

## Abundância e infecção natural de *Amblyomma sculptum* e *A. dubitatum* por *Rickettsia* spp em Brasília, Brasil

GOMES, I. R. C.<sup>1</sup>, GURGEL-GONÇALVES, R.<sup>2</sup>, GAZETA, G.S.<sup>3</sup>, LEITE, L. F.<sup>1</sup>, GUIMARÃES, M.<sup>1</sup>

1. Universidade Católica de Brasília (UCB);

2. Laboratório de Parasitologia Médica e Biologia de Vetores, Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Distrito Federal, Brasil.

3. Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

### RESUMO

Os carrapatos *Amblyomma* (Ixodidae) são vetores de *Rickettsia* nas Américas. No Brasil, um dos cenários de transmissão tem ocorrido em áreas urbanas associadas a capivaras. Na região Centro-Oeste, existem poucos casos humanos, porém não sabemos a origem. Em Brasília, há presença de capivaras sororreagentes para *Rickettsia*, porém a abundância e infecção natural dos carrapatos vetores não é bem conhecida. Dessa forma, nossos objetivos foram: 1) analisar a distribuição espaço-temporal e abundância de carrapatos em áreas de ocorrência de capivaras em Brasília, 2) analisar o efeito relativo de variáveis climáticas, micro-habitat e disponibilidade de hospedeiros na abundância de carrapatos e 3) investigar a presença de bactérias do gênero *Rickettsia* nesses ectoparasitos. Os carrapatos foram coletados entre setembro de 2021 e abril de 2022 a partir da técnica de arrasto em 29 a 31 pontos de coleta nas margens do Lago Paranoá. Dados ambientais (tipo e altura da vegetação, presença ou sinais de capivaras, temperatura e umidade) foram medidos. Os carrapatos foram separados por estágio de desenvolvimento, identificados e contados. A identificação de *Rickettsia* foi feita usando PCR. A associação entre abundância de carrapatos e variáveis ambientais foi analisada por modelos Generalizados Lineares Mistos. Foram capturados 11604 carrapatos, a maioria estavam na fase de larva (96%) e foram capturados principalmente no fim da estação chuvosa (79%). A maioria dos adultos e ninfas eram *Amblyomma sculptum* (93%). As ninfas foram mais abundantes na seca e os adultos no início da estação chuvosa. A análise mostrou que os efeitos das variáveis ambientais na abundância dos carrapatos foram distintos para os diferentes instares. Considerando todos os instares houve fraca correlação entre a presença de carrapatos e de vestígios de capivaras nos pontos de coleta, mas houve forte associação positiva entre quantidade de capivaras e ninfas, as quais também foram mais frequentes em locais mais iluminados. O fator climático foi o que mais influenciou a ocorrência de adultos, enquanto a abundância das larvas foi mais influenciada pela umidade relativa e luz. Riquetsias foram identificadas em 42/252 amostras, incluindo amostras positivas para bactérias do Grupo Febre Maculosa. Esses dados mostram que a abundância de carrapatos é explicada por fatores climáticos, microambientais e disponibilidade de capivaras e que a influência desses fatores é diferente em cada fase de desenvolvimento. Dessa forma, o manejo de capivaras não seria suficiente para reduzir a população de carrapatos na área. Os dados de infecção confirmam o potencial risco de transmissão de *Rickettsia* spp. ao homem nessa área indene, mas potencialmente vulnerável.

## INTRODUÇÃO

Os carrapatos do gênero *Amblyomma* (Ixodidae) são vetores da Febre Maculosa (FM), causada por bactérias do gênero *Rickettsia* (MORAES-FILHO, 2017, DANTAS-TORRES *et al.* 2019). Na América do Sul, as espécies vetoras de maior importância são *A. cajennense* Fabricius, 1787, *A. sculptum* Berlese, 1888, *A. aureolatum* Pallas, 1772, *A. ovale* Koch, 1844 e *A. tigrinum* Koch, 1844 (PAROLA *et al.*, 2013; SZABÓ, PINTER e LABRUNA, 2013; EREMEEVA e DASCH, 2015; WECK *et al.*, 2016). Esses carrapatos geralmente são encontrados em hospedeiros selvagens como *Coendou prehensilis*, *Mazama americana*, *Chrysocyon brachyurus*, *Tamandua tetradactyla*, *Alouatta guariba* e *Hydrochoerus hydrochaeris* (BASTOS, 2016). Entretanto, mudanças ambientais permitiram a adaptação de alguns desses hospedeiros ao ambiente urbano como já descrito para as capivaras *H. hydrochaeris* em Brasília, Distrito Federal (DF) (ALMEIDA e BIONDI, 2014, CORNELIO *et al.*, 2018).

As capivaras são conhecidas amplificadoras de zoonoses carregadas por carrapatos que as infestam (BARROS-BATTESTI, ARZUA, BECHARA, 2006; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, *et al.*, 2020). No Brasil, capivaras têm sido caracterizadas como hospedeiras amplificadoras naturais de *R. rickettsii* para carrapatos *Amblyomma sculptum*, que são os mais importantes vetores de febre maculosa no Brasil (COSTA *et al.*, 2019; LUZ *et al.*, 2019). *A. sculptum* tem sido associado a capivaras e mantém o ciclo enzoótico de *Rickettsia* spp. (LABRUNA *et al.*, 2007; LUZ *et al.*, 2019), porém esse carrapato pode parasitar humanos contribuindo para a transmissão da FM para humanos (LABRUNA *et al.*, 2007; BRITES-NETO *et al.*, 2018).

