

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

TESE

**Deteccão molecular de riquétsias do grupo
febre maculosa e diversidade de carrapatos em
aves silvestres na Zona da Mata, MG, Brasil**

Viviane Zeringóta Rodrigues

2017



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

**DETECÇÃO MOLECULAR DE RIQUÉTSIAS DO GRUPO
FEBRE MACULOSA E DIVERSIDADE DE CARRAPATOS EM
AVES SILVESTRES NA ZONA DA MATA, MG, BRASIL**

VIVIANE ZERINGÓTA RODRIGUES

Sob a Orientação do Professor
João Luiz Horacio Faccini

e Coorientação do Professor
Erik Daemon de Souza Pinto

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2017

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

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

R696d Rodrigues, Viviane Zeringóta, 1984-
Detecção molecular de riquetsias do grupo febre maculosa e diversidade de carrapatos em aves silvestres na Zona da Mata, MG, Brasil / Viviane Zeringóta Rodrigues. - 2017.
48 f.: il.

Orientador: João Luiz Horacio Faccini.
Coorientador: Erik Daemon de Souza Pinto.
Tese(Doutorado). -- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2017.

1. Carrapatos de aves silvestres . 2. Riquetsias .
3. Mata Atlântica. I. Faccini, João Luiz Horacio, 1947 , orient. II. Pinto, Erik Daemon de Souza, 1958-, coorient. III Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. IV. Título.

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

VIVIANE ZERINGÓTA RODRIGUES

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

TESE APROVADA EM 23/02/2017

João Luiz Horacio Faccini. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Marcelo Bahia Labruna. Dr. USP

Roberto Junio Pedroso Dias. Dr. UFJF

Douglas McIntosh. Dr. UFRRJ

Hermes Ribeiro Luz. Dr. USP

AGRADECIMENTOS

Aos mestres: agradeço ao meu orientador *João Luiz Horacio Faccini* pela acolhida e por sempre se dispor a me ouvir, tirar dúvidas e orientar de forma excepcional; ao professor *Erik Daemon*, meu coorientador, pela oportunidade de conhecer e iniciar os estudos pelo caminho da parasitologia e por ser sempre presente durante estes anos; e ao professor *Douglas McIntosh* pelo enorme contribuição com a biologia molecular, por seus ensinamentos em sala de aula e rotina de laboratório. Agradeço a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, em especial com os quais tive maior contato durante estes anos, Dra. *Kátia Maria Famadas* e Dr. *Carlos Luis Massard*, pelo convívio sempre gratificante.

Agradeço aos funcionários do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ, em especial Ivan, Maurício e Arthur, sempre parceiros e dispostos a nos ajudar.

Agradeço a todos amigos do Laboratório de Artrópodes Parasitos da UFJF *Diego Melo Rodrigues*, *Tatiane Pinheiro Novato*, *Renata da Silva Matos*, *Paula Barroso Cruz*, *Cristiane Teixeira Franco*, *Fernanda Calmon*, *Larissa Xavier* e *Nathalia Cunha Muniz* pelo convívio nestes anos. Em especial agradeço imensamente aos lapianos presentes nas coletas utilizadas no presente estudo *Mariana de Oliveira*, *Dionis Teixeira de Oliveira*, *Rafael Moreira do Nascimento*, *Bianca Carvalho da Silva*, com destaque aos amigos de todos momentos *Tatiane de Oliveira Souza Senra*, *Ralph Maturano Pinheiro* e *Caio Márcio de Oliveira Monteiro*.

Meu muito obrigada aos companheiros do laboratório de biologia molecular da UFRRJ *Matheus Dias Cordeiro* e *Caroline Spitz dos Santos*, em especial aos parceiros *João Bosco Varela* e *Tassia Torres Furtado*. Agradeço muito ao amigo *Hermes Ribeiro Luz* que me ajudou não só na biomol, mas também na identificação dos carrapatos, além de estar sempre presente e disposto a ajudar durante estes anos.

Agradeço imensamente os amigos que a Rural me deu, em especial, à *Maristela Peckle Peixoto*, *Camila Pantoja*, *Letícia Poblete* e *Bianca Soares* que foram essenciais no primeiro ano de doutorado me ajudando, e se tornaram muito especiais nesta jornada. Aos colegas de curso *Claudia Bezerra*, *Gabriela Vitari*, *Marcos Sandes Mariana Guedes*, *Caio Balduino*, *Patrícia Golo*, *Wendel Perinotto*, *Gabriel Landulfo*, *Iwine Hungaro*, *Michelle Costa*, *Priscilla Peixoto*, *Naraiana Tabora*, *Vivian S. F. Vieira* e *Iris Soares*, meu muito obrigada.

Aos meus pais *Jairo Luiz Rodrigues* e *Solange de Paula Zeringóta Rodrigues*, ao meu irmão *Bruno Zeringóta Rodrigues* e minha cunhada *Eduarda Torres Vizeu* pelo apoio, compreensão, atenção e amor sempre. Ao meu marido *Eugênio Cotta Almeida* pelo amor, parceria, companheirismo e também pelas fórmulas nas tabelas de excel que facilitaram o trabalho na minha base de dados.

Agradeço às minhas famílias *Zeringóta*, *Rodrigues* e *Cotta*. Agradeço a todos que passaram por minha vida durante o doutorado, pois todos me ajudaram para que eu estivesse nesta reta final.

Agradeço à CAPES pela bolsa de doutorado concedida.

Em especial eu agradeço a *Deus* pelos anjos que colocou em minha vida durante esses anos de doutorado e à *Nossa Senhora* por sempre ir à frente abrindo os caminhos, guiando e abençoando.

BIOGRAFIA

Viviane Zeringóta Rodrigues, filha de Jairo Luiz Rodrigues e Solange de Paula Zeringóta Rodrigues, nasceu em 10 de março de 1984, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Cursou ensino fundamental na Escola Estadual Coronel José Dutra e ensino médio na Escola Estadual Professor Gabriel Arcanjo de Mendonça, em São João Nepomuceno, Minas Gerais. Em agosto de 2004 ingressou no Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, no curso de Ciências Biológicas, com conclusão em agosto de 2008. De 2010 a fevereiro de 2011 foi bolsista de apoio técnico de dois projetos no Polo de Excelência do Leite: Rede de laboratórios de análises e amostragem de leite e derivados na região do Polo de Excelência do Leite e Programa de consolidação do Polo de Excelência do Leite e Derivados.

Em março de 2011 foi aprovada no processo seletivo para o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), contemplada com bolsa da UFJF e posteriormente da CAPES. Sua dissertação teve como tema Hábitos de nidificação e resposta de *Solenopsis saevissima* (Formicidae: Myrmicinae) à perturbação em ambiente urbano, e sua defesa ocorreu em fevereiro de 2013. Durante o mestrado se envolveu em trabalhos do Laboratório de Artrópodes Parasitos da UFJF e no mesmo ano de sua defesa ingressou no doutorado no Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, sob orientação do Professor Doutor João Luiz Horacio Faccini e coorientação do Professor Doutor Erik Daemon, sendo contemplada com uma bolsa da CAPES. Em Março de 2016 publicou o primeiro trabalho oriundo de sua tese de doutorado na revista Parasitology Research, intitulado: “New host records of *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) on birds in Brazil”. O segundo artigo relativo à sua tese intitulado ‘Molecular detection of *Rickettsia rhipicephali* and other spotted fever group *Rickettsia* species in *Amblyomma* ticks infesting wild birds in the state of Minas Gerais, Brazil’ foi publicado em outubro de 2016 na revista Tick and Tick-borne Diseases.

RESUMO

RODRIGUES, Viviane Zeringóta. **Deteção molecular de riquetsias do grupo febre maculosa e diversidade de carrapatos em aves silvestres na Zona da Mata, MG, Brasil.** 2017. 48p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

O presente estudo avaliou o parasitismo por carrapatos em aves silvestres coletadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, localizado em um fragmento de Mata Atlântica no estado de Minas Gerais, Brasil, além de examinar os carrapatos quanto à presença de agentes riquetsiais. Nos meses de Julho e Agosto de 2014 e nos mesmos meses de 2015 foram capturadas 260 aves representando 19 famílias e 52 espécies; destas 69 (26,5%) estavam parasitadas por carrapatos, totalizando 159 larvas (LL) e 22 ninfas (NN). O DNA dos carrapatos foi extraído individualmente e testado através de técnicas de reação em cadeia pela polimerase (PCR) a fim de amplificar os genes 16S e 12S rDNA e, após o sequenciamento, foram identificadas as seguintes espécies: *Amblyomma longirostre* (45 LL, 4 NN), *Amblyomma calcaratum* (9 LL, 15 NN), *Amblyomma nodosum* (2 NN), *Amblyomma parkeri* (21 LL), *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (77 LL) e *Haemaphysalis leporispalustris* (17 LL, 1 NN). Para pesquisa da presença de genes riquetsiais foi utilizado PCR e sequenciamento dos seguintes genes: *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB*, que revelaram a presença de *Rickettsia amblyommatis* (anteriormente “*Candidatus Rickettsia amblyommii*”) em *A. longirostre* (13/49, 26%), e *Rickettsia parkeri* (estirpe ApPR) nas espécies *Amblyomma parkeri* (21/01; 5%) e *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (42/77; 55%). Além disso, foi detectada presença de *Rickettsia rhipicephali* em 31(40%) dos 77 *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré. Este é o primeiro registro deste agente riquetsial em uma espécie do gênero *Amblyomma*. O potencial patogênico desta bactéria é indeterminado, porém esta associação com o gênero *Amblyomma* é inédita e pode vir a representar preocupação para a saúde pública e/ou animal.

Palavras-chave: *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Mata Atlântica, Passeriformes.

ABSTRACT

RODRIGUES, Viviane Zeringóta. **Molecular detection of Rickettsias of the spotted fever group and tick diversity in wild birds on Zona da Mata, MG, Brazil.** 2017. 48p Thesis (Doctor in Sciences, Veterinarian Parasitology) Instituto de Veterinária. Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

This study evaluated the parasitism of wild birds by ticks collected in the Botanical Garden of the Federal University of Juiz de Fora, located in a fragment of Atlantic Forest in the state of Minas Gerais, Brazil, and in addition examined the ticks for the presence of rickettsial agents. During July and August 2014 and in the same months of 2015 were captured 260 birds representing 19 families and 52 species; of these 69 (26.5%) were found to be infested by ticks, 159 larvae (LL) and 22 nymphs (NN). The DNA of ticks was extracted and tested individually using polymerase chain reaction technique (PCR) to amplify a fragment of the genes 16S and 12S rDNA, and after sequencing the following species have been identified: *Amblyomma longirostre* (45 LL, 4 NN), *Amblyomma calcaratum* (9 LL, 15 NN), *Amblyomma nodosum* (2 NN), *Amblyomma parkeri* (21 LL), *Amblyomma* sp. haplotype Nazaré (77 LL), and *Haemaphysalis leporispalustris* (17 LL, 1 NN). For detect the presence of *Rickettsia* was used PCR and sequencing of the following genes *gltA*, *htrA*, *ompA* and *ompB*, revealed the presence of *Rickettsia amblyommatis* (before “*Candidatus Rickettsia amblyommii*”) in *A. longirostre* (13/49, 26%), and *R. parkeri* (strain ApPR) in *A. parkeri* (1/21; 5%) and in *Amblyomma* sp. haplotype Nazaré (42/77; 55%). In addition, we detected *Rickettsia rhipicephali* in 31(40%) of the 77 *Amblyomma* sp. haplotype Nazaré. This is the first record of this rickettsial agent in a specie of the genus *Amblyomma*. The pathogenic potential of this bacterium is undetermined, but the unprecedented association with *Amblyomma* ticks may represents a cause for concern to public and/or animal health.

Keywords: *Amblyomma* sp. haplotype Nazaré, Atlantic Forest, Passeriformes.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição de espécies de carrapatos parasitando aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais e a presença de *Rickettsia*. I/C: infestado/capturado (%), IM: intensidade média, A: abundância, LL: larva, NN: ninfa, Aca: *Amblyomma calcaratum*, Alo: *Amblyomma longirostre*, Ano: *Amblyomma nodosum*, Apa: *Amblyomma parkeri*, ANa: *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Hle: *Haemaphysalis leporispalustris*. *Espécies de aves relatadas com ao menos um espécime com mais de uma espécie de carrapato. ●Espécies de aves que continham algum carrapato positivo para *Rickettsia*.

15

Tabela 2. Espécimes de aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, infestadas com larvas e/ou ninfas*, infectadas por espécies de *Rickettsia*. Aca- *Amblyomma calcaratum*, Alo- *Amblyomma longirostre*, Apa- *Amblyomma parkeri*, ANa- *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Hle- *Haemaphysalis leporispalustris*

20

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora cercado por área densamente urbanizada, localizado na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, onde foram capturadas as aves e coletados os carrapatos. A área circulada no fragmento florestal indica os limites do Jardim Botânico e o ponto branco indica o local de captura. 10
- Figura 2.** Aves coletadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Seta vermelha indica presença de carrapatos. A- *Lanio melanops*, B- *Platyrinchus mystaceus*, C- *Sittasomus griseicapillus*, D- *Tachyphonus coronatus*, E- *Troglodytes musculus* e F- *Turdus rufiventris*. 13
- Figura 3.** Número de indivíduos capturados das vinte espécies de aves mais frequentes no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. 14
- Figura 4.** Carrapatos coletados em Passeriformes no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. A: carrapatos fixados na cabeça de um espécime de *Lanio melanops* (Thraupidae), B, C e D - larvas de *Haemaphysalis leporispalustris* em diferentes níveis de ingurgitamento. 18

LISTA DE ABREVIACOES E SÍMBOLOS

®	marca registrada;
%	por cento;
°C	graus Celsius;
µL	microlitros;
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior;
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Cintfico e Tecnológico;
DNA	'Deoxyribonucleic acid' – cido desoxirribonucleico;
dNTP	nucleotídeos trifosfato;
et al.	e colaboradores;
FMB	Febre Maculosa Brasileira;
GFM	Grupo de Febre Maculosa;
<i>gltA</i>	gene citrato sintase;
GT	Grupo Tifo;
ha	hectares;
LL	larva;
LPSN	List of prokaryotic names with standing in nomenclature;
m	metros;
M	molar;
mg	miligrama;
MgCl ₂	cloreto de magnésio;
mL	mililitro;
mM	milimolar;
mm	milímetros;
NN	ninfa;
pb	pares de bases;
PCR	reação em cadeia pela polimerase;
pmoles	picomol;
rDNA	ácido desoxirribonucleico ribossomal;
RFLP	polimorfismo de fragmentos de restrição;
s.l.	sensu lato;
seg	segundos;
Taq	<i>Thermus aquaticus</i> ;
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora;
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1	Avifauna Brasileira	2
2.2	Carrapatos Parasitos de Aves Silvestres no Brasil	3
2.2.1	<i>Amblyomma</i>	4
2.2.2	<i>Ixodes</i>	4
2.2.3	<i>Haemaphysalis</i>	5
2.2.4	<i>Rhipicephalus</i>	5
2.2.5	<i>Ornithodoros</i>	5
2.3	<i>Rickettsia</i> spp. Encontradas em Carrapatos	6
2.3.1	<i>Rickettsia</i> spp. detectadas em carrapatos parasitando aves silvestres no Brasil	7
3	MATERIAL E MÉTODOS	10
3.1	Local de Estudo	10
3.2	Captura dos Hospedeiros e Coleta dos Carrapatos	10
3.3	Identificação Morfológica dos Carrapatos	11
3.4	Análise Molecular	11
3.5	PCR - Polimorfismos de Fragmentos de Restrição	12
3.6	Sequenciamento de Nucleotídeos	12
4	RESULTADOS	13
5	DISCUSSÃO	22
6	CONCLUSÕES	27
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
	ANEXOS	43

1 INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitos hematófagos encontrados principalmente em áreas temperadas e tropicais, sendo relatados em mamíferos, anfíbios, répteis e aves. Na fauna do Brasil já foram relatadas 69 espécies de ixodídeos, sendo que 32 pertencem ao gênero *Amblyomma*. Estes artrópodes são importantes vetores de agentes patogênicos, veiculando espécies de bactérias, helmintos, protozoários e vírus, incluindo aqueles de importância zoonótica. Em relação aos animais silvestres, ações antropogênicas como o desflorestamento para ampliação de áreas urbanas, degradação do ambiente natural, agricultura e o ecoturismo, aumentam a possibilidade de contato entre animais silvestres e carrapatos, e desses com humanos e animais domésticos.

