



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



MATIAS PABLO JUAN SZABÓ

Risco de exposição a carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* e à bactéria *Rickettsia bellii* em área urbana indene para Febre Maculosa Brasileira

UBERLÂNDIA

2021

Matias Pablo Juan Szabó

Risco de exposição a carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* e à bactéria *Rickettsia bellii* em área urbana indene para Febre Maculosa Brasileira

Tese apresentado à comissão especial de avaliação para promoção à classe de Professor Titular da carreira de magistério superior da Universidade Federal de Uberlândia

Uberlândia, MG

Maio- 2021

*The most worth-while thing is to try to put happiness
into the lives of others (O que mais vale a pena é tentar
colocar felicidade na vida dos outros)*

Lord Robert Baden-Powell

Agradecimentos

Esse trabalho não seria desenvolvido sem a colaboração de uma equipe muito animada de graduandos, pós-graduandos e pós-doutorandos. A equipe base incluiu Caroline Lopes Queiroz, Adriane Suzin, Vinicius da Silva Rodrigues, Raíssa Brauner Kamla Vieira, Maria Marlene Martins, Lais Miguel Rezende, Ana Carolina Prado Sousa, Vanessa do Nascimento Ramos, Fernanda Marinho Muraro e Lais Keocheguerian Fernandes. Agradeço o ânimo, o envolvimento e o bom-humor dessa equipe e que tornaram o trabalho prazeroso e empolgante. Sou particularmente agradecido ao empenho incansável e agitado de Caroline Lopes Queiroz (sua dissertação foi uma das bases deste trabalho) e à Adriane Suzin pelas análises estatísticas e revisões minuciosas.

Às abelhas e vespas por nos fazerem rir muito apesar das picadas

Resumo

As doenças causadas/transmitidas por carrapatos pressupõem o contato físico e intercâmbio trófico entre o hospedeiro, vetor e o patógeno. Neste contexto, pode-se estabelecer três níveis/etapas sequenciais de relacionamento destes seres e fundamentais na epidemiologia de doenças associadas a carrapatos: 1- área de perigo, 2- exposição e 3- interação parasitária. A área de perigo refere à ocorrência, em uma determinada área, do carrapato e neste, quando for o caso, do microrganismo patogênico. O segundo nível, a exposição, se refere ao contato físico com o carrapato e que ocorrerá em uma área de perigo. O terceiro nível, a interação parasitária, se refere, após o contato físico, à atratividade do hospedeiro ao carrapato e a capacidade parasitária deste para este hospedeiro específico. Na impossibilidade de controle/eliminação de carrapatos de uma área de perigo e/ou na dificuldade de impedir a interação parasitária para prevenção de doenças, torna-se necessário diminuir o risco de exposição a carrapatos. Para esse fim é essencial conhecer a bioecologia, em especial comportamento de busca por hospedeiro, das espécies de carrapatos associadas às doenças do hospedeiro em uma área de perigo. Duas espécies de carrapatos do Brasil, *Amblyomma dubitatum* e *Amblyomma sculptum*, ocorrem em simpatria quando mantidas por capivaras. O número destes parasitos é particularmente elevado em áreas sob impacto antrópico no sudeste brasileiro e, em alguns locais, estão associados à Febre Maculosa Brasileira (FMB), uma doença com elevada letalidade causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*. Embora a ninfa do carrapato *A. sculptum* seja considerada o principal vetor do patógeno, as proporções entre as duas espécies e o comportamento de cada um dos estágios dos carrapatos influenciam o risco de exposição de seres humanos aos carrapatos e à bactéria. Além disso, uma bactéria não patogênica para seres humanos, frequente em *A. dubitatum*, *Rickettsia bellii*, interfere na transmissão daquela patogênica por mecanismos ainda não claros. Este trabalho teve por objetivo contribuir com informações para protocolos que visem diminuir o risco de exposição humana a carrapatos em áreas de perigo para transmissão da FMB ou de outras doenças associadas a essas duas espécies de carrapatos. Entre outros, foram avaliados a densidade, o comportamento e a relação proporcional entre essas duas espécies de carrapatos na zona urbana de Uberlândia, Minas Gerais, município indene para FMB e relacionados ao risco de exposição humana. Para esse fim carrapatos foram coletados em dez locais com capivaras e limítrofes a corpos d'água nas três estações do ano caracterizados por picos de atividade dos estágios parasitários do carrapato *A. sculptum*. As coletas de carrapatos em cada local foram feitas de forma exaustiva em uma unidade

de coleta padronizada de 400 m² e com a aplicação coordenada de quatro técnicas. Essas técnicas também permitiram o discernimento do comportamento por busca de hospedeiro dos carrapatos de acordo com a espécie e estágio. Finalmente a taxa de infecção de carrapatos com *R. bellii* foi relacionada com a proporção relativa de *A. sculptum*/*A. dubitatum* em cada local. No período do estudo foram coletados 52.953 carrapatos exclusivamente de duas espécies, *A. sculptum* e *A. dubitatum*. Destes carrapatos, 83,4% eram *A. sculptum* (1.523 adultos, 10.545 ninfas e 32.104 larvas) e 16,6% *A. dubitatum* (464 adultos, 2.153 ninfas e 6.164 larvas). Embora o maior número de carrapatos coletados tenha sido da espécie *A. sculptum*, a prevalência de espécies variou entre os dez locais do estudo. No período de estudo foi encontrada uma densidade média anual de 4,4 carrapatos/m², variando entre 0,03 e 31,8 carrapatos/m² de acordo com o local, a estação do ano, espécie e estágio dos carrapatos. Quanto ao comportamento de busca por hospedeiro, observou-se o predomínio de emboscada em larvas e, de ataque em ninfas e adultos, em ambas as espécies de carrapatos. Porém, notou-se que a emboscada ocorreu em proporção significativamente maior nas larvas e ninfas de *A. sculptum* em relação aos carrapatos *A. dubitatum* e que estes últimos permaneciam mais restritos às proximidades do solo. Na comparação da atração exercida por seres humanos às duas espécies de carrapatos, verificou-se que adultos e ninfas de *A. sculptum* são significativamente mais atraídos para seres humanos em relação aos mesmos estágios de *A. dubitatum*. Porém, de forma oposta, larvas de *A. dubitatum* foram significativamente mais atraídas para seres humanos que aquelas de *A. sculptum*. No conjunto, essas observações indicam que um ser humano em movimento em uma área de perigo de ocorrência de carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*, terá contato quase que exclusivo com larvas e/ou ninfas de *A. sculptum* particularmente no outono e inverno. Quando em posição estacionária, humanos são mais atrativos para adultos e principalmente ninfas de *A. sculptum*, mas também para larvas do carrapato *A. dubitatum*. Esta última observação, inesperada, precisa ser mais bem estudada no contexto da epidemiologia das doenças causadas por carrapatos. Finalmente, observou-se que quanto maior a proporção de *A. sculptum* na comunidade de carrapatos, menor a taxa de infecção de *A. dubitatum* por *R. bellii*, o que indica algum efeito refratário de *A. sculptum* sobre a difusão da bactéria. Baseado nestas observações, medidas de prevenção para evitar a exposição às duas espécies de carrapatos em áreas de perigo são propostas.

Palavras-chave: risco de picada, Ixodidae, capivara, Uberlândia, prevenção de doenças

Abstract

Diseases caused/transmitted by ticks presuppose physical contact and trophic exchange between the host, vector, and pathogen. In this context, we can establish three levels/sequential stages of relationship among these beings and that are essential for the epidemiology of diseases associated with ticks: 1- hazardous area, 2- exposure and 3- parasitic interaction. The hazardous area refers to the occurrence, within a certain area, of the tick and in this, when applicable, of the pathogenic microorganism. The second level, exposure, refers to physical contact with the tick and that will occur in a hazardous area. The third level, parasitic interaction, refers, after physical contact, to the host's attractiveness to the tick and its parasitic capacity towards this specific host. Facing the unlikelihood of controlling/eliminating ticks from a hazardous area and/or impossibility to avoid the parasitic interaction for disease prevention, it is necessary to lessen the risk of host exposure to ticks. To this end, it is essential to know the bioecology, especially host-seeking behavior of tick species that are associated with host disease in a hazardous area. Two species of ticks in Brazil, *Amblyomma dubitatum* and *Amblyomma sculptum*, occur in environmental sympatry when maintained by capybaras. The number of these parasites is particularly high in areas under anthropic impact in southeastern Brazil and, in some places, they are associated with Brazilian Spotted Fever (BSF), a disease with extremely high lethality caused by the bacterium *Rickettsia rickettsii*. Although the tick nymph *A. sculptum* is considered the main vector of the pathogen, the proportions between the two species and the behavior of each stage of the ticks influence the risk of human exposure to ticks and the bacteria. In addition, *Rickettsia bellii*, a non-pathogenic bacterium and that frequently infects *A. dubitatum* interferes with the transmission of the lethal *Rickettsia* by mechanisms that are still unclear. Therefore, this work aimed to contribute with information for protocols that reduce the risk of human exposure to ticks at areas hazardous for the transmission of BSF or other diseases associated with these two tick species. Among others, the density, behavior, and proportional relationship between these two tick species in the urban area of an BSF-free municipality and related to the risk of human exposure to ticks were evaluated. For this purpose, ticks were collected in ten locations with capybaras and bordering water bodies in the three seasons of the year characterized by peaks of activity of the parasitic stages of the *A. sculptum* tick. The collections of ticks in each location were made exhaustively in a standardized collection unit of 400 m² and the coordinated application of four techniques. These techniques also allowed the evaluation of the host-seeking behavior of ticks according to the species and

stage. Finally, the tick infection rate with *R. bellii* was correlated to the relative proportion of *A. sculptum*/*A. dubitatum* at each location. During the study period, 52,953 ticks were collected exclusively from two species, *A. sculptum* and *A. dubitatum*. Of these ticks, 83.4% were *A. sculptum* (1,523 adults, 10,545 nymphs and 32,104 larvae) and 16.6% *A. dubitatum* (464 adults, 2,153 nymphs and 6,164 larvae). Although the largest number of ticks collected was of the *A. sculptum* species, the prevalence of species varied among the ten study sites. During the study period, an average annual density of 4.4 ticks/m² was found, varying between 0.03 and 31.8 ticks/m² according to the location, season, species, and stage of ticks. As for the host-seeking behavior of ticks, ambush predominated in larvae and hunter in nymphs and mainly in adults, for both tick species. However, it was noted that the ambush host-seeking occurred in a significantly greater proportion of larvae and nymphs of *A. sculptum* in relation to *A. dubitatum* ticks and the latter remained more restricted to the ground. Adults and nymphs of *A. sculptum* were significantly more attracted to humans in relation to the same stages of *A. dubitatum*. Conversely, larvae of *A. dubitatum* were significantly more attracted to humans than those of *A. sculptum*. Taken together, these observations indicate that a human being in movement along *A. sculptum* and *A. dubitatum* hazardous area will have an almost exclusive exposure to *A. sculptum* larvae and/or nymphs, particularly in autumn and winter. When in a stationary position, humans are more attractive to adults and especially nymphs of *A. sculptum*, but also to larvae of *A. dubitatum*. This unexpected observation needs additional studies within the epidemiology of tick-borne diseases. Finally, it was observed that the higher the proportion of *A. sculptum* in the tick community, the lower the infection rate of *A. dubitatum* by *R. bellii* and that indicates a refractory effect of *A. sculptum* on the diffusion of the bacteria. Based on these observations, preventive measures to avoid exposure to the two species of ticks in hazardous areas are proposed.

Keywords: tick-bite risk, Ixodidae, capybara, Uberlândia, disease prevention

SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO.....	10
II - MATERIAL E MÉTODOS.....	17
III – RESULTADOS.....	26
Espécies e densidade de carrapatos na bacia do rio Uberabinha.....	26
Sazonalidade da infestação ambiental por carrapatos.....	31
Número e proporção relativa de carrapatos coletados de acordo com a técnica de captura.....	34
Busca visual e altura de espreita de carrapatos na vegetação.....	37
Carrapatos em comportamento de emboscada.....	36
Exposição humana a carrapatos em comportamento de ataque.....	39
Infecção de carrapatos por <i>Rickettsia</i>	45
Influência da proporção entre carrapatos <i>A. sculptum</i> e <i>A. dubitatum</i> sobre a taxa de infecção de <i>A. dubitatum</i> por <i>R. bellii</i>	46
IV – DISCUSSÃO.....	48
V – CONCLUSÕES.....	58
REFERÊNCIAS.....	60

I - INTRODUÇÃO

Carrapatos são artrópodes hematófagos de distribuição cosmopolita, ectoparasitas de todas as classes de vertebrados terrestres, ocasionalmente de vertebrados marinhos (Kwak et al., 2020; Sonenshine e Roe, 2014). O número de espécies descritas aumenta de forma contínua e somam, ao menos, 931 globalmente (Nava et al., 2017) dos quais 75 foram descritas no Brasil (Martins et al., 2019; 2021; Muñoz-Leal et al., 2020).

A maioria das espécies de carrapatos parasita animais selvagens, integra a biodiversidade da natureza prístina e sua biologia e ecologia são pouco conhecidas. Nestas relações carrapato-hospedeiro estabelecidas em condições naturais supõe-se a existência de mecanismos que limitam o número de parasitas a níveis toleráveis (Tatchell, 1987). Em verdade, nos ambientes originais, parasitos de forma geral, exercem importante papel regulatório e de seleção das populações de hospedeiros (Malan, et al. 1997).

Entretanto, aproximadamente 10% de espécies de carrapatos atingidos pela ação antrópica afetam negativamente a civilização humana (Jongejan e Uilenberg, 2004). Populações de algumas destas espécies foram expandidas localmente ou ainda para novas regiões geográficas, onde parasitam animais domésticos, sinantrópicos e acidentalmente o ser humano (Sonenshine, 2018). Outras espécies, mesmo que não expandidas, transmitem microrganismos que são verdadeiras patogênicos para hospedeiros não habituais em áreas sob impacto antrópico (Scinachi et al., 2017). De forma geral estas populações de carrapatos afetados pela ação antrópica causam prejuízos relevantes à saúde animal. Exemplificam tais prejuízos a ação do carrapato *Rhipicephalus microplus* sobre bovinos (Jongejan; Uilenberg, 2004) e dos carrapatos do complexo *Rhipicephalus sanguineus*, vetores do agente da erliquiose monocítica canina (*Ehrlichia canis*) para cães (Vieira et al., 2011).

De forma ocasional algumas espécies de carrapatos podem infestar habitações e parasitar o ser humano repetidamente (de Oliveira et al., 2018; Reck et al., 2013). Porém, a saber, o ser humano não é hospedeiro habitual para nenhuma espécie de carrapato e só é picado ao frequentar áreas habitadas por outras espécies animais hospedeiras do vetor. Qualquer que seja o caso, o contato humano mesmo que ocasional e/ou acidental com determinadas espécies de carrapatos e/ou em determinados contextos eco-epidemiológicos pode resultar em doença por ação direta (tóxica, alérgica) ou indireta (transmissão de patógeno) (de Oliveira et al., 2018; Hall-Mendelin et al., 2011; Hodžić et

al., 2019; Reck et al., 2013; Sonenshine, 2018). A doença pode estar restrita às áreas naturais em que o carrapato e seu patógeno circulam habitual e originalmente. Porém, na maioria das vezes ocorre em áreas com expansão de populações de carrapato e/ou nestes de microrganismos patogênicos como produto accidental da ação antrópica. Exemplificam este último, a impressionante expansão da borreliose de Lyme nos Estados Unidos (Eisen et al., 2017) da Febre Maculosa Brasileira no Sudeste do Brasil (Polo et al., 2015) e da Febre Hemorrágica da Criméia e Congo na Turquia e circunvizinhanças (Estrada-Peña et al., 2007).

Assim como em outras doenças parasitárias e infecciosas, as doenças causadas/transmitidas por carrapatos pressupõem o contato físico e intercâmbio trófico entre o hospedeiro, vetor e o patógeno. Neste contexto, pode-se estabelecer três níveis/etapas sequenciais e essenciais de relacionamento destes seres e fundamentais na epidemiologia de doenças humanas associadas a carrapatos: 1 - área de perigo, 2 - exposição e 3 - interação parasitária. Os dois primeiros níveis se referem à proximidade e contato do ser humano com o vetor (Zeimes et al., 2014). De forma específica, a área de perigo se refere à ocorrência, em uma determinada área, do carrapato e neste, quando for o caso, do microrganismo patogênico. A abrangência da área de perigo é definida por autoridades sanitárias e escala geográfica de sua atuação. Assim, por exemplo, autoridades locais podem considerar um parque de uma cidade enquanto autoridades de outros países considerarão a cidade, o estado ou até o país como área de perigo para determinada doença associada a carrapatos.

O segundo nível, a exposição, se refere ao contato físico com o carrapato e que ocorrerá em uma área de perigo. Para que esta exposição ocorra, há a necessidade da coincidência espaço-temporal do carrapato com o ser humano. Esta coincidência é uma resultante dos comportamentos tanto do potencial hospedeiro como do vetor em uma área de perigo e que os fazem convergir no tempo-espaço. Se o comportamento do vetor for considerado padronizado, o comportamento do hospedeiro em uma área de perigo pode definir o risco de exposição às doenças associadas a carrapatos. Este nível de relacionamento é fundamental na epidemiologia pois permite, conhecido o comportamento padrão das espécies de carrapato, ajuste no comportamento humano para diminuição do risco de exposição mesmo em uma área de perigo.

O terceiro nível, a interação parasitária, se refere, após o contato físico, à atratividade do hospedeiro ao carrapato e capacidade parasitária para aquele hospedeiro específico. A atratividade é determinada pelas características físico-químicas da

superfície do ambiente, a superfície do hospedeiro no caso, percebidas por receptores em especial nos palpos e órgão de Haller do carrapato (Guerin et al., 2000; Waladde e Rice, 1982). Com esse órgão sensorial, o carrapato sente as características físicas da superfície em que se encontra (temperatura, por exemplo), bem como odores e substâncias emanadas pelo hospedeiro e de carrapatos coespecíficos (feromônios de agregação e fixação). O hospedeiro, e neste um local específico, sendo atrativos, ativam o carrapato para iniciar o processo parasitário. Porém, para completar a hematofagia o carrapato deverá ser capaz de atravessar barreiras físicas e manipular os mecanismos reativos do hospedeiro. Estes mecanismos criam potencialmente ambiente cutâneo impeditivo para a hematofagia, lesam diretamente o carrapato e/ou ainda estimulam a autolimpeza do hospedeiro (ato de coçar e/ou lambadura “grooming”). A pele do hospedeiro é perfurada pela ação mecânica das quelíceras do carrapato para penetração do hipostômio e canal alimentar (Kemp et al., 1982). Em muitas espécies a fixação ao hospedeiro é reforçada pela produção pelas glândulas salivares do cemento que ancora os dentes do hipostômio no hospedeiro (Kemp et al., 1982). No parasitismo com sucesso, após a perfuração da pele e fixação, os processos reativos do hospedeiro são modulados em favor do carrapato através de um coquetel de substâncias presentes na saliva do parasito e que tem uma potente atividade farmacológica. De forma abrangente, a saliva modula as respostas inflamatórias, imunes, a hemostasia, reparação tecidual e em especial a dor e o prurido do hospedeiro (Nuttall, 2019).

A prevenção das doenças causadas por carrapatos pode ocorrer em qualquer um dos três níveis de relacionamento do hospedeiro com carrapatos acima discriminados. Carrapatos possuem uma especificidade ambiental elevada (Klompen et al., 1996; Nava e Guglielmone, 2013) e que impede, restringe ou favorece a manutenção de populações do ectoparasito. Dessa forma, áreas de perigo são caracterizadas por ecossistemas adequados para uma determinada espécie de carrapato e que, portanto, possui ambiente e hospedeiros adequados para o parasito. Se uma área de perigo for diminuta, por exemplo um canil, pode ser tratada com acaricidas, ser manejada para se tornar inadequada para carrapatos como, por exemplo, a limpeza de pastos para controle de *Amblyomma sculptum* (Labruna et al., 2001) ou ainda ser submetida a uma remoção de hospedeiros chave como de capivaras de um parque ou condomínio (Brites-Neto e Brasil, 2014; Nunes et al., 2019). Na impossibilidade de controle conforme as anteriores, uma área de perigo deverá ser evitada, embora isso, em muitos casos, seja impossível. Essas áreas

muitas vezes são frequentadas a trabalho, para mobilidade, lazer ou ainda serem locais de moradia.

A interação parasitária, o terceiro nível de relacionamento, poderá ser evitada/controlada por procedimentos de proteção individual como por exemplo repelentes, acaricidas, autoexame frequente, vestimentas que impedem contato (https://www.cdc.gov/ticks/avoid/on_people.html. acesso em 11/09/2020), e até vacinas (Canales et al., 1997). Estes procedimentos para impedir a interação parasitária, entretanto, são muitas vezes impraticáveis ou ineficientes e, deste modo, insuficientes na prevenção.