No Brasil, entre os anos de 2007 a 2021 foram notificados ~36,5 mil casos suspeitos de FM, dos quais 7% foram confirmados (~170 casos por ano) totalizando 837 óbitos. A maioria dos casos foi registrada nas regiões Sul (Santa Catarina) e Sudeste (São Paulo e Minas Gerais) (OLIVEIRA *et al.* 2016, BRASIL, 2019, NUNES *et al.* 2022). A região Centro-Oeste historicamente tem apresentado um número menor de casos, por exemplo, no estado de Goiás, de 2011 a 2020, foram confirmados 19 casos de FM (NOGUEIRA *et al.* 2022). Em Brasília, foram detectados três casos suspeitos (BRASIL, 2019) e um estudo sobre carrapatos associados a capivaras na orla do principal lago da cidade demonstrou dois carrapatos da espécie *A. dubitatum* infectados por *R. parkeri* (QUADROS *et al.*, 2021). Além disso, Quadros *et al.* (2021) mostraram que 53 de 55 amostras de soro de capivaras testadas por RIFI apresentaram sororeação. Destas, 21 demonstraram o antígeno de *R. bellii*. Entre os carrapatos, a PCR revelou *R. bellii* em 25/108 (23,1%) amostras de *Rickettsia* sp. e “strain” Cooperi em 2/108 (1,9%) amostras de *A. dubitatum* testadas. Esses resultados indicam que as populações de capivaras de Brasília estão expostas à *R. bellii*. Considerando essas evidências de circulação de *Rickettsia* em áreas urbanas da capital do Brasil onde vivem ~4 milhões de pessoas, há necessidade de conhecer aspectos ecológicos dos carrapatos nas áreas de ocorrência de capivaras para estimar o potencial risco de transmissão de *Rickettsia* ao homem nessa área indene, mas potencialmente vulnerável. Dessa forma, nossos objetivos foram: 1) analisar a distribuição espaço-temporal e abundância de carrapatos na orla do Lago Paranoá em Brasília-DF, 2) analisar o efeito relativo de variáveis climáticas, micro-habitat e

disponibilidade de hospedeiros na abundância de carrapatos e 3) investigar a presença de bactérias do gênero *Rickettsia* nesses ectoparasitos. As hipóteses do presente trabalho são: i) a abundância de carrapatos é maior em locais onde as capivaras ocorrem com maior frequência; ii) as fases de vida do carrapato são afetadas por fatores distintos, e portanto, possuem distribuição diferente entre as épocas do ano e também na paisagem. iii) as fases larvais são mais presentes em locais mais sombreados e com maior umidade relativa. iv) haverá circulação de *R. parkeri* e *R. belli* nos carrapatos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

O Lago Paranoá possui 37,5 km<sup>2</sup> e ocupa 18% do território do Distrito Federal, em uma Área de Proteção Ambiental para preservar a porção artificial do Lago (FERRER e DEL NEGRO, 2011) (Figura 1). A vegetação da orla do Lago Paranoá atualmente é formada por áreas verdes de vegetação exótica e por fragmentos remanescentes de cerrado, campo sujo e matas de galeria, parcialmente degradadas (SEDUH, 2003). A região se enquadra, segundo a classificação de Köppen, em clima tropical com estação seca de inverno (Aw). A sazonalidade é marcada, possui estação seca de maio a setembro e estação chuvosa de outubro a abril. No Distrito Federal a média anual de precipitação é de 1500 a 1800 mm (COSTA, *et al.*, 2012).

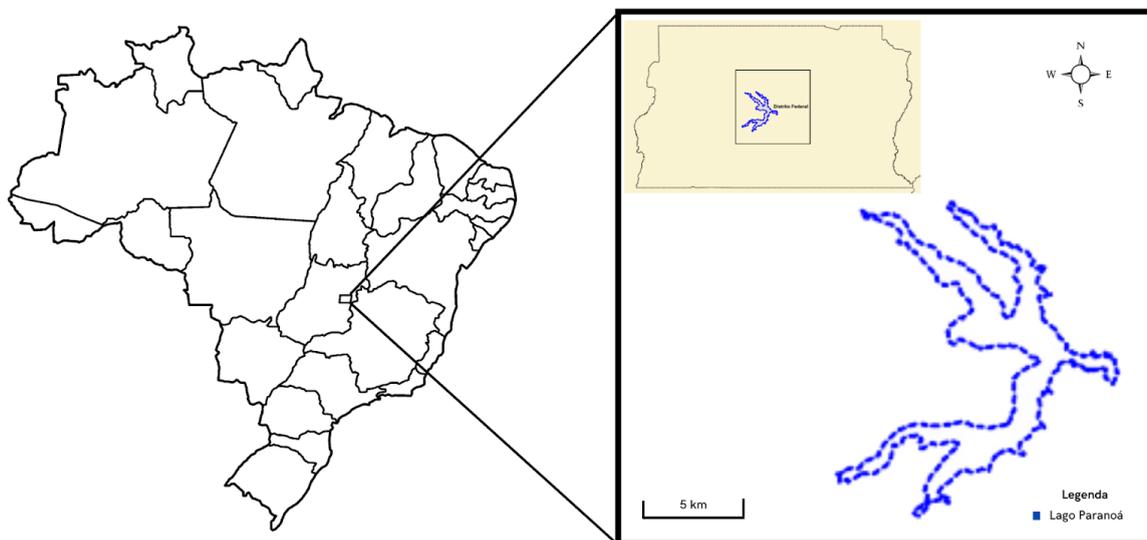


Figura 1. Área de coleta dos carrapatos, Lago Paranoá, Distrito Federal. Fonte: Infraestrutura Nacional de Dados Espaciais - INDE (adaptado).

### Coleta e identificação de carrapatos

A coleta dos carrapatos foi feita através da técnica de arrasto de tecidos (RAMOS *et al.*, 2014). Foram amostradas áreas nos quatro braços do Lago (Figura 2) nos meses de setembro e novembro de 2021, fevereiro/março e abril de 2022. Os pontos foram escolhidos por sorteio a partir de locais com ocorrência de capivaras e todas as coletas foram realizadas em um mesmo período do dia, pela manhã.