Esta maior proximidade pode levar ao parasitismo casual de humanos por carrapatos que antes eram encontrados somente em espécies silvestres. Conseqüentemente, os agentes patogênicos veiculados por estes artrópodes e que circulam sem sintomatologia entre seus hospedeiros preferenciais, ao entrar em contato com o homem através da infestação por carrapatos, podem causar doenças, por exemplo, a Febre maculosa, fatal se não diagnosticada rapidamente, cujo agente etiológico é a bactéria *Rickettsia rickettsii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae).

Destaca-se entre a vida silvestre a avifauna, que está associada a uma ampla gama de organismos, e desempenha importante papel no transporte e ciclo de vida de algumas espécies de carrapatos, principalmente nos estágios de larva e ninfa, mais comumente encontrados nestes hospedeiros. A identificação morfológica correta destes é difícil, pois não existe chave específica para larvas, e no caso de ninfas, apesar de haver uma chave para espécies do gênero *Amblyomma*, sua utilização requer treinamento prévio. Os métodos moleculares, embora mais confiáveis para identificação específica destes ectoparasitos, são ainda onerosos no caso do Brasil, pois tanto o equipamento como os reagentes são importados. A relação aves-carrapatos-patógenos ainda é pouco conhecida na região Neotropical devido a sua grande biodiversidade. No Brasil, os estudos tem se concentrado nos biomas Cerrado e Mata Atlântica, com grande riqueza nos demais biomas ainda por ser pesquisada. Em relação às espécies de *Rickettsia* em carrapatos coletados de aves silvestres no País, já foram relatadas as seguintes espécies: *Rickettsia bellii*, "*Candidatus Rickettsia andeanae*", *Rickettsia amblyommatis* (anteriormente *Rickettsia amblyommii* e "*Candidatus Rickettsia amblyommii*") e cepas de *Rickettsia parkeri*. As espécies de *Rickettsia* são divididas em dois grupos principais: o grupo febre maculosa (GFM) e o grupo tifo (GT). Algumas destas espécies de *Rickettsia* encontradas em carrapatos de aves possuem patogenicidade definida, como *R. parkeri*, que nos Estados Unidos tem comprovado potencial patogênico causando doença mais branda que a febre maculosa, causada por *R. rickettsii*, e outras tem patogenicidade desconhecida como *R. amblyommatis*.

O presente estudo realizou o inventário das espécies de carrapatos coletados de aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, além de avaliar a presença de espécies de *Rickettsia* do grupo febre maculosa nestes artrópodes. O local representa rico patrimônio ambiental para o município de Juiz de Fora com grande valor ecológico, e em futuro próximo com previsão de abertura à visitação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O Brasil abriga extensa biodiversidade de fauna e flora, distribuída por sete biomas: Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica, Caatinga, Campos Sulinos, Pantanal, além da Zona Costeira e Marinha (MMA, 2002). O Estado de Minas Gerais abriga três destes biomas: Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, sendo os dois últimos considerados *hotspots* (MYERS et al., 2000), áreas onde existe grande biodiversidade e concentração de espécies endêmicas (MYERS, 1988).

O bioma Mata Atlântica abrange 17 Estados brasileiros: Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Piauí, Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraíba, Pernambuco, Paraná, Santa Catarina, Sergipe, Rio Grande do Norte e Rio Grande do Sul (SOSMA & INPE, 2015). Abriga grande diversidade biológica do País, além de altos níveis de endemismo se comparada a outros biomas (MMA, 2002). É considerado um dos biomas mais ricos e ameaçados do mundo (MMA, 2002), composto por inúmeras formações vegetais, delineando um conjunto de ecossistemas, apresentando grande diversidade faunística, mesmo com sua cobertura vegetal reduzida (SOSMA & INPE, 2015). O percentual que resta do bioma original varia de acordo com alguns trabalhos, por exemplo, Ribeiro et al. (2009) avaliam em torno de 11%, destacando que a maioria dos fragmentos são menores que 50 ha (hectares) e Sosma & Inpe (2015) 7%. A metodologia diferente utilizada nestes trabalhos para avaliar a área degradada pode justificar as variações, porém fica evidente a necessidade de empenho nacional para a conservação do que resta da Mata Atlântica e tentar recompor, pelo menos, parte das áreas degradadas.

Minas Gerais é o Estado que possui a maior área remanescente de Mata Atlântica do país, sendo também o líder em desmatamento. Na última avaliação do SOSMA, o que colaborou para a colocação do estado nesta posição foi o rompimento da barragem no município de Mariana em novembro de 2015, sendo registrado nesta ocasião 169 ha de desmatamento. Mesmo com os impactos sofridos por este bioma com a ocupação humana e exploração de recursos, o bioma abriga em torno de 20 mil espécies de plantas, 280 de anfíbios, 200 de répteis (CAMPANILI & PROCHNOW, 2006), 298 de mamíferos (PAGLIA et al., 2012) e 891 de aves (LIMA, 2014).

A pressão antrópica devido à ocupação desordenada do ambiente e exploração predatória de recursos como conversão de áreas de vegetação natural em lavouras, em pastagem e construção de estradas, gera maior proximidade entre os animais silvestres, seres humanos e animais domésticos. E conseqüentemente, maior acesso dos ectoparasitos de animais silvestres a novos hospedeiros, que podem transmitir agentes patogênicos causando doenças, os quais em hospedeiros silvestres circulam silenciosamente. Além desta maior proximidade, a própria fragmentação de habitats florestais pode induzir efeitos sobre a abundância de carrapatos (OGRZEWALSKA et al., 2011a), diretamente relacionada com a abundância de hospedeiros que podem ficar contidos em determinado fragmento. Quanto menor o fragmento, maior o índice de parasitismo. Portanto, quanto maior a abundância de hospedeiros, maior a probabilidade de expansão das populações de carrapato (RANDOLPH, 2004).

Além do fator degradação ambiental, o comportamento humano pode ter influência na incidência de doenças transmitidas por carrapatos aos humanos quando estes se expõem a ambientes favoráveis para presença destes parasitos, por exemplo, na prática de arborismo e escalada em áreas de mata, o que pode vir a coincidir com a abundância destes artrópodes em determinados momentos (RANDOLPH, 2010).

2.1 Avifauna Brasileira

A avifauna desempenha papel importante nas relações tróficas dentro das comunidades biológicas como dispersora de sementes, polinizadora de flores, além de exercer também controle biológico, e ser carreadora de parasitos por longas distâncias. Estes parasitos que as aves carregam, particularmente artrópodes, podem por sua vez estar servindo como reservatórios de agentes patogênicos, sendo que as aves podem, portanto, contribuir para manutenção da circulação destes agentes indiretamente (HORNOK et al., 2014, BERTHOVA et al., 2015). De acordo com Piacentini et al. (2015) as espécies de aves do Brasil são classificadas, em sua maioria, como residentes (88,2%), porém o país é rota para espécies migratórias que ao se reunirem em áreas de concentração para descanso ou alimentação podem manter contato interespecífico, tendo chances de ocorrer transferência de parasitos para outras espécies hospedeiras (HOOGSTRAAL et al., 1963; OLSEN et al., 1995; HUBALEK, 2004).

A Mata Atlântica abriga 891 espécies de aves, das quais 213 são endêmicas (LIMA, 2014). A maioria das espécies de aves silvestres parasitadas por carrapatos no Brasil pertencem à ordem Passeriformes (LUZ & FACCINI, 2013), sendo que seus hábitos podem influenciar em sua infestação, por exemplo, aves mais generalistas, tanto na ocupação do território quanto no forrageio, são mais susceptíveis à alta intensidade de parasitismo (MATURANO et al., 2015). O método de captura também é um fator que limita a amostragem das aves, pois a maioria dos estudos utiliza redes de neblina com 3 metros de altura, selecionando indivíduos que tem hábito de voar nesta altura. Além do comportamento do hospedeiro, a prevalência destes artrópodes também irá variar de acordo com o tipo de vegetação da região amostrada (OGRZEWALSKA et al., 2011a).

2.2 Carrapatos Parasitos de Aves Silvestres no Brasil

Carrapatos são artrópodes parasitos obrigatórios classificados na subclasse Acari, ordem Ixodida. Compreendem três famílias Argasidae (carrapatos moles), Ixodidae (carrapatos duros) e Nuttalliellidae (representante da família ocorre somente na África). Os carrapatos duros são parasitos com maior frequência de hospedeiros mamíferos, seguido pelas aves. Podem parasitar também representantes das ordens Testudines, Squamata, Anura e Crocodilia (GUGLIELMONE et al., 2014). No Brasil são relatadas em torno de 69 espécies de carrapatos representantes das famílias Ixodidae e Argasidae (DANTAS-TORRES et al., 2009a; NAVA et al., 2014; KRAWCZAK et al., 2015; BARROS-BATTESTI, 2015; WOLF et al., 2016).

O estudo do parasitismo de aves por carrapatos no Brasil tem adquirido maior destaque nos últimos anos, com pesquisas realizadas em diferentes biomas: Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado e Pantanal (LUZ & FACCINI, 2013; RAMOS et al., 2015; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). No entanto, dada a enorme área coberta por esses habitats e rica biodiversidade, incluindo 1919 espécies de aves registradas no Brasil (PIACENTINI et al., 2015), o conhecimento deste tema deve ser considerado ainda em progresso. Embora a Mata Atlântica seja o bioma mais estudado com relação à interação aves/carrapatos (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2009a, 2012; LUGARINI et al., 2015; MATURANO et al., 2015), se considerarmos sua extensão territorial, fatores geográficos, variação de altitudes e diferenças de solo e relevo (CAMPANILI & PROCHNOW, 2006), muitas lacunas no conhecimento científico ainda precisam ser preenchidas.

Aves silvestres brasileiras são hospedeiras de carrapatos dos gêneros *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis* *Ornithodoros* e *Rhipicephalus* (BARROS-BATTESTI et al., 2006; LUZ & FACCINI, 2013; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). Até o momento foram

publicados em torno de 66 trabalhos relatando esta interação (pesquisa realizada com busca pelas palavras no título, palavras-chave e resumo: birds + ticks + Brazil na base de dados Scopus até o dia 09/01/2016). A avaliação de caracteres morfológicos juntamente com técnicas biomoleculares vem auxiliando na identificação dos carrapatos, principalmente daqueles coletados em hospedeiros silvestres, pois geralmente o número de indivíduos é alto e no caso de aves silvestres a maioria são de estágios imaturos. Para o gênero *Amblyomma*, o gênero mais comum em aves silvestres no País, existe chave de adultos (BARROS-BATTESTI et al., 2006) e de ninfas (MARTINS et al., 2010), porém para larvas, ainda é preciso recorrer a técnicas biomoleculares para identificação correta.

2.2.1 *Amblyomma*

O gênero de carrapatos mais representativo no país é o *Amblyomma*, com 32 espécies, sendo também o gênero mais registrado parasitando aves com as espécies: *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1722), *Amblyomma auricularium* (Conil, 1878), *Amblyomma brasiliense* Aragão 1908, *Amblyomma cajennense* complexo, *Amblyomma calcaratum* Neumann, 1899, *Amblyomma coelebs* Neumann, 1899, *Amblyomma dissimile* Koch, 1844, *Amblyomma geayi* Neumann, 1899, *Amblyomma humerale* Koch, 1844, *Amblyomma longirostre* Koch, 1844, *Amblyomma naponense* (Packard, 1869), *Amblyomma nodosum* Neumann, 1899, *Amblyomma ovale* Koch, 1844, *Amblyomma pacae* Aragão, 1911, *Amblyomma parkeri* Fonseca e Aragão, 1952, *Amblyomma parvum* Aragão, 1908, *Amblyomma triste* Koch, 1844, *Amblyomma varium* Koch, 1844, *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (OGRZEWALSKA & PINTER, 2016).

A espécie mais comumente encontrada em aves da ordem Passeriformes é *A. longirostre*, seguida de *A. nodosum* e *A. aureolatum*, e no caso de aves não passeriformes os carrapatos mais relatados são *A. pacae*, *A. cajennense* lato sensu e *A. longirostre* (LUZ & FACCINI, 2013; MATURANO et al., 2015; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016).