Portanto, considerando-se a frequente impossibilidade de controle/eliminação de carrapatos de uma área de perigo e, ainda, a dificuldade de prevenção da interação parasitária, torna-se necessário, para prevenção de doenças humana, diminuir o risco de exposição a carrapatos em tais locais. Como já exposto, para esse fim é essencial conhecer a bioecologia, em especial comportamento de busca por hospedeiro das espécies de carrapatos associados às doenças do hospedeiro em uma área de perigo. Conhecendo esse comportamento padrão do vetor, existe a possibilidade de ajustar o comportamento do ser humano nesta área para evitar a sobreposição espaço-temporal e, conseqüentemente, o contato físico.

O comportamento por busca de hospedeiro é regulado pela percepção da constituição biótica e abiótica ambiental nos arredores do carrapato à semelhança à descrita anteriormente para a interação parasitária “per se” na superfície do hospedeiro. As características físico-químicas da superfície do ambiente são percebidas por fotorreceptores, quimiorreceptores, mecanorreceptores e termorreceptores nos palpos, na quelícera, nos olhos, no escudo e no órgão de Haller (Guerin et al., 2000; Waladde e Rice, 1982). Essas estruturas sensoriais do carrapato percebem sombras, variações de temperatura, vibrações, sons, odores e substâncias emanadas pelo hospedeiro e que determinam o comportamento de busca por hospedeiros. Esse comportamento varia conforme a espécie de carrapato e é desconhecida na maioria das espécies. Porém, observações em algumas das espécies permitiram apontar aspectos ou categorias comportamentais comuns a diversas espécies de carrapatos (Sonenshine e Roe, 2014).

Assim, de maneira geral, em uma área de perigo, carrapatos podem ser nidícolas ou não nidícolas e estes últimos, de ataque ou de emboscada. Os nidícolas vivem e completam seu ciclo de vida em ou próximos a abrigos dos hospedeiros, como ninhos, cavernas e tocas. Nestes casos populações daquela espécie de carrapato se agrupam em

locais restritos e o contato com o ser humano ocorre apenas em situações específicas ou peculiares de acesso a estes locais (tratadores em canis, pesquisa em cavernas e outros) ou de interação/manipulação com os hospedeiros habituais .

As espécies de carrapatos não nidícolas buscam por hospedeiros em espaços abertos como nas florestas, savanas, desertos, pradarias, várzeas e semelhantes. Nestes espaços abertos os carrapatos permanecem debaixo de pedras, folhiços ou serapilheira, na vegetação, enterrados na areia entre outros. Estas espécies buscam por hospedeiros que se movem por aquela área e, para atingir o hospedeiro, exibem dois comportamentos bem definidos; emboscada ou ataque ou ambas. Estas duas formas de busca por hospedeiro dos carrapatos são guiadas por semioquímicos conhecidos por cairomônios (Sonenshine, 2004). Cairomônios são compostos como o CO₂, ácido láctico ou NH₃ que emanam da respiração ou pele de hospedeiros potenciais ou aqueles depositados na vegetação pelo roçar de hospedeiros que passam e que estimulam a busca por hospedeiros dos carrapatos.

No comportamento de ataque, carrapatos emergem de abrigos temporários atraídos por CO₂, amônia, H₂S ruminal, acetona e outros odorantes emitidos pelo hospedeiro estacionado, e/ou deitado e os carrapatos caminham/correm na direção deste (Guerin, 2000; Sonenshine e Roe, 2014). Por outro lado, carrapatos em emboscada são atraídos e se imobilizam sobre a vegetação em que cairomônios foram depositados pelo roçar do hospedeiro (Sonenshine, 2004). Neste local aguardam pela nova passagem e roçar do hospedeiro, oportunidade em que agarram e se transferem para este. Por este motivo carrapatos são encontrados na vegetação de percursos habituais de animais (Sonenshine, 2004; Szabó et al., 2009; Terassini et al., 2010).

Embora não ocorra uma sobreposição espacial estrita, duas espécies de carrapatos, *Amblyomma dubitatum* e *Amblyomma sculptum* ocorrem em simpatria quando alimentadas em capivaras (Brites-Neto et al., 2018; Luz et al., 2019; Queirogas et al., 2012). As populações destas espécies de carrapatos dominam e são particularmente densas em áreas sob impacto antrópico que favoreceram a capivara (Luz et al., 2019; Polo et al., 2017). Esta situação é disseminada no sudeste brasileiro se estendendo à região sul no norte do Paraná e regiões do centro-oeste ao oeste e norte (Szabó et al., 2013; Valente et al., 2020). Embora ocorram áreas de simpatria, o comportamento de busca por hospedeiros das duas espécies é, em muitos aspectos, dissimilar. Assim, apesar dos adultos e das ninfas de ambas as espécies exibirem comportamento de ataque (Pajuaba et al., 2018), de forma oposta às ninfas e adultos do carrapato *A. dubitatum*, as do *A.*

sculptum também se utilizam da emboscada (Szabó et al., 2018). Por esta razão, há diferenças ainda não quantificadas no risco de exposição humana aos dois vetores em áreas de perigo.

As áreas de simpatria das duas espécies de vetor e seu hospedeiro são caracterizadas pela presença de um corpo d'água e vegetação, capim ou produção agrícola ao seu redor, requisitos para a sobrevivência de um hospedeiro adequado para as duas espécies, a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Em alguns desses locais, notadamente na região de Campinas, o contexto ecológico com corpo d'água, capivara e os carrapatos acima mencionados está associado a casos humanos da Febre Maculosa Brasileira (FMB) (Angerami et al., 2009). Nestes casos, carrapatos *A. sculptum*, ninfas em especial, são considerados os vetores para humanos do agente da Febre Maculosa Brasileira (FMB), a bactéria intracelular *Rickettsia rickettsii* causando uma doença infecciosa de elevada letalidade (Labruna, 2009). Destaque-se que ninfas de *A. sculptum* estão entre o estágio e a espécie de carrapato com a mais elevada antropofilia já documentada no Brasil (Ramos et al., 2014; Szabó et al., 2020).

A epidemiologia da FMB ainda possui aspectos desconhecidos, em especial as causas para surgimento da doença em algumas áreas com capivaras e o vetor, mas não em outras. Como as taxas de infecção do carrapato *A. sculptum* com a bactéria *R. rickettsii* em áreas endêmicas é muito baixa e de difícil detecção (Costa et al., 2020; Guedes et al., 2011; Labruna, 2009) a endemia é em sua maioria descoberta pela ocorrência de casos humanos de FMB. Em um estudo recente foi observado que, em comparação com áreas não endêmicas, áreas endêmicas para FMB são caracterizadas por um predomínio tanto ambiental quanto em capivaras, de carrapatos *A. sculptum* perante aos da espécie *A. dubitatum* (Luz et al., 2019). As razões para essa diferença na proporção entre as duas espécies ainda não estão claras, contudo, ela poderá servir de indicador de áreas mais ou menos propensas ao surgimento da FMB e assim de medidas preventivas.

Outro aspecto a ser considerado na epidemiologia da FMB é a interferência que a circulação de uma espécie de riquetsia possa ter sobre uma outra espécie desse gênero. Essa interferência pode se dar de duas maneiras a saber: uma no hospedeiro vertebrado, outra no invertebrado. Já foi demonstrado que a resposta imune gerada pela infecção de hospedeiro vertebrado por uma espécie de riquetsia (*Rickettsia amblyommatis*) pode prevenir a infecção fatal por uma riquetsia mais patogênica (*R. rickettsii*) (Rivas et al., 2015) ou ainda diminuir a transmissão de riquetsia patogênica (Levin et al., 2013). No hospedeiro invertebrado foi demonstrado o fenômeno da interferência riquetsial

caracterizado pela inibição da infecção nos ovários (e dos ovos) dos carrapatos infectados por uma espécie de riquetsia por uma segunda espécie de riquetsia (Burgdorfer et al., 1981; Macaluso et al., 2002). À esse fenômeno de interferência foi atribuído a inibição da circulação de riquétsias patogênicas na presença de outra mais prevalente como da “*Candidatus Rickettsia andeanae*” sobre *Rickettsia parkeri* em carrapatos *Amblyomma maculatum* (Paddock et al., 2015) ou ainda de *Rickettsia bellii* sobre *R. rickettsii* em *A. dubitatum* (Sakai et al., 2014). Esta última observação sustenta a especulação de que populações de *A. dubitatum* com elevadas taxas de infecção por *R. bellii* poderiam inibir a infecção de *A. sculptum* por *R. rickettsii* quando em simpatria e alimentadas em capivaras (Luz et al., 2019).

Observa-se pelos expostos a importância da prevenção de picada humana por carrapatos em áreas endêmicas ou com potencial de endemismo para FMB. Como estas áreas de perigo para FMB estão disseminadas em diversas áreas rurais e até de locais verdes de grandes centros urbanos (Brites-Neto et al., 2014; Nasser et al., 2015; Pajuaba Neto et al., 2018; Queirogas et al., 2012) evita-las por completo torna-se difícil. Uberlândia é o segundo município mais populoso do Estado de Minas Gerais. Assim como em diversos municípios brasileiros do Sudeste, são observadas populações de capivaras e infestações por carrapatos *A. dubitatum* e *A. sculptum* nas áreas verdes com corpos d’água da região urbana (Pajuaba Neto et al., 2018; Queirogas et al., 2012). Apesar do município ser indene para FMB, a picada humana por carrapatos é uma realidade também presente na área urbana de Uberlândia (Pajuaba Neto et al., 2018). Neste contexto, o município proporciona condições de estudar com segurança o comportamento dessas duas espécies de carrapatos e avaliar o risco de exposição humana. Essas informações serão importantes na prevenção da picada humana em áreas de perigo de para transmissão de FMB e de outras doenças associadas a essas espécies de carrapatos. Para esse fim o presente trabalho teve por objetivos:

- 1) Desenvolver amostragem quantitativa de carrapatos em vida livre associados a ambientes com ocorrência de capivaras no município de Uberlândia;
- 2) Determinar a proporção relativa entre *A. sculptum* e *A. dubitatum* de acordo com a espécie, estágio e sazonalidade em áreas indenies para FMB;
- 3) Descrever o comportamento de busca por hospedeiro predominante de cada estágio dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*;

- 4) Determinar o risco de exposição humana às picadas dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* de acordo com a espécie, estágio e sazonalidade em áreas com a ocorrência de capivaras e indene para FMB;
- 5) Determinar a taxa de infecção de carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* com *R. bellii* em áreas indenadas para FMB e relacionar com a ocorrência relativa de cada espécie de vetor.

II - MATERIAL E MÉTODOS

1. Local e período do estudo

O estudo foi realizado de maio de 2018 a maio de 2019 na zona urbana do município de Uberlândia, Minas Gerais. Este município é o segundo mais populoso do Estado com população estimada no ano de 2020, em 699.097 habitantes (IBGE acesso em 20/09/2020). Uberlândia está inserida no Bioma Cerrado e possui um clima tropical com inverno brando e verão quente e chuvoso (SEPLAN, 2019). A saber, o município de Uberlândia é indene para febre maculosa brasileira.

A coleta de carrapatos foi realizada em dez locais no município de Uberlândia e com acesso humano para trabalho ou lazer frequente ou ocasional (Tabela 1 e Figura 1). Todos os locais de coleta estavam localizados nas margens imediatas de corpos d'água em áreas verdes urbanas e com ocorrência de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), determinada pela observação visual dos animais no local, ou de sinais destes como fezes e pegadas,. As coletas foram realizadas no meio de três estações sequenciais, outono, inverno e verão e, coincidentes com os picos sazonais de, respectivamente, larvas, ninfas e adultos de *A. sculptum* (Labruna et al., 2003).

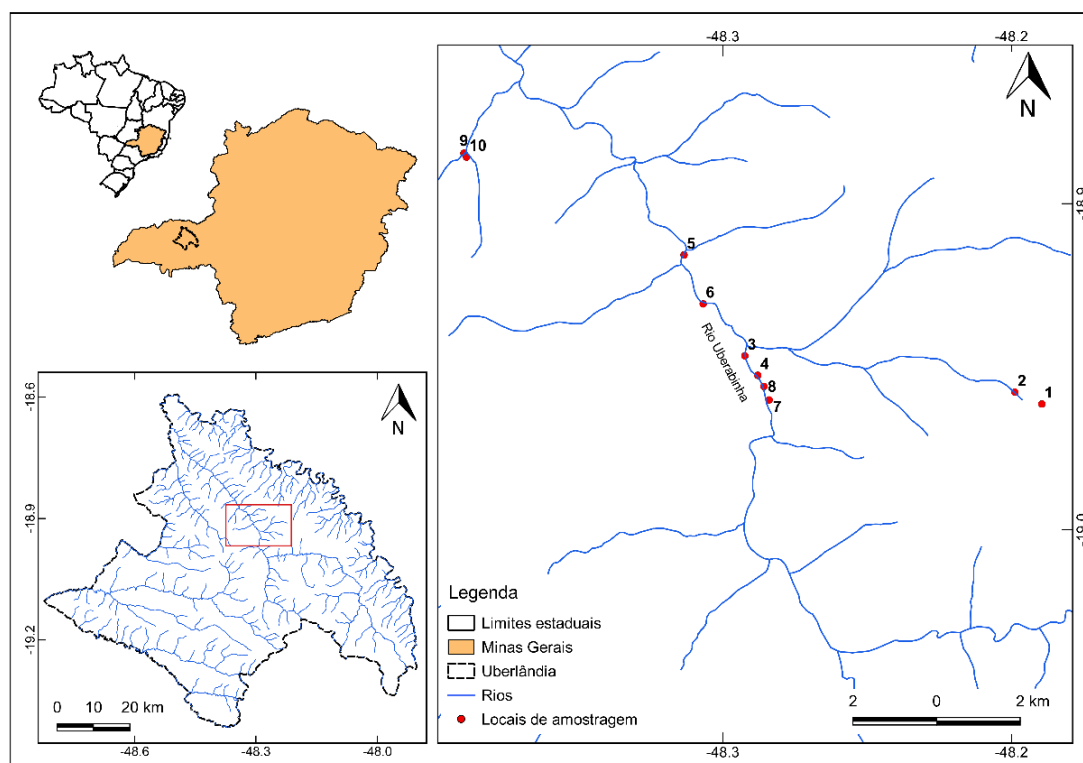


Figura 1. Locais de coleta de carrapatos no município de Uberlândia, Minas Gerais. 1- Limite externo do Parque Santa Luzia; 2- Parque Santa Luzia; 3- Praia Clube “Serralheria”; 4- Praia Clube “Eclusa”; 5- Rio Uberabinha próximo à BR 365; 6- Parque Linear “quartel”; 7- Adjacente à rua Oscarina Cunha Chaves; 8- Emissário na Beira do Rio Uberabinha; 9- Condomínio Morada do Sol "Norte"; 10- Condomínio Morada do Sol "Sul".

Tabela 1. Descrição ambiental dos locais de coleta de carrapatos no município de Uberlândia, Minas Gerais, entre 2018 e 2019.

Local	Características ambientais dos locais de coleta
1 – Limite externo do Parque Santa Luzia	Margens de córrego afluente do rio Uberabinha adjacente ao Parque Santa Luzia (separado deste por via pública/ponte). Linhas de armadilhas* 2-5-8 e 3, 6 e 9 posicionadas em mata ciliar com cobertura por arbóreas (<i>Syzygium cumini</i>) e folhiço no solo. Linha de armadilhas 1-4-7 disposta em pasto de <i>Brachiaria</i> densa e alta adjacente à mata ciliar. 18° 56'34.91" S 48° 13'45.88" O
2 - Parque Santa Luzia	Margens de córrego afluente do rio Uberabinha. Interior do Parque Santa Luzia (separada de vias públicas por alambrado). Constituído em sua maioria por mata semidecidual degradada e uma pequena represa. Armadilhas da linha 3, 6 e 9 na margem da represa em solo encharcado/alagado, com vegetação aquática conhecida como taboa (<i>Thypha dominguensis</i>) com 2 m de altura. Restante das armadilhas em área sombreada com extensa trama de árvores baixas com caules e ramos horizontalizados, algumas caídas. Sujeito a inundação frequente. 18° 56'26.13" S 48° 14'08.98" O

3 - Praia Clube "Serralheria"	Margem do rio Uberabinha com armadilhas da linha 3, 6 e 9 em área alagável. Sombreamento por mata degradada (bambus e trepadeiras) gerando folhicho farto. Pontos 8 e 9 sob moita de bambu e no solo espessa camada de folhas de bambu. 18° 55'54.56" S 48° 17'35.99" O
4 - Praia Clube "Eclusa"	Margem do rio Uberabinha com mata ciliar degradada com muitas trepadeiras (armadilhas 7, 8 e 9) e bambus (armadilhas 2 e 3). Sombreamento mediano e folhicho farto em toda a área. Linha de armadilhas 4-5-6 coberta por <i>Brachiaria</i> rala. Armadilhas 9 e 6 em área alagável. 18° 56'11.81" S 48° 17'25.25" O
5 - Rio Uberabinha próximo à BR 365	Margem do rio Uberabinha próximo à rodovia BR 365. De 5 e 7 m a partir da margem do rio, cobertura vegetal por capim colônio e elefante (armadilhas 3, 6 e 9), com duas árvores grandes que sombreiam parte da margem (armadilhas 3 e 9). O restante da área coberta por gramínea baixa. Área não sujeita a alagamento. 18° 54'39.84" S 48° 18'22.85" O
6 - Parque Linear "quartel"	Área de parque municipal linear entre uma via pública e margem direita do rio Uberabinha. Margem do rio com sombreamento mediano por plantas invasoras arbóreas (<i>Leucena</i>) na linha de armadilhas 3, 6 e 9 e 2, 5 e 8. Restante da área constituída de gramínea baixa. 18° 55'17.77" S 48° 18'06.27" O
7 - Adjacente à rua Oscarina Cunha Chaves	Margem direita do rio Uberabinha com mata degradada (mata estacional semidecidual) com lianas e bambu. Linha de armadilhas 3-6-9 e 2-5-8 sujeitas a alagamento. Árvores altas com sombreamento total na área, porém sub-bosque aberto. Moita de bambu na armadilha 1 com espesso folhicho de bambu se estendendo para armadilhas 2, 3 e 4. Solo com cobertura baixa, diversa 18° 56'32.22" S 48° 17'17.06" O
8 - Emissário	Margem esquerda do rio Uberabinha com barranco íngreme (passagem de emissário de esgoto) coberta por <i>Brachiaria</i> na linha de armadilhas 3-6-9. Após o barranco predomínio de <i>Leucenas</i> arbóreas e outras angiospermas nas armadilhas 4, 5, 7 e 8. Armadilhas 1 e 2 recebem maior sombreamento e delimitam a borda de um lago formado pelo represamento de água pelo aterramento lateral para o emissário. 18° 56'21.50" S 48° 17'21.37" O
9 - Condomínio Morada do Sol "Norte"	Margens de represa em condomínio residencial, quase sem sombreamento, solo coberto por gramínea baixa. Limitada no outro extremo por via asfaltada. 18° 53'16.07" S 48° 21'11.50" O
10 - Condomínio Morada do Sol "Sul"	Margens de represa em condomínio residencial. Árvores esparsas margeando a área produzindo acúmulo de folhicho. Solo coberto por <i>Brachiaria</i> rala (chegando a aproximadamente 30 cm). 18° 53'24.01" S 48° 21'08.68" O

*Disposição das armadilhas (linhas) detalhado na Figura 2a

2. Coleta padronizada de carrapatos

A coleta padronizada de carrapatos teve os seguintes objetivos: 1) esforço de captura equivalente nos dez locais e em cada local em cada uma das três estações do ano para constituir repetições e permitir comparações; 2) coleta exaustiva dos carrapatos para determinar a densidade de infestação ambiental; 3) utilização de técnicas de coleta que permitem o discernimento do comportamento por busca de hospedeiro dos carrapatos de acordo com a espécie e estágio e, 4) avaliação do risco de exposição humana a carrapatos que buscam hospedeiro com comportamento de ataque ou emboscada das duas espécies predominantes (*A. dubitatum* e *A. sculptum*) em cada um dos estágios evolutivos (larvas, ninfas e adultos).

2.1. Técnicas de coleta de carrapato

As técnicas de coleta de carrapatos foram descritas previamente em detalhes (Pajuaba Neto et al., 2018; Ramos et al., 2014; Szabó et al., 2009; Terassini et al., 2010). De forma resumida foram utilizadas sequencialmente as seguintes técnicas:

- a) busca visual - consiste em perscrutar a vegetação visualmente por carrapatos;
- b) arrasto de flanela – se refere ao arrastar de uma flanela branca (2 m x 1m) sobre a vegetação;
- c) isca humana - pesquisador sentado sobre pano branco (1 m x 1m) por 45 minutos. Recolhe em três categorias sequenciais de 15 minutos os carrapatos que chegam ao pano atraídos pelo ser humano.
- d) armadilha de gelo seco - panos de 50 cm x 50 cm dispostas sobre o solo com 300 gramas de gelo seco no centro e que ao sublimar libera CO₂.