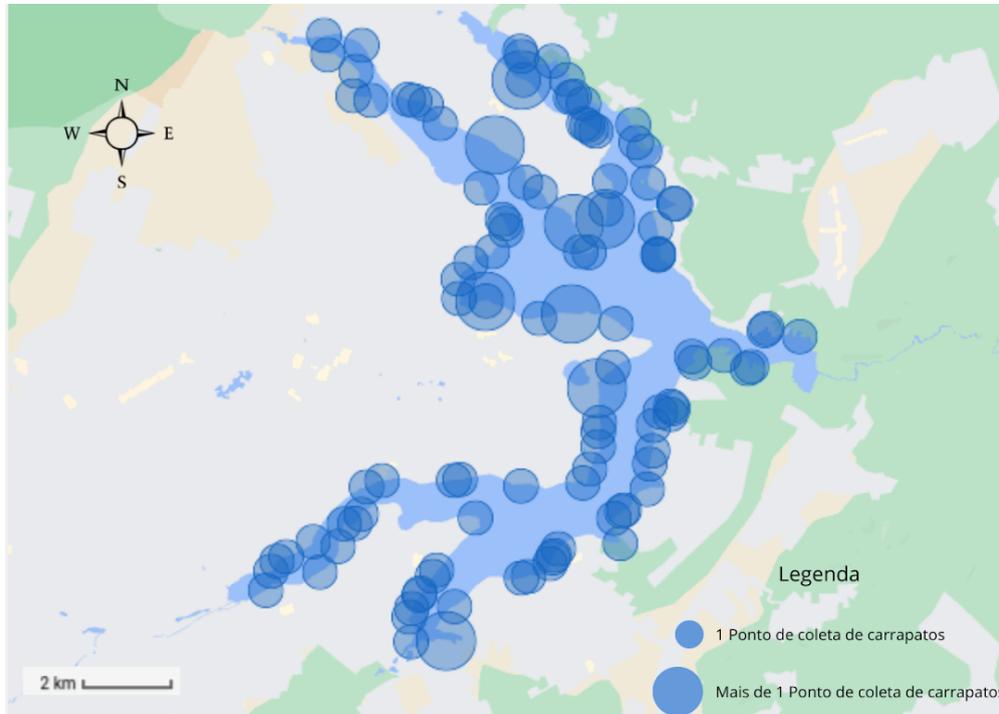


Figura 2. Pontos de coleta de carrapatos dos meses de setembro e novembro de 2021 e fevereiro/março e abril de 2022 na orla do Lago Paranoá, Distrito Federal. Os círculos menores indicam um ponto de coleta, já os maiores são pontos onde ocorreram mais de uma coleta.

A captura com o arrasto foi realizada com tecidos soft e atalhados de 50x60cm, preso em rodos de limpeza com grampos. Essa técnica foi utilizada para alcançar trechos onde a vegetação é mais fechada. O rodo foi passado por uma extensão de 6x10m, delimitada por trenas. Dentro de cada área de 6x10m, foram utilizados doze pedaços de tecidos (seis soft e seis atalhados), a fim de evitar a perda dos animais ao longo do percurso (Figura 3). Os indivíduos coletados foram fixados com álcool 70% no local de coleta, armazenados em sacos plásticos vedados e em seguida foram levados ao laboratório para triagem e identificação sob estereomicroscópio, com auxílio das chaves de identificação como Barros-Battesti, Arzua e Bechara (2006), Gianizella *et al.* (2017), Nava *et al.* (2017) e do aplicativo VetorDex (<https://apps.apple.com/br/app/vetordex/id1602553121>). Para a identificação, os indivíduos encontrados em cada ponto foram separados por campanha de coleta e por braço do lago. As larvas foram identificadas no nível de gênero, por não haver chaves para este instar no Brasil, os demais instares foram identificados no nível de espécie. A temperatura, a umidade relativa e a densidade do dossel foram medidas em campo com o auxílio de um multimedidor (Instrutherm, Thal-300) e um densiômetro florestal esférico convexo (Forestry Suppliers, modelo C) (Soma das áreas que não possuem cobertura de vegetação, multiplicado por 1,04 subtraído por 100).

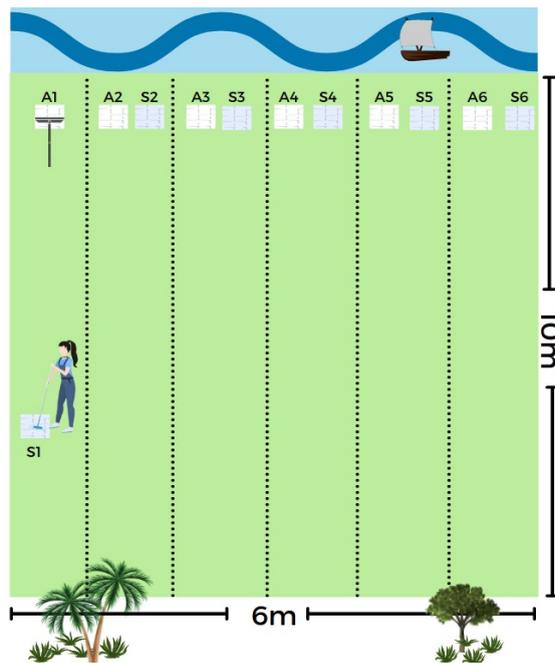


Figura 3. Representação da metodologia de coleta dos carrapatos na orla do Lago Paranoá, Distrito Federal, 2021/2022. S = tecido soft; A = tecido atalhado.

### Pesquisa de riquétsias

Os ixodídeos foram processados individualmente e reunidos em grupos (de um a dez indivíduos) de acordo com a fase de desenvolvimento (1 adulto, 5 larvas e 10 ninfas, separados em alíquotas). Posteriormente, os carrapatos foram submetidos à extração de DNA genômico (DNAg) e PCR, visando à caracterização de cepas e/ou espécies de riquétsias. O DNA genômico de carrapatos foi obtido pela técnica de extração por NaCl de acordo com Aljanabi e Martinez (1997) e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Os artrópodes foram triturados em banho de nitrogênio líquido, e ressuspensos em um volume máximo de 400  $\mu\text{l}$  de tampão A (NaCl 0,4 M; EDTA 2mM pH 8,0; Tris HCl 10mM pH 8,0). Em seguida foi adicionado 40  $\mu\text{l}$  SDS 20% e 8  $\mu\text{l}$  de Proteinase K 20mg/ml (Promega, Madison, EUA) e o material foi incubado em banho-maria a 56 -  $60^{\circ}\text{C}$  por 1h. Após esta incubação, foi acrescentado 360  $\mu\text{l}$  de NaCl 5M à amostra que foi homogeneizada e centrifugada a 6720 g (centrífuga Sigma 1-14k) e 10304 g (centrífuga Eppendorf 5417R) por 30 min à  $4^{\circ}\text{C}$ ; o sobrenadante foi precipitado em igual volume de isopropanol (600  $\mu\text{l}$ ). Em seguida a amostra foi novamente centrifugada, dessa vez a 6720 g (na centrífuga Sigma 1-14k) e 10304 g (na centrífuga Eppendorf 5417R) por 10 min à  $4^{\circ}\text{C}$ , o sobrenadante foi desprezado e 600  $\mu\text{l}$  de Etanol  $70^{\circ}\text{C}$  GL foram acrescentados para lavar o pellet; posteriormente, a amostra foi centrifugada a 6720 g (centrífuga Sigma 1-14k) e 10304 g (centrífuga Eppendorf 5417R) por 10 min. O sobrenadante foi desprezado e os eppendorfs foram invertidos sobre papel toalha para secar por aproximadamente 30min. O DNAg foi ressuspensado em 40  $\mu\text{l}$  de água milliQ e foi estocado a  $-20^{\circ}\text{C}$  ou encaminhado para a PCR de acordo com Sambrook e Russel (2021), com modificações. Todas as amostras foram processadas utilizando o gene *gltA*, com iniciadores CS2-78 e CS2-323 (LABRUNA *et al.* 2004), para detecção de *Rickettsia* spp e para riquétsias GFM foi utilizado o gene *ompA*,