As espécies de *Amblyomma* possuem particularidades como hospedeiros preferenciais, principalmente na fase adulta na qual são mais específicos. Por exemplo, os adultos de *A. longirostre* preferem se alimentar de mamíferos da ordem Rodentia, como o porco-espinho (BARROS-BATTESTI et al., 2006), e os estágios imaturos parasitam aves silvestres (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2012; TOLESANO-PASCOLI et al., 2010; LUGARINI et al., 2015; RAMOS et al., 2015). Para esta espécie há relatos de parasitismo humano acidental no Brasil (GUGLIELMONE et al., 2006). Já os adultos de *A. nodosum* preferem mamíferos da ordem Xenarthra, como tamanduás, e os estágios imaturos são frequentemente encontrados em aves silvestres, tendo preferência por aves com hábitos de forragear perto do solo (BARROS-BATTESTI et al., 2006; LUGARINI et al., 2015; LUZ et al., 2016). E *A. aureolatum*, a terceira espécie mais comum relatada em Passeriformes, parasitam carnívoros na fase adulta, e aves e roedores silvestres nos estágios imaturos (BARROS-BATTESTI et al., 2006). Para *A. aureolatum* há relatos de parasitismo humano na Argentina, Brasil, Guiana Francesa e Paraguai (GUGLIELMONE et al., 2006).

2.2.2 *Ixodes*

Representantes do gênero *Ixodes* somam em torno de 46 espécies na região Neotropical. Na fase adulta parasitam preferencialmente vertebrados da ordem Rodentia e marsupiais, e na fase imatura, parasitam pequenos mamíferos, como roedores (BARROS-BATTESTI et al., 2006). No Brasil são registradas apenas oito espécies deste gênero (ONOFRIO et al., 2009), sendo que seu primeiro relato em aves silvestres ocorreu em 1994 com *Ixodes auritulus* Neumann, 1904 parasitando o gênero *Turdus* (ARZUA et al., 1994).

São três as espécies associadas à aves no País (OGRZEWALSKA E PINTER 2016): *I. auritulus* (ARZUA et al., 1994, 2005; GONZÁLEZ-ACUÑA et al., 2005), *Ixodes fuscipes* Koch, 1844 (ARZUA et al., 2005) e *Ixodes paranaensis* Barros-Battesti, Arzua, Pichorim e Keirans, 2003 (BARROS-BATTESTI et al., 2003; DANTAS-TORRES et al., 2009b; TOLESANO-PASCOLI et al., 2014; LUZ et al., 2016).

2.2.3 *Haemaphysalis*

O gênero *Haemaphysalis* compreende 167 espécies, porém apenas três ocorrem na região Neotropical: *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley, 1946, *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) e *Haemaphysalis cinnabarina* Koch, 1844, sendo que as duas primeiras espécies possuem relatos de infestação em humanos (COOLEY 1946; HARRISON et al., 1997; GUGLIELMONE et al., 2006; BARROS-BATTESTI et al., 2006; BERMUDEZ et al., 2012; GUGLIELMONE et al., 2014). A fase imatura é comumente relatada parasitando pequenos roedores e aves, e os adultos parasitam mamíferos maiores (SAMUEL et al., 2001, OGRZEWALSKA et al., 2010, ZERINGÓTA et al., 2016).

O primeiro registro de *H. juxtakochi* parasitando aves silvestres no Brasil foi em 2005 (ARZUA et al., 2005), seguido por relato em 2010 (OGRZEWALSKA et al., 2010). Trabalhos desenvolvidos no sul da América do Sul relataram *H. juxtakochi* em aves na Argentina (BELDOMENICO et al., 2003) e no Uruguai (VENZAL et al., 2005). Já *H. leporispalustris* é amplamente distribuído pelas Américas, tendo como hospedeiros preferenciais coelhos silvestres e lebres (GUGLIELMONE et al., 2014). Pesquisas na Argentina (BELDOMENICO et al., 2003; FLORES et al., 2014) e nos Estados Unidos (MUKHERJEE et al., 2014; SCHNEIDER et al., 2015) observaram estágios imaturos deste carrapato parasitando aves como hospedeiros alternativos. No Brasil existe um único relato deste carrapato associado com aves no sudeste do estado de São Paulo (OGRZEWALSKA et al., 2012).

2.2.4 *Rhipicephalus*

O gênero *Rhipicephalus* possui em torno de 70 espécies no mundo, sendo que no Brasil são encontradas apenas duas espécies: *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1888) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), sendo o primeiro parasito preferencial de bovinos e o segundo parasito preferencial de canídeos (BARROS-BATTESTI et al., 2006). Existem poucos relatos de *R. sanguineus* parasitando aves no país (DIOGO et al., 2003; SZABÓ et al., 2008; LUZ et al., 2012; LUGARINI et al., 2015), sendo esta relação esporádica quando aves de hábito sinantrópico tem contato com cães domésticos (OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). Há relato de parasitismo ocasional em humanos por ambas espécies (GUGLIELMONE et al., 2006).

2.2.5 *Ornithodoros*

O gênero *Ornithodoros*, pertencente à família Argasidae, e na região Neotropical são encontradas cerca de 52 espécies (BARROS-BATTESTI et al., 2006; ESTRADA-PENA et al., 2010; GUGLIELMONE et al., 2010). Este gênero foi relatado parasitando aves silvestres no Brasil recentemente em Minas Gerais (TOLESANO-PASCOLI et al., 2014), sendo que na ocasião o espécime não foi identificado em nível específico, pois estava danificado; em trabalho posterior foram coletados espécimes, identificados através de técnicas moleculares, de *Ornithodoros mimon* em aves silvestres no Mato Grosso do Sul (RAMOS et al., 2015). Esta espécie na fase adulta parasita preferencialmente mamíferos da ordem Chiroptera

(BARROS-BATTESTI et al., 2006) e nas fases imaturas tem sido relatado em pequenos mamíferos da ordem Rodentia e Didelphimorphia (SPONCHIADO et al., 2015). O parasitismo de humanos por *O. mimon* já foi relatado, sendo um carrapato agressivo, com intensa resposta inflamatória no local da picada e dor para o hospedeiro (BARROS-BATTESTI et al., 2011; LANDULFO et al., 2012; LABRUNA et al., 2014).

2.3 *Rickettsia* spp. Encontradas em Carrapatos

Rickettsia spp. são bactérias pertencentes à família Rickettsiaceae, ordem Rickettsiales. De acordo com o banco de dados “List of prokaryotic names with standing in nomenclature” (LPSN) <http://www.bacterio.net/rickettsia.html>, consultado em março de 2017, existem 29 espécies de *Rickettsia*. Este gênero era dividido em dois grandes grupos: grupo da febre maculosa (GFM) com espécies transmitidas por carrapatos, pulgas e ácaros, e o grupo tifo (GT) com espécies transmitidas por pulgas e piolhos (AZAD & BEARD, 1998). Mais recentemente o grupo foi reorganizado com uso de ferramentas moleculares e análise multigênica em cinco grupos: grupo Bellii (*Rickettsia bellii*), grupo canadensis (*Rickettsia canadensis* e *Rickettsia tarasevichiae*), GT (*Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*), grupo de transição (*Rickettsia australis* e *Rickettsia akari*) e o GFM (que inclui mais de 20 espécies) (WEINERT et al., 2009; MERHEJ & RAOULT, 2011).

O GFM inclui o agente da riquetsiose humana, *R. rickettsii*, que causa o mais severo quadro de febre maculosa no mundo, denominada Febre Maculosa das Montanhas Rochosas nos Estados Unidos, Febre Maculosa Brasileira no Brasil e Fiebre Manchada em outros países da América Latina (LABRUNA & MACHADO, 2006; SZABÓ, 2013a). Esse grupo inclui também espécies com patogenicidade indefinida para humanos como *R. amblyommatis*, *R. parkeri* e *R. rhipicephalii* (PAROLA et al., 2005; LABRUNA et al., 2011; PAROLA et al., 2013). Através do avanço das ferramentas para identificação de agentes patogênicos transmitidos ao homem, novas espécies e novas cepas de *Rickettsia* tem sido identificadas. .

Os carrapatos estão entre os maiores transmissores de agentes patogênicos para animais, e as bactérias do gênero *Rickettsia* são caracterizadas como a mais antiga zoonose transmitida pelos carrapatos (PAROLA et al., 2005). A febre maculosa está incluída na lista de doenças negligenciadas da Academia Brasileira de Ciências (SOUZA, 2010), sendo que no Brasil de 2005 a 2010 foram registrados 75 óbitos por *Rickettsia*, dos quais 15 foram casos relatados no estado de Minas Gerais (ARAÚJO et al., 2015). Entre 2008 e novembro de 2016 foram registrados 46 óbitos por febre maculosa em Minas Gerais (SES-MG, 2016).

Em setembro de 2016, em Belo Horizonte, capital do Estado de Minas Gerais, uma criança de 10 anos faleceu devido à febre maculosa, fato que levantou novamente a discussão sobre a presença de capivaras próximas a locais de circulação de pessoas. Estes roedores podem ser considerados hospedeiros amplificadores da bactéria *R. rickettsii* (SOUZA et al., 2009) e são frequentemente parasitados pelo carrapato *Amblyomma sculptum*, pertencente ao complexo *A. cajennense*, que pode parasitar humanos por não ser tão específico na escolha do hospedeiro. No referido caso em MG, a criança esteve no Parque Ecológico Promotor Francisco Lins do Rego, na orla da Lagoa Pampulha. O Parque recebe visita da população constantemente por abrigar belo conjunto arquitetônico e em Julho de 2016, recebeu da Organização da Nações Unidas o título de Patrimônio Cultural da Humanidade, motivo para maior atração de público.

No Brasil as espécies de carrapatos mais competentes do ponto de vista vetorial de *R. rickettsii* são: *A. sculptum* e *A. aureolatum* (LABRUNA, 2009). Espécies de *Rickettsia* têm sido relatadas em carrapatos coletados de aves silvestres em investigações realizadas no Brasil, por exemplo, *R. parkeri* em *A. parkeri*, *R. amblyommatis* em *A. longirostre* (PACHECO et al., 2012), *Rickettsia parkeri*-like em *A. calcaratum* (OGRZEWALSKA et al., 2013) e *A.*

nodosum, e também ‘*Candidatus Rickettsia andenae*’ e *R. amblyommatis* em *A. parvum* (LUGARNI et al., 2015), além de *Rickettsia bellii*, que não pertence ao GFM, em *A. nodosum* (OGRZEWALSKA et al., 2009b) e em *A. auricularium* (LUGARNI et al., 2015).

Não há relatos de *Rickettsia rickettsii*, o agente etiológico da febre maculosa brasileira (FMB), em carrapatos coletados de aves, sendo somente relatado em espécies do complexo *A. cajennense* e em *A. aureolatum* (PAROLA et al., 2013), espécies estas que já foram encontradas associadas à aves no Brasil (OGRZEWALSKA & PINTER, 2016).

2.3.1 *Rickettsia* spp. detectadas em carrapatos parasitando aves silvestres no Brasil

Existem diversos relatos de parasitismo de carrapatos em aves silvestres infectados com *Rickettsia* no País, sendo que o primeiro trabalho a evidenciar essa relação foi publicado em 2008. Alguns exemplos são as espécies ou cepas estreitamente relacionadas à *Rickettsia amblyommatis*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia parkeri* e “*Candidatus Rickettsia andenae*” (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2011, 2009, 2013; PACHECO et al., 2012; LUGARINI et al., 2015; RAMOS et al., 2015; OGRZEWALSKA & PINTER 2016).

Rickettsia amblyommatis, anteriormente *Rickettsia amblyommii* e “*Candidatus Rickettsia amblyommii*” (KARPATHY, et al., 2016), possui patogenicidade indeterminada (Parola et al., 2013) e foi isolada pela primeira vez de *Amblyomma americanum* (Linnaeus, 1758) em 1974 nos Estados Unidos (BURGDORFER et al., 1981). Foi detectada pela primeira vez no Brasil em *A. cajennense* e *A. coelebs* coletados no ambiente no estado de Rondônia (LABRUNA et al., 2004a).

Carrapatos infectados com esta bactéria parasitando aves foram relatados pela primeira vez no País no Estado de São Paulo em *A. longirostre* parasitando *Conopophaga lineata* (OGRZEWALSKA et al., 2008). No Brasil as espécies de carrapatos infectados com *R. amblyommatis* encontrados parasitando aves são: *A. auricularium*, parasitando *Troglodytes musculus* e *Lanio pileatus* relatado por Lugarini et al. (2015); *A. geayi* relatado no trabalho de Ogrzewalska et al. 2010; *A. nodosum* parasitando *Thamnophilus doliatus* e *Herpsilochmus longirostris* relatado por Ogrzewalska & Pinter (2016); *A. varium* parasitando *Elaenia flavogaster* e *Thamnophilus* sp. relatado por Ogrzewalska & Pinter (2016) e *A. parvum* parasitando *Lanio pileatus* de acordo com Lugarini et al. (2015), sendo que o maior número de registros é em *A. longirostre* nos trabalhos de Ogrzewalska et al. (2008, 2010, 2011), Pacheco et al. (2012), parasitando *Neopelma pallescens*, *Chiroxiphia pareola*, *Myiothlypis flaveola*, *Tachyphonus rufus* relatados no trabalho de Lugarini et al. (2015) e parasitando *Piranga flava*, *Chloroceryle aenea* e *Tangara sayaca* no trabalho de Ramos et al. (2015). Em alguns trabalhos não é possível verificar a espécie de ave na qual foi identificado carrapato infectado com *Rickettsia*, ficando o registro da espécie de carrapato com a espécie de *Rickettsia* encontrado parasitando aves em determinada localidade. Isso ocorre não só para *R. amblyommatis*, mas também para outras espécies que serão abordadas na presente revisão.

Rickettsia bellii é uma espécie que durante muito tempo foi considerada não patogênica, até que pesquisadores realizaram uma infecção experimental e teve como resultado reação inflamatória e escaras no hospedeiro (OGATA et al., 2006), sendo considerada a partir de então de patogenicidade indeterminada (PAROLA et al., 2013). No Brasil há relatos de *R. bellii* em várias espécies de carrapatos como por exemplo *Amblyomma ovale*, *Amblyomma scalpturatum*, *Amblyomma oblongoguttatum* (LABRUNA et al. 2004a), *Haemaphysalis juxtakochi* (LABRUNA et al., 2007b) e *A. aureolatum* (PINTER & LABRUNA, 2006; MORAES-FILHO et al., 2009). Evidências sorológicas de contato de capivaras com *R. bellii* foram verificadas por Pacheco et al. (2007) no Estado de São Paulo, sendo que amostras deste estudo apresentaram positividade para *R. parkeri*. As espécies de carrapatos relatadas infectadas com *R. bellii* parasitando aves são: *A. auricularium*

parasitando *Lanio pileatus* de acordo com Lugarini et al. (2015) e *Amblyomma nodosum* parasitando *Thamnophilus caeruleus*, *Thamnophilus pelzeni*, *Conopophaga lineata* e *Platyrinchus mistaceus* de acordo com Ogrzewalska et al. (2009).