2.2. Procedimentos para coleta de carrapatos

A coleta em cada um dos dez locais em cada estação foi realizada em uma área delimitada de 400 m² (20m x 20m) (Figura 2a) e no período da manhã. Para esse fim inicialmente o perímetro da área foi demarcado e dois a três pesquisadores realizaram o arraste de flanela sistematicamente por toda a extensão dos 400 m². Carrapatos presos nos felpos do pano foram recolhidos a cada 20 m de arrasto. Durante este procedimento, busca visual por carrapatos foi realizada sobre a vegetação à frente do pesquisador. Localizados carrapatos sobre a vegetação, a altura destes em relação ao solo foi anotada. Em seguida,

demarcou-se, na área de coleta, a posição das nove armadilhas numeradas de gelo seco (ainda sem gelo seco) dispostas em três fileiras de três e separadas entre si e a borda do perímetro por 5 metros (equidistantes) (Figura 2a e 2b). Em três a cinco destes locais pesquisadores (iscas humanas) se sentaram para coleta dos carrapatos por eles atraídos. A posição de pelo menos três destas armadilhas (posições 1, 5 e 9 - em diagonal na área de 400 m²) foram necessariamente repetidas em todas as coletas (Figura 2a). Por último, o gelo seco foi disposto sobre os nove panos das armadilhas de gelo seco anteriormente posicionadas e mantidas por 90 a 120 minutos antes do recolhimento dos carrapatos atraídos.

Os carrapatos aderidos aos panos foram coletados com pinças; aqueles na vegetação foram coletados manualmente sendo que os agregados de larvas foram recolhidos em sua totalidade junto com a folha em que se encontravam. Todos os carrapatos foram acondicionados em frascos identificados e separados de acordo com o local, data, técnica de captura, altura na vegetação, número da armadilha de gelo seco e isca humana correspondente. Os adultos foram inicialmente mantidos vivos e larvas e ninfas em álcool 70° GL. As armadilhas de gelo seco e panos de arrastes (para arrasto e para armadilha humana) foram colocadas individualmente em sacos plásticos identificados, congeladas no laboratório e revisadas para busca de carrapatos não localizados no campo.

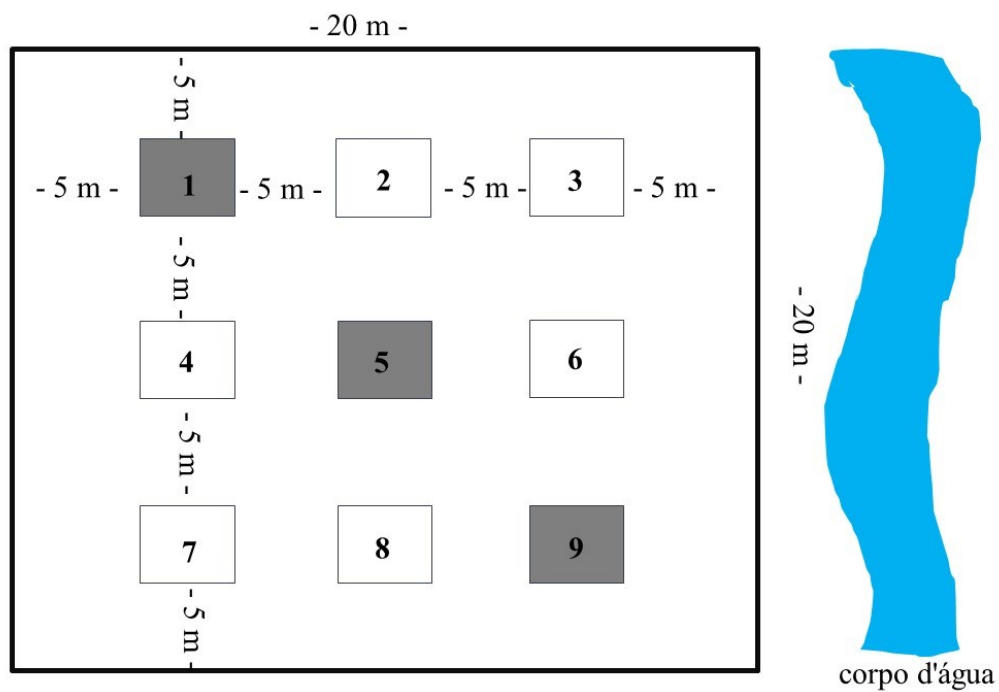


Figura 2a. Unidade amostral de carrapatos com 400 m². Armadilhas de CO₂ representados pelos nove quadrados no interior da área. Quadrados em cinza indicam a disposição das iscas humanas. O corpo d'água (represa ou rio) era localizado invariavelmente junto à linha de armadilhas três, seis e nove.

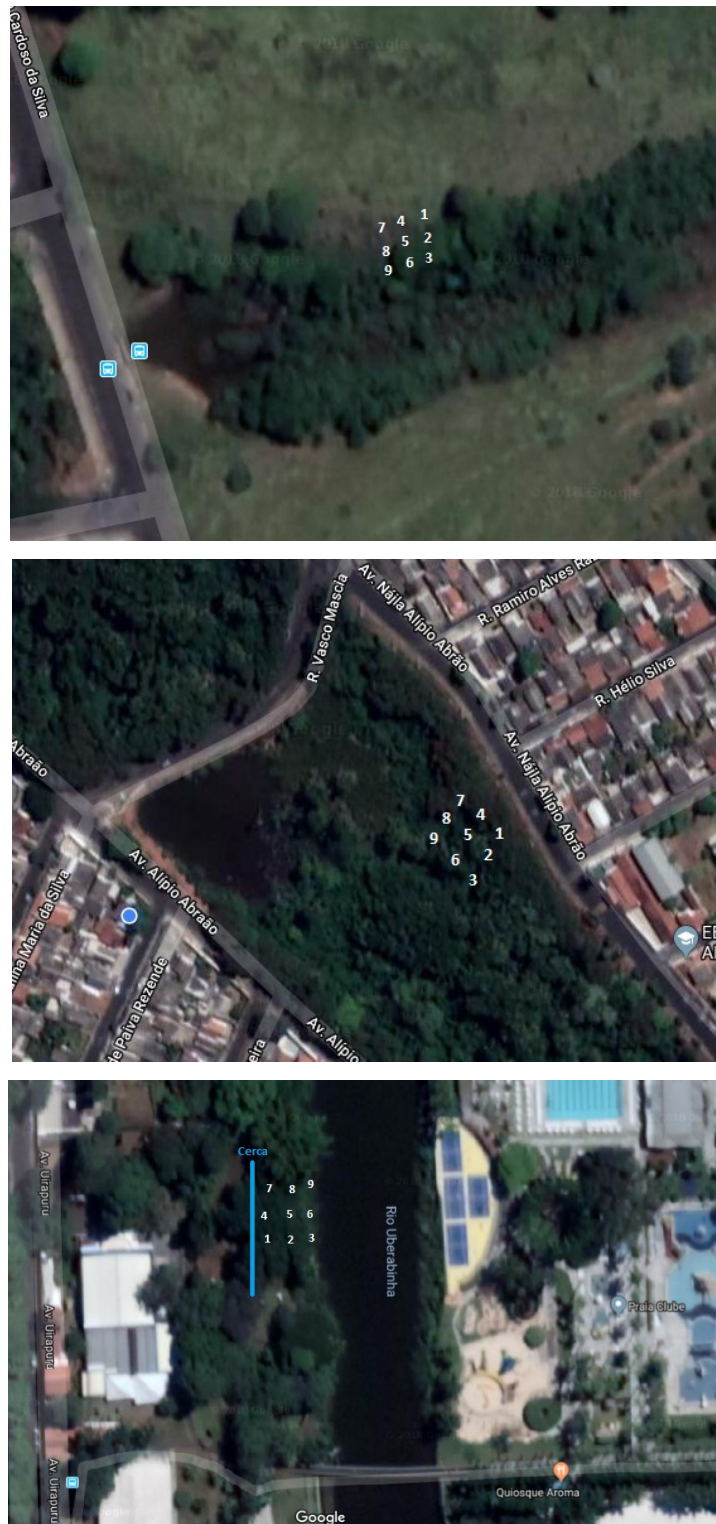


Figura 2b. Exemplos da distribuição espacial da unidade amostral para coleta de carrapatos em três locais da área urbana de Uberlândia, Minas Gerais. Notar a distribuição equidistante das nove armadilhas de CO₂ em uma área de 400 m². A- Local 1; B- Local 2 e C- Local 3. Imagem de satélite programa Google Earth

3. Identificação dos carrapatos

Adultos e ninfas foram identificados através de chaves dicotômicas (Barros-Battesti et al., 2006; Martins et al., 2014, 2010). Não existe chave para identificação de larvas do gênero *Amblyomma* para carrapatos neotropicais. Por este motivo, larvas de *A. sculptum* e *A. dubitatum* foram diferenciadas pelo tamanho conforme descrito por (Brites-Neto et al., 2018). Embora esta metodologia não permita distinguir outras espécies, tais espécies estariam em número muito reduzido para interferir nas avaliações propostas.

4. Detecção de riquetsias em carrapatos

Para a detecção e identificação de riquetsias nos carrapatos, o DNA dos artrópodes foi extraído conforme descrito anteriormente (Sangioni et al., 2005). Em seguida o DNA foi submetido à amplificação de um fragmento do gene *gltA* (gene citrato sintase, comum ao gênero *Rickettsia*) pela técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). Em havendo amplificação deste gene, o DNA correspondente foi submetido à amplificação do gene *ompA* (*outer membrane protein A*, característico das riquetsias do grupo da febre maculosa) (Labruna et al., 2004). Nas amostras que resultaram em amplificação do gene *gltA* apenas, foi realizada uma terceira reação, agora para amplificação de um segmento do gene *gltA*, específico da *Rickettsia bellii* (Szabó et al., 2013). Em todas as reações foram adicionadas um controle positivo (*Rickettsia vini*) e um controle negativo (todos os constituintes da reação sem a presença de DNA). O sucesso da extração de DNAs foi confirmada por uma PCR para amplificação do gene mitocondrial 16S rDNA de carrapatos (Mangold et al., 1998). Amostras amplificadas do gene *gltA*, 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).

A pesquisa molecular por riquetsias conforme descrito, foi realizada em amostras de carrapatos agrupadas (“pools”) abrangendo todas as situações de amostragem. Cada amostra foi necessariamente constituída por carrapatos da mesma espécie, estágio, local e data de coleta. Uma amostra de DNA de carrapatos adultos continha no máximo cinco metades de carrapatos e as de ninfas e larvas de, no máximo, 10 e 20 carrapatos inteiros, respectivamente. Foram analisados até quatro amostras (“pools”) de cada estágio de vida do carrapato (larvas, ninfas e adultos), em cada local (10 locais) e data de coleta (outono,

inverno e verão) resultando em 60, 74 e 39 amostras analisadas de, respectivamente adultos, ninfas e larvas. Os números desiguais de amostras e de carrapatos por amostra foram determinados pela disponibilidade variável no número de carrapatos por espécie em cada local e estação do ano.

5. Análise dos dados

Informações sobre infestações, locais, sazonalidade, altura de espreita na vegetação, técnicas de captura e presença de *Rickettsia* são apresentadas através de parâmetros descritivos (porcentagem, densidade, número máximo, mínimo, médio, mediana e desvio padrão).

O teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de comparações múltiplas de Dunn foi usado para verificar se a abundância de carrapatos por estágio evolutivo diferiu entre as três estações (outono, inverno e verão). Esse teste foi aplicado tanto por espécie como comparando as duas espécies. Para estes testes cada local (n=10) foi considerado como unidade amostral.

Um teste de Qui-quadrado (seguido de um teste de múltiplas comparações) foi usado para comparar a eficiência de coleta de acordo com o método utilizado (i.e., arraste de flanela, armadilha de CO₂, busca visual e isca humana). Essas comparações foram realizadas separadamente para as duas espécies de carrapatos e seus respectivos estágios de desenvolvimento. Esse teste foi realizado usando a função “multinomial.multcomp” do pacote “RVAideMemoire” (Hervé 2020) na linguagem de programação R (versão 4.0.1, R Core Team 2018).

A proporção de carrapatos em emboscada em relação ao total de carrapatos coletados foi comparada através do teste binomial de duas proporções e um nível de significância de 5%. Essas comparações foram feitas entre as duas espécies de acordo com cada estágio de desenvolvimento nas estações de maior prevalência do carrapato *A. sculptum*, ou seja, de larvas no outono, ninfas no inverno e de adultos no verão. Para essas análises, carrapatos localizados em busca visual ou coletados por arrasto de flanela foram considerados em comportamento de emboscada.

A proporção de carrapatos atraídos para iscas humanas em relação ao total de carrapatos em comportamento de ataque foi comparada através do teste binomial de duas proporções e um nível de significância de 5%. Foram considerados como carrapatos

exibindo comportamento de ataque aqueles atraídos para armadilhas de gelo seco e para as iscas humanas. Para essas análises foram incluídas todas as armadilhas de gelo seco e respectiva isca humana desde que pelo menos um carrapato tenha sido atraído para a isca humana ou para a armadilha de gelo seco correspondente. As análises para avaliar a proporção de carrapatos atraídos para iscas humanas foram realizadas comparando (i) os três estágios de desenvolvimento de cada espécie; (ii) cada estágio de desenvolvimento entre as duas espécies e (iii) as três estações do ano por espécie e estágio de desenvolvimento dos carrapatos.

Uma possível relação entre a proporção entre carrapatos *A. sculptum*/*A. dubitatum* sobre a taxa de infecção de *A. dubitatum* com *R. bellii* foi avaliada através do teste de correlação de Spearman. Para todas as análises adotou-se um alfa de 5%.

6. Autorizações e ética

Coletas de carrapato no ambiente foram realizadas sob a licença permanente para coleta de material zoológico nº 10762-3 do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio. O acesso e coleta de carrapatos em parque municipal (Parque Santa Luzia), condomínio particular (Morada do Sol) e clube social (Praia Clube) foi realizado com autorização municipal (parque) e convênios celebrados (empreendimentos particulares). As iscas humanas foram realizadas apenas por pesquisadores e autores do trabalho sem exposição direta a carrapatos no procedimento.

III - RESULTADOS

1. Espécies e densidade de carrapatos na bacia do rio Uberabinha

No período do estudo foram coletados 52.953 carrapatos exclusivamente de duas espécies, *A. sculptum* e *A. dubitatum*. Destes carrapatos, 83,4% (n= 44.172) eram *A. sculptum* (1.523 adultos, 10.545 ninfas e 32.104 larvas) e 16,6% (n=8.781) *A. dubitatum* (464 adultos, 2.153 ninfas e 6.164 larvas). Embora o maior número de carrapatos coletados tenha sido da espécie *A. sculptum*, a prevalência de espécies variou muito entre os dez locais do estudo (Figura 3). Assim observou-se uma maior prevalência numérica anual de *A. dubitatum* em quatro locais (1, 2, 3 e 5), notadamente no Parque Santa Luzia (local 2) e seu limite externo (local 1) e de *A. sculptum* nos seis locais restantes. Estas

proporções apresentaram algumas variações conforme a estação do ano (Figura 3). Assim observou-se no inverno no local 3 e em oposição à média anual, um número maior de carrapatos *A. sculptum* em relação a *A. dubitatum*. Neste caso específico a proporção foi alterada pelo elevado número de larvas do carrapato *A. sculptum* no inverno. Ainda, o número de carrapatos *A. dubitatum* sobrepujou *A. sculptum* nos locais 4 e 10 somente no verão. Nestes locais nesta estação observou-se maior abundância de larvas e ninfas de carrapatos *A. dubitatum* e quase ausência destes estágios do carrapato *A. sculptum*.

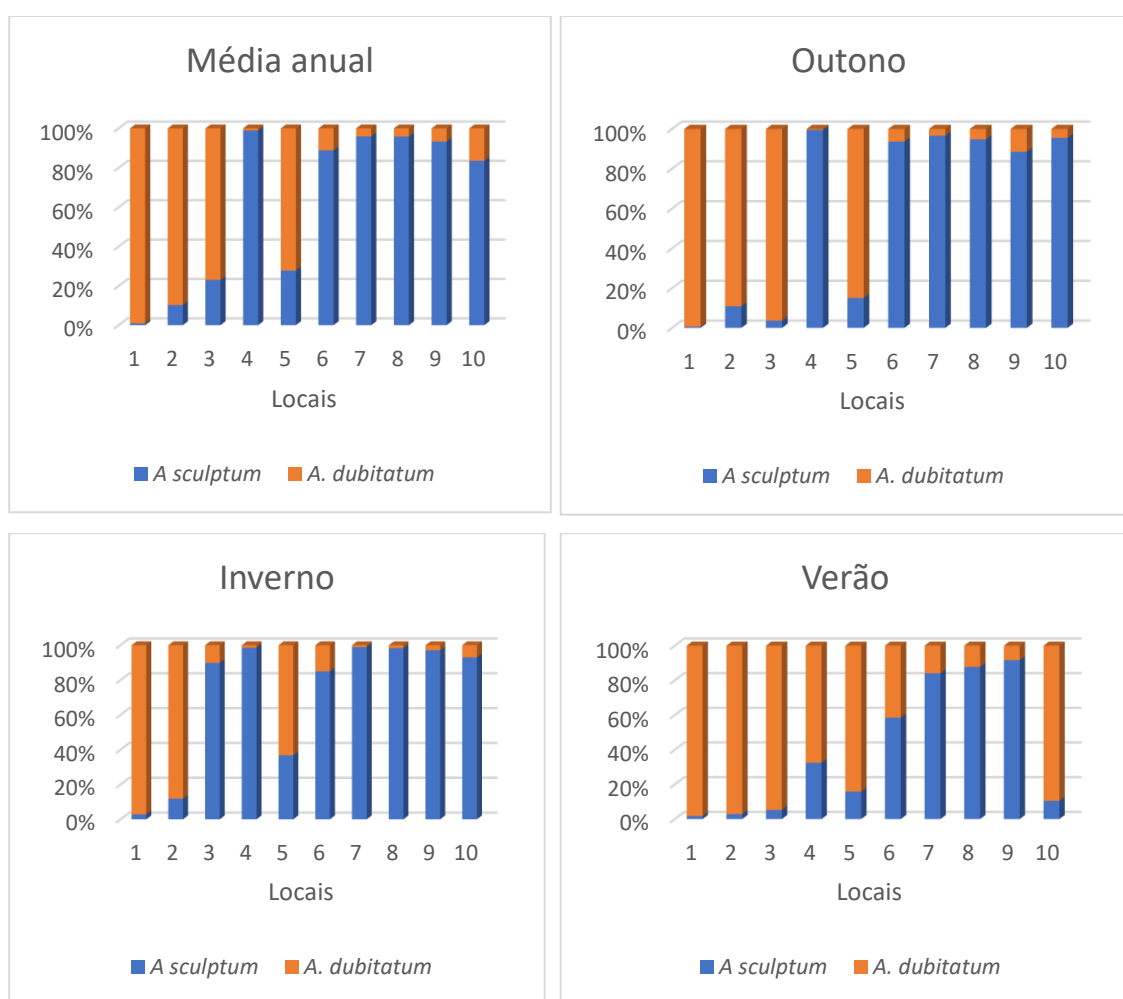


Figura 3. Proporção relativa anual e por estação do ano entre os números totais (larvas, ninfas e adultos) dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* coletados em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

Em locais frequentados por capivaras nas margens de corpos d'água na área urbana de Uberlândia foram encontrados em média, 1.765,1 carrapatos em 400 m², o que equivale a uma densidade média anual de 4,4 carrapatos/m². Entretanto, esta densidade variou muito conforme as espécies e estágios dos carrapatos, locais de coleta e as estações do ano. Assim, a maior densidade foi observada no outono no local 4 e a menor no verão no local 9 com 31,8 e 0,03 carrapatos/m², respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Número total e densidade média por m² em uma área de 400 m² de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* de acordo com local e a estação do ano nas dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

Locais	Número total (400 m ²)			Carrapatos por m ²		
	outono	inverno	verão	outono	inverno	verão
1	101	118	35	0,25	0,30	0,09
2	2833	355	117	7,08	0,89	0,29
3	1745	687	682	4,36	1,72	1,71
4	12721	838	108	31,80	2,10	0,27
5	259	740	284	0,65	1,85	0,71
6	1317	1218	53	3,29	3,05	0,13
7	9206	8193	2600	23,02	20,48	6,50
8	2603	2655	489	6,51	6,64	1,22
9	131	169	12	0,33	0,42	0,03
10	1726	597	361	4,32	1,49	0,90
Total	32642	15570	4741	8,16	3,89	1,19

As maiores densidades médias de carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* por estação do ano em Uberlândia foram aquelas de larvas no outono, seguidos de ninfas no inverno e por último de adultos no verão (Figura 4). Ressalte-se que, considerando as médias anuais, as três maiores densidades de carrapatos ocorreram pela infestação ambiental por *A. sculptum* nos locais 4, 7 e 8 (Figura 5).