com iniciadores Rr190.70p e Rr 190.602n (REGNERY *et al.* 1991). As amostras de DNAg foram divididas em lotes de 42 alíquotas, que é a capacidade por dia comportada pelo laboratório, sendo cada lote processado em dias distintos. Foi feito um mix de PCR (segundo os iniciadores utilizados) de acordo com a quantidade de amostras analisadas. Em cada mix foram adicionados 737,5 µl de água destilada ultrapura; 250 µl de Buffer; 125 µl de MgCl<sub>2</sub>; 25 µl de dNTP (10mM); 50 µl do iniciador forward (10pmol); 50 µl do iniciador reverse (10pmol); 12,5 µl de Taq DNA polimerase (LIRN, 2021). A quantidade de reagentes aqui definida se deu levando-se em conta as 42 amostras que foram analisadas e os controles positivos (DNAg de *R. rickettsii*) e negativos (água destilada ultrapura). Para a visualização do fragmento de DNA amplificado, as amostras foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2 %, coradas por brometo de etídeo e observadas em luz ultravioleta.

### **Caracterização da paisagem**

O diagnóstico ambiental da paisagem foi feito em todos os pontos de coleta ao longo de um transecto de 30m, partindo da margem do lago. As informações coletadas foram relacionadas ao tipo vegetação (grama, solo exposto, arbustos, árvores e edificações), presença de lixo ou entulho, se o local era de uso/ocupação humana e quanto à presença ou sinais de capivaras. A cobertura do dossel, temperatura e umidade relativa foram mensuradas a cada 10m.

### **Análise de dados**

Inicialmente foram realizadas análises exploratórias para verificar a variação do número de carrapatos em relação às fases de desenvolvimento (larva, ninfa ou adulto), espécies, estações do ano, braços do lago e tipo de arrasto. A correlação de Spearman ( $\alpha = 0,05$ ) foi usada para avaliar se a ocorrência de carrapatos estava associada à ocorrência de capivaras. Foi feita uma análise de correlação para filtrar as variáveis ambientais que entrariam nas análises. Utilizou-se o modelo Generalizado Linear Misto (GLM) modificado para cada categoria (adulto, ninfa, larva), relacionando as variáveis ambientais e a abundância dos carrapatos. Avaliamos visualmente as premissas dos modelos gerados e retiramos os outlier (quando necessário). Foi realizada também a distribuição de Poisson. Uma ANOVA (two way) foi utilizada para comparar o efeito do instar e do mês de coleta sobre o número de carrapatos coletados. As análises foram realizadas nos programas Past e R.

## **RESULTADOS**

No total, foram coletados 11604 carrapatos em 119 amostras, sendo 29 em setembro de 2021, 30 em novembro de 2021, 29 em fevereiro/março de 2022 e 31 em abril de 2022 (Figura 4). A maioria dos indivíduos estava na fase de larva e foram capturados principalmente em abril, fim da estação chuvosa (Tabela 1). Quanto à captura dos indivíduos, o tecido soft capturou mais carrapatos considerando todas as campanhas, principalmente larvas. O tecido atalhado capturou mais carrapatos na fase de ninfa (Tabela 1).

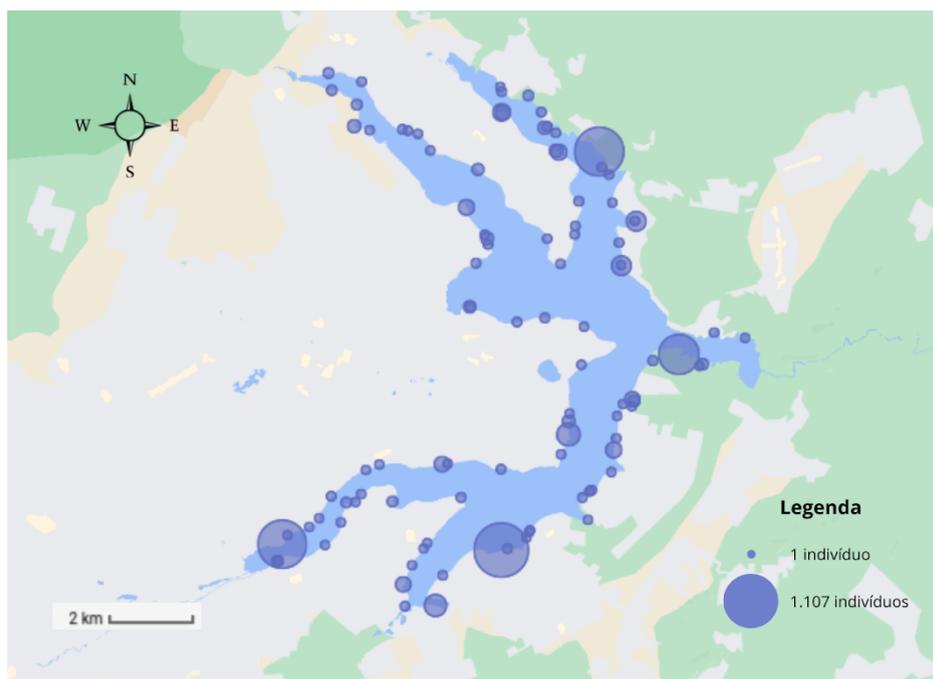


Figura 4. Densidade de carrapatos coletados na orla do Lago Paranoá, Distrito Federal, nos meses de setembro e novembro de 2021 e fevereiro e abril de 2022.

Tabela 1. Número de carrapatos capturados com tecidos atalhados e soft, orla do Lago Paranoá, Distrito Federal, nos anos de 2021 e 2022.