Já a espécie *R. parkeri* foi identificada em *Amblyomma maculatum* em 1939, nos Estados Unidos e sua patogenicidade só foi comprovada após 65 anos de sua descoberta (PADDOCK et al., 2004). Grande parte das *Rickettsias* patogênicas foram inicialmente identificadas em artrópodes e anos depois em amostras de humanos (MERHEJ et al., 2014). *Rickettsia parkeri* é considerada patogênica nos Estados Unidos e, quando acomete humanos, apresenta sintomas mais brandos que a *R. rickettsii* (PADDOCK et al., 2004), além de, frequentemente apresentar uma erupção cutânea no local da picada do carrapato (PADDOCK et al., 2004). No Brasil foram publicados três trabalhos com relatos de caso de riquetsiose humana devido à infecção por *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, geneticamente relacionada à *R. parkeri*, *R. africae*, *R. sibirica*, todos eles com relatos de erupção cutânea e diagnóstico através de sorologia do paciente e análise molecular de amostra de pele retirada do local da picada do carrapato: Spolidorio et al. (2010) relataram o primeiro caso de riquetsiose em paciente no sudeste do Brasil, Silva et al. (2011) relataram caso na Bahia (cepa Bahia = cepa Mata Atlântica), e Krawczak et al. (2016b) relataram caso em Blumenau, Estado de Santa Catarina.

Quando uma bactéria é detectada em carrapatos com tendência natural de parasitar humanos, como é o caso de alguns carrapatos os quais já foram relatados positivos para a presença de *R. parkeri* no Brasil, como *A. aureolatum* e *A. ovale* (SZABÓ et al., 2013b, BARBIERI et al., 2014), existe motivo para preocupação pois pode existir uma relação estabelecida entre hospedeiro e ectoparasito, aumentando as chances de transmissão de agentes patogênicos. Assim, existe a possibilidade de algumas das muitas riquetsias endossimbiontes serem patogênicas sob certas circunstâncias, porém isso só poderá ser comprovado após seus isolamentos em doentes (RAOULT & PAROLA, 2007).

O primeiro relato de *R. parkeri* no Brasil foi publicado por Labruna et al. (2004b), os quais detectaram uma riquetsia molecularmente muito próxima à *R. parkeri*, *Rickettsia africae* e *Rickettsia sibirica*, na época denominada de cepa COOPERI, do grupo febre maculosa em *A. dubitatum* (= *Amblyomma cooperi*). No decorrer dos anos foram sendo identificadas diferentes espécies de carrapatos infectadas com cepas de *R. parkeri*: *R. parkeri* em *Amblyomma triste* (SILVEIRA et al., 2007); *Rickettsia* cepa Mata Atlântica em *R. sanguineus*, *A. ovale* (SABATINI et al., 2010) e *A. aureolatum* (MEDEIROS et al., 2011); *Rickettsia* spp. cepa CG (grupo canadense) segregado do mesmo cluster de *R. parkeri* cepa COOPERI em *A. nodosum* (ALMEIDA et al., 2013); *R. parkeri* cepa ApPR (similar à *R. africae*, *R. sibirica* e *R. parkeri*) em *A. parkeri* (PACHECO et al., 2012); *R. parkeri* cepa NOD em *A. longirostre* (PACHECO et al., 2012), *A. nodosum* (OGRZEWALSKA et al., 2009b, 2011a) e *A. calcaratum* (OGRZEWALSKA et al., 2013). As três últimas espécies de carrapatos citadas infectadas com *R. parkeri* cepa NOD foram coletadas de aves silvestres. Estes trabalhos com carrapatos oriundos do ambiente e de diferentes animais indicam a circulação das cepas de *R. parkeri* e refletem sua presença em diversas regiões do Brasil.

As espécies de carrapatos relatadas infectadas com *R. parkeri* parasitando aves são: *A. nodosum* parasitando *Thamnophilus caeruleus*, *Arremon flavirostris*, *Conopophaga lineata*, *Myiothlypis flaveola*, *Casinornis rufus*, *Thamnophilus pelzelni* de acordo com Ogrzewalska et al. (2009), *Tangara cayanna* de acordo com Ramos et al. (2015) e *Thamnophilus pelzelni* de acordo com Lugarini et al. (2015); *A. longirostre* de acordo com Pacheco et al. (2012); *A. calcaratum* parasitando *Ramphocelus carbo* relatado por Ogrzewalska et al. (2013) e *A. parkeri* parasitando *Chiroxiphia caudata* de acordo com Pacheco et al. (2012).

Alguns estudos no País abordam testes sorológicos positivos para *R. parkeri*, por exemplo: Labruna et al. (2007a) relataram cães de área rural e urbana de Rondônia com soros homólogos à *R. parkeri*, podendo servir como sentinelas para riquetsioses humanas; Pacheco et al. (2007) relataram soros homólogos à *R. parkeri* em 34% das capivaras avaliadas em São Paulo; e Horta et al. (2007) evidenciaram homologia em cavalo, gambás e cão, também em São Paulo. A distribuição desta riquetsia aumentou no País com relatos de infecção por *R. parkeri* em cães no Rio Grande do Sul (SAITO et al., 2008) e soropositividade no norte do Paraná em equídeos (OTOMURA et al., 2010; TOLEDO et al., 2011), seres humanos e cães (TOLEDO et al., 2011; TAMEKUNI et al., 2011). Além disso, no Pantanal, Widmer et al. (2011) relataram um jaguar soropositivo para *R. parkeri*, assim como o carrapato *A. triste* coletado neste felino; destacaram ainda o risco para saúde humana e animal com relação ao turismo no local.

No Estado do Rio Grande do Sul, *R. parkeri* foi detectada em *A. ovale* coletados de cães e na vegetação e *R. amblyommatis* foi detectada em larvas de *A. longirostre* coletados na vegetação, além disso cães, gambás e roedores da região estavam positivos para sorologia de *R. amblyommii*, porém o resultado mostrou que estas sorologias foram positivas também para *R. parkeri* e com títulos bem superiores, o que evidenciou que estes anticorpos foram estimulados por esta espécie de bactéria, ou seja houve uma reação cruzada (KRAWCZAK et al., 2016a). A técnica sorológica de imunofluorescência indireta é considerada de referência para diagnóstico laboratorial das espécies de *Rickettsia* devido ao custo e tempo para resposta, porém com a expansão destes agentes relatados como patogênicos ou com patogenicidade indeterminada, estudos deverão ser conduzidos para que seja possível identificar através deste protocolo a espécie que infecta o organismo, ou será necessário maior tempo e recurso financeiro para que o diagnóstico seja conduzido através de outras técnicas como moleculares, isolamento ou histopatológico. Pornwiroon et al. (2016) identificaram cinco proteínas imunoreativas, como potenciais biomarcadores, expressas por *R. parkeri* que não foram expressas por *R. amblyommatis*, contudo mais estudos são necessários para definir a especificidade destas proteínas para diferenciação das espécies de *Rickettsia*.

“*Candidatus Rickettsia andenae*”, a última espécie que já foi relatada em carrapatos parasitando aves no Brasil, tem potencial patogênico desconhecido. O primeiro relato dela no País foi em *Amblyomma parvum* coletados no Pantanal e no Cerrado (NIERI-BASTOS et al., 2014), seguido por relato em *Amblyomma sculptum* também no Cerrado (WITTER et al., 2015). As espécies de carrapatos relatadas infectadas por “*Candidatus Rickettsia andenae*” parasitando aves são: *A. parvum* parasitando *Myiarchus tyrannulus* e *Turdus amaurochalinus* e *A. auricularium* parasitando *Turdus amaurochalinus*, sendo todos registros realizados por Lugarini et al. (2015).

Embora as investigações sobre a relação aves/carrapatos/patógenos estejam sendo realizadas em várias regiões do Brasil (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2011b, 2012; MARTINS et al., 2014; LUGARINI et al., 2015; RAMOS et al., 2015, OGRZEWALSKA & PINTER, 2016), ao ser considerada as dimensões quase continentais do País, juntamente com a gama de biomas e ecótopos existentes, é evidente que o nosso conhecimento sobre esta associação está longe de ser completo. O presente trabalho teve como objetivo realizar o primeiro inquérito de associações entre riquetsias e carrapatos em aves em um fragmento remanescente de Mata Atlântica semi-decídua inserido em região urbana densamente povoada na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de Estudo

O estudo foi realizado no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), caracterizado como fragmento de Mata Atlântica, inserido em uma área urbana densamente povoada de Juiz de Fora, no estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil (S 21 ° 43" 40.03", W 43 ° 22" 47.36") (Figura 1). A área tem 84,5 hectares (ha) e é parte da Mata do Krambeck, um fragmento contíguo de 292,89 ha legalmente classificado como área de proteção ambiental (IEF-MG, 2015) e caracterizado como remanescente de floresta semi-decídua (SOSMA & INPE, 2015). É uma floresta em regeneração tendo passado por cortes de vegetação nativa e plantio de café. A área contém variedade de espécies de insetos, grande diversidade de plantas e também é considerado refúgio para a vida selvagem local (MACIEL & BARBOSA, 2015). Apresenta cursos d'água, nascentes, lagoas e faz fronteira com o Rio Paraibuna (D'AGOSTO, 2011) o que facilita o trânsito, por exemplo, de capivaras que vivem na beira do Rio e podem se refugiar nas águas do Jardim Botânico. O clima da região é tropical de altitude do tipo Cwa segundo a Classificação de Köppen (1970), onde do mês de abril ao mês de agosto é caracterizado como estação fria e seca e de setembro a março é caracterizado como estação chuvosa, com verão brando ou moderadamente quente e úmido. O município apresenta altitude de 715 metros.

A importância do Jardim Botânico para a região é a preservação de espécies nativas de fauna e flora, para que o prejuízo à natureza seja estagnado, ainda que seja o Jardim aberto para fins de pesquisa e algumas áreas abertas à visitação, o local tende a se tornar um patrimônio cultural e natural do município (D'AGOSTO, 2011).

3.2 Captura dos Hospedeiros e Coleta dos Carrapatos

Quatro expedições de campo durante Julho e Agosto de 2014, e Julho e Agosto de 2015, cada uma com duração de cinco dias, foram realizadas com autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO, protocolo número 29268/ANO). Foram utilizadas 10 redes de neblina (12m de comprimento x 3m de largura, malha de 16 mm) que ficaram abertas entre 06h e 16h, sendo as vistorias realizadas a cada 20-30 minutos.



Figura 1. Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora cercado por área densamente urbanizada, localizado na cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, onde foram capturadas as aves e coletados os carrapatos. A área circulada no fragmento florestal indica os limites do Jardim Botânico e o ponto branco indica o local de captura.

As aves capturadas foram colocadas em sacos de pano para que pudessem ser pesadas (foram utilizadas Pesola® de 60, 100 e 300gr,) e em seguida medidas com régua ornitológica (Avinet®), fotografadas e identificadas de acordo com Sigrist (2014), com nomenclatura baseada em Piacentini et al. (2015).

As aves foram examinadas para verificar a presença de carrapatos; quando presentes, eles foram removidos utilizando pinça e colocados individualmente em tubos de 1,5 ml com tampa de rosca contendo 250µl de RNAlater® (Ambion). As aves foram marcadas para identificar possíveis recapturas, pintando as unhas com tinta atóxica (Acrilex®) e liberadas.

3.3. Identificação Morfológica dos Carrapatos

Os carrapatos coletados foram levados ao Laboratório de Artrópodes Parasitos da UFJF e/ou Laboratório de Bioimagens da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) e identificados em microscópio estereoscópico (Olympus SZX7). A base do capítulo foi considerada como característica diferencial para identificação em nível de gênero de larvas seguindo a caracterização proposta na chave de larvas proposta por Clifford et al. (1961), e as ninfas do gênero *Amblyomma* foram identificadas com a utilização da chave de Martins et al. (2010). Após a identificação foram armazenados congelados (-20°C) em RNAlater® até o momento da extração do DNA. Prevalência, intensidade média e abundância das infestações foram calculadas seguindo as recomendações de Bush et al. (1997).

3.4. Análise Molecular

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular da UFRRJ. O DNA total foi extraído a partir de amostras individuais de carrapatos utilizando o método das perólas de vidro/fenol:clorofórmio relatado por Santolin et al. (2013). Em cada bateria de extração foi acrescentado um controle negativo, no caso um espécime de *Cotesia flavipes* (Cameron, 1891) (Hymenoptera: Braconidae), por não gerarem amplicons para o gene alvo, validando assim que a bateria não tenha sofrido contaminação.

A identificação molecular dos carrapatos, em nível de espécie, foi realizada por amplificação de PCR e sequenciamento de fragmento mitocondrial de 460 pares de bases (pb) que codifica o gene 16S rRNA utilizando os métodos descritos por Mangold et al. (1998), e de um fragmento de gene de 380pb que codifica o gene mitocondrial 12S rRNA (BEATI et al., 2012).

Para investigar a presença de *Rickettsia*, as amostras de DNA foram analisadas inicialmente por PCR utilizando os iniciadores CS-239 e CS-1069, que amplificam um fragmento de 834 pb do gene *gltA* de todas as espécies de *Rickettsia* e os iniciadores 17k-5 e 17k-3, que amplificam um fragmento de 549-pb do gene riquetsial *htrA* (LABRUNA et al., 2004c). As amostras que foram positivas para estes dois ensaios foram ainda testadas por protocolos de PCR adicionais, a fim de proceder a caracterização genética da *Rickettsia*. Para os protocolos adicionais foram utilizados os iniciadores Rr190.70p e Rr190.602n, que amplificam um fragmento de 532 pb do gene riquetsial *ompA* (REGNERY et al., 1991), e os iniciadores 120-M59 e 120-807, que amplificam um fragmento de 865 pb do gene riquetsial *ompB* (ROUX & RAOULT, 2000).

Em todos os casos, o mix para PCR (25µl) conteve tampão de 2,5µL polimerase Platinum Taq DNA (Life Technologies, Brasil), 2,5mM MgCl₂, 200µM de dNTPs, 20 pmoles de cada iniciador, 0,5 unidades de polimerase Platinum Taq DNA e 2µl de DNA. Todas as amostras foram inicialmente aquecidas a 95°C durante 5 minutos para desnaturar o molde e ativar a polimerase, seguido por 40 ciclos repetidos de desnaturação a 95° C durante 20 seg, anelamento a 52° C durante 20 seg e extensão a 72° C durante 25seg, seguido por uma

extensão final a 72° C durante cinco minutos. Um total de 12,5µL de cada produto de PCR foram analisados por electroforese em gel (agarose 1,5%), com confirmação dos tamanhos dos amplicons obtidos através de comparação com um DNA marcador de peso molecular (DNA Ladder Gene Ruler 100 pb, produto # SM024, Thermo Scientific).