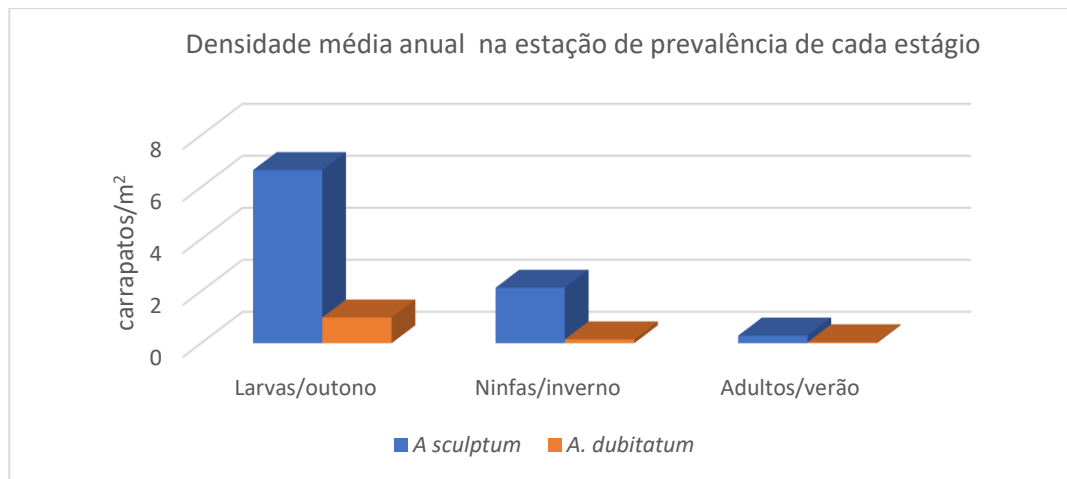


Figura 4. Densidade média na estação de prevalência de larvas, ninfas e adultos de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

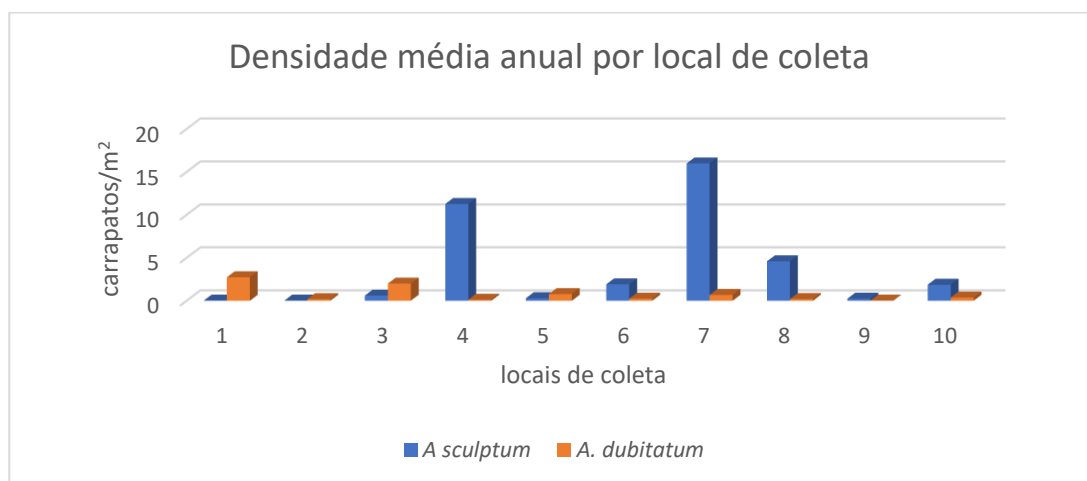


Figura 5. Densidade média anual de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

As maiores densidades de carrapatos por espécie na estação do ano de maior prevalência de cada estágio de *A. sculptum* estão ilustradas nas figuras de 6 a 8. Nota-se que as maiores densidades ocorreram nos mesmos locais das maiores médias anuais (locais 4, 7 e 8) com exceção do local 4 cuja densidade de ninfas e adultos foi superada por outros locais no inverno e verão, respectivamente.

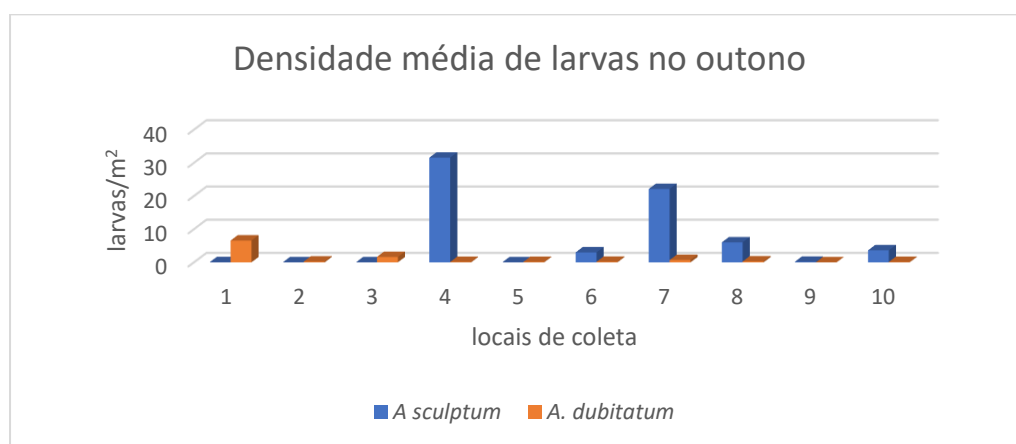


Figura 6. Densidade média no outono de larvas de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

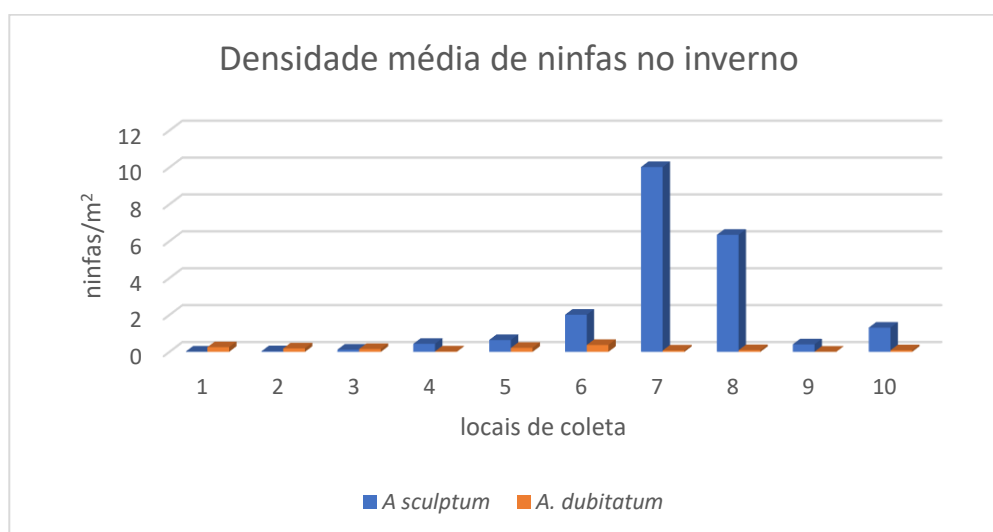


Figura 7. Densidade média no inverno de ninfas de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

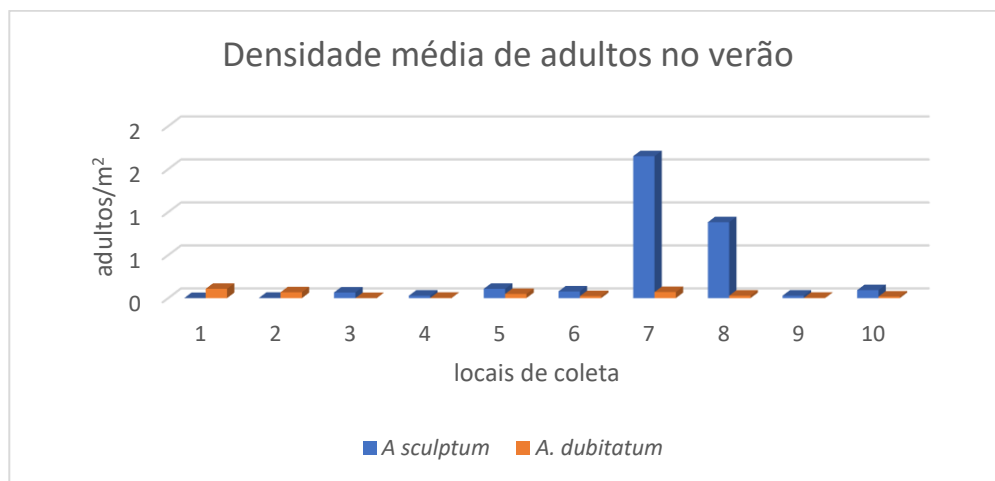


Figura 8. Densidade média no verão de adultos de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

2. Sazonalidade da infestação ambiental por carrapatos

A distribuição sazonal foi determinada pelo número de carrapatos de cada estágio de vida coletados em cada uma de três estações do ano, especificamente no outono (maio), inverno (agosto) e verão (janeiro) (Tabela 3). O maior número de carrapatos foi coletado no outono com um total de 32.642 (61,6%) carrapatos, seguido do inverno com 15570 (29,4%) e o menor número no verão com 4.741 (8,9%) carrapatos.

Tabela 3. Número total de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* por estágio e local de coleta de acordo com a estação do ano (outono, inverno e verão) em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

Local	Outono						Inverno						Verão					
	<i>A. sculptum</i>			<i>A. dubitatum</i>			<i>A. sculptum</i>			<i>A. dubitatum</i>			<i>A. sculptum</i>			<i>A. dubitatum</i>		
	L*	N*	A*	L	N	A	L	N	A	L	N	A	L	N	A	L	N	A
1	17	1	0	2630	135	50	3	5	2	230	101	14	0	2	0	34	38	43
2	10	1	0	87	3	0	0	14	0	19	75	10	0	0	1	1	6	27
3	6	26	32	649	996	36	565	47	5	3	62	5	0	10	26	611	35	0
4	12622	28	11	49	9	2	634	174	17	4	9	0	0	24	11	39	33	1
5	11	19	9	47	148	25	3	257	12	269	86	113	2	0	43	207	13	19
6	1201	20	12	62	15	7	224	806	5	25	150	8	0	0	31	5	8	9
7	8843	12	37	278	30	6	4026	4008	71	52	29	7	12	1514	660	358	28	28
8	2409	27	32	111	17	7	1	2539	70	0	37	8	0	76	353	36	13	11
9	68	47	1	5	7	3	0	163	1	0	4	1	0	0	11	0	0	1
10	1447	199	3	46	20	11	0	525	30	2	35	5	0	1	37	305	11	7
Total	26634	380	137	3964	1380	147	5456	8538	213	604	588	171	14	1627	1173	1596	185	146

*L- larva; N – ninfa; A - adulto

Larvas das duas espécies de carrapatos foram coletadas majoritariamente no outono, ninfas de *A. sculptum* no inverno e de *A. dubitatum* no outono e de adultos de *A. sculptum* no verão e de *A. dubitatum* no inverno. Porém, em função da elevada variação no número de carrapatos entre os dez pontos de coleta apenas algumas diferenças atingiram significância estatística na avaliação sazonal. Assim, larvas de *A. sculptum* foram coletadas em número significativamente maior no outono em relação ao verão ($H = 15,100$; $GL = 2$; $P < 0,001$) e de ninfas da mesma espécie no inverno em relação ao verão ($H = 10,200$; $GL = 2$; $P = 0,006$) (Figura 9). Na comparação entre as duas espécies, larvas de *A. dubitatum* foram mais numerosas no verão e no outono em relação às larvas de *A. sculptum* no verão ($H = 23,200$; $GL = 5$; $P < 0,001$).

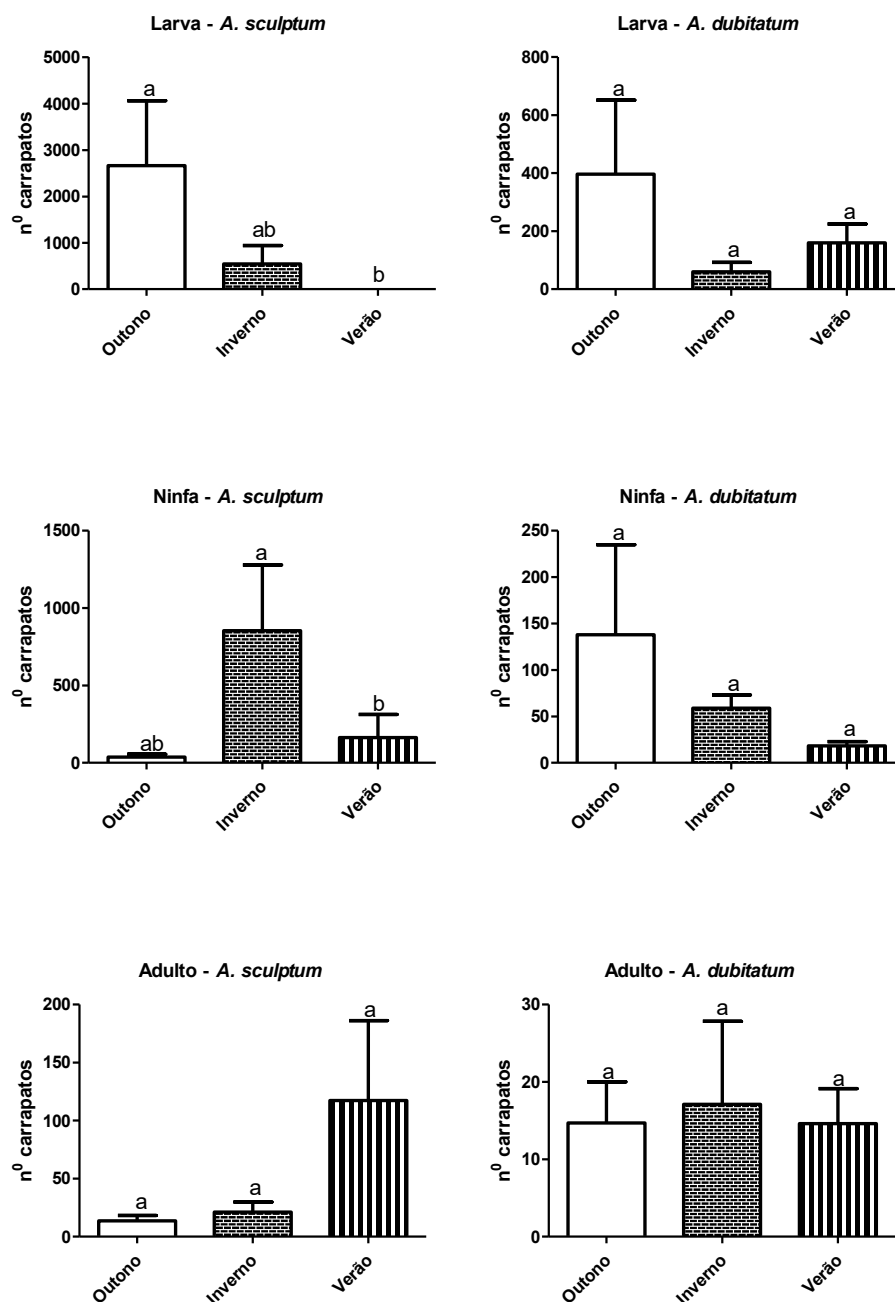


Figura 9. Números médios de larvas, ninfas e adultos dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* nas três estações do ano em áreas verdes urbanas de Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019. Barras verticais indicam desvio padrão e letras diferentes em cada coluna diferença significativa ($P \leq 0,05$) na comparação da mediana de cada estágio evolutivo entre as três estações do ano das duas espécies de carrapatos. As - *A. sculptum* e Ad - *A. dubitatum*.

3. Número e proporção relativa de carrapatos coletados de acordo com a técnica de captura

O número de carrapatos obtidos de acordo com a técnica de coleta está apresentado na Tabela 4 e Figura 10. A busca visual foi o método que resultou na coleta da maior proporção de carrapatos *A. sculptum* ($P < 0,001$) e dentre estes de larvas ($P < 0,001$) (47% do total e 63,6% das larvas de *A. sculptum*). Ninfas e adultos de carrapatos desta espécie foram coletados em proporção maior com armadilhas de CO₂ ($P < 0,001$). Arraste de flanela foi o segundo mais eficiente para carrapatos *A. sculptum* e novamente para larvas. No caso do *A. dubitatum* a armadilha de CO₂ foi a técnica mais eficiente ($P < 0,001$) com 57,7% das capturas dessa espécie, especialmente de ninfas (94,5% das capturas) e adultos (97,8% das capturas). Larvas dessa espécie foram coletadas por arrasto de flanela e armadilhas de CO₂ em proporções similares.

Tabela 4. Número total e percentual (entre parênteses) de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* coletados de acordo com a técnica de captura em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019. Estão apresentados os números totais por espécie e por estágio evolutivo. Letras diferentes indicam diferença estatística entre as técnicas de coleta (teste de Qui-quadrado seguido pelo teste de comparação múltipla; $P \leq 0,05$).

Espécies e estágios	Arraste de flanela	Armadilha de CO ₂	Busca visual	Isca humana	Total	Teste estatístico		
						χ^2	GL	P
<i>A. sculptum</i>	12749 (28,9) ^b	9618 (21,8) ^b	20769 (47,0) ^a	1036 (2,3) ^c	44172	40,990	3	<0,001
Larvas	10029 (31,2) ^b	1526 (4,8) ^c	20427 (63,6) ^a	122 (0,4) ^c	32104	101,660	3	<0,001
Ninfas	2666 (25,3) ^b	6692 (63,5) ^a	339 (3,2) ^c	848 (8,0) ^c	10545	89,863	3	<0,001
Adultos	54 (3,5) ^b	1400 (91,9) ^a	3 (0,2) ^b	66 (4,3) ^b	1523	239,490	3	<0,001
<i>A. dubitatum</i>	3193 (36,4) ^b	5064 (57,7) ^a	3 (0,03) ^d	521 (5,9) ^c	8781	87,470	3	<0,001
Larvas	3113 (50,5) ^a	2576 (41,8) ^a	2 (0,03) ^c	473 (7,7) ^b	6164	74,190	3	<0,001
Ninfas	78 (3,6) ^b	2034 (94,5) ^a	0 (0,0) ^b	41 (1,9) ^b	2153	257,870	3	<0,001
Adultos	2 (0,4) ^b	454 (97,8) ^a	1 (0,2) ^b	7 (1,5) ^b	464	283,170	3	<0,001

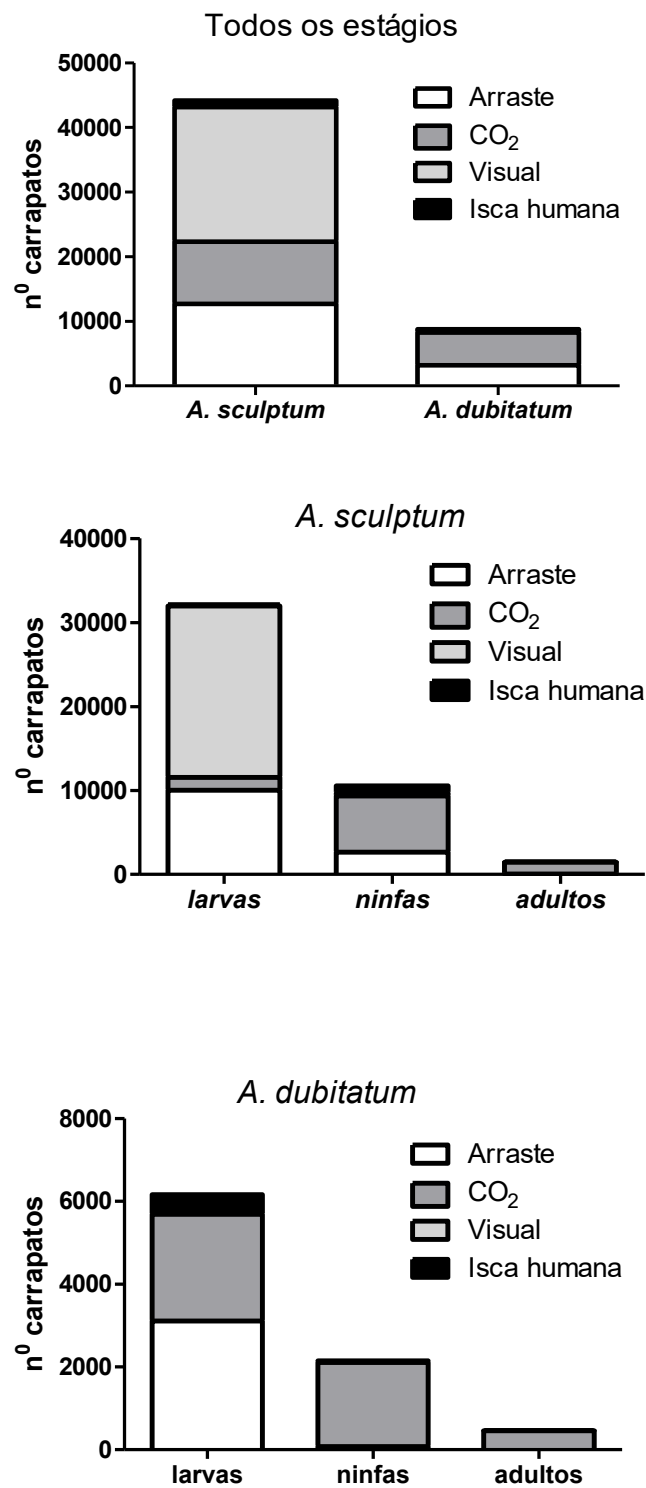


Figura 10. Número total de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* obtidos de acordo com a técnica de coleta considerando todos os estágios conjuntamente ou separadamente por espécie. Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

4. Busca visual e altura de espreita de carrapatos na vegetação

Altura de espreita na vegetação em busca visual foi obtido 29 vezes. Destas, 27 (93,1%) observações foram de carrapatos *A. sculptum* e duas (6,9%) do carrapato *A. dubitatum* em um total de 20.771 carrapatos. Desse total, 20.768 foram de *A. sculptum* (20.427 larvas, 339 ninfas e dois adultos) e três de *A. dubitatum* (duas larvas e um adulto). A altura de espreita variou de 9 a 77 cm (média = 29,8 cm $\pm$ 15). A altura das larvas variou de 9-56 cm (média = 26,4 cm $\pm$ 14,1), das ninfas de 15 a 77 cm (média = 35,3 cm $\pm$ 16,9) e dos adultos de 24 a 44 cm (média = 34,3 cm $\pm$ 10).

