysis of salivary gland transcriptome of *Haemaphysalis flava* and identification of sialoprotein genes. *Infection, Genetics and Evolution*, 32, 135-142, 2015.

YATES J.R. 3RD. Mass spectrometry and the age of the proteome. *J Mass Spectrom*. 1998 Jan;33(1):1-19. doi: 10.1002/(SICI)1096-9888(199801)33:1<1::AID-JMS624>3.0.CO;2-9. PMID: 9449829.

YATES, J.R. 3RD; WASHBURN, M.P. Quantitative proteomics. *Anal Chem.* 2013 Oct 1;85(19):8881. doi: 10.1021/ac402745w. PMID: 24079386.

ZHANG, M.; WANG, L.; ZHAO, X.; ZHAO, K.; MENG, H.; ZHAO, W.; GAO, C. TRAF-interacting protein (TRIP) negatively regulates IFN- β production and antiviral response by promoting proteasomal degradation of TANK-binding kinase 1. *J Exp Med.* 209(10):1703-11, 2012. doi: 10.1084/jem.20120024. Epub 2012 Sep 3. PMID: 22945920; PMCID: PMC3457734.

ZHANG, Y.; FONSLow, B. R.; SHAN, B.; BAEK, M. C.; YATES III, J. R. Protein analysis by shotgun/bottom-up proteomics. *Chemical reviews*, 113(4), 2343-2394, 2013.