Campanha	Ano	Tecido	Fase de vida			Total
			Larva	Ninfa	Adulto	
Setembro	2021	Atoalhado	556	117	4	677
		Soft	121	62	4	187
Novembro	2021	Atoalhado	339	38	27	404
		Soft	608	17	26	651
Fevereiro	2022	Atoalhado	207	0	10	217
		Soft	332	1	14	347
Abril	2022	Atoalhado	4124	52	15	4191
		Soft	4883	39	8	4930
<b>Total</b>			11170	326	108	11604

A maioria dos indivíduos identificados eram *Amblyomma sculptum* (n=384, 93,4%). Apenas 27 indivíduos foram identificados como *A. dubitatum* principalmente em novembro de 2021 (Tabela 2).

Tabela 2. Carrapatos encontrados na orla do Lago Paranoá, Distrito Federal, nos anos de 2021 e 2022.

Campanha	Ano	Braço	<i>Amblyomma</i>					Total
			<i>Amblyomma</i> spp	<i>Amblyomma sculptum</i>		<i>Amblyomma dubitatum</i>		
				Larva	Ninfa	Adulto	Ninfa	

Setembro	2021	1	17	35	0	0	0	52
		2	1	26	2	5	0	34
		3	27	10	0	5	0	42
		4	547	95	7	3	0	652
Novembro	2021	1	101	0	4	3	0	108
		2	617	3	7	0	0	627
		3	198	0	10	2	0	210
		4	31	42	35	1	0	109
Fevereiro	2022	1	230	0	2	0	0	232
		2	139	0	2	1	0	142
		3	162	0	15	0	1	178
		4	19	0	7	0	0	26
Abril	2022	1	1391	8	1	2	0	1402
		2	2395	19	19	3	0	2436
		3	23	27	1	0	1	52
		4	2088	6	1	0	0	2095
<b>Total</b>			7986	271	113	25	2	8397*

\* Os valores da tabela 1 e 2 diferem devido a uma perda de amostras no percurso para a confirmação de identificação taxonômica feita no Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, no Rio de Janeiro.

Todas as fases de vida foram encontradas em todas as coletas, no entanto a fase mais abundante foi a de larva, principalmente no mês de abril (5.897 indivíduos,  $p < 0,01$ ; teste ANOVA two-way), quando houve uma diminuição no volume de precipitação (Figura 5). As ninfas foram mais abundantes no mês de setembro (179 indivíduos) e os adultos foram mais abundantes no mês de novembro (56 indivíduos), quando houve maior precipitação (Figura 6).

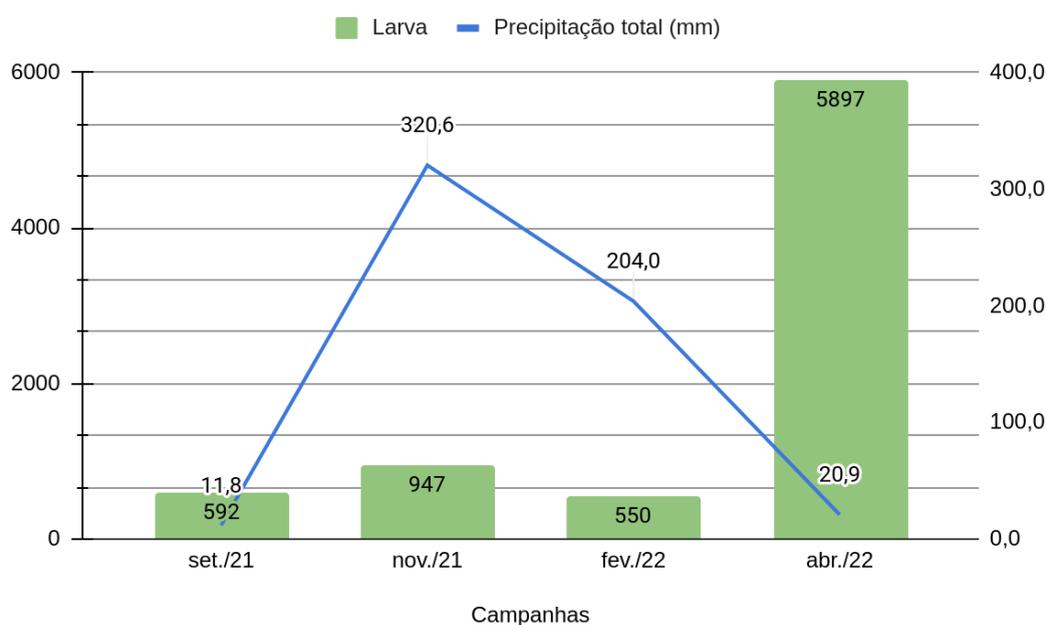


Figura 5: Número de larvas encontradas na orla do Lago Paranoá, nos meses de setembro e novembro de 2021 e fevereiro e abril de 2022 e precipitação total dos meses de coleta de acordo com o INMET. Valores de larva no eixo direito, precipitação no eixo esquerdo.

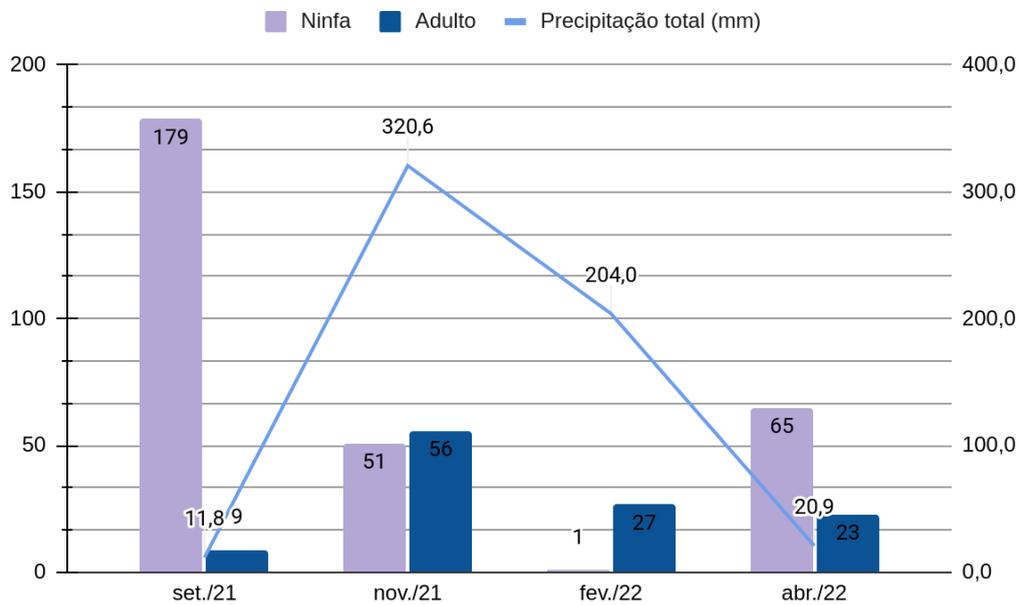


Figura 6: Número de ninfas e adultos encontrados na orla do Lago Paranoá, nos meses de setembro e novembro de 2021 e fevereiro e abril de 2022 e precipitação total dos meses de coleta de acordo com o INMET. Valores de larva no eixo direito, precipitação no eixo esquerdo.