Larvas foram avistadas 16 vezes na busca visual, e o número de carrapatos encontrados por agregado de carrapatos variou de 2 a 4.946, totalizando 20.429 (98,4%) dos carrapatos obtidos por esta técnica. O menor agregado foi constituído de duas larvas de *A. dubitatum*. Ninfas foram localizadas por inspeção visual 10 vezes, todas da espécie *A. sculptum*, e em números que variaram de uma unidade até a um agregado com 162 espécimes, totalizando 339 (1,6%) carrapatos assim localizados. Já os adultos foram avistados apenas três vezes (0,01%) sobre a vegetação sendo um casal de *A. sculptum* (24 e 35 cm) e uma fêmea de *A. dubitatum* (44 cm).

5. Carrapatos em comportamento de emboscada

O número de carrapatos em comportamento de emboscada foi determinado através da soma dos carrapatos coletados pelo arrasto da flanela e daqueles localizados em busca visual. A proporção de carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* em emboscada em relação ao total de carrapatos coletados de cada espécie foi analisado de acordo com a estação de maior prevalência de cada estágio de *A. sculptum* (Figura 11). Observou-se que 95% das larvas e 28,7% das ninfas de *A. sculptum* exibiram o comportamento de emboscada, uma proporção significativamente superior à de larvas e ninfas de *A. dubitatum* (proporção de 66,5% e 3,4%, respectivamente) (Z larvas = 59,529; $P < 0,001$; Z ninfas = 13,115; $P < 0,001$).

Uma proporção muito reduzida de adultos dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* (respectivamente de 3,1% e 0,7%) exibiu comportamento de emboscada. Apesar do número reduzido de adultos do carrapato *A. dubitatum* em emboscada ($n = 3$) ter impossibilitado a realização da análise estatística, ficou evidente que a proporção de

carrapatos dos adultos das duas espécies de parasito exibindo esse comportamento é muito reduzida e inferior a 4% (Figura 11).

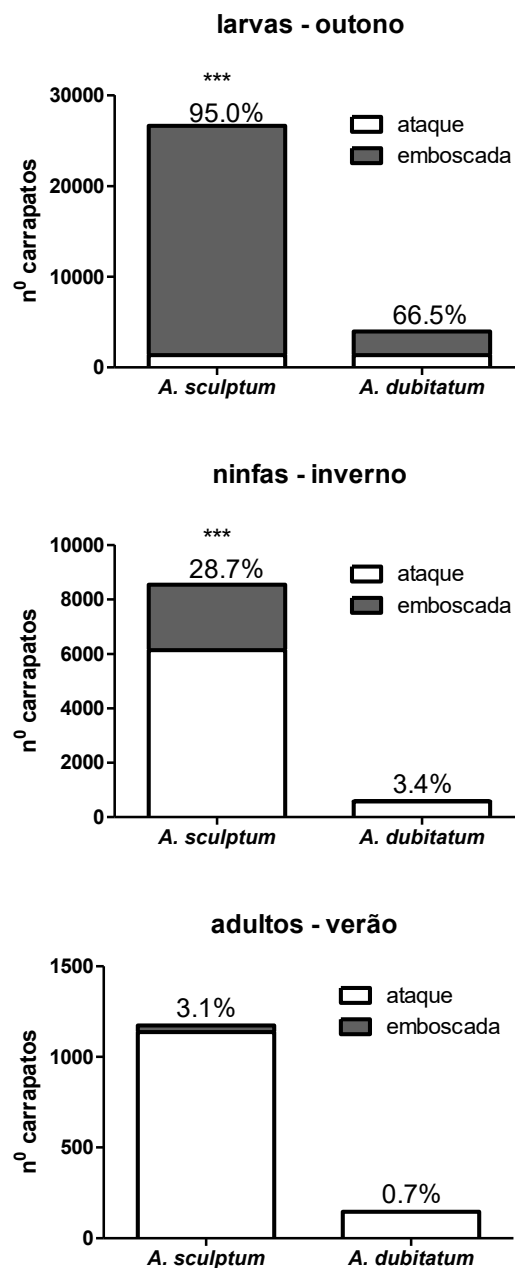


Figura 11. Comparação entre carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* da porcentagem de larvas, ninfas e adultos em comportamento de emboscada em relação ao total de carrapatos coletados na estação do ano de maior prevalência de cada estágio do carrapato *A. sculptum*. O número total de carrapatos, daqueles em comportamento de ataque e de emboscada está apresentado em colunas do histograma. Asteriscos acima das colunas indicam diferença significativa ($P < 0,001$) na porcentagem de carrapatos em emboscada

entre larvas, ninfas e adultos dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*. Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

6. Exposição humana a carrapatos em comportamento de ataque

Para avaliar o comportamento de ataque das duas espécies de carrapatos como fator de risco de exposição humana foi calculada a proporção de carrapatos atraídos para cada isca humana em relação ao total de carrapatos atraídos para o mesmo local. Esse total foi dado pela soma dos carrapatos atraídos para cada armadilha de gelo seco e para a respectiva isca humana que a antecedeu. Para essas análises, cada armadilha de gelo seco e respectiva isca humana, independentemente dos dez locais do estudo, foi considerada como uma repetição. Locais com iscas humanas foram incluídas nas análises desde que carrapatos tenham sido atraídos para as iscas e/ou armadilha de gelo seco correspondente. Os números de armadilhas, total de carrapatos utilizados nas análises e as respectivas proporções de atração para iscas humanas de acordo com espécie e estágio de carrapato, e estação do ano estão apresentadas na tabela 5.

Tabela 5. Proporção, média e mediana de carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* em comportamento de ataque por estágio e estação do ano (outono, inverno e verão) atraídos para iscas humanas em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d'água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

Estações	<i>Amblyomma sculptum</i>			<i>Amblyomma dubitatum</i>		
	Adultos	Ninfas	Larvas	Adultos	Ninfas	Larvas
	Proporção (%) em humanos (Total ¹)			Proporção (%) em humanos (Total ¹)		
	Nº de armadilhas ²			Nº de armadilhas		
	Média ± DP (carrapatos em humanos)			Média ± DP (carrapatos em humanos)		
	Mediana (carrapatos em humanos)			Mediana (carrapatos em humanos)		
Inverno	14,39 (139)	24,19 (4018)	77,14 (35)	4,96 (141)	20,90 (536)	59,38 (352)
	29	48	12	20	43	20
	0,69 ± 1,26	20,25 ± 38,30	2,25 ± 5,31	0,35 ± 0,87	2,60 ± 8,73	10,45 ± 29,8
	0	7,5	1	0	0	2
Verão	10,82 (527)	51,30 (347)	0,00 (1)	8,97 (78)	11,63 (129)	39,61 (510)
	24	11	1	23	21	16
	2,4 ± 3,6	16,2 ± 26,7	0	0,3 ± 0,63	0,71 ± 1,23	12,63 ± 15,37
	1	1	0	0	0	4,5
Outono	25,00 (84)	34,25 (146)	19,78 (1016)	8,05 (87)	14,01 (1385)	17,52 (913)
	19	21	30	21	23	27
	1,1 ± 3,19	2,38 ± 4,12	6,7 ± 13,8	0,33 ± 0,65	8,34 ± 26,21	5,92 ± 18,09
	0	1	2	0	1	1

¹Número total de carrapatos em comportamento de ataque se refere à soma dos carrapatos em armadilhas de gelo seco e iscas humanas

²Número de locais de armadilhas em que houve atração de carrapatos para a isca humana e/ou para armadilha de gelo seco correspondente

Na análise comparativa dos dados observou-se que entre os carrapatos *A. sculptum*, ninfas são o estágio mais atraído por seres humanos ($Z_{\text{adultos} \times \text{ninfas}} = -7,962$; $P < 0,001$; $Z_{\text{ninfas} \times \text{larvas}} = 3,296$; $P = 0,001$) (Figura 12). Ressalte-se que a análise de atração de larvas de *A. sculptum* foi restrita ao outono uma vez que o número destes em armadilhas foi quase nulo no inverno e verão. No caso do *A. dubitatum* larvas foram globalmente o estágio mais atraído em relação aos outros dois estágios ($Z_{\text{adultos} \times \text{larvas}} = -9,062$; $P < 0,001$; $Z_{\text{ninfas} \times \text{larvas}} = -12,042$; $P < 0,001$) e ninfas foram mais atraídos em relação a adultos de *A. dubitatum* ($Z_{\text{adultos} \times \text{ninfas}} = -4,074$; $P < 0,001$).

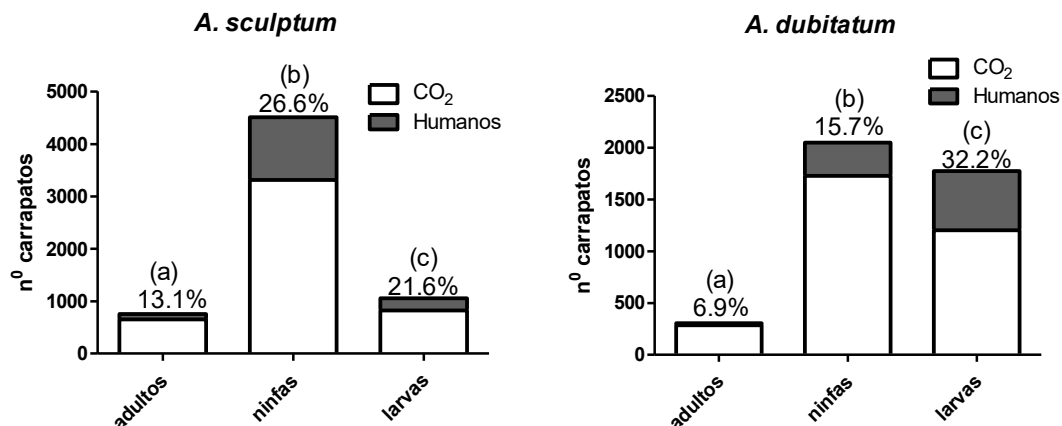


Figura 12. Comparação da porcentagem de carrapatos atraídos para iscas humanas em relação ao total de carrapatos de ataque (iscas humanas + armadilhas de CO₂) de larvas, ninfas e adultos dos carrapatos *A. sculptum* ou *A. dubitatum*. O número total de carrapatos, daqueles atraídos para armadilhas de CO₂ e para as iscas humanas está apresentado em colunas do histograma. Letras diferentes acima das colunas indicam diferença significativa ($P < 0.001$) na porcentagem de atração para iscas humanas entre estágios da mesma espécie de carrapato. Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

Na comparação entre as duas espécies, nota-se que adultos e ninfas de *A. sculptum* são significativamente mais atraídos para seres humanos em relação a adultos e ninfas de *A. dubitatum* ($Z_{\text{adultos}} = 2,892$; $P = 0,004$ e $Z_{\text{ninfas}} = 9,736$; $P < 0,001$; respectivamente). Por outro lado, larvas de *A. dubitatum* foram significativamente mais atraídas do que o mesmo estágio de *A. sculptum* ($Z_{\text{larvas}} = -5,991$; $P < 0,001$) (Figura 13).

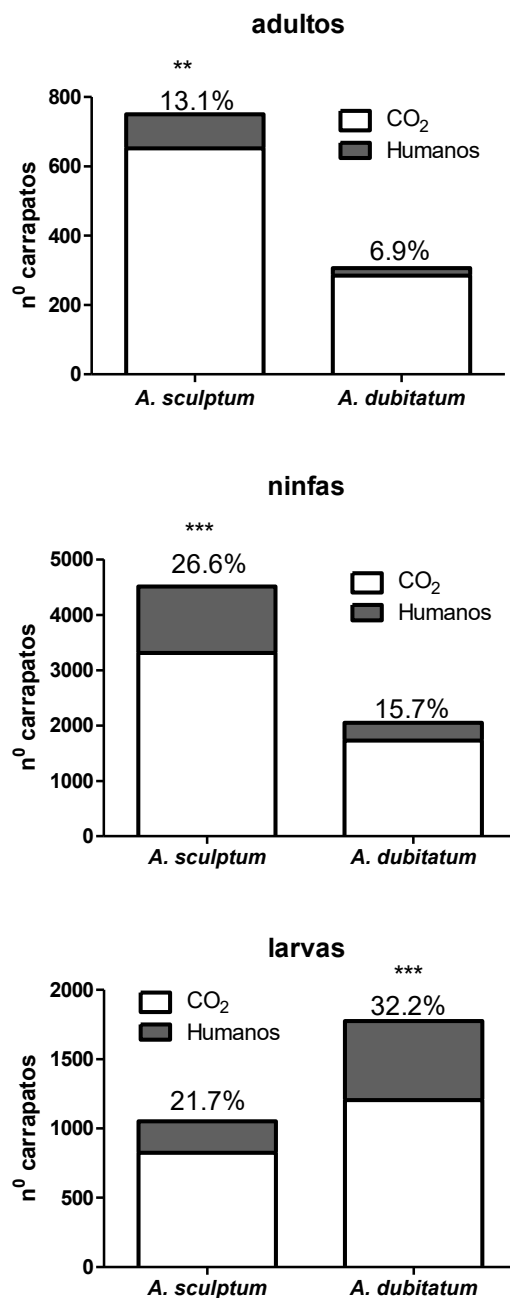


Figura 13. Comparação da porcentagem de carrapatos atraídos para iscas humanas em relação ao total de carrapatos de ataque (iscas humanas + armadilhas de CO₂) entre larvas, ninfas e adultos dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*. O número total de carrapatos, daqueles atraídos para armadilhas de CO₂ e para as iscas humanas está apresentado em colunas do histograma. Asteriscos acima das colunas indicam diferença significativa (**P < 0,01 e ***P < 0,001) na porcentagem de atração para iscas humanas entre carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* do mesmo estágio evolutivo. Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

O efeito da estação do ano sobre a atração das duas espécies de carrapatos para humanos foi também averiguado. Observou-se que adultos de *A. sculptum* são atraídos em maior proporção para iscas humanas no outono ($Z_{\text{inverno} \times \text{outono}} = -1,982$; $P = 0,048$; $Z_{\text{verão} \times \text{outono}} = -3,618$; $P < 0,001$). As ninfas de *A. sculptum* foram atraídas mais no verão em relação as outras duas estações ($Z_{\text{inverno} \times \text{verão}} = -10,997$; $P = 0,001$; $Z_{\text{verão} \times \text{outono}} = 3,466$; $P = 0,006$) e no outono em relação ao inverno ($Z_{\text{inverno} \times \text{outono}} = -2,773$; $P = 0,006$). (Figura 14). O número reduzido de larvas dessa espécie no inverno e verão impediu uma análise com significado biológico desse estágio nestas estações. No caso do *A. dubitatum*, larvas foram atraídas em proporção maior no verão em relação ao inverno e ao outono ($Z_{\text{inverno} \times \text{verão}} = 5,711$; $P < 0,001$; $Z_{\text{verão} \times \text{outono}} = 9,172$; $P < 0,001$; respectivamente) e no inverno em relação ao outono ($Z_{\text{inverno} \times \text{outono}} = 14,675$; $P < 0,001$). As ninfas foram proporcionalmente mais atraídas às iscas humanas no inverno em relação as outras duas estações ($Z_{\text{inverno} \times \text{verão}} = 2,404$; $P = 0,016$; $Z_{\text{inverno} \times \text{outono}} = 3,700$; $P < 0,001$) enquanto adultos foram atraídos em porcentagens similares nas três estações do ano (Figura 14).

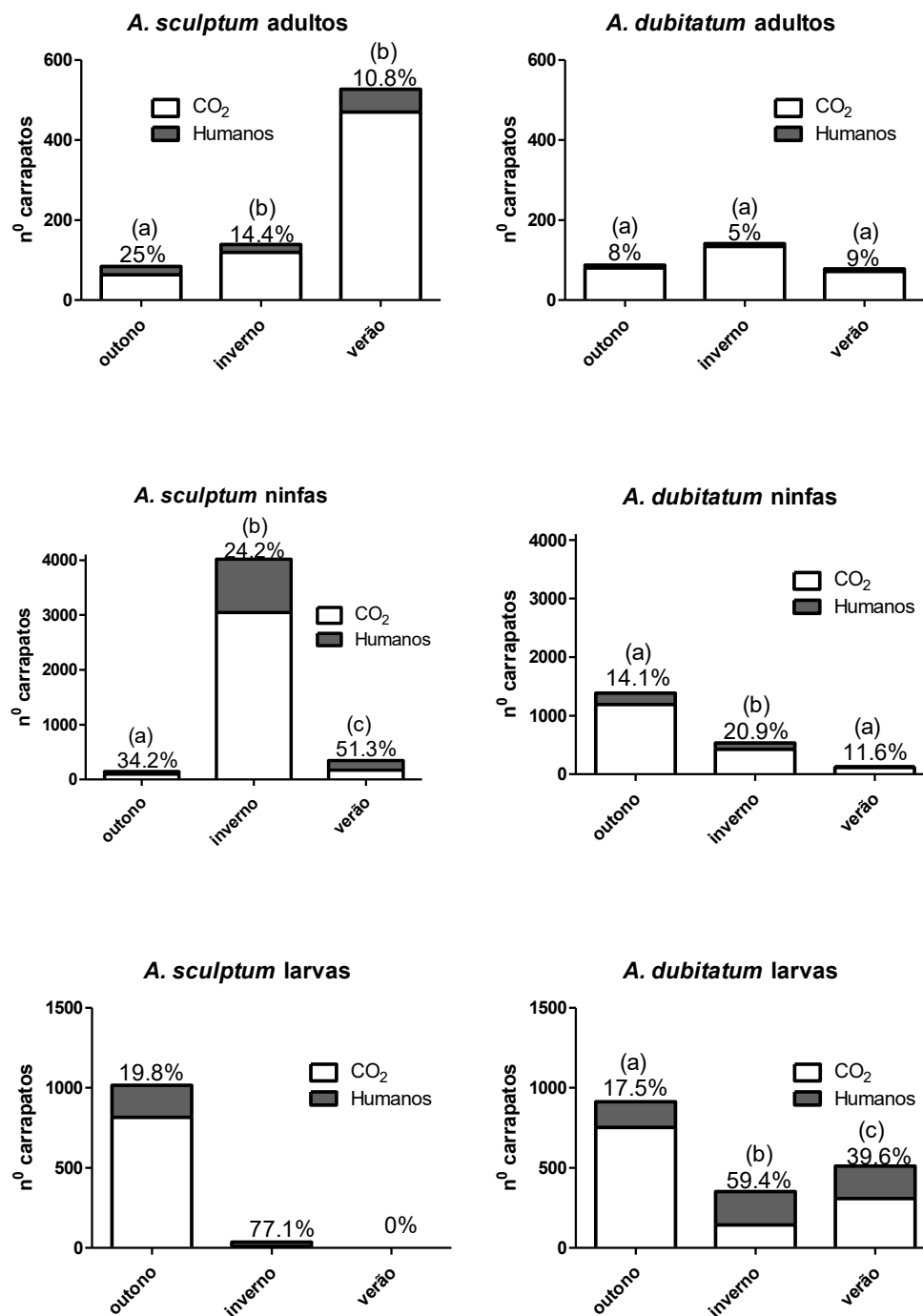


Figura 14. Comparação da porcentagem de carrapatos em iscas humanas em relação ao total de carrapatos de ataque (iscas humanas + armadilhas de CO₂) dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* de acordo com a estação do ano. O número total de carrapatos, daqueles atraídos para armadilhas de CO₂ e para as iscas humanas está apresentado em colunas do histograma. Letras diferentes acima das colunas indicam diferença significativa ($P < 0,05$) na porcentagem de atração para iscas humanas entre as estações do ano de cada espécie e estágio. Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

7. Infecção de carrapatos por *Rickettsia*

O DNA de *Rickettsia* foi pesquisado em 173 “pools” de carrapatos (n=1.612 carrapatos), sendo 75 “pools” de *A. sculptum* (673 espécimes com 48 fêmeas, 56 machos, 329 ninfas e 240 larvas) e 98 “pools” de *A. dubitatum* (939 espécimes com 49 fêmeas, 89 machos, 366 ninfas e 435 larvas). Em 23 “pools” de *A. dubitatum* foi observada amplificação do gene *gltA* característico do gênero *Rickettsia*. Nestes 23 “pools” não ocorreu amplificação do gene *ompA* característico das riquetsias do grupo da febre maculosa, porém todas resultaram na amplificação de DNA ao se utilizar os *primers* específicos para *R. bellii*. O sequenciamento de um fragmento do gene *gltA* com 314 pares de base de uma amostra (submetido ao GenBank acesso MW293870) revelou uma homologia de 100% com sequencias do DNA de *R. bellii* de amostras do Brasil e Argentina (acessos GenBank MH282858 e JQ906786). Em nenhuma das amostras de *A. sculptum* houve a amplificação de DNA do gene característico do gênero *Rickettsia* (*gltA*).