3.5. PCR - Polimorfismos de Fragmentos de Restrição

Após a identificação das amostras positivas para *ompB*, a técnica PCR - polimorfismos de fragmentos de restrição (PCR-RFLP) relatada por Santolin et al. (2013) foi utilizada como método de triagem preliminar das espécies de *Rickettsia*. Alíquotas (5 µL) do fragmento amplificado, que foram positivos para a análise inicial da reação de PCR de *ompB*, foram digeridos com enzimas de restrição *RsaI* e *MspI* e os padrões de bandas resultantes foram analisados utilizando géis poliacrilamida (Santolin et al., 2013). Os amplicons de controle positivo foram produzidos a partir de DNA extraído das seguintes espécies de *Rickettsia* do GFM: *R. amblyommatis* ("Candidatus *R. amblyommii*" AC37), *Rickettsia felis* (estirpe Pedreira), *R. parkeri* (estirpe Mata Atlântica- A010), *R. rickettsii* (estirpe Taiacu) e *R. rhipicephali* (estirpe HJ#5). Todas estas amostras foram gentilmente cedidas pelo Dr. Marcelo B. Labruna do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo. Amplicons para controle negativo foram adicionados à bateria sem a presença das enzimas.

3.6. Sequenciamento de Nucleotídeos

Para identificação molecular de todos os carrapatos foi realizado sequenciamento dos genes 16S rRNA e 12S rRNA. E para investigação da presença de *Rickettsia* todas as amostras positivas para o gene *ompB* foram sequenciadas e algumas amostras destas foram selecionadas para sequenciamento dos demais genes riquetsiais utilizados no presente estudo *gltA*, *htrA* e *ompA*.

O sequenciamento dos nucleotídeos foi realizado utilizando 10µl de produtos de PCR que foram tratados com *ExoProStar* (GE Healthcare), de acordo com o protocolo do fabricante e sequenciados em ambas direções, utilizando os iniciadores de amplificação através do *BigDye Ready Reaction mix* (ABI Corp); os produtos da reação foram analisados em analisador genético automático 3500 (ABI Corp). As sequências obtidas foram comparadas utilizando o programa *Sequencher* (Versão 5.1, Gene Codes Corporation) e foram inseridas no algoritmo de pesquisa BLAST (ALTSCHUL et al., 1990) e a base de dados de nucleótidos NCBI a fim de determinar a identidade do gene.

4. RESULTADOS

Um total de 260 aves representando quatro ordens (Apodiformes, Piciformes, Psittaciformes e Passeriformes), 18 famílias (Cardinalidae, Conopophagidae, Dendrocolaptidae, Furnariidae, Parulidae, Passerellidae, Picidae, Pipridae, Platyrinchidae, Psittacidae, Rhynchocylidae, Thamnophilidae, Thraupidae, Trochilidae, Troglodytidae, Turdidae, Tyrannidae e Vireonidae) e 52 espécies foi capturado. A ordem Passeriformes, com 15 famílias (83,3%) e 44 espécies (86,2%), foi a mais representativa (Figura 2), e as espécies mais frequentes foram *Tachyphonus coronatus* e *Basileuterus culicivorus* com 26 indivíduos capturados de cada (Figura 3). Carrapatos (169 larvas e 22 ninfas) foram coletados de 69 (26,5%) aves todas pertencentes à ordem Passeriformes, exemplares de 13 famílias (72,2%) (Tabela 1).



Figura 2. Passeriformes coletados no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Seta vermelha indica presença de carrapatos. A- *Lanio melanops*, B- *Platyrinchus mystaceus*, C- *Sittasomus griseicapillus*, D- *Tachyphonus coronatus*, E- *Troglodytes musculus* e F- *Turdus rufiventris*.

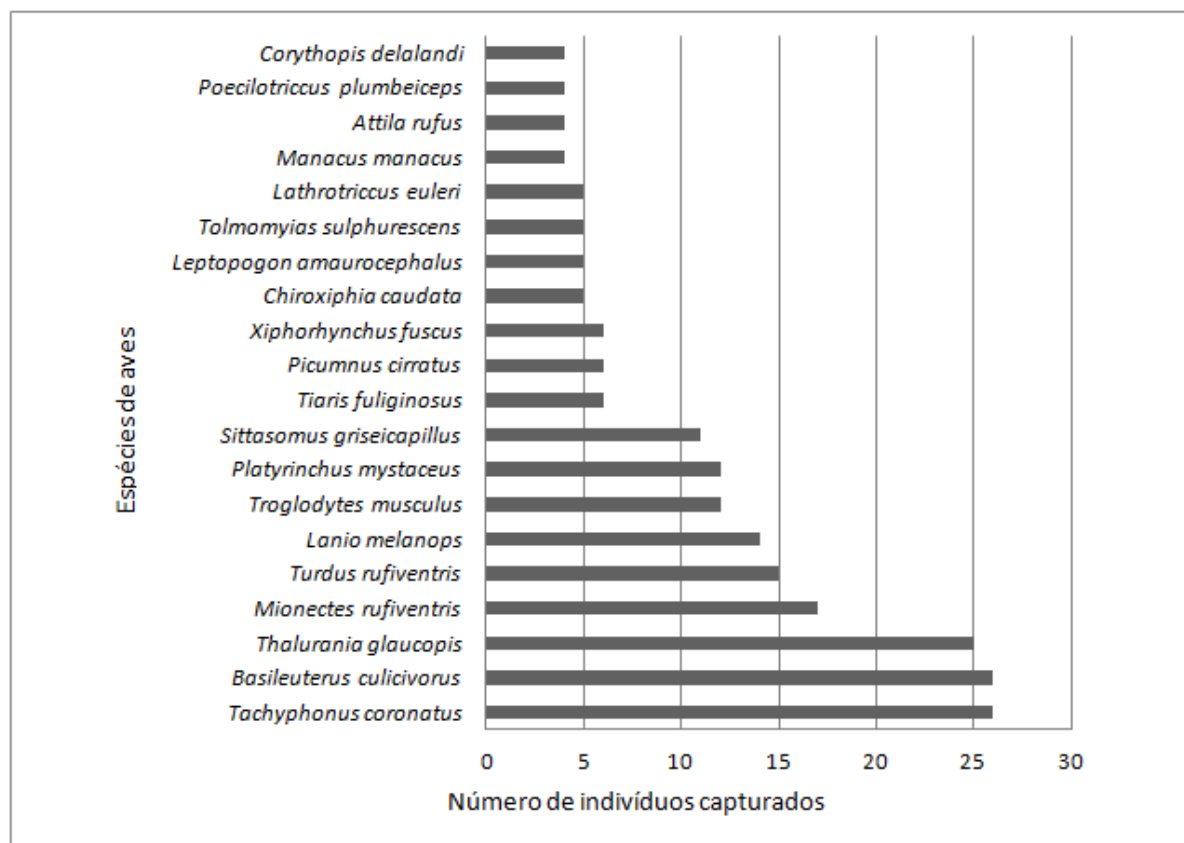


Figura 3. Número de indivíduos capturados das vinte espécies de aves mais frequentes no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil.

Nenhum carrapato foi encontrado nas seguintes espécies de aves (número de indivíduos entre parênteses): *Camptostoma obsoletum* (Temminck, 1824) (2), *Chiroxiphia caudata* (Shaw and Nodder, 1793) (5), *Cranioleuca pallida* (Wied, 1831) (3), *Dacnis cayana* (Linnaeus, 1766) (1), *Eupetomena macroura* (Gmelin, 1788) (1), *Florisuga fusca* (Vieillot, 1817) (1), *Furnarius figulus* (Lichtenstein, 1823) (2), *Hylophilus poicilotis* Temminck, 1822 (1), *Lathrotriccus euleri* (Cabanis, 1868) (5), *Lepidocolaptes squamatus* (Lichtenstein, 1822) (2), *Manacus manacus* (Linnaeus, 1766) (4), *Phaethornis pretrei* (Lesson and Delattre, 1839) (2), *Picumnus cirratus* Temminck, 1825 (6), *Pipraeidea melanonota* (Vieillot, 1819) (1), *Psittacara leucophthalmus* (Statius Muller, 1776) (1), *Serpophaga subcristata* (Vieillot, 1817) (1), *Sicalis flaveola* (Linnaeus, 1766) (1), *Sporophila caerulescens* (Vieillot, 1823) (1), *Synallaxis albescens* Temminck, 1823 (1), *Synallaxis spixi* Sclater, 1856 (2), *Tangara cyanoventris* (Vieillot, 1819) (3), *Tangara sayaca* (Linnaeus, 1766) (1), *Thalurania glaucopis* (Gmelin, 1788) (25), *Thamnophilus caerulescens* Vieillot, 1816 (2), *Todirostrum poliocephalum* (Wied, 1831) (1), *Tolmomyias sulphurescens* (Spix, 1825) (5), *Turdus leucomelas* Vieillot, 1818 (2), *Veniliornis maculifrons* (Spix, 1824) (1), *Volatinia jacarina* (Linnaeus, 1766) (2) and *Xiphocolaptes albicollis* (Vieillot, 1818) (1).

Tabela 1. Distribuição de espécies de carrapatos parasitando aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora e a presença de *Rickettsia* spp. I/C número de infestado/capturado (prevalência %), IM: intensidade média, A: abundância, LL: larva, NN: ninfa. Aca: *Amblyomma calcaratum*, Alo: *Amblyomma longirostre*, Ano: *Amblyomma nodosum*, Apa: *Amblyomma parkeri*, ANa: *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Hle: *Haemaphysalis leporispalustris*. *Espécies de aves relatadas com ao menos um espécime com mais de uma espécie de carrapato. ●Espécies de aves que continham algum carrapato positivo para *Rickettsia*.

Aves		I/C (%)	IM	A	Carrapatos		
Família	Espécies				Espécies	LL	NN
Cardinalidae							
	<i>Cyanoloxia brissonii</i> *● (Lichtenstein, 1823)	1/1 (100)	2	2	Alo ANa	1 1	1
Conopophagidae							
	<i>Conopophaga lineata</i> *● (Wied, 1831)	1/1 (100)	2	2	Aca ANa	1 1	1
Dendrocolaptidae							
	<i>Sittasomus griseicapillus</i> ● (Vieillot, 1818)	7/11 (63,6)	3	21	Alo Apa ANa	16 1 4	
	<i>Xiphorhynchus fuscus</i> ● (Vieillot, 1818)	4/6 (66,6)	2	8	Alo ANa	2 6	
Furnariidae							
	<i>Synallaxis ruficapilla</i> Vieillot, 1819	1/2 (50)	1	1	Alo	1	
Parulidae							
	<i>Basileuterus culicivorus</i> ● (Deppe, 1830)	2/26 (7,7)	1	2	Alo ANa	1 1	
Passerellidae							
	<i>Arremon semitorquatus</i> Swainson, 1838	3/3 (100)	2	6	Hle	5	1
Platyrrhynchidae							
	<i>Platyrrhynchus mystaceus</i> ● Vieillot, 1818	4/12 (33,3)	3,25	13	Aca Alo ANa	2 5 6	
Rhynchocyclidae							
	<i>Leptopogon amaurocephalus</i> *● Tschudi, 1846	1/5 (20)	2	2	Alo ANa	1 1	
	<i>Corythopsis delalandi</i> (Lesson, 1830)	1/6 (16,6)	1	1	Hle	1	
	<i>Mionectes rufiventris</i> ● Cabanis, 1846	2/17 (11,7)	1,5	3	Alo	3	

Tabela 1. (Continuação)

Aves		Carrapatos					
Família	Espécies	I/C (%)	IM	A	Espécies	LL	NN
Rhynchocyclidae							
	<i>Poecilotriccus plumbeiceps</i> (Lafresnaye, 1846)	1/4 (25)	1	1	Aca	1	
Thamnophilidae							
	<i>Pyriglena leucoptera</i> *● (Vieillot, 1818)	1/1(100)	2	2	Aca ANa		1 1
Thraupidae							
	<i>Lanio melanops</i> *● (Vieillot,1818)	10/14 (71,4)	4,7	47	Aca Alo Ano Apa ANa Hle	1 5 16 12 7	5 1
	<i>Tachyphonus coronatus</i> *● (Vieillot,1822)	15/26 (57,6)	2,8	42	Aca Alo ANa		5 2 27
	<i>Coereba flaveola</i> ● (Linnaeus, 1758)	1/1 (100)	1	1	Alo	1	
	<i>Tiaris fuliginosus</i> (Wied, 1830)	2/6 (33,3)	1	2	Aca Apa		1 1
Troglodytidae							
	<i>Troglodytes musculus</i> * Naumann, 1823	4/12 (33,3)	2,5	10	Aca Alo Apa Hle	4 2 3 1	
Turdidae							
	<i>Turdus albicollis</i> ● Vieillot, 1818	1/1 (100)	7	7	ANa	7	
	<i>Turdus rufiventris</i> *● Vieillot, 1818	5/15 (33,3)	1,8	9	Aca Alo Ano ANa Hle		2 1 1 2 3
Tyrannidae							
	<i>Attila rufus</i> ● (Vieillot, 1819)	2/4 (50)	4,5	9	Aca ANa	1 8	
Total		69/174 (39,6)	2,7	191		169	22

Larvas foram identificadas morfológicamente como dos gêneros *Amblyomma* (n=152) e *Haemaphysalis* (n=17). Com relação às ninfas, em alguns casos não foi possível identificá-las morfológicamente em nível específico, devido a danos no momento da retirada do

hospedeiro, como por exemplo, hipostômio rompido, portanto a identificação morfológica das 22 ninfas coletadas foi: *Amblyomma* sp. (n=7), *A. longirostre* (n=3), *A. calcaratum/nodosum* (n=11) e *Haemaphysalis* sp. (n=1). A identificação definitiva de todos os carrapatos foi realizada pelo sequenciamento dos fragmentos 16S e 12S rDNA, sendo encontrados: *A. calcaratum* (9 LL e 15 NN), *A. longirostre* (45 LL e 4 NN), *A. nodosum* (2 NN), *A. parkeri* (21 LL), *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (77 LL) e *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) (17 LL e 1NN) (Figura 4).