Ao se relacionar a presença ou vestígios de capivaras com a presença de carrapatos, verificou-se uma fraca correlação (Spearman  $r=0,07$ ,  $p=0,057$ ). O modelo Generalizado Linear misto mostrou que as larvas foram sensíveis às variações microclimáticas (umidade relativa e luz,  $p<0,005$ ). Já as ninfas estiveram mais presentes em locais mais iluminados ( $p=0,03$ ), onde havia mais capivaras ( $p=0,01$ ) e nos meses de setembro ( $p<0,01$ ) e novembro ( $p<0,05$ ).

Quanto à pesquisa de riquetsias, foram processadas 252 amostras, das quais 42 estavam positivas (4 no mês de setembro, 17 em novembro, 12 em fevereiro/março e 7 em abril) para o gene *gltA*, indicando a presença de bactérias do gênero *Rickettsia*. Uma dessas amostras (braço 3 da campanha de setembro) e outras 2 do braço 2 da campanha de fevereiro/março, também amplificaram para o gene *ompA*, indicando a presença de bactérias do Grupo Febre Maculosa (GFM) (Tabela 3). As amostras foram positivas para larvas (34 alíquotas contendo 10 larvas cada), ninfa (6 alíquotas contendo 5 ninfas cada) e adultos (2 alíquotas contendo 1 indivíduo). As amostras de ninfas infectadas eram de *A. dubitatum* (3 alíquotas) e *A. sculptum* (3 alíquotas) e os adultos infectados eram *A. sculptum*.

Tabela 3. Análise molecular dos carrapatos encontrados na orla do Lago Paranoá, Distrito Federal, nos meses de setembro e novembro de 2021.

Campanha	Ano	Braço	Gene	Fase de vida		
				Larva	Ninfa	Adulto
Setembro	2021	1	<i>gltA</i>	1 Positivo	Negativo	Negativo

		2	<i>gltA</i>	Negativo	1 Positivo	Negativo
		3	<i>gltA/ompA</i>	Negativo	1 Positivo	Negativo
		4	<i>gltA</i>	1 Positivo	Negativo	Negativo
Novembro	2021	1	<i>gltA</i>	4 Positivos	1 Positivo	Negativo
		2	<i>gltA</i>	9 Positivos	Negativo	Negativo
		3	<i>gltA</i>	Negativo	Negativo	Negativo
		4	<i>gltA</i>	1 Positivo	1 Positivo	1 Positivo
Fevereiro/Março	2021	1	<i>gltA</i>	2 Positivos	Negativo	Negativo
		2	<i>gltA</i>	1 Positivo	Negativo	1 Positivo
		2	<i>ompA</i>	2 Positivos	Negativo	Negativo
		3	<i>gltA</i>	8 Positivos	Negativo	Negativo
		4	<i>gltA</i>	Negativo	Negativo	Negativo
Abril	2021	1	<i>gltA</i>	5 Positivos	1 Positivo	Negativo
		2	<i>gltA</i>	Negativo	1 Positivo	Negativo
		3	<i>gltA</i>	Negativo	Negativo	Negativo
		4	<i>gltA</i>	Negativo	Negativo	Negativo

## DISCUSSÃO

Esse estudo mostrou que a maioria dos carrapatos eram *Amblyomma sculptum*, estavam na fase de larva e foram capturados principalmente em abril, fim da estação chuvosa. As ninfas foram mais abundantes na seca e os adultos no início da estação chuvosa. A análise mostrou que os efeitos das variáveis ambientais na abundância dos carrapatos foram distintos para os diferentes instares. Considerando todos os instares houve fraca correlação entre a quantidade de carrapatos e de vestígios de capivaras nos pontos de coleta, mas houve forte associação positiva entre quantidade de capivaras e ninfas, as quais também foram mais frequentes em locais mais iluminados. O fator climático foi o que mais influenciou a ocorrência de adultos, enquanto a abundância das larvas foi mais influenciada por umidade relativa e luz. Riquétsias foram identificadas nas amostras, incluindo bactérias do Grupo Febre Maculosa.

Os resultados da captura indicam que o uso dos dois tipos de tecidos é eficiente para a amostragem de carrapatos, quando usados juntos. Isso porque o soft se mostrou adequado para capturar larvas e o atoalhado para ninfas. Para adultos, a diferença entre tecidos não foi relevante para a captura. A técnica de arrasto associado a outros métodos de coleta, como busca visual e armadilha de CO<sub>2</sub>, foi relatada como uma forma de maximizar a coleta de carrapatos (TERASSINI *et al.* 2010; RESENDE *et al.* 2020), no entanto, Ramos *et al.* (2014) mostraram que o arrasto feito com flanela de algodão foi mais eficiente do que a busca visual e a armadilha de CO<sub>2</sub>. Queiroz (2020) observou que o arraste de flanela é mais eficiente para a coleta de *A. sculptum*, devido ao comportamento de espreita sobre a vegetação, e para *A. dubitatum* é indicado o uso de armadilha de CO<sub>2</sub>, já que essa espécie tem um comportamento de ataque, isso pode ser uma explicação para a maior abundância de *A. sculptum* no presente estudo.

A espécie predominante no estudo foi *A. sculptum*. Esse resultado diverge do encontrado por Quadros *et al.* (2021) para o Distrito Federal em que observaram uma abundância maior de *A. dubitatum* (410 indivíduos) do que *A. sculptum* (173 indivíduos). No entanto, Paula *et al.* (2021) também relataram uma menor frequência de *A. dubitatum* (26 indivíduos) em comparação à *A. sculptum* (17.032 indivíduos) no campus da Universidade Federal de Goiás, onde há ocorrência de capivaras, quatis, gado e cães. O estudo de Quadros *et al.* (2021) focou em carrapatos retirados diretamente das capivaras, sugerindo que carrapatos encontrados no presente trabalho podem não estar relacionados somente às capivaras da orla.