Os números de carrapatos por “pool”, estágios, local de coleta e estação do ano estão apresentados na Tabela 6. Os carrapatos *A. dubitatum* com DNA de *R. bellii* foram encontrados em nove dos 10 locais analisados e nas três estações do ano. Considerando que cada “pool” em que houve a amplificação do DNA tinha pelo menos um carrapato com DNA de riquetsia, as taxas mínimas de infecção por *R. bellii* das populações de carrapato foram determinadas em 5,8%, 2,5% e 1,4% para adultos, ninfas e larvas de *A. dubitatum*, respectivamente.

Tabela 6. “Pools” de carrapatos *A. dubitatum* com DNA de *R. bellii* de acordo com a quantidade de espécimes por “pool”, estágio de vida, local encontrado e estação do ano da coleta em dez áreas urbanas de Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

Nºcarrapatos por “pool”	Estágio	Local	Estação do ano
5	F	1	outono
2	F	7	outono
4	F	1	inverno
2	F	10	verão
5	M	1	inverno
5	M	6	inverno
5	M	8	verão
5	M	1	verão
10	N	1	outono
7	N	9	outono
10	N	2	inverno
10	N	2	inverno
10	N	2	inverno
10	N	3	inverno
10	N	3	inverno
10	N	6	inverno
10	N	5	verão
20	L	2	outono
20	L	3	outono
20	L	5	outono
20	L	2	inverno
20	L	7	verão
20	L	3	verão

F- Fêmeas; M – Machos; N- Ninfas; L- Larvas.

8. Influência da proporção entre carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* sobre a taxa de infecção de *A. dubitatum* por *R. bellii*.

Apesar da detecção disseminada do DNA de *R. bellii* em carrapatos *A. dubitatum*, sobreposição espaço-temporal das duas espécies de carrapatos e o parasitismo dos mesmos hospedeiros (capivaras) por ambas as espécies de parasitos (Kamla Vieira et al., dados não publicados) não se detectou material genético desta bactéria na espécie *A. sculptum*. Tais observações indicaram uma atividade refratária do carrapato *A. sculptum* à bactéria e eventualmente sobre a infecção de *A. dubitatum* por *R. bellii*. Por este motivo, foi investigada a influência da proporção ambiental entre carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* sobre a taxa de infecção de *A. dubitatum* por *R. bellii*. A proporção entre *A.*

sculptum e *A. dubitatum* em cada um dos dez locais do estudo foi calculada a partir do número total de ninfas e adultos de cada espécie. Larvas foram desconsideradas pois o seu número muito elevado e variações bruscas com a passagem de um hospedeiro ou queda sobre o solo total ou parcial de agregados podem induzir a um erro maior na avaliação das proporções. A taxa de infecção dos carrapatos *A. dubitatum* foi determinada pela relação entre número de “pools” com DNA da bactéria *R. bellii* e o total de “pools” avaliados. O teste de correlação de Spearman (não paramétrico) demonstrou uma correlação negativa forte entre as duas variáveis ($r_s = -0,742$; $n=10$; $P=0,014$) (Figura 15) indicando que quanto maior a proporção de *A. sculptum* na comunidade de carrapatos, menor a taxa de infecção de *A. dubitatum* por *R. bellii*.

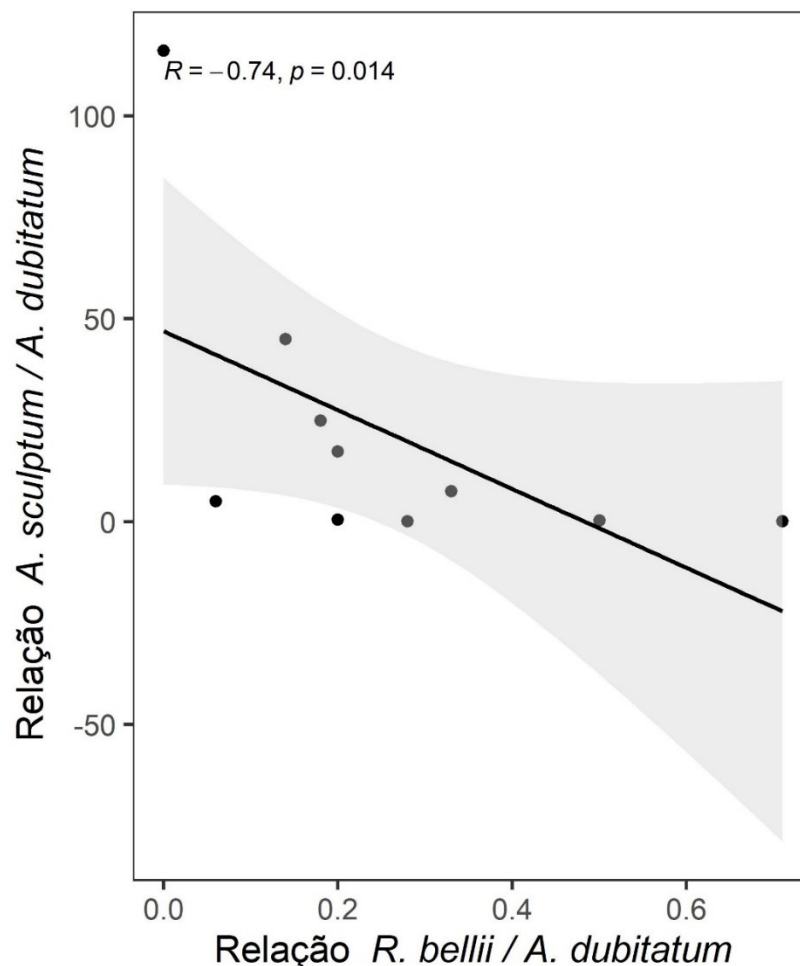


Figura 15. Teste de correlação de Spearman na avaliação entre a proporção *A. sculptum*/*A. dubitatum* na comunidade de carrapatos e a taxa de infecção de *A. dubitatum* por *R. bellii* coletados em dez áreas verdes urbanas adjacentes a corpos d’água e com a presença de capivaras em Uberlândia, Minas Gerais, 2018-2019.

IV-DISCUSSÃO

Este trabalho elegeu avaliar o risco de exposição a carrapatos de capivaras dentre os três níveis/etapas da epidemiologia (área de perigo, exposição e interação parasitária) relacionados à picada humana. Para esse fim buscou-se conhecer a bioecologia e o comportamento de busca por hospedeiro dos carrapatos em áreas de perigo e fornecer elementos para ajuste do comportamento humano para prevenção da sobreposição espaço-temporal com o parasito.

Somente duas espécies de carrapatos, *A. sculptum* e *A. dubitatum*, foram identificadas no período do estudo nos 10 locais verdes na beira de corpos d'água habitadas por capivaras na área urbana de Uberlândia. Porém a presença de larvas de outras espécies nas amostras não pode ser descartada uma vez que a identificação destas foi baseada apenas na diferença de tamanho. Mesmo assim, considerando o domínio absoluto das ninfas e adultos das duas espécies identificadas, a possibilidade de larvas pertencerem a outras espécies é remota e se ocorreu terá sido em números muito reduzidos para influenciar as análises comparativas entre as duas espécies dominantes.

O domínio dos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* pode ser atribuído à metodologia de coleta e macro e microambiente da amostragem. A vegetação arbustiva ou de matas na beira de corpos d'água em locais com ocorrência de capivaras em áreas urbanas e rurais na região sudeste do Brasil fornecem condições ambientais e de hospedeiro adequados para os carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* (Luz et al., 2019; Nasser et al., 2015; Queirogas et al., 2012). Além disso, a amostragem realizada com armadilhas de CO₂, busca visual e arrasto de flanela, é adequada para a amostragem ambiental dessas espécies (Luz et al., 2019; Pajuaba Neto et al., 2018; Szabó et al., 2007). Ixodofauna similar é observada em áreas verdes preservadas com capivaras, nestas, porém, as infestações ambientais parecem ser menores e outras espécies, como o carrapato *Amblyomma triste*, podem estar presentes (Luz et al., 2019; Szabó et al., 2007).

Um aspecto de relevância para o endemismo da FMB parece ser a proporção *A. sculptum*/*A. dubitatum* na infestação ambiental. Foi recentemente observado que em áreas endêmicas há um domínio da primeira espécie em detrimento da segunda (Luz et al., 2019). Notou-se no presente trabalho o domínio do *A. sculptum* em números absolutos no município. Porém, esta não foi a realidade de todos os locais e, adicionalmente, foi notado uma variação sazonal na proporção entre as duas espécies. Embora não se tenha aferido a umidade dos dez locais no período do estudo, o carrapato *A. dubitatum* prevaleceu nos

locais nítida ou aparentemente mais úmidos. O local dois, por exemplo, era caracterizado por alagamento frequente, solo encharcado e predomínio quase que absoluto do carrapato *A. dubitatum*. Essa associação entre áreas alagáveis como favorecedores desta espécie de carrapato em detrimento do *A. sculptum* já foi notado anteriormente (Queirogas et al., 2012; Szabó et al., 2007). Ademais, foi recentemente demonstrado experimentalmente a maior tolerância e intolerância à submersão em água, respectivamente dos carrapatos *A. dubitatum* e *A. sculptum* (Luz et al., 2020).

A variação sazonal na proporção destas duas espécies nos dez locais também seguiu as condições de umidade prevalentes. Na época mais seca do ano (inverno) a prevalência do *A. dubitatum* ocorreu em três locais e no verão, período mais chuvoso e úmido do ano, a prevalência saltou para seis dos locais. Embora outros aspectos sazonais, além da umidade, possam ter também influenciado esta proporção, ela indica um dinamismo interessante e que deverá ser verificado com maior acurácia e em outras regiões do Brasil. Esse dinamismo parece ser caracterizado por populações de carrapato das duas espécies que avançam e retrocedem na beira de corpos d'água de acordo com as condições de umidade, mais especificamente na alternância de encharcamento do solo e alta umidade da vegetação com condições mais secas. Essa alternância é provavelmente favorecida/amplificada pela ação das capivaras em áreas antropizadas. Capivaras são infestadas por carrapatos *A. dubitatum* e *A. sculptum* em ambientes, respectivamente mais úmidos e mais secos, e as disseminam, ingurgitadas, em seu trajeto entre atividades como o forrageio, descanso e a termorregulação na água. Esta disseminação ao longo do ano permite aos carrapatos se estabelecerem momentaneamente de acordo com a adequação do ambiente para as fases não parasitárias (ecdise, ovipostura, desenvolvimento das larvas, sobrevivência durante busca por hospedeiro) no local de desprendimento. Como capivaras em áreas antropizadas permanecem mais em matas e tem uma dependência diminuída em relação à proximidade com corpos d'água, seu contato com carrapatos *A. sculptum* é favorecido (Dias et al., 2020). Neste ambiente mais seco e em matas o ciclo de vida dos carrapatos *A. sculptum* é também favorecido gerando infestações mais intensas. Em conjunto, estes resultados demonstram que a drenagem de solo (de várzeas) para atividades humanas e a utilização de uma extensão maior de áreas secas por capivaras em áreas antropizadas favorece as populações de carrapato *A. sculptum* em detrimento de *A. dubitatum*. Deveras importante é a noção de que estas condições podem variar muito em um mesmo município e mesmo ao longo do tempo no mesmo local de

acordo com a modificação ambiental, comportamento das capivaras e condições climáticas.

A densidade de carrapatos por m² é uma unidade importante, pois fornece uma noção quantitativa e comparável sobre os níveis de infestação ambiental. A metodologia utilizada nesse trabalho pretendeu ser exaustiva na coleta para se aproximar ao máximo da realidade. Há de se considerar, entretanto, que mesmo com a utilização integrada de quatro técnicas de coleta de carrapatos, os números devem ter sido subestimados, por exemplo pela ocorrência nos locais de pesquisa, de carrapatos em diapausa, ecdise, incubação e outras situações que impossibilitaram sua coleta.

Observou-se uma variação extrema na densidade entre os dez locais e as três estações do ano e que resultou em ausência de significância estatística em análises comparativas da maioria das medianas de carrapatos por estação do ano. As maiores densidades foram observadas pelo elevado número de larvas de *A. sculptum* no outono no local quatro, e as menores no verão caracterizadas por infestações ambientais com carrapatos adultos. Densidades intermediárias foram observadas por ninfas no inverno. Estas variações na densidade por estágio foram sazonais e seguiram um padrão sazonal já descrito para a espécie *A. sculptum* (Labruna et al., 2002) e pré-definidas na metodologia de coleta para esta espécie alvo. No conjunto dessas observações sazonais das densidades, uma série de conclusões puderam ser tiradas, muitas reforçando dados já publicados. As variações extremas na densidade global de carrapatos entre os 10 locais do estudo foram causadas principalmente pelo carrapato *A. sculptum* enquanto os números ambientais de *A. dubitatum* foram mais homogêneos. Isso indica uma maior propensão da espécie *A. sculptum* em gerar incrementos populacionais elásticos em condições urbanas, como deste trabalho. Resultado similar foi observado por Nunes et al. (2019) em um estudo populacional de carrapatos de longa duração (10 anos) em um condomínio residencial em Itu. Estes autores observaram um incremento populacional muito maior do carrapato *A. sculptum* em relação ao *A. dubitatum* ao longo do tempo em paralelo com o aumento da população de capivaras. Merece menção que o aumento das populações de carrapatos *A. sculptum* esteve associado ao surgimento da FMB no local.

Outra observação relevante foi a densidade média de larvas *A. sculptum* elevada no local quatro no outono, mas que não foi correspondido pelas densidades médias subsequentes de ninfas e adultos congêneres no inverno e verão, respectivamente. Esta discrepância suscita pelo menos três explicações mutuamente não exclusivas, e que devem ser consideradas em amostragens de população de carrapatos. A coleta e contagem

do número total de larvas em uma área está sujeita a oscilações maiores pela concentração de muitos indivíduos (agregados de larvas provenientes de uma única postura) em locais específicos. Assim, a inclusão ou exclusão de um único agregado gera desníveis de centenas a milhares de indivíduos, o que não ocorre com adultos e ninfas. A segunda possibilidade seria a inadequação ambiental do local para larvas ingurgitadas de carrapatos *A. sculptum* em função do encharcamento do solo/inundação no verão, interrompendo o ciclo de vida. A terceira possibilidade a ser considerada é o comportamento dos hospedeiros na utilização da paisagem. Conforme dados obtidos por monitoramento com armadilhas fotográficas na região das áreas três e quatro, capivaras alternam os locais de repouso ao longo dos meses (Szabó obs. pessoal). Portanto, as larvas ingurgitadas originárias do local quatro podem ter sido transportadas para outros locais pelas capivaras ou ainda não terem se alimentado pela ausência destas. Essa última observação indica haver oscilações severas nos níveis de infestação ambiental por carrapatos *A. sculptum* em locais verdes na beira de corpos d'água habitadas por capivaras na área urbana de Uberlândia, Minas Gerais.

O carrapato *A. dubitatum* exibiu uma densidade média muito menor e uma distribuição sazonal menos pronunciada. Assim, o número de adultos, larvas e ninfas não diferiu entre as três estações do ano. Mesmo sem diferença significativa, foi interessante notar a atividade de larvas dessa espécie nas três estações do ano e com a segunda maior abundância no verão, quando as larvas de *A. sculptum* praticamente desapareceram. Ninfas do carrapato *A. dubitatum* também foram mais numerosas no outono em oposição às de *A. sculptum* mais numerosos no inverno. As diferenças de prevalência sazonal entre as duas espécies podem ter se dado pela metodologia de coleta que pré-definiu os momentos de amostragem de carrapatos de acordo com os picos sazonais do *A. sculptum* e que pode não ter sido o mesmo para *A. dubitatum*. Em verdade, a distribuição sazonal do carrapato *A. dubitatum* é ainda controverso e pode variar de acordo com as condições ambientais locais (Debárbora et al., 2014). Por exemplo, em um trabalho mais minucioso sobre sazonalidade do carrapato *A. dubitatum* no nordeste da Argentina, Debárbora et al. (2014) observaram os picos de atividade de larvas, ninfas e adultos, respectivamente, no outono/início do inverno, inverno/início da primavera e primavera/verão. Estes, entretanto diferiram de Szabó et al. (2007), que no município de Paulicéia, São Paulo observaram maior atividade de adultos no outono e de Toledo et al. (2008) que observaram maior atividade de adultos na primavera em Londrina no Paraná.

Neste trabalho, o risco de exposição humana a carrapatos *A. dubitatum* e *A. sculptum* e doenças transmitidas foi relacionado ao comportamento de busca por hospedeiro pelo parasito. De forma global, o risco de contato com carrapatos em emboscada foi associado ao roçar do ser humano com a vegetação em seu trajeto (andar, correr) e o comportamento de ataque à posição estacionária do hospedeiro (permanência no mesmo local, sentado ou em pé). Os carrapatos coletados em busca visual e aqueles no arraste de flanela foram considerados carrapatos em comportamento em emboscada e aqueles atraídos para armadilhas de CO₂ e iscas humanas como carrapatos exibindo comportamento de ataque. A comparação do comportamento das duas espécies de carrapatos, considerando o número global de carrapatos em emboscada e em ataque na estação de maior atividade de cada estágio de *A. sculptum* revelaram diferenças fundamentais. Observou-se que o comportamento em emboscada é mais prevalente para larvas de ambas as espécies e diminui para as fases de ninfas e de adultos. Além disso, o comportamento de emboscada de *A. sculptum* foi superior em relação ao *A. dubitatum* nas fases de larva e ninfa. Adultos de ambas as espécies foram igualmente caracterizadas por comportamento de ataque. O comportamento de emboscada mais prevalente no estágio de larval das duas espécies pode estar associado à menor capacidade de locomoção desse estágio e hospedeiros alvo. Já o comportamento de ataque mais prevalente entre as larvas de *A. dubitatum* pode ser devido à maior sensibilidade à dessecação e, portanto, menor capacidade de permanecer exposto em ambientes mais secos para emboscadas (Luz et al., 2020).

Há de se considerar, entretanto, diferenças na interpretação mesmo dentro das categorias de comportamento de acordo com a técnica de coleta utilizada. Notou-se que a maior proporção de carrapatos *A. sculptum* foi coletada por busca visual e que, de forma oposta, esta proporção foi na prática nula no caso do carrapato *A. dubitatum* (apenas três carrapatos em busca visual). O número elevado de carrapatos *A. sculptum* na busca visual se deveu exclusivamente ao grande número de larvas em agregados uma vez que apenas um número reduzido de ninfas e de apenas dois adultos foram detectados dessa maneira. As alturas de emboscada na vegetação indicaram busca por hospedeiros de porte médio, compatíveis com capivaras. Estes resultados demonstram que larvas de *A. sculptum* emboscam hospedeiros de porte maior nos locais estudados. Por outro lado, embora ninfas e adultos de *A. sculptum* possam se utilizar de emboscada em alturas maiores sobre a vegetação, isso ocorre em proporções reduzidas na população de carrapatos desta espécie.