Nas amostras de *A. calcaratum*, foram identificados três haplótipos através dos fragmentos de 16S rDNA, haplótipos 1 e 2 que mostraram 100% (403/403 bases) e 99% (401/403 bases) de similaridade de nucleótidos com sequência derivada de carrapatos coletados de aves no sul do Brasil (número de acesso no GenBank JN573302), e haplótipo 3 que apresentou 98% de similaridade de nucleotídeos (397/405 bases) com a sequência JN573302 e 100% de similaridade com a sequência KF179346, depositada no GenBank como *A. calcaratum* coletados de aves no Paraguai. Em contraste, os fragmentos 12S de todas as amostras de *A. calcaratum* foram idênticos e apresentaram 99% de similaridade de nucleótidos (312/315 bases) com a sequência AY342261, depositada no GenBank como *Amblyomma* sp. USNTC 119956 coletado da ave *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) no Brasil

As sequências dos fragmentos dos genes 12S e 16S de *A. longirostre* apresentaram 100% (316/316 bases) e 100% (408/408 bases) de similaridade de nucleotídeos com as sequências do GenBank EU805558 e JN800424 derivadas de *A. longirostre* coletados em aves no Brasil. As duas ninfas de *A. nodosum* foram idênticas para ambos os fragmentos 12S e 16S e mostraram 100% de similaridade de nucleotídeos com as sequências AY225321 (342/342 bases; 12S rDNA) e FJ424402 (389/389 bases; 16S rDNA), depositados no GenBank como *A. nodosum* coletado de aves no Peru e sul do Brasil, respectivamente. As sequências obtidas a partir das 21 larvas de *A. parkeri* foram idênticas e revelaram 100% de similaridade (410/410 bases) para a sequência parcial de 16S JN573300 e 100% de similaridade (314/314 bases) para a sequência parcial de 12S EU805551 depositadas no GenBank como *A. parkeri* coletados no Brasil.

O sequenciamento dos fragmentos de 16S rDNA das 77 larvas identificadas morfológicamente como *Amblyomma* sp., foram idênticos entre si e com 100% (410/410 bases) de similaridade de nucleótidos à sequência JN800432, depositada no GenBank como *Amblyomma* sp. MO-2012 (cepa Nazare B), designada como "haplótipo Nazaré", um carrapato coletado de aves silvestres no estado de São Paulo, Brasil (OGRZEWALSKA et al., 2012). O sequenciamento dos fragmentos de gene de 12S rDNA desses carrapatos não revelaram semelhança significativa com nenhuma sequência depositada no GenBank, o mais próximo foi 93% (282/303 bases) de similaridade com a sequência de 12S *A. parkeri* (EU805551) e 92% (280/303 bases) de similaridade com a sequência AY342263 depositada no GenBank como 12S rDNA parcial de espécime adulto de *Amblyomma geayi* Neumann, 1899 coletado no Brasil.

Os 18 carrapatos restantes (9,4%) caracterizados morfológicamente como *Haemaphysalis* sp. foram identificados através de análise das sequências parciais de 16S rDNA como sendo idênticas entre si, e mostraram 99,9% de similaridade (376/377 bases) com a sequência JN800434 depositada no GenBank como sequência parcial de 16S rDNA de *H. leporispalustris* cepa Mairiporã E, coletados em *L. melanops* no Brasil (OGRZEWALSKA et al., 2012). O sequenciamento do 12S revelou níveis de similaridade de nucleótidos de 99,4% (339/341 bases), com a sequência de AM410574, depositada no GenBank como 12S rDNA de *H. leporispalustris* coletado nos Estados Unidos da América (EPIS et al., 2008).

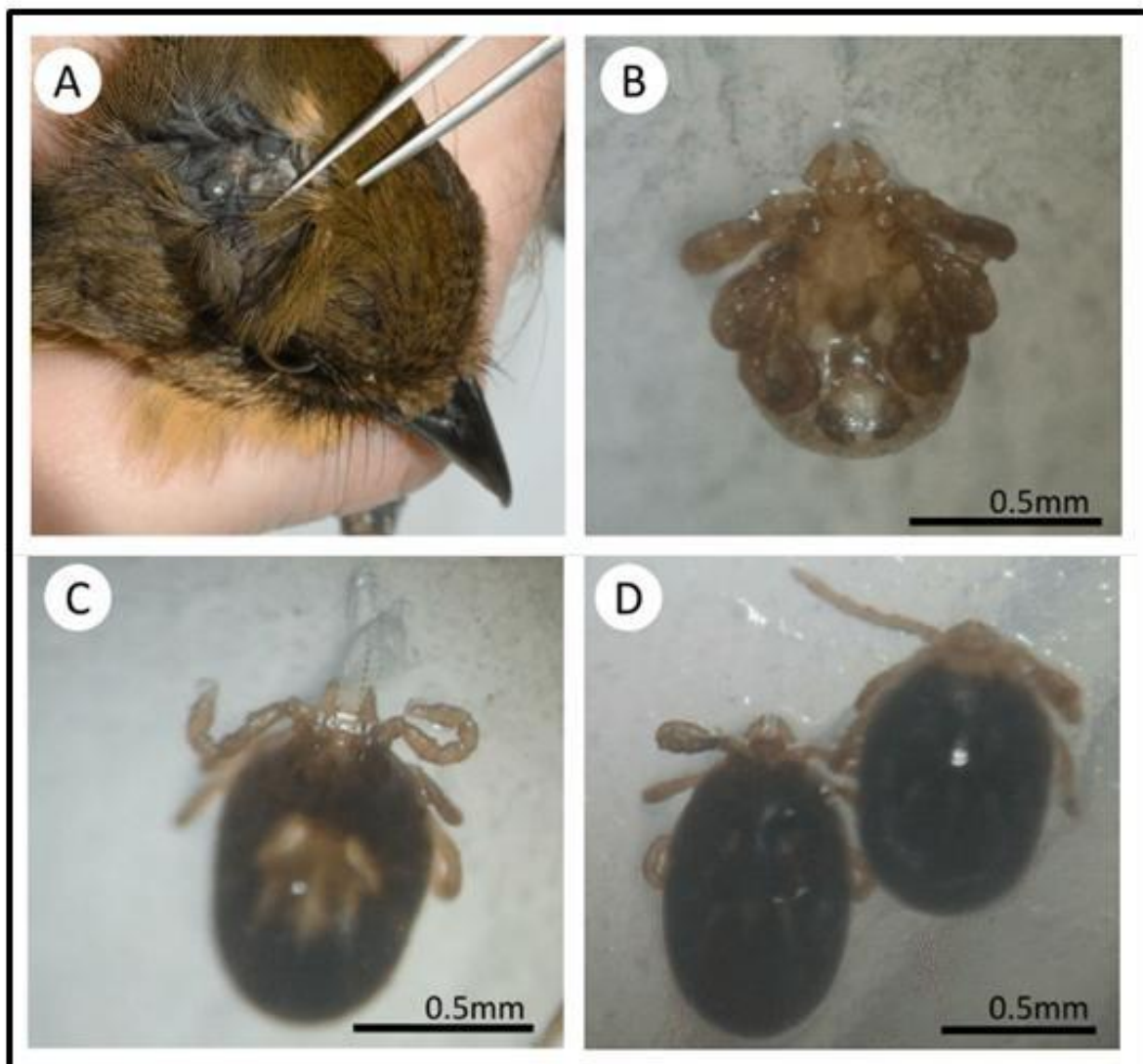


Figura 4. Carrapatos coletados em Passeriformes no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. A Carrapatos fixados na cabeça de um espécime de *Lanio melanops* (Thraupidae), B, C e D - larvas de *Haemaphysalis leporispalustris* em diferentes níveis de ingurgitamento.

Os números de acesso no GenBank para sequência de nucleotídeos para as sequências mitocondriais parciais de 16S rDNA obtidos no presente estudo são KU953951 (*A. calcaratum* haplótipo 1), KU953952 (*A. calcaratum* haplótipo 2), KU953953 (*A. calcaratum* haplótipo 3), KU953954 (*Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré) e KU096986 (*Haemaphysalis leporispalustris*). As sequências mitocondriais parciais de 12S rDNA foram depositadas no GenBank com os seguintes números de acesso KU953955 (*A. calcaratum*), KU953956 (*Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré) e KU096987 (*Haemaphysalis leporispalustris*).

Os dados sobre prevalência, intensidade média e abundância das infestações por carrapato estão descritos na Tabela 1. Observou-se que oito espécies de aves apresentaram indivíduos infestados com mais de uma espécie de carrapato, sendo que *C. brissonii*, *L. amaourocephalus*, *C. lineata*, *P. leucoptera*, e *T. rufiventris* apresentaram espécimes parasitados com duas espécies de carrapatos, *T. coronatus* e *T. musculus* apresentaram espécimes parasitados com três espécies de carrapato e um espécime de *L. melanops* estava parasitado com quatro espécies de carrapato. Além disso, das 69 aves parasitadas, 34 estavam

infestadas com carrapatos que foram subsequentemente identificados como positivos para *Rickettsia*, sendo 27 aves com carrapatos positivos para uma espécie de *Rickettsia*, seis aves com carrapatos positivos para duas espécies de *Rickettsia* e um espécime de *T. coronatus* com carrapatos positivos para três espécies de *Rickettsia* (Tabela 2).

Verificou-se ainda que houve casos onde a mesma ave estava parasitada por carrapatos da mesma espécie infectados ou não com *Rickettsia* (ex. *T. coronatus* com dois carrapatos *A. longirostre* positivos para *R. amblyommatis* e um negativo), diferentes espécies de carrapatos infectados com a mesma *Rickettsia* (ex. *L. melanops* com carrapatos *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré e *A. parkeri* positivos para *R. parkeri*), e ainda carrapatos da mesma espécie infectados com diferentes espécies de *Rickettsia* (ex. *P. mystaceus* com três exemplares de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré positivos para *R. parkeri* e três exemplares positivos para *R. rhipicephali*) (Tabela 2).

De 191 carrapatos examinados por PCR utilizando as sequências *gltA* e *htrA* como alvos, 87 (46%) produziram produtos de amplificação do tamanho esperado. Cada um destes 87 também foram positivos nos ensaios utilizando as sequências *ompA* e *ompB* como alvo. Os dados da análise da PCR-RFLP do fragmento *ompB* forneceram identificações presumíveis como *R. amblyommatis* em 13 carrapatos da espécie *A. longirostre* (10 larvas e 3 ninfas), *R. parkeri* em *A. parkeri* (1 larva) e em *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (42 larvas), e *R. rhipicephali* ou *Rickettsia massiliae* em *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (31 larvas). As identificações obtidas pela PCR-RFLP foram confirmadas e/ou aumentadas por análise das sequências. Todos os carrapatos positivos para *Rickettsia* (N=87) tiveram um fragmento do gene *ompB* sequenciado e fragmentos de todas as quatro sequências-alvo de *Rickettsia* no caso de dois espécimes de carrapatos *A. longirostre* (1LL, 1 NN) infectados com *R. amblyommatis*, um espécime de *A. parkeri* (LL) e três *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (LL) infectados com *R. parkeri* e de sete *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (LL) infectados com *R. rhipicephali*.

A análise das sequências dos produtos gerados pela amplificação do *ompB* de 13 *A. longirostre* infectados com *R. amblyommatis*, mostrou que eles foram idênticos entre si e com 100% (817/817 bases) de similaridade com a sequência parcial de *ompB* depositada de *R. amblyommatis* (KJ534313) detectada em *A. longirostre* do estado da Bahia, Brasil (MCINTOSH et al., 2015). As sequências dos amplicons de *gltA*, *htrA* e *ompA* derivadas de três destes carrapatos foram idênticas e demonstraram níveis de similaridade de 100% (480/480 bases) para *htrA*, 100% (788/788 nucleótidos) para *gltA* e 100% (487/487 bases) para *ompA* para com as sequências parciais de *R. amblyommatis*, números de acesso no GenBank KJ534311 (*htrA*), KJ534310 (*gltA*) e KJ534312 (*ompA*).

As sequências dos fragmentos de *ompB* derivados de 42 *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré e um *A. parkeri* foram consideradas, por PCR-RFLP, infectadas com *R. parkeri*, por serem idênticas entre si e mostrarem 99,9% de similaridade (713/714 bases) com a sequência JN126322 depositada no GenBank como sequência parcial de *ompB* de *Rickettsia parkeri* estirpe ApPR. Os fragmentos de *ompB* também mostraram 99,6% de similaridade (815/818 nucleotídeos) com a sequência que corresponde a *R. africae* (CP001612). Os produtos de *gltA* obtidos a partir de quatro carrapatos (três *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré e um *A. parkeri*) foram sequenciados e mostraram 100% (706/706) de similaridade à sequência de JN126320, depositado no GenBank como *R. parkeri* cepa ApPR, detectado em *A. parkeri* coletados em aves no sul do Brasil (PACHECO et al., 2012). Os amplicons de *ompA* destes mesmos quatro carrapatos mostraram 99,9% de similaridade de nucleótidos (490/491) com *R. parkeri* cepa ApPR (JN126321), e os amplicons de *htrA* foram 100% (497/497) similares com isolados de *R. rickettsii* (CP003305).

Tabela 2. Espécimes de aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, infestadas com larvas e/ou ninfas, infectadas ou não por espécies de *Rickettsia*. Cada linha representa um espécime de ave. Aca- *Amblyomma calcaratum*, Alo- *Amblyomma longirostre*, Apa- *Amblyomma parkeri*, ANa- *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Hle- *Haemaphysalis leporispalustris*, *-ninfas.