A ocorrência de larvas durante todo o período de coleta está de acordo com o estudo realizado por Souza *et al.* (2006) em mata ciliar em São Paulo, uma área de ecótono entre a Mata Atlântica e o Cerrado. Labruna *et al.* (2002) também detectaram mais larvas no período de seca em região similar do Estado de São Paulo. Em relação às ninfas e adultos, Paula *et al.* (2021) também encontram um pico de ocorrência de ninfas no mês de setembro e de adultos no mês de novembro em Goiás, no bioma Cerrado. A dinâmica sazonal de *A. sculptum* é semelhante nas regiões sul, sudeste e centro-oeste do Brasil e difere dos estudos realizados no nordeste (Paula *et al.* 2022). Isso pode indicar que a dinâmica sazonal desta espécie está relacionada às diferentes latitudes e padrões climáticos ao longo do ano. Nesta revisão, a maior ocorrência de larvas ocorreu entre abril e julho, as ninfas ocorreram entre julho e outubro e os adultos entre novembro e fevereiro. Quanto à espécie *A. dubitatum*, Dantas-Torres *et al.* (2021) mostraram que nas regiões do nordeste e sudeste do Brasil, áreas de Mata Atlântica, a espécie apresenta padrões sazonais semelhantes a *A. sculptum*.

Ao se relacionar a presença ou vestígios de capivaras com a presença de carrapatos (larva, ninfa ou adulto), verificou-se uma fraca correlação de Spearman. Entretanto, os modelos lineares generalizados mistos (GLM) mostram uma forte associação positiva entre quantidade de capivaras e ninfas, as quais também foram mais frequentes em locais mais iluminados. Esses resultados indicam que os carrapatos podem estar utilizando outros hospedeiros, que lhes permitem ocorrerem de forma mais abrangente na área, como preás (*Cavia aperea*), cutia-de-azara (*Dasyprocta azarae*), quero-quero (*Vanellus chilensis*), sagui-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata*) (iNaturalist, 2022) e saruê (*Didelphis aurita*), cuíca (*Gracilinanus agilis*), cachorros e gatos domésticos observados durante trabalhos de campo. Dessa forma, o manejo de capivaras não seria suficiente para reduzir a população de carrapatos na área.

Em algumas regiões as capivaras são associadas aos carrapatos devido sua coabitação em determinadas áreas e através das técnicas usuais de coleta dos carrapatos, já citadas aqui (ARAÚJO *et al.* 2019; FREITAS *et al.* 2022). Nunes *et al.* (2019) observaram essa associação no parque residencial no Município de Itu (SP), onde a abundância de carrapatos variou de acordo com a população de capivaras, nos anos com maior número de carrapatos (3.360 indivíduos em 2012) também havia maior ocorrência de capivaras (230 animais). No ano seguinte começou um programa de abate que reduziu a ocorrência de capivaras para 44 animais e o número de carrapatos caiu pela metade. No final do programa o número de *A. sculptum* caiu para quase zero, indicando a associação dos ectoparasitas às capivaras. Ainda nesse estudo, foi realizada a captura de nutria (*Myocastor coypus*) para verificar se o animal estava servindo como hospedeiro para os carrapatos ali encontrados, esse método também

pode ser eficiente para verificar se os carrapatos encontrados no ambiente estão relacionados com as capivaras e pode ser uma medida aplicada em fases futuras do projeto. Importante ressaltar que no caso da orla do Lago Paranoá o ideal seria um manejo e não o abate dos animais, visto o desequilíbrio ecológico que este feito pode causar.

Nota-se que a abundância de nenhum dos instares mostrou correlação com o tipo de vegetação, esperava-se que houvesse correlação, principalmente com arbustos e gramas, visto que locais com esse tipo de vegetação foram observados grupos e vestígios de capivaras durante as coletas. Fatores microclimáticos da orla do Lago Paranoá (umidade relativa e luz) apresentam influência na ocorrência dos carrapatos, especificamente sobre as larvas. Fatores climáticos como a pluviosidade e temperatura, também possuem influência sobre os carrapatos. Segundo Salman (2012), uma maior temperatura pode resultar em uma conclusão rápida do estágio de desenvolvimento do carrapato, mas também pode colocar em risco sua sobrevivência, já que irá gerar uma alta evaporação e os carrapatos são sensíveis à dessecação. Além disso, Souza *et al.* (2006) observou em seu estudo que o aumento da população de adultos de *A. cajennense* coincidiu com os índices mais elevados de precipitação pluviométrica, umidade relativa e temperatura.

Com base no estudo realizado no DF por Quadros *et al.* (2021), supõe-se que as amostras que positivamente para o gene *gltA* possam ser de *R. belli*, espécie comumente encontrada em carrapatos e que não possui características patogênicas (PAROLA *et al.*, 2005). Já a amostra que positivou para o gene *ompA* pode indicar a ocorrência de *R. parkeri*, bactéria patogênica do GFM que também já foi encontrada no DF. No entanto, para confirmar essas hipóteses é necessário um sequenciamento genético dessas amostras.

## CONCLUSÃO

Os dados mostram que a abundância de carrapatos é explicada por fatores climáticos, microambientais e disponibilidade de capivaras e que a influência desses fatores é diferente em cada fase de desenvolvimento. Não mostramos forte correlação entre a abundância de carrapatos e o local onde ocorrem as capivaras, porém o GLM mostrou uma interação das ninfas com as capivaras e as larvas foram relacionadas positivamente com umidade relativa. Esses resultados indicam que os carrapatos podem estar utilizando outros hospedeiros, que lhes permitem ocorrerem de forma mais abrangente na área. Dessa forma, o manejo de capivaras não seria suficiente para reduzir a população de carrapatos na área. Os dados de infecção confirmam o potencial risco de transmissão de *Rickettsia* spp. ao homem nessa área indene, mas potencialmente vulnerável.

## I. REFERÊNCIAS

ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. **Nucleic Acids Research**, v. 25, n. 22, p. 4692-4693, 1997.

ALMEIDA, A. R.; BIONDI, D. Área de uso de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. em ambiente urbano. **Ciência animal brasileira**. v.15, n.3, p. 369-376, 2014.

ARAÚJO, S. B. Integrated tick control on a farm with the presence of capybaras in a Brazilian spotted fever endemic region. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 28, n. 4, p. 671-676, 2019.