Arraste de flanela foi a técnica que resultou no segundo maior número de larvas de *A. sculptum*, e em uma proporção menor de ninfas e ainda menor de adultos dessa espécie. As larvas obtidas no arraste podem ter estado em alturas maiores na vegetação e não ter sido notadas durante a busca visual ou em extratos mais baixos, mas sobre a vegetação. No conjunto, os resultados observados demonstram que larvas de *A. sculptum* se utilizam primordialmente de emboscada, provavelmente pela menor capacidade de movimentação rápida necessária para chegar a um hospedeiro. Por outro lado, embora adultos do carrapato *A. sculptum* possam exibir comportamento de emboscada, o ataque é a principal forma de busca por hospedeiro. Ninfas exibem um comportamento intermediário, porém com prevalência do comportamento de ataque. Essa maior flexibilidade no comportamento das ninfas do *A. sculptum* pode ser uma das explicações para a superioridade da espécie e estágio em picar o ser humano em áreas do Cerrado (Szabó et al., 2020).

De forma geral, o comportamento de emboscada dos carrapatos *A. dubitatum* foi percebida somente através das coletas por arraste de flanela e ainda assim ocorreu em uma proporção menor do que o comportamento de ataque. Neste parasito a emboscada foi quase exclusiva das larvas e ocorreu na metade dos carrapatos coletados deste estágio. Estas observações, em conjunto com a virtual ausência de *A. dubitatum* na busca visual, mostram que larvas de *A. dubitatum* permanecem mais próximos ao solo e em parte (50%) sobre a vegetação baixa ou folhíço. Uma possível explicação para este conjunto de resultados seria a sensibilidade da espécie à dessecação que a obriga a permanecer em estratos mais úmidos. Por outro lado, talvez por uma locomoção mais lenta e restrita em relação às ninfas e adultos, larvas de *A. dubitatum* permanecem na superfície da vegetação/folhíço em uma posição mais vantajosa para o contato com hospedeiros. Como capivaras frequentemente permanecem estacionárias, sentadas ou deitadas, na beira de corpos d'água (Barreto e Quintana, 2014; Dias et al., 2020) muitas vezes em locais úmidos/encharcados, o contato com larvas de *A. dubitatum* exibindo esse comportamento é possível. Essa talvez seja também a razão para a atividade de larvas já no verão, época das chuvas no Cerrado.

Por outro lado, ninfas e adultos do carrapato *A. dubitatum* foram coletadas em proporções mínimas no arraste de flanela. Tal resultado reforça observações anteriores (Pajuaba et al., 2018) que indicam a preponderância do comportamento de ataque sobre o de emboscada dos dois estágios dessa espécie de carrapato. Como já exposto, esse comportamento do carrapato *A. dubitatum* pode estar relacionado à uma maior

sensibilidade à dessecação (Luz et al., 2020) se em espera por hospedeiro sobre vegetação. A permanência em locais mais úmidos rente ao solo sob a vegetação pode ser compensado pela maior mobilidade das ninfas e adultos em relação às larvas para um deslocamento rápido até um hospedeiro estacionário. Esse comportamento seria particularmente importante nas estações mais secas do ano.

A atração específica das duas espécies de carrapatos para seres humanos em posição estacionária (isca humana) foi considerada neste trabalho como comportamento de busca de hospedeiro por ataque. Notou-se que adulto do parasito das duas espécies foi o estágio menos atraído aos seres humanos. Esse resultado corrobora com descrições anteriores que indicam a maior especificidade de carrapatos adultos por determinadas espécies de hospedeiros (Nava e Guglielmone, 2013). Portanto, para esse estágio seria interessante futuramente avaliar e comparar a atração dos carrapatos para hospedeiros de preferência, neste caso capivaras.

Entre os carrapatos *A. sculptum*, ninfa foi o estágio mais atraído, observação que novamente realça a agressividade da espécie e estágio ao ser humano (Szabó et al., 2020). Dentre carrapatos *A. dubitatum*, larva foi o estágio mais atraído para seres humanos. Ademais, a proporção de larvas dessa espécie atraídas para seres humanos foi maior do que as de larvas de *A. sculptum*. Desconhece-se a razão para este comportamento de atração especificamente de larvas do carrapato *A. dubitatum* para seres humanos, mas ela chama a atenção para a necessidade de se identificar larvas que picam seres humanos, principalmente em áreas com capivaras. De forma oposta, adultos e principalmente ninfas do carrapato *A. sculptum* foram mais atraídos para seres humanos em relação aos mesmos estágios do carrapato *A. dubitatum*. Novamente, este resultado reforça o conhecimento vigente sobre a agressividade da espécie para humanos (Szabó et al., 2020), bem como a associação entre ninfas e a transmissão da FMB (de Oliveira et al., 2016).

Quanto ao efeito da estação do ano sobre a atratividade do ser humano para os diversos estágios das duas espécies de carrapatos notou-se um padrão bem específico. Em todos os casos, a maior proporção de carrapatos atraídos para os seres humanos, seja esta estatisticamente significativa ou não, ocorreu na estação do ano subsequente à de maior atividade dos carrapatos em comportamento de ataque. Desconhece-se a razão para esse padrão, mas pode-se especular de que se trata de um esforço final para chegar a um hospedeiro após o pico de atividade do estágio do carrapato em questão. Estudos adicionais que avaliem a reserva energética (em esgotamento) desses carrapatos poderão dar uma sustentação para essa teoria.

A única espécie de *Rickettsia* detectada nos carrapatos foi a *R. bellii* e exclusivamente em *A. dubitatum*. O DNA desta *Rickettsia* esteve amplamente distribuído nessa espécie de carrapatos em Uberlândia tanto espacial quanto temporalmente e em taxas de infecção mínima crescentes de larvas para adultos (1,4 a 5,8%, respectivamente). Este resultado reitera estudos anteriores que pesquisaram a bactéria nas duas espécies de carrapatos de capivaras ou seu ambiente. Dentre estes se destacam trabalhos com elevado número de carrapatos testados. Pacheco et al. (2009) pesquisaram *Rickettsia* sp. em 3545 carrapatos *A. sculptum* (identificados na época como *Amblyomma cajennense*) e 2666 *A. dubitatum* em 16 municípios do Estado de São Paulo. Enquanto nenhuma bactéria foi encontrada na primeira espécie de vetor, uma taxa de infecção por *R. bellii* de 23,8% foi encontrada em *A. dubitatum*. Sangioni et al. (2005) não detectaram DNA de *Rickettsia* em 1468 carrapatos *A. sculptum* (descrito como *A. cajennense*) de áreas endêmicas (n= 810) e não endêmicas (n= 658) para FMB.

Uma observação importante neste contexto é a descrição apenas ocasional de qualquer espécie de *Rickettsia* em carrapatos *A. sculptum* apesar de ser uma das espécies mais investigadas. Mesmo quando descrita, está associada a baixas taxas de infecção ou possível contaminação com o DNA proveniente de outra relação *Rickettsia*-carrapato-hospedeiro vertebrado (Szabó et al., 2019) e que indica hospedeiro invertebrado inadequado para o gênero *Rickettsia*. De fato, mesmo em áreas endêmicas para FMB a taxa de infecção do carrapato *A. sculptum* por *R. rickettsii* é muito baixa, fato atribuído à patogenicidade da bactéria ao vetor e a baixa taxa de transmissão transtadial e transovariana (Labruna, 2009; Soares et al., 2012). Assim em uma pesquisa com 356 carrapatos de área endêmica para FMB (Itabira, Minas Gerais), não foi encontrado o DNA da bactéria (Vianna et al., 2008). Barbieri et al. (2019) avaliaram mais de 200 carrapatos *A. sculptum* e apenas um tinha DNA de *R. amblyommatis* enquanto os carrapatos *Amblyomma triste* e *Amblyomma parvum* em simpatria microambiental parcial com *A. sculptum*, apresentavam taxas de infecção acima de 10% com outras espécies de *Rickettsia* (*R. parkeri*, *R. bellii* e *Candidatus Rickettsia andeanae*). Em um trabalho anterior em um dos locais deste estudo, mas com amostragem muito reduzida, Pajuaba et al. (2018) encontraram DNA de *R. bellii* em uma taxa mínima de infecção de 2 e 4% em carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*, respectivamente. Higa et al. (2020) acharam um único carrapato *A. sculptum* com DNA de *Rickettsia parkeri* dentre 142 investigados no Mato Grosso do Sul.

Observações desse trabalho e de anteriores citados acima demonstram que, apesar da frequente simpatria microambiental e alimentação no mesmo hospedeiro (capivara), a infecção do carrapato *A. sculptum* por *R. bellii* provenientes do *A. dubitatum* parece ser ocasional. Com estes fatos, a premissa de que a circulação da *R. bellii* em uma área impediria a infecção do *A. sculptum* por *R. rickettsii* por interferência riquetsial na infecção ovariana pela bactéria patogênica, conforme sugerido em outros contextos (Paddock et al., 2015), se torna questionável. Na verdade, os resultados desse trabalho indicam o oposto; além do carrapato *A. sculptum* ser refratário à infecção por *R. bellii*, parece inibir, por mecanismo ainda desconhecido, a infecção do carrapato *A. dubitatum* também. As implicações destas observações para a epidemiologia da FMB precisam ser melhor investigadas.

O conjunto dos resultados deste trabalho revelou aspectos desconhecidos sobre as populações de carrapato *A. sculptum* e *A. dubitatum* em áreas verdes urbanas e tendo a capivara como o principal hospedeiro. Embora uma comparação direta com áreas prístinas de outros trabalhos (Luz et al., 2019) está impossibilitada pela metodologia específica de coleta desse trabalho, a densidade elevada dos carrapatos em áreas antropizadas vista aqui foi notável. Por este motivo, para melhor avaliar a intensidade destas infestações urbanas, seria de bom alvitre replicar a metodologia em áreas naturais, verdes, na beira de corpos d'água e com presença de capivaras. Outra observação importante foi a extrema variação nas densidades de carrapatos *A. sculptum* entre as diversas localidades em um mesmo município, assim como nas três estações do ano investigadas. Tal resultado indica bolsões de infestação, que se reconhecidas podem ser evitadas. Embora ambiente adequado para o parasita associado a áreas de descanso e trajetos preferenciais das capivaras já possam ser considerados como fatores fundamentais para a formação destes bolsões de infestação, outros fatores também precisam ser investigados.

Quanto ao risco de picada humana, este trabalho investigou exclusivamente o risco de exposição (contato) em áreas de perigo e baseado no comportamento de busca do carrapato por hospedeiro. Os resultados evidenciaram diferenças notáveis entre as duas espécies de carrapatos e entre os estágios da mesma espécie. A principal diferença se refere à maior restrição dos carrapatos *A. dubitatum* nas proximidades do solo, sob a vegetação, enquanto larvas e ninfas do *A. sculptum* se dispersam mais sobre a vegetação. Esse comportamento das formas imaturas do *A. sculptum* lhes permite maior oportunidade de contato com hospedeiros enquanto imaturos de *A. dubitatum* dependem

mais do comportamento de ataque na busca por hospedeiro. No conjunto, essas observações determinam que um ser humano em passagem por uma área de perigo pela ocorrência de carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*, terá contato quase que exclusivo com larvas e/ou ninfas de *A. sculptum*, especialmente no outono e inverno. Simultaneamente, seres humanos em posição estacionária (sentados, deitados ou em pé, mas imóveis) são mais atrativos para adultos e principalmente ninfas de *A. sculptum* em relação aos mesmos estágios do carrapato *A. dubitatum*. Assim, em área de perigo a posição estacionária também representa uma maior exposição às ninfas de *A. sculptum*. Estas observações, somadas ao fato de que as densidades do carrapato *A. sculptum* são aquelas que sofrem as maiores variações, explicam maior exposição de humanos às ninfas de *A. sculptum*. Quanto aos adultos dos carrapatos de ambas as espécies, mesmo que atraídos para seres humanos, representam um risco menor. Esse estágio é atraído em proporções menores que ninfas, é menos numeroso no ambiente, mais facilmente detectado e sua capacidade de interação parasitária com seres humanos é menor dada uma maior especificidade por outros hospedeiros, como é característico de adultos dos carrapatos (Nava e Guglielmone, 2013).

Um dos resultados mais surpreendentes desse trabalho foi a observação de que, quando comparados às larvas de *A. sculptum*, larvas de *A. dubitatum* apresentam comportamento de ataque mais evidente inclusive para iscas humanas. Pode-se especular que este comportamento possa estar associado a uma maior mobilidade em função do tamanho maior das larvas dessa espécie e a necessidade de compensar a menor oportunidade de contato com hospedeiros via emboscada. De forma mais específica, sugere-se que larvas de *A. dubitatum*, com a aproximação de um hospedeiro, se posicionem sobre a vegetação ou folhíço junto ao solo, mas sem subir para posições mais altas para evitar dessecação. Se este hospedeiro estacionar nas proximidades, o comportamento de ataque é ativado. Evidentemente, esta proposta de comportamento das larvas de *A. dubitatum* precisa ser melhor investigada, bem como sua efetividade para parasitismo humano.

Como exposto no início, a picada humana por carrapatos ocorre após três níveis sequenciais de aproximação hospedeiro-parasita e que determinam o contato e o parasitismo; 1 - área de perigo, 2 - exposição e 3 - interação parasitária. Nesse trabalho foi explorado o segundo nível que é a exposição ao carrapato em uma área de ocorrência do vetor. Porém, a prevenção da picada pode ser feita pela eliminação de uma área de perigo através da extinção da população de carrapatos, ou com medidas de proteção

individual, por exemplo vestimentas e/ou uso de repelentes, que impedem a interação parasitária mesmo após a exposição. Considera-se, entretanto, que em áreas de ocorrência com capivaras e as duas espécies de carrapatos, a extinção do vetor é na maioria dos casos impraticável e mecanismos de proteção individual podem ser ineficientes ou ainda desconfortáveis. De forma aplicada, esses resultados indicam e reforçam algumas atitudes comportamentais humanas e de manejo ambiental na prevenção da picada humana através da restrição de exposição. Para isso, trajetos para locomoção humana em áreas de perigo precisam ser delimitados e a vegetação removida ou roçada rente ao solo. De forma ideal estes trajetos deverão ser limpos com a retirada de folhicho ou até pavimentadas (brita, pedregulhos, cimento). O mesmo deve ser feito nos locais em que se pretende permanecer estacionado, de preferência em um raio de pelo menos dois metros para criar um halo de segurança mínimo e inadequado para permanência e movimentação, especialmente de larvas e ninfas. O tamanho sugerido deste halo foi extrapolado de trabalhos com outras espécies de carrapatos (Carroll e Schimdtmann, 1996; Buczek et al., 2017) e deverá ser avaliado experimentalmente para carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum*.

V-CONCLUSÕES

- 1) Carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* predominaram em áreas urbanas na beira de corpos d'água habitadas por capivaras em Uberlândia, Minas Gerais;
- 2) A densidade mínima anual de carrapatos foi, em média, de 4,4 carrapatos/m² e variou conforme o local e estação do ano entre 0,03 e 31,8 carrapatos/m²;
- 3) A relação *A. sculptum*/*A. dubitatum* variou de local para local e de acordo com a estação do ano, mas de forma geral houve prevalência do carrapato *A. sculptum*;
- 4) A densidade média de carrapatos *A. dubitatum* foi menor e mais constante, enquanto as densidades de *A. sculptum* apresentaram extremos, particularmente de larvas;
- 5) Observou-se uma sazonalidade marcada no ciclo de vida do carrapato *A. sculptum* com prevalência de adultos no verão, larvas no outono e ninfas no inverno;
- 6) Não se observou uma sazonalidade marcante para a espécie *A. dubitatum*, e a distribuição dos três estágios foi mais homogênea nas três estações do ano da amostragem;
- 7) Adultos e ninfas do carrapato *A. dubitatum* exibiram quase que exclusivamente comportamento de busca por hospedeiro de ataque;

- 8) Larvas do carrapato *A. dubitatum* exibiram comportamento de busca por hospedeiro de ataque e emboscada em proporções similares;
- 9) Larvas do carrapato *A. sculptum* exibiram comportamento de busca por hospedeiro quase que exclusivamente de emboscada; ninfas majoritariamente de ataque e adultos quase que exclusivamente de ataque;
- 10) Larvas do carrapato *A. sculptum* emboscaram hospedeiros da vegetação do solo até 56 cm de altura, ninfas até 77 cm a adultos até 44 cm;
- 11) De forma global ninfas de *A. sculptum* são os mais atraídos para seres humanos;
- 12) Larvas de *A. dubitatum* são mais atraídos até seres humanos do que larvas de *A. sculptum*;
- 13) A bactéria *Rickettsia bellii* apresentou ampla distribuição geográfica e sazonal em carrapatos *A. dubitatum* nas áreas verdes de Uberlândia com taxas mínimas de infecção de 5,8%, 2,5% e 1,4% em adultos, ninfas e larvas, respectivamente.
- 14) O carrapato *A. sculptum* foi refratário à infecção por *R. bellii* e a proporção elevada de *A. sculptum* na população de carrapatos foi positivamente correlacionada com a diminuição da infecção por *R. bellii* (presença de DNA) em carrapatos *A. dubitatum*.

Agradecimentos: Este trabalho teve financiamento e/ou apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Praia Clube de Uberlândia, Condomínio Morada do Sol de Uberlândia, Prefeitura de Uberlândia. Agradecemos ao Prof. Marcelo Bahia Labruna pelo controle positivo (*Rickettsia vini*) utilizado na pesquisa molecular de *Rickettsia*.

REFERÊNCIAS

- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., Lipman, D.J., 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 215, 403–410. [https://doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Angerami, R.N., Nunes, E.M., Nascimento, E.M.M., Freitas, A.R., Kemp, B., Feltrin, A.F.C., Pacola, M.R., Perecin, G.E.C., Sinkoc, V., Resende, M.R., Katz, G., Vigila, D., 2009. Clusters of Brazilian spotted fever in São Paulo State , southeastern Brazil . A review of official reports and the scientific literature. *Clin. Microbiol. Infect.* 15, 202–204. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02637.x>
- 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., Ferreira, F., Castro, M.B., Labruna, M.B., 2019. 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.* 10, 442–453. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.12.010>
- Barreto ,G.R.; Quintana, R.D., 2013. Foraging strategies and feeding habits of capybaras. Em: Moreira, J.R.; Ferraz, K.M.P.M.B.; Herrera, E.A.; Macdonald, D.W. editors. *Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species*. New York: Springer, pp. 83–96.
- Brites-Neto, J.; Brasil, J., 2014. Monitoramento epidemiológico de carrapatos em área de risco para Febre Maculosa Brasileira, Americana – SP. **BEPA**;11(129): 7-15.
- Brites-Neto, J., Brasil, J., Takeda, G.A.C.G., Guillen, A.C., Labruna, M.B., Pinter, A., 2018. Diferenciação morfométrica entre larvas de *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 e *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899. *Arq. Bras. Med. Veterinária e Zootec.* 70, 1521–1528. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-9774>
- Buczek, A., Zajac, Z., Woźniak, A., Kulina, D., Bartosik, K., 2017. Locomotor activity of adult *Dermacentor reticulatus* ticks (Ixodida: Ixodidae) in natural conditions. *Ann. Agric. Environ. Med.* 24, 271–275. <https://doi.org/10.5604/12321966.1230736>
- Burgdorfer, W., S. F. Hayes, and A. J. Mavros. 1981. Nonpathogenic rickettsiae in *Dermacentor andersoni*: a limiting factor for the distribution of *Rickettsia rickettsii*, pp. 585–594. In W. Burgdorfer and R. L. Anacker [eds.], *Rickettsiae and rickettsial diseases*. Academic Press, Inc., New York.
- Canales, M., Enriquez, A., Ramos, E., Cabrera, D., Dandie, H., Soto, A., Falcón, V.,

- Rodriguezf, M., 1997. Large-scale production in *Pichia pastoris* of the recombinant vaccine Gavac @ against cattle tick Vaccine 15, 414–422.
- Carroll, J.F., Schmidtman, E.T., 1996. Dispersal of Blacklegged Tick (Acari: Ixodidae) Nymphs and Adults at the Woods-Pasture Interface. J. Med. Entomol. 33, 554–558. <https://doi.org/10.1093/jmedent/33.4.554>
- Costa, F.B., Gerardi, M., Binder, L.D.C., Benatti, H.R., Serpa, M.C.D.A., Lopes, B., Luz, H.R., Ferraz, K.M.P.M.B., Labruna, M.B., MacAluso, K., 2020. *Rickettsia rickettsii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) Infecting *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) Ticks and Capybaras in a Brazilian Spotted Fever-Endemic Area of Brazil. J. Med. Entomol. 57, 308–311. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz141>
- De Campos Pacheco, R., Horta, M.C., Pinter, A., Moraes-Filho, J., Martins, T.F., Nardi, M.S., De Souza, S.S.A.L., De Souza, C.E., Szabó, M.P.J., Richtzenhain, L.J., Labruna, M.B., 2009. Pesquisa de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 42, 351–353. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000300023>
- de Oliveira, S.V., Bitencourth, K., Borsoi, A.B.P., de Freitas, F.S.S., Castelo Branco Coelho, G., Amorim, M., Gazeta, G.S., 2018. Human parasitism and toxicosis by *Ornithodoros rietcorrei* (Acari: Argasidae) in an urban area of Northeastern Brazil. Ticks Tick-borne Dis. 9, 1494–1498. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.07.011>
- de Oliveira, S.V., Guimarães, J.N., Reckziegel, G.C., Neves, B.M. da C., Araújo-Vilges, K.M. de, Fonseca, L.X., Pinna, F.V., Pereira, S.V.C., de Caldas, E.P., Gazeta, G.S., Gurgel-Gonçalves, R., 2016. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis. 22, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s40409-016-0077-4>
- Debárora, V.N., Mangold, A.J., Oscherov, E.B., Guglielmone, A.A., Nava, S., 2014. Study of the life cycle of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) based on field and laboratory data. Exp. Appl. Acarol. 63, 93–105. <https://doi.org/10.1007/s10493-014-9767-1>
- Dias, T.C., Stabach, J.A., Huang, Q., Labruna, M.B., Leimgruber, P., Ferraz, K.M.P.M.B., Lopes, B., Luz, H.R., Costa, F.B., Benatti, H.R., Correa, L.R., Nievas, A.M., Monticelli, P.F., Piovezan, U., Szabó, M.P.J., Aguiar, D.M., Brites-Neto, J., Port-Carvalho, M., Rocha, V.J., 2020. Habitat selection in natural and human-modified landscapes by capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), an