Espécies de aves	Número de carrapatos	Espécies de carrapatos	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>	Negativo	
<i>Cyanoloxia brissonii</i>	2	Alo				1*	
		ANa		1			
<i>Conopophaga lineata</i>	2	Aca				1*	
		ANa		1			
<i>Sittasomus griseicapillus</i>	3	ANa		3			
	1	ANa		1			
<i>Xiphorhynchus fuscus</i>	1	ANa	1				
	5	ANa	5				
<i>Basileuterus culicivorus</i>	1	Alo			1		
	1	ANa		1			
<i>Platyrinchus mystaceus</i>	6	ANa	3	3			
	1	Alo			1		
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	2	Alo				1	
		ANa		1			
<i>Mionectes rufiventris</i>	1	Alo			1		
<i>Pyriglena leucoptera</i>	2	Aca				1*	
		ANa		1			
<i>Lanio melanops</i>	2	Aca				1*	
		ANa		1			
	3	Alo				2	
		ANa	1				
	1	ANa	1				
		14	Aca				1,1*
			ANa	2			7
			Hle				7
	2	Apa	1				2
		Alo				1	
6	ANa	1					
	Aca					1*	
<i>Tachyphonus coronatus</i>	2	ANa		4		1	
		Alo				1*	
	2	Alo				1*	
	1	ANa	1				
		Alo				1	
	1	ANa	1				
	4	ANa	2	1		1	
	1	Aca				1*	
	1	ANa			1		
	1	ANa	1				
1	Alo				1*		
5	Alo				2	1	
	Aca					1*	
18	ANa	1					
	Alo		6	11	1		

Tabela 2. (Continuação)

Espécies de aves	Número de carrapatos	Espécies de carrapatos	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>	Negativo
<i>Coereba flaveola</i>	1	Alo			1	
<i>Turdus albicollis</i>	7	ANa	7			
<i>Turdus rufiventris</i>	3	Aca				1*
		ANa	2			
	1	Alo			1*	
<i>Attila rufus</i>	8	ANa	7	1		
Total	113		43	31	13	26

Os amplicons de *ompB* gerados a partir de 31 *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, identificados por PCR-RFLP como infectados com *R. rhipicephali* ou *Rickettsia massiliae* foram sequenciados e mostraram 100% (818/818) de similaridade com a sequência correspondente da *R. rhipicephali* cepa HJ#5 (CP013133) e 99,8% (815/817) de similaridade com sequência depositada como *Rickettsia* sp. R300 (AY472014), ambas os quais foram detectadas em *H. juxtakochi* no Brasil (LABRUNA et al., 2005). O sequenciamento dos produtos de *gltA* de seis destes carrapatos revelaram 100% (788/788) de similaridade com a sequência da cepa *R. rhipicephali* HJ#5 (CP013133) e 99,9% (787/788) de similaridade com a sequência *Rickettsia* sp. R300 (AY472038). As sequências de *htrA* e *ompA* destes seis carrapatos demonstraram 100% de similaridade (501/501 e 491/491) com as sequências correspondentes CP013133 da cepa HJ#5, e AY472039 e AY472040 da *Rickettsia* sp. R300. Assim sendo, estes carrapatos foram considerados infectados com *R. rhipicephali*, representando a primeira detecção desta espécie em carrapatos do gênero *Amblyomma*.

As novas sequências identificadas como *R. parkeri* infectando carrapatos neste estudo foram depositadas no GenBank com os números de acesso KX018050 (*ompB*) e KX018052 (*htrA*). E os números de acesso para as sequências parciais derivadas de carrapatos infectados com *R. rhipicephali* são KX018048 (*gltA*), KX018049 (*ompA*), KX018051 (*ompB*) e KX018053 (*htrA*).

5 DISCUSSÃO

Os dados parasitológicos das aves capturadas neste estudo foram muito semelhantes aos relatados para outras regiões de Mata Atlântica no sudeste e sul do Brasil com relação à diversidade (LUZ & FACCINI, 2013; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). Com relação à prevalência das espécies de carrapatos, pode-se afirmar que *Amblyomma longirostre* foi a única que revelou resultado similar aos demais estudos desenvolvidos na Mata Atlântica com 25,7% de prevalência (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2011b, 2012; LUGARINI et al., 2015; LUZ et al., 2016).

O encontro de *A. nodosum* (1%) foi menos frequente do que o registrado em outras pesquisas (LUZ & FACCINI, 2013), por exemplo, Luz et al. (2016) em estudo realizado em fragmento de Mata Atlântica relataram 49% de seus carrapatos como *A. nodosum*, sendo o número total de carrapatos semelhante ao do presente estudo. De acordo com Ogrzewalska et al. (2011a) há diferença na distribuição dos carrapatos de acordo com a fragmentação florestal, sendo que para *A. nodosum*, por exemplo, sua abundância em aves é maior em pequenos fragmentos. Considerando o tamanho do fragmento do presente estudo pequeno os resultados aqui apresentados são divergentes de Luz et al. (2016). Estudos futuros serão necessários para aventar uma hipótese plausível para tentar explicar tal divergência.

Já a prevalência de *A. parkeri* (11%) e *A. calcaratum* (12,6%) foram maiores que dados de estudos anteriores para o mesmo bioma (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2011b, 2012; LUGARINI et al., 2015; MATURANO et al., 2015; LUZ et al., 2016). As diferenças em relação a estudos anteriores para a prevalência de carrapatos do presente estudo podem ter ocorrido devido à localização do ponto de coleta ou devido à amostragem limitada ao mesmo período de dois meses para ambos os anos, refletindo talvez a sazonalidade, ou ao encontro de espécies hospedeiras alternativas no local. Acredita-se que o maior diferencial seja devido à identificação em nível de espécie através do sequenciamento do 16S rDNA de todas as amostras de carrapatos, o que não ocorreu nos estudos anteriores, nos quais identificações de proporções significativas de larvas foram feitas em nível de gênero (LABRUNA et al., 2007c; OGRZEWALSKA et al., 2010, 2012; MARTINS et al., 2014; MATURANO et al., 2015). No trabalho de Maturano et al. (2015), por exemplo, com amostragem de carrapatos 12 vezes maior que a do presente estudo (n= 2391) foi encontrada prevalência para *A. parkeri* de 14,3%, porém apenas 5,3% do material foi identificado em nível de espécie. Se fizermos uma equivalência do percentual de prevalência desta espécie para os demais carrapatos que não foram identificados, e se houvesse a identificação molecular do restante da amostra, este trabalho teria grande probabilidade de revelar o maior número de *A. parkeri* encontrados em aves silvestres do País.

A prevalência de *H. leporispalustris* no presente estudo (9,4% - 18/191 carrapatos) também foi superior à prevalência relatada em recentes trabalhos conduzidos em São Paulo, Brazil, 0,1% (1 LL/736 carrapatos; OGRZEWALSKA et al., 2012), Argentina 1,9% (11 LL e 4 NN/771 carrapatos; FLORES et al., 2014) e no estado do Rio de Janeiro, Brasil 4,7% (4 LL/ 85 carrapatos; ZERINGÓTA et al., 2016). No caso de *H. leporispalustris*, pode haver uma possível sobreposição de nicho ecológico das aves parasitadas e dos hospedeiros primários, que são coelhos silvestres, pois ambos utilizam bordas de florestas. O hábito de forrageamento destas aves é de solo ou entre folhagens mais baixas onde buscam insetos ou gramíneas (STOTZ et al., 1996), o que pode favorecer o contato com estágios imaturos destes carrapatos.

As aves podem ser consideradas hospedeiros essenciais para estágios imaturos de *A. calcaratum*, *A. longirostre* e *A. nodosum*, hospedeiros possivelmente importantes para *A. parkeri* e hospedeiros alternativos para *H. leporispalustris* (OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). Com relação às espécies de aves parasitadas por *H. leporispalustris*, *A. semitorquatus*,

C. delalandi e *T. musculus* são relatadas pela primeira vez como hospedeiras na América do Sul, enquanto *T. rufiventris* é um novo registro para o Brasil, uma vez que já foi registrado na Argentina (FLORES et al., 2014).

Um aspecto surpreendente desta pesquisa foi a predominância de larvas de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (77/191= 40.3%), um carrapato considerado mais próximo à *A. parkeri* e *A. longirostre*, com base em similaridades da sequência do 16S rDNA (OGRZEWALSKA et al., 2012; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). Antes do presente estudo, os registros desse carrapato estavam limitados à identificação de 12 larvas coletadas em seis espécies de aves capturadas em área de Mata Atlântica no município de Nazaré Paulista, no Estado de São Paulo durante 2010/2011 (OGRZEWALSKA et al., 2012). O sequenciamento de um fragmento do 12S rDNA, reforçou os dados do 16S rDNA existentes e demonstrou que os carrapatos foram mais semelhantes à *A. parkeri* (93% de similaridades) e a *A. geayi* (92% de similaridade). Em contraste com as observações realizadas através do 16S rDNA, o sequenciamento do 12S rDNA revelou apenas 82% de similaridade com *A. longirostre*. Certamente o sequenciamento de outros marcadores será necessário para elucidar a posição taxonômica deste haplótipo. Os dados apresentados neste estudo ampliam os registros de hospedeiros para este haplótipo, com mais 13 espécies de aves: *C. brissonii*, *C. lineata*, *S. griseicapillus*, *X. fuscus*, *B. culicivorus*, *P. mystaceus*, *L. amaurocephalus*, *P. leucoptera*, *T. albicollis*, *T. rufiventris*, *A. rufus*, e a família Thraupidae, com maior número de carrapatos nas espécies *L. melanops* (12LL) e *T. coronatus* (27LL) (Tabela 1). Pode-se inferir que a família Thraupidae seja importante na manutenção do ciclo biológico de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré no Jardim Botânico da UFJF, visto que foi encontrado 50,6% dos carrapatos desta espécie em dois representantes desta família. Com essa grande representatividade em dois anos consecutivos, pode-se inferir também que o hospedeiro primário deste haplótipo seja residente do Jardim Botânico.

Grande variedade de espécies de carrapatos parasitam aves brasileiras (26 espécies), silvestres ou não, sendo no presente estudo registradas seis espécies de carrapatos parasitando aves silvestres, e alguns destes carrapatos (nove espécies) tem possibilidade de estar infectados com agentes riquetsiais de patogenicidade indeterminada (OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). Estudos sorológicos, que consistem em detecção de anticorpos anti-rickettsia com maior reatividade, em animais domésticos (cães e cavalos) realizados na Amazônia, Pantanal e Cerrado, forneceram evidências de contato com os agentes riquetsiais detectados nestes carrapatos (MELO et al., 2011; SPOLIDORIO et al., 2013; AMORIM et al., 2013; ALVES et al., 2014; MINERVINO et al., 2015; COSTA et al., 2015). Assim, existe a possibilidade das aves desempenharem papel na manutenção da circulação destes agentes através dos carrapatos, e mais estudos com relação a viabilidade destes hospedeiros serem reservatórios de potenciais patógenos para o homem e animais, como sugerido por investigadores europeus (HORNOK et al., 2014; BERTHOVA et al., 2015), devem ser realizados.

As espécies de *Rickettsia* encontradas neste estudo são relatadas pela primeira vez no estado de Minas Gerais. *Rickettsia amblyommatis* foi a primeira *Rickettsia* do GFM a ser encontrada infectando carrapatos de aves no Brasil (OGRZEWALSKA et al., 2008), e subsequentemente emergiu como a *Rickettsia* mais comumente detectada em carrapatos de aves no País (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2011b, 2012; PACHECO et al., 2012; SANTOLIN et al., 2013; LUGARINI et al., 2015; RAMOS et al., 2015). Possivelmente isso veio a refletir o fato de *A. longirostre* ser a espécie de carrapato predominante em associação com aves do Brasil (LUZ & FACCINI, 2013; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016) e a detecção deste agente nesta espécie de carrapato não é incomum desde que foi relatada pela primeira vez (OGRZEWALSKA et al., 2008, 2010, 2011, 2012; PACHECO et al., 2012, RAMOS et al., 2015, LUGARINI et al., 2015). Consequentemente, a detecção deste agente

riquetisial em 27% (13/49) dos carrapatos coletados desta espécie neste estudo é esperada, e aumenta a hipótese que esta relação possa ser simbiótica, como sugerido por outros autores (PERLMAN et al., 2006; SOCOLOVSKI et al., 2009). Há evidências sorológicas de *R. amblyommatis* reportadas em cães (MELO et al., 2011; SPOLIDORIO et al., 2013; MINERVINO et al., 2015; COSTA et al., 2015) e em equídeos (AMORIM et al., 2013; ALVES et al., 2014) a partir de diferentes regiões do Brasil. No entanto, baseado no fato de não haver registros de *A. longirostre* parasitando cavalos e apenas um único relato em cão (MORAES-FILHO et al., 2009), parece improvável que *R. amblyommatis* seja transportado por *A. longirostre*. Em vez disso, há evidências que indicam que membros do complexo *A. cajennense* sejam as prováveis fontes de contaminação por *R. amblyommatis* (ALVES et al., 2014; NUNES et al., 2015; WITTER et al., 2015; MELO et al., 2015; FACCINI-MARTINEZ et al., 2016). Porém, não há registros de infecção riquetsial no limitado número de carrapatos do complexo *A. cajennense* que foram relatados em associação com aves no Brasil até o momento (OGRZEWALSKA et al., 2009a, 2011a; RAMOS et al., 2015).

Em contraste com *R. amblyommatis*, a patogenicidade de *R. parkeri* é firmemente estabelecida nos Estados Unidos (PADDOCK et al., 2004), e há relatos de infecções humanas confirmadas para a cepa Mata Atlântica no Brasil, cepa relacionada à *R. parkeri* (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVA et al., 2011; KRAWCZAK et al., 2016b) e mesma variante encontrada no presente estudo. *Rickettsia parkeri* ou suas variações genéticas (NOD, ApPR e Paraíba), é a segunda espécie do GFM a ser identificada em associação com carrapatos de aves brasileiras (LUZ & FACCINI, 2013; OGRZEWALSKA & PINTER, 2016). A cepa NOD foi inicialmente relatada em ninfas de *A. nodosum* coletados de aves capturadas no estado de São Paulo, bioma Mata Atlântica, e Mato Grosso, bioma Cerrado (OGRZEWALSKA et al., 2009b, RAMOS et al., 2015), em ninfas de *A. calcaratum* também no Cerrado (OGRZEWALSKA et al., 2013) e em ninfas de *A. longirostre* no estado do Paraná, Mata Atlântica (PACHECO et al., 2012). Além disso, também foi relatada em adulto de *A. nodosum* coletado de um tamanduá *Tamandua tetradactyla* (Linnaeus 1758) no município de Cuiabá, área caracterizada pelos biomas Pantanal e Cerrado (WITTER et al., 2015). A variante de *R. parkeri* Paraíba foi relatada em larvas de *A. nodosum* coletados de aves no nordeste do Brasil, Mata Atlântica (LUGARINI et al., 2015) e finalmente a cepa ApPR foi inicialmente reportada infectando larvas de *A. parkeri* coletados em aves no estado do Paraná, também Mata Atlântica (PACHECO et al., 2012). No presente estudo foi detectada uma variante de *R. parkeri*, que demonstrou quase 100% de similaridade de nucleotídeos com as sequências de *gltA*, *ompA* e *ompB* depositadas no GenBank como derivadas da cepa ApPR. Esta variante, que ocorreu em *A. parkeri* (1 de 21 larvas) e em *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré (42 de 77 larvas), também apresentou níveis elevados de similaridade de nucleotídeos (para *gltA* e *ompA*) a uma variante descrita como próxima à cepa ApPR, detectada nas mesmas duas espécies de carrapatos coletados das aves de São Paulo (OGRZEWALSKA et al., 2012).