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

BASTOS, T. S. A. *et al.* Carrapatos em animais silvestres do bioma cerrado triados pelo CETAS, IBAMA-Goiás. **Ciência animal brasileira**. v.17, n.2, p. 296-302, 2016.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica . Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan. Brasília, 2019.

BRITES-NETO, J. *et al.* Diferenciação morfométrica entre larvas de *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 e *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 70(5): 1521-1528. 2018.

CORNELIO, L. R. *et al.* **Levantamento das populações de capivara na orla do Lago Paranoá**. Programa de Iniciação Científica - PIC/UniCEUB - Relatórios de Pesquisa, Brasília, 2018.

COSTA, F. B. *et al.* *Rickettsia rickettsii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) infecting *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) ticks and capybaras in a Brazilian spotted fever-endemic area of Brazil. **Journal of Medical Entomology**. 57(1): 308-311. 2019.

COSTA, H. C. *et al.* Espacialização e Sazonalidade da Precipitação Pluviométrica do Estado de Goiás e Distrito Federal. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 01, p. 87-100, 2012.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Seasonal dynamics and rickettsial infection in free-living *Amblyomma dubitatum* in the Atlantic forest biome in north-eastern Brazil. **Acta Tropica** 217. 2021.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: updated species checklist and taxonomic keys. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 2019.

EREMEEVA, M. E.; DASCH, G. A. Challenges posed by tick-borne rickettsiae: eco-epidemiology and public health implications. **Frontiers in Public Health**. 3:55. 2015.

FERRER, G. G.; DEL NEGRO, G. Unidades de conservação ambiental da Bacia do Lago Paranoá. **REDUnB**. v.10, p. 365-399, 2012.

FREITAS, A. E. M. *et al.* Investigação de infecção por *Rickettsia* spp. em carrapatos colhidos em fragmentos de mata urbana com presença de Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) no município de Dourados - MS. **Veterinária e Zootecnia**. v29: 001-006. 2022.

GIANIZELLA, S. L. *et al.* Carrapatos ixodídeos (Acari: Ixodidae) associados a animais silvestres de fragmentos florestais de Manaus: Manual de identificação. 2017.

**iNaturalist**. Disponível em: <https://www.inaturalist.org>. 2022.

LABORATÓRIO DE REFERÊNCIA NACIONAL EM VETORES DAS RIQUETSIOSES. **POP-LIRN-031**: Preparação da PCR para pesquisa de riquetsias em Vetores. Rio de Janeiro, 2021. 11 p.

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

LABRUNA, M. B. *et al.* Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 65-77, 2002.

LABRUNA, M. B. *et al.* Human parasitism by the capybara tick, *Amblyomma dubitatum* (Acari: ixodidae). **Entomological News**. 118(1): 77-80. 2007.

LUZ, H. R. *et al.* Epidemiology of capybara-associated Brazilian spotted fever. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. 13(9): e0007734. 2019.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia**. 15(1):38-45. 2017.

NAVA, S. *et al.* **Ticks of the Southern Cone of America**: diagnosis, distribution and hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. San Diego (United States): Elsevier Science Publishing Co Inc. 2017.

NOGUEIRA, C. G., *et al.* Fauna de Carrapatos: *Amblyomma* como principal vetor de transmissão da febre maculosa no estado de Goiás. **Revista Científica da Escola Estadual de Saúde Pública de Goiás “Cândido Santiago”**. 8(e80003):65-68. 2022.

NUNES, E. C. *et al.* Spotted Fever in the Morphoclimatic Domains of Minas Gerais State, Brazil. **Frontiers in Tropical Diseases**. 2:718047. 2022.

NUNES, F. B. P. *et al.* The Dynamics of Ticks and Capybaras in a Residential Park Area in Southeastern Brazil: Implications for the Risk of *Rickettsia rickettsii* Infection. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. vbz.2019.2479. 2019.

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

PAROLA, P. *et al.* Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**. 18(4):719-56. 2005.

PAROLA, P. *et al.* Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**. 26, 657–702. 2013.

PAULA, L. G. F. *et al.* Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum*: a review. **Parasites Vectors**. 15, 193. 2022.

- PAULA, L. G. F. *et al.* Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum* in two areas of the Cerrado biome midwestern Brazil, where human cases of rickettsiosis have been reported. **Experimental and Applied Acarology** 84:215–225. 2021.
- QUADROS, A. P. N. *et al.* Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) exposure to Rickettsia in the Federal District of Brazil, a non-endemic area for Brazilian spotted fever. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. 30(2): e028720. 2021.
- QUEIROZ, C. L. **Relação entre os vetores da febre maculosa brasileira *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* e riquetsias com o ambiente: avaliação do risco de picada humana em áreas antropizadas**. Dissertação de mestrado em Ciências Veterinárias. UFU. Uberlândia, MG. 51 p. 2020.
- RAMOS, V. N. *et al.* Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 23, 516-521. 2014.
- RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, A. *et al.* Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) as amplifying hosts of Rickettsia rickettsii to Amblyomma sculptum ticks: Evaluation during primary and subsequent exposures to R. rickettsii infection. **Ticks and Tick-borne Diseases**. 11(5):101463. 2020.
- REGNERY, R. L. *et al.* Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v.173, p.1576-1589, 1991.
- RESENDE, B. S. *et al.* Identificação taxonômica de vetores transmissores da febre maculosa no sul do estado do Tocantins. **Revista UNIABEU**, V.13, Número 33, Número especial, 2020.
- SALMAN, M. D. **Ticks and tick-borne diseases: geographical distribution and control strategies in the Euro-Asia region**. CABI, 2012.
- SAMBROOK, J; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- SECRETARIA DE ESTADO DE DESENVOLVIMENTO URBANO E HABITAÇÃO – **SEDUH**. Caracterização da Orla do Lago Paranoá e o seu perímetro tombado. 2003.
- SOUZA, S. S. A. L.; SOUZA, C.E.; NETO, E. J. R.; PRADO, A. P. Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma região endêmica para febre maculosa na região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, 36:887–891, 2006.
- SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A. LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**. 3:1–9. 2013.
- TERASSINI, F. A. *et al.* Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest. **Ticks and Tick-borne Diseases** 1 194–196, 2010.

WECK, B. *et al.* Spotted fever group *Rickettsia* in the Pampa biome, Brazil, 2015-2016. **Emerging Infectious Diseases**. 22:2014–6. 2016.