- important host for *Amblyomma sculptum* ticks. PLoS One 15, 1–17.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229277>
- Eisen, R.J., Kugeler, K.J., Eisen, L., Beard, C.B., Paddock, C.D., 2017. Tick-borne zoonoses in the United States: Persistent and emerging threats to human health. ILAR J. 58, 319–335. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilx005>
- Estrada-Peña, A., Zatansever, Z., Gargili, A., Aktas, M., Uzun, R., Ergonul, O., Jongejan, F., 2007. Modeling the spatial distribution of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever outbreaks in Turkey. Vector-Borne Zoonotic Dis. 7, 667–678. <https://doi.org/10.1089/vbz.2007.0134>
- Guedes, E., Leite, R.C., Pacheco, R.C., Silveira, I., Labruna, M.B., 2011. Rickettsia species infecting *Amblyomma* ticks from an area endemic for brazilian spotted fever in Brazil. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 20, 308–311. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000400009>
- Guerin, P.M.; Kröber, T.; McMahon, C.; Guerenstein, P.; Grenacher, S.; Vlimant, M.; Diehl, P.A.; Steullet, P.; Syed, Z., 2000. Chemosensory and behavioural adaptations of ectoparasitic arthropods. Nova Acta Leopoldina 83:197–213
- Hall-Mendelin, S., Craig, S.B., Hall, R.A., O'Donoghue, P., Atwell, R.B., Tulsiani, S.M., Graham, G.C., 2011. Tick paralysis in Australia caused by *Ixodes holocyclus* Neumann. Ann. Trop. Med. Parasitol. 105, 95–106. <https://doi.org/10.1179/136485911X12899838413628>
- Hervé, M., 2020. RVAideMemoire: Testing and Plotting Procedures for Biostatistics. R package version 0.9-78. <https://CRAN.R-project.org/package=RVAideMemoire> R Development Core Team (2018) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria <http://www.R-project.org>.
- Higa, L. de O.S., Csordas, B.G., Garcia, M.V., Oshiro, L.M., Duarte, P.O., Barros, J.C., Andreotti, R., 2020. Spotted fever group Rickettsia and Borrelia sp. cooccurrence in *Amblyomma sculptum* in the Midwest region of Brazil. Exp. Appl. Acarol. 81, 441–455. <https://doi.org/10.1007/s10493-020-00513-2>
- Hodžić, A., Mateos-Hernández, L., de la Fuente, J., Cabezas-Cruz, A., 2019. Delayed hypersensitivity reaction to mammalian galactose- α -1,3-galactose (α -Gal) after repeated tick bites in a patient from France. Ticks Tick-borne Dis. 10, 1057–1059. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.05.017>
- Jongejan, F., Uilenberg, G., 2004. The global importance of ticks. Parasitology.

<https://doi.org/10.1017/S0031182004005967>

- Kemp, D.H.; Stone, B.F.; Binnigton, K.C., 1982. Tick attachment and feeding. Role of the mouthparts, feeding apparatus, salivary gland secretions and the host response. In **Physiology of Ticks**, e.d. F.D. Obenchain, R. Galun, pp. 119-68. Oxford: Pergamon.
- Klompen, J.S.H., Black IV, W.C., Keirans, J.E., Oliver, J.H., 1996. Evolution of ticks. *Annu. Rev. Entomol.* 41, 141–161.
- <https://doi.org/10.1146/annurev.en.41.010196.001041>
- Kwak, M.L., Kuo, C.C., Chu, H.T., 2020. First record of the sea snake tick *Amblyomma nitidum* Hirst and Hirst, 1910 (Acari: Ixodidae) from Taiwan. *Ticks Tick-borne Dis.* 11, 101383. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101383>
- Labruna, M.B., 2009. Ecology of rickettsia in South America. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1166, 156–166. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x>
- Labruna, M.B., Amaku, M., Metzner, J.A., Pinter, A., Ferreira, F., 2003. Larval Behavioral Diapause Regulates Life Cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. *J. Med. Entomol.* 40, 170–178.
- <https://doi.org/10.1603/0022-2585-40.2.170>
- Labruna, M.B., Kasai, N., Ferreira, F., Faccini, J.L.H., Gennari, S.M., 2002. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.* 105, 65–77. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00649-5](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00649-5)
- Labruna, M.B., Kerber, C.E., Ferreira, F., Faccini, J.L.H., De Waal, D.T., Gennari, S.M., 2001. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.* 97, 1–14. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00387-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00387-9)
- Labruna, M.B., Whitworth, T., Bouyer, D.H., McBride, J.W., Pinter, A., Popov, V., Gennari, S.M., Walker, D.H., 2004. Species Infecting 42, 90–98.
- <https://doi.org/10.1128/JCM.42.1.90>
- Levin, M.L.; Zemtsova, G.E.; Montgomery, M.; Killmaster, L.F., 2013. Effects of homologous and heterologous immunization on the reservoir competence of domestic dogs for *Rickettsia conorii* (israelensis). *Ticks Tick-borne Dis.* 5, 33-40. [doi/10.1016/j.ttbdis.2013.07.010](https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.07.010)
- Luz, H.R., Costa, F.B., Benatti, H.R., Ramos, V.N., De A Serpa, M.C., Martins, T.F., Acosta, I.C.L., Ramirez, D.G., Muñoz-Leal, S., Ramirez-Hernandez, 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., 2019. Epidemiology of capybara-associated Brazilian spotted fever. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007734>
- Luz, H.R., Ramírez-Hernández, A., Benatti, H.R., Ramirez, D.G., Szabó, M.P.J., Labruna, M.B., 2020. Comparative survival of the engorged stages of *Amblyomma dubitatum* and *Amblyomma sculptum* in the laboratory: Implications for Brazilian spotted fever epidemiology. *Ticks Tick-borne Dis.* 11, 101360.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101360>
- Macaluso, K.R., Sonenshine, D.E., Ceraul, S.M., Azad, A.F., 2002. Rickettsial Infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) Inhibits Transovarial Transmission of a Second *Rickettsia*. *J. Med. Entomol.* 39, 809–813. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-39.6.809>
- Malan, F.S.; Horak, I.G.; de Vos, V.; van Wyk, J.A., 1997. Wildlife parasites: lessons for parasite control in livestock. *Vet. Parasitol.* 71, 137-153.
[https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(97\)00030-7](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(97)00030-7)
- Mangold, A.J., Bargues, M.D., Mas-Coma, S., 1998. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitol. Res.* 84, 478–484.
<https://doi.org/10.1007/s004360050433>
- Martins, T.F., Onofrio, V.C., Barros-Battesti, D.M., Labruna, M.B., 2010. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: Descriptions, redescrptions, and identification key. *Ticks Tick-borne Dis.* 1, 75–99.
- Martins, T.F., Labruna, M.B., Mangold, A.J., Cafrune, M.M., Guglielmone, A.A., Nava, S., 2014. Taxonomic key to nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) in Argentina, with description and redescription of the nymphal stage of four *Amblyomma* species. *Ticks Tick-borne Dis.* 5, 753–770.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.05.007>
- Martins, T.F., Luz, H.R., Muñoz-Leal, S., Ramirez, D.G., Milanelo, L., Marques, S., Sanches, T.C., Onofrio, V.C., da C.L.Acosta, I., Benatti, H.R., Maturano, R., de Oliveira, P.B., Albuquerque, G.R., Marcili, A., Flausino, W., Silveira, L.F., McIntosh, D., Faccini, J.L.H., Labruna, M.B., 2019. A new species of *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) associated with monkeys and passerines of the Atlantic rainforest biome, Southeastern Brazil. *Ticks Tick-borne Dis.* 10.

- <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.07.003>
- <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.03.002>
- Martins, T.F., Teixeira, R. H. F., Souza Jr, J.C., H.R., Luz, Montenegro, M.M., Jerusalinsky, L., Bueno, M.G., Onofrio, V.C., Amorim, M., Gazêta, G.S., Da Silva, P.J., Bitencourth, K., Borsoi, A.B.P., Marques, S., Mattos Jr, M.O. Hernandes, L.S.I., Scofield, A., Vieira, R.F.C., Pacheco, R.C., Horta, M.C., da Silva, V.P., Silva, P.W., Igayara, C.A., Sanches, T.C., Nardi, M.S., Lugarini, C., Maia, N.L., de Siqueira, C.L.M., Ferreira, J.M., Soares, J.F., Labruna, M.B., 2021. Ticks (Parasitiformes: Ixodida) on new world wild primates in Brazil, Int. J. Acarol. <https://doi.org/10.1080/01647954.2020.1870554>
- Muñoz-Leal, S., Martins, M.M., Nava, S., Landulfo, G.A., Simons, S.M., Rodrigues, V.S., Ramos, V.N., Suzin, A., Szabó, M.P.J., Labruna, M.B., 2020. *Ornithodoros cerradoensis* n. sp. (Acari: Argasidae), a member of the *Ornithodoros talaje* (Guérin-Méneville, 1849) group, parasite of rodents in the Brazilian Savannah. Ticks Tick-borne Dis. 11, 101497. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101497>
- Nasser, J.T., Lana, R.C., Silva, C.M. dos S., Lourenço, R.W., Silva, D.C. da C. e, Donalísio, M.R., 2015. Urbanization of Brazilian spotted fever in a municipality of the southeastern region: epidemiology and spatial distribution. Rev. Bras. Epidemiol. 18, 299–312. <https://doi.org/10.1590/1980-5497201500020002>
- Nava, S., Guglielmone, A.A., 2013. A meta-analysis of host specificity in Neotropical hard ticks (Acari: Ixodidae). Bull. Entomol. Res. 103, 216–224. <https://doi.org/10.1017/S0007485312000557>
- Nava, S.; Venzal, J.M.; González-Acuña, D.; Martins, T.F.; Guglielmone, A., 2017. Ticks of the Southern Cone of America Diagnosis, Distribution, and Hosts with Taxonomy, Ecology and Sanitary Importance. Elsevier, Academic Press, London p348.
- Nunes, F.B.P.; da Silva, S.C.; Cieto, A.D.; Labruna, M.B., 2019. The Dynamics of Ticks and Capybaras in a Residential Park Area in Southeastern Brazil: Implications for the Risk of *Rickettsia rickettsii* Infection. Vector Borne Zoonotic Dis. doi: 10.1089/vbz.2019.2479.
- Nuttall, P.A., 2019. Wonders of tick saliva. Ticks Tick-borne Dis. 10, 470–481. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.11.005>
- Paddock, C.D., Denison, A.M., Dryden, M.W., Noden, B.H., Lash, R.R., Abdelghani, S.S., Evans, A.E., Kelly, A.R., Hecht, J.A., Karpathy, S.E., Ganta, R.R., Little, S.E., 2015. High prevalence of “*Candidatus Rickettsia andeanae*” and apparent

- exclusion of *Rickettsia parkeri* in adult *Amblyomma maculatum* (Acari: Ixodidae) from Kansas and Oklahoma. *Ticks Tick-borne Dis.* 6, 297–302.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.02.001>
- Pajuaba Neto, A.A., Ramos, V. do N., Martins, M.M., Osava, C.F., Pascoal, J. de O., Suzin, A., Yokosawa, J., Szabó, M.P.J., 2018. 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.* 9, 67–71. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.10.007>
- Passos Nunes, F.B., Da Silva, S.C., Cieto, A.D., Labruna, M.B., 2019. The Dynamics of Ticks and Capybaras in a Residential Park Area in Southeastern Brazil: Implications for the Risk of *Rickettsia rickettsii* Infection. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 19, 711–716. <https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2479>
- Polo, G., Labruna, M.B., Ferreira, F., 2015. Satellite hyperspectral imagery to support tick-borne infectious diseases surveillance. *PLoS One* 10, 1–12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143736>
- Polo, G., Mera Acosta, C., Labruna, M.B., Ferreira, F., 2017. Transmission dynamics and control of *Rickettsia rickettsii* in populations of *Hydrochoerus hydrochaeris* and *Amblyomma sculptum*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 11, 1–12.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005613>
- Queirogas, V.L., Del Claro, K., Nascimento, A.R.T., Szabó, M.P.J., 2012. Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: Ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. *Exp. Appl. Acarol.* 57, 75–82.
<https://doi.org/10.1007/s10493-012-9533-1>
- Ramos, V. do N., Osava, C.F., Piovezan, U., Szabó, M.P.J., 2014. Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. *Rev. Bras. Parasitol. Veterinária* 23, 516–521. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014091>
- Ramos, V.N., Osava, C.F., Piovezan, U., Szabó, M.P.J., 2014. Ticks on humans in the Pantanal wetlands, Brazil. *Ticks Tick-borne Dis.* 5, 497–499.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.03.004>
- Reck, J., Marks, F.S., Guimarães, J.A., Termignoni, C., Martins, J.R., 2013. Epidemiology of *Ornithodoros brasiliensis* (mouro tick) in the southern Brazilian highlands and the description of human and animal retrospective cases of tick parasitism. *Ticks Tick-borne Dis.* 4, 101–109.
<https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.09.004>

- Rivas, J.J., Moreira-Soto, A., Alvarado, G., Taylor, L., Calderón-Arguedas, O., Hun, L., Corrales-Aguilar, E., Morales, J.A., Troyo, A., 2015. Pathogenic potential of a Costa Rican strain of “*Candidatus Rickettsia amblyommii*” in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and protective immunity against *Rickettsia rickettsii*. *Ticks Tick-borne Dis.* 6, 805–811. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.07.008>
- Sakai, R.K., Costa, F.B., Ueno, T.E.H., Ramirez, D.G., Soares, J.F., Fonseca, A.H., Labruna, M.B., Barros-Battesti, D.M., 2014. Experimental infection with *Rickettsia rickettsii* in an *Amblyomma dubitatum* tick colony, naturally infected by *Rickettsia bellii*. *Ticks Tick-borne Dis.* 5, 917–923. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.07.003>
- 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., Vidotto, O., Labruna, M.B., 2005. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerg. Infect. Dis.* 11, 265–270. <https://doi.org/10.3201/eid1102.040656>
- Scinachi, C.A., Takeda, G.A.C.G., Mucci, L.F., Pinter, A., 2017. Association of the occurrence of Brazilian spotted fever and Atlantic rain forest fragmentation in the São Paulo metropolitan region, Brazil. *Acta Trop.* 166, 225–233. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.11.025>
- SEPLAN - Secretaria Municipal de Planejamento Urbano - Núcleo de Pesquisa Estatística e Banco de Dados. Banco de Dados Integrados de Uberlândia - DBI. 2019. Disponível em: <<http://docs.uberlandia.mg.gov.br/wp-content/uploads/2019/10/BDI-2019-vol1.pdf>>. Acesso em 23 de fevereiro de 2020.
- Soares, J.F., Soares, H.S., Barbieri, A.M., Labruna, M.B., 2012. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. *Med. Vet. Entomol.* 26, 139–151. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2915.2011.00982.x>
- Sonenshine, D.E.; Roe, R.M., 2014. *Biology of ticks*. Oxford University Press, 2014. Volume 1. ISBN 978-0-19-974405-3
- Sonenshine, D.E., 2018. Range expansion of tick disease vectors in north america: Implications for spread of tick-borne disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 1–9. <https://doi.org/10.3390/ijerph15030478>
- Sonenshine, D.E., 2004. Pheromones and other semiochemicals of ticks and their use in tick control. *Parasitology* 129. <https://doi.org/10.1017/S003118200400486X>
- Szabó, M.P.J., Castro, M.B., Ramos, H.G.C., Garcia, M. V., Castagnolli, K.C., Pinter,

- A., Veronez, V.A., Magalhães, G.M., Duarte, J.M.B., Labruna, M.B., 2007. Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: Ixodidae) in the natural habitat of wild Marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Southeastern Brazil. *Vet. Parasitol.* 143, 147–154. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.08.009>
- Szabó, M.P.J., Labruna, M.B., Garcia, M. V., Pinter, A., Castagnolli, K.C., Pacheco, R.C., Castro, M.B., Veronez, V.A., Magalhães, G.M., Vogliotti, A., Duarte, J.M.B., 2009. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south–eastern Brazil. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 103, 57–72. <https://doi.org/10.1179/136485909X384956>
- 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., 2018. 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.* 76, 381–397. <https://doi.org/10.1007/s10493-018-0300-9>
- 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., 2020. Ticks biting humans in the Brazilian savannah: Attachment sites and exposure risk in relation to species, life stage and season. *Ticks Tick-borne Dis.* 11, 101328. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101328>
- Szabó, M. P J, Nieri-Bastos, F.A., Spolidorio, M.G., Martins, T.F., Barbieri, A.M., Labruna, M.B., 2013. 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* 140, 719–728. <https://doi.org/10.1017/S0031182012002065>
- Szabó, M.P.J., Pascoal, J.O., Martins, M.M., Ramos, V. do N., Osava, C.F., Santos, A.L.Q., Yokosawa, J., Rezende, L.M., Tolesano-Pascoli, G.V., Torga, K., de Castro, M.B., Suzin, A., Barbieri, A.R.M., Werther, K., Silva, J.M.M., Labruna, M.B., 2019. Ticks and *Rickettsia* on anteaters from Southeast and Central-West Brazil. *Ticks Tick-borne Dis.* 10, 540–545. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.01.008>
- Szabó, Matias P. J., Pinter, A., Labruna, M.B., 2013. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 3, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00027>

- Tatchell, R.J., 1987. Interactions between ticks and their hosts. *Int. J. Parasitol.* 17, 597–606. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(87\)90136-6](https://doi.org/10.1016/0020-7519(87)90136-6)
- Terassini, F.A., Barbieri, F.S., Albuquerque, S., Szabó, M.P.J., Camargo, L.M.A., Labruna, M.B., 2010. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest. *Ticks Tick-borne Dis.* 1, 194–196. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.08.002>
- Toledo, R.D.S., Tamekuni, K., Haydu, V.B., Vidotto, O., 2008. Dinâmica sazonal de carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) em um parque urbano da cidade de Londrina, PR. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 17, 50–54.
- Valente, J.D.M., Silva, P.W., Arzua, M., Barros-Battesti, D.M., Martins, T.F., Silva, A.M., Vieira, T.S.W.J., Labruna, M.B., Vieira, R.F.C., 2020. Records of ticks (Acari: Ixodidae) on humans and distribution of spotted-fever cases and its tick vectors in Paraná State, southern Brazil. *Ticks Tick-borne Dis.* 11. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101510>
- Vianna, M.C.B., Horta, M.C., Sangioni, L.A., Cortez, A., Soares, R.M., Mafra, C.L., Galvão, M.A.M., Labruna, M.B., Gennari, S.M., 2008. Rickettsial spotted fever in Capoeirão village, Itabira, Minas Gerais, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo* 50, 297–301. <https://doi.org/10.1590/S0036-46652008000500009>
- Vieira, R.F. da C., Biondo, A.W., Guimarães, A.M.S., Santos, A.P. dos, Santos, R.P. dos, Dutra, L.H., Diniz, P.P.V. de P., Morais, H.A. de, Messick, J.B., Labruna, M.B., Vidotto, O., 2011. Ehrlichiosis in Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Veterinária* 20, 01–12. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612011000100002>
- Waladde, S.M.; Rice, M.J., 1982. Sensory basis of tick feeding behaviour. In: Obenchain, F. D.; Galun, R. *Physiology of Ticks*. Oxford: Pergamon, 1982. p. 71-118.
- Zeimes, C.B., Olsson, G.E., Hjertqvist, M., Vanwambeke, S.O., 2014. Shaping zoonosis risk: Landscape ecology vs. landscape attractiveness for people, the case of tick-borne encephalitis in Sweden. *Parasites and Vectors* 7, 1–10. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-370>