No caso de *A. parkeri*, no presente estudo um dos 21 exemplares coletados estava infectado com *R. parkeri* ApPR, o que é muito abaixo dos níveis reportados por Pacheco et al. (2012) com 2/4 e por Ogrzewalska et al. (2012) com 7/14. Em contraste, a infecção de 42 dos 77 *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré registrados neste estudo, é semelhante à infecção de 3 dos 6 registrados em São Paulo (OGRZEWALSKA et al., 2012). Deve-se levar em conta no momento de comparar os números de carrapatos coletados/infectados dos trabalhos que nem todos os carrapatos foram identificados a nível específico. Porém, fica claro que estes dados indicam uma distribuição ampla desta cepa e que o elevado número de carrapatos *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré infectados representa um hospedeiro favorável para esta *Rickettsia*. Pode-se considerar provável que a proximidade taxonômica entre *A. parkeri* e *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré explique em parte esta observação.

É interessante notar que a única larva de *A. parkeri* infectada com a cepa ApPR, foi uma das três que foram recuperadas a partir de um espécime de *L. melanops*, que estava co-infestada com sete larvas de *H. leporispalustris*, duas larvas de *A. calcaratum* e duas larvas de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, sendo este haplótipo também infectado com a cepa ApPR (Tabela 2). O fenômeno da co-infestação de aves com duas ou mais espécies de carrapatos já foi reportado anteriormente, por exemplo, por Ogrzewalska et al. (2012) em um espécime de *Tolmomyias* parasitado com *A. parkeri* e *A. longirostre*, e por Ramos et al. (2015) com um espécime de *Tolmomyias* com *A. longirostre* e *A. nodosum*, e um espécime de *Xiphorhyncus* com *A. longirostre* e *Ornithodoros mimon*, no entanto, os pesquisadores não deram muito destaque a esta relação por não ser objetivo do trabalho ou talvez porque muitos dos carrapatos encontrados tenham sido identificados em nível de gênero.

Evidências que suportem a hipótese de que as aves se tornem riquetsêmicas e que possam servir como reservatórios/amplificadores de *Rickettsia* do GFM foram apresentadas recentemente por pesquisadores húngaros (HORNOK et al., 2014) e eslovaques (BERTHOVA et al., 2015), que utilizaram ensaios de PCR em tempo real altamente sensíveis para detectar o DNA de *Rickettsia helvética* no sangue de aves infestadas com *Ixodes ricinus*, *Haemaphysalis concinna* e *Hyalomma* sp. Foi observado no presente estudo um *L. melanops* parasitado pelos carrapatos *A. parkeri* e *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré positivos *R. parkeri*, porém não é possível afirmar se a infecção destes foi durante a alimentação na ave ou se foi um acaso ambas espécies já estarem positivas para mesma espécie de *Rickettsia*. O encontro de um número grande de carrapatos infectados com *R. parkeri* ApPR é notável; no entanto, a patogenicidade desta cepa ainda não é determinada para o país e com a ausência de evidências sorológicas é impossível determinar se a mesma seria transmitida para humanos e outros animais. Além disso, os métodos disponíveis atualmente para a detecção de anticorpos anti-*R. parkeri* são incapazes de diferenciar entre as variantes genéticas de *R. parkeri* registradas até o momento no Brasil.

O encontro de *R. rhipicephali* no presente estudo representa seu primeiro registro em carrapatos do gênero *Amblyomma*. *Rickettsia rhipicephali* é uma espécie do GFM que tem patogenicidade indeterminada (PAROLA et al., 2013), sendo descrita pela primeira vez em carrapatos *R. sanguineus* recuperados de cães no sul dos Estados Unidos na década de 70 (BURGDORFER et al., 1975) e em seguida relatada no norte, leste e oeste do País em espécimes de *Dermacentor* (PHILIP & CASPER, 1981; PHILIP et al., 1981; WIKSWO et al., 2008; SHAPIRO et al., 2010; MITCHELL et al., 2016). Além disso, *R. rhipicephali* foi relatada em carrapatos da espécie *Rhipicephalus* na África central e alguns países europeus na década de 90 (PAROLA et al., 2013). Mais recentemente foi detectada em *R. sanguineus* e *R. haemaphysaloides* Supino, 1897 em Taiwan (TSUI et al., 2007; HSU et al., 2011). Esta bactéria nunca foi detectada em carrapatos do gênero *Amblyomma*, no entanto já foi encontrada em *H. juxtakochi* em quatro estados do Brasil: Rondônia, São Paulo, Mato Grosso e Espírito Santo. Em Rondônia foi detectada por PCR em um macho de *Haemaphysalis juxtakochi* na fase de vida livre, cepa designada R300 (LABRUNA et al., 2005). Em São Paulo foi realizado isolamento e caracterização molecular de *R. rhipicephali* (isolado HJ#5) a partir de um adulto de vida livre de *H. juxtakochi* (LABRUNA et al., 2007c). No Mato Grosso a bactéria foi detectada em uma ninfa de *H. juxtakochi* coletada do roedor *Dasyprocta azarae* Lichtenstein, 1823, capturado na região amazônica (SOARES et al., 2015); e mais recentemente no Espírito Santo foi detectada em 2 ninfas de *H. juxtakochi* coletadas na vegetação (ACOSTA et al., 2016). Sem dúvida, a detecção de *R. rhipicephali* em 40% (31/77) dos carrapatos *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré coletados de dez espécies de aves no presente estudo é uma importante descoberta. Várias pesquisas que investigam associações ave/carrapatos foram realizadas no estado de São Paulo, onde o isolado HJ#5 foi relatado pela primeira vez, no entanto não é comum fazer PCR de um número grande de larvas, diferente

do presente estudo, talvez por isso esta bactéria não tivesse sido detectada em carrapatos de aves até o momento.

Pesquisas sorológicas em animais para possíveis reações homólogas aos antígenos de *R. rhipicephali*, utilizando imunofluorescência indireta, vem sendo realizadas no Brasil e forneceram provas de que carrapatos infectados com este agente podem ter infectado cavalos (AMORIM et al., 2013) e cães (SPOLIDORIO et al., 2013; MINERVINO et al., 2015). Por exemplo, antígenos de *R. rhipicephali* foram considerados como possível antígeno envolvido em uma reação homóloga em 10 dos 103 cães *Rickettsia*-soropositivos de comunidades indígenas no Estado de Mato Grosso (MINERVINO et al., 2015). Menor ocorrência em reação homóloga foi observada no estado do Pará, onde dois de 41 cães foram considerados soropositivos para *R. rhipicephali* (SPOLIDORIO et al., 2013). Amorim et al. (2013) também relataram soropositivos cinco de 273 cavalos amostrados com possíveis reações homólogas a *R. rhipicephali* no estado de Mato Grosso. Além disso, carrapatos da espécie *H. juxtakochi* infectados com *R. rhipicephali* foram identificados no Estado do Mato Grosso (SOARES et al., 2015) e em São Paulo (LABRUNA et al., 2007b), no entanto o papel patogênico desta espécie ainda permanece desconhecido (PAROLA et al., 2013).

A presença de uma quarta *Rickettsia* do GFM em carrapatos coletados de aves brasileiras, e em associação com possíveis espécies crípticas de *Amblyomma*, destacam a importância do trabalho contínuo nesta área. Evidentemente, as pesquisas em outras regiões da Mata Atlântica serão necessárias para determinar se esta associação se estende para além da região estudada no presente inquérito. Até o momento, não há infecções confirmadas em seres humanos atribuídas a *R. rhipicephali* e é impossível determinar se a prevalência elevada desta bactéria neste gênero de carrapato representa uma ameaça para a saúde humana ou animal, ou se essa associação é simbiótica.

6 CONCLUSÕES

Das 16 famílias de Passeriformes capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz Fora, Thraupidae, Rhyncocicyclidae e Parulidae foram as três famílias mais amostradas. Os carrapatos encontrados no presente estudo foram: *A. calcaratum*, *A. nodosum*, *A. parkeri*, *A. longirostre*, *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré e *H. leporispalustris*, com destaque para *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré identificado como espécie predominante infestando aves silvestres na região estudada .

A família Thraupidae parece ser importante para a manutenção do ciclo do *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré no local do estudo e pelo alto parasitismo encontrado pode-se inferir que as aves sejam hospedeiras para as larvas de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré e que o hospedeiro primário seja residente do Jardim Botânico.

As espécies de *Rickettsia* detectadas nos carrapatos foram: *R. parkeri*, *R. amblyommatis* e *R. rhipicephali*, sendo a última reportada pela primeira vez em carrapatos do gênero *Amblyomma*. Destaque novamente para os exemplares de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, os quais a maioria foram positivos para *Rickettsia*: *R. parkeri* ApPR (54,54%) e *R. rhipicephali* (40,25%).

A identificação molecular de todos espécimes de carrapatos e espécies de *Rickettsia* foi determinante para o encontro de *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, *H. leporispalustris*, *R. parkeri* e *R. rhipicephali*, que foram os grandes achados do presente estudo. Além disso, a utilização do RNAlater[®] pode ter favorecido uma melhor conservação do DNA.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A associação entre *R. rhipicephali* e *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré é sem precedentes e deve ser considerada um motivo de preocupação para saúde pública. Existe necessidade de estudos aprofundados sobre este carrapato, a fim de determinar seus hospedeiros, ciclo biológico, posição taxonômica dentro do gênero *Amblyomma* e a sua propensão para infestar humanos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACOSTA, I.C.L.; MARTINS, T.F.; MARCILI, A.; SOARES, H.S.; KRAWCZAK, F.S.; VIEIRA, F.T.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) from humans, domestic and wild animals in the state of Espírito Santo, Brazil, with notes on rickettsial infection. **Veterinary Parasitology, Regional Studies and Reports**, 3-4, p. 66-69, 2016.
- ALMEIDA, R.F.; GARCIA, M.V.; CUNHA, R.C.; MATIAS, J.; LABRUNA, M.B.; ANDREOTTI, R. The first report of *Rickettsia* spp. in *Amblyomma nodosum* in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.4, p.156-159, 2013.
- ALTSCHUL, S.F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p. 403-410, 1990.
- ALVES, A.S.; MELO, A.L.T.; AMORIM, M.V.; BORGES, A.M.C.M.; SILVA, L.G.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M.; PACHECO, R.C. Seroprevalence of *Rickettsia* spp. in equids and molecular detection of ‘*Candidatus Rickettsia amblyommii*’ in *Amblyomma cajennense* sensu lato ticks from the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.51, p. 1242–1247, 2014.
- AMORIM, M.V.; MELO, A.L.T.; FREITAS, A.L.S.; LAUB, R.P.; MELO, R.M.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C. Detecção de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em cães e equinos no Estado de Mato Grosso, Brasil. **Semina**, v. 34, p. 3755-3766, 2013.
- ARAÚJO, R.P.; NAVARRO, M.B.M.A.; CARDOSO, T.A.O. Febre maculosa no Brasil: estudo da mortalidade para a vigilância epidemiológica. **Cadernos Saúde Coletiva, Rio de Janeiro**, v. 23, p. 354-361, 2015.
- ARZUA, M.; BARROS, D.M.; LINARDI, P.M.; BOTELHO, J.R. Noteworthy records of *Ixodes auritulus* Neumann, 1904 (Acari, Ixodida) on birds from Paraná, Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.89, p.129. 1994.
- ARZUA, M.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. Catalogue of tick collection (Acari, Ixodida) of the Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.22, n.3, p. 623-632, 2005.
- AZAD, A.F.; BEARD, C.B. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. **Emerging Infectious Diseases**, v.4, n.2, p. 179-186, 1998.
- BARBIERI, A.R.M.; FILHO, J.M.; NIERI-BASTOS, F.A.; SOUZA-JR., J.C.; SZABÓ, M.P.J.; LABRUNA, M.B. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**. v. 5, p. 848-853, 2014.
- BARROS-BATTESTI, D.M., ARZUA, M., BECHARA, G.M. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região Neotropical**. Instituto Butantan, São Paulo, Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. 223 p.
- BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; PICHORIM, M.; KEIRANS, J.E. *Ixodes (Multidentatus) paranaensis* n. sp. (Acari: Ixodidae) a parasite of *Streptoprocne biscutata*

(Sclater, 1865) (Apodiformes: Apodidae) birds in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p.93–102, 2003.

BARROS-BATTESTI, D.M.; LANDULFO, G.A.; LUZ, H.R.; MARCILI, A.; ONOFRIO, V.C.; FAMADAS, K.M. *Ornithodoros faccinii* n. sp. (Acari: Ixodidae: Argasidae) parasitizing the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia: Anura: Cycloramphidae), in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 8, p.268, 2015.

BARROS-BATTESTI, D.M.; LANDULFO, G.A.; ONOFRIO, V.C.; FACCINI, J.L.H.; MARCILI, A.; NIERI-BASTOS, F.A.; VENZAL, J.M.; LABRUNA, M.B. *Carios mimon* (Acari: Argasidae): description of adults and redescription of larva. **Experimental and Applied Acarology**, v. 54, n. 1, p. 93- 104, 2011.

BEATI, L.; PATEL, J.; LUCAS-WILLIAMS, H.; ADAKAL, H.; KANDUMA, E. G.; TEMBO-MWASE, E.; KRECEK, R.; MERTINS, J. W.; ALFRED, J. T.; KELLY, S.; KELLY, P. Phylogeography and demographic history of *Amblyomma variegatum* (Fabricius) (Acari: Ixodidae), the tropical bont tick. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 6, p. 514-525, 2012.

BELDOMENICO, P.M.; BALDI, C.J.; ANTONIAZZI, L.R.; ORDUNA, G.M.; MASTROPAOLO, M.; MACEDO, A.C.; RUIZI, M.F.; ORCELLET, V.M.; PERALTA, J.L.; VENZAL, J.M.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. Ixodid ticks (Acari: Ixodidae) present at Parque Nacional El Rey, Argentina. **Neotropical Entomology**, v.32, n.2, p. 273-277, 2003.

BERMÚDEZ C., S.E.; CASTRO, A.; ESSER, H.; LIEFTING, Y.; GARCÍA, G.; MIRANDA R.J. Ticks (Ixodida) on humans from central Panama, Panama (2010–2011). **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, p.81-88, 2012.

BERTHOVÁ, L.; SLOBODNÍK, V.; SLOBODNÍK, R.; OLEKSÁK, M.; SEKEYOVÁ, Z.; SVITÁLKOVÁ, Z.; KAZIMÍROVÁ, M.; SPITALSKÁ, E. The natural infection of birds and ticks feeding on birds with *Rickettsia* spp. and *Coxiella burnetii* in Slovakia. **Experimental and Applied Acarology**, v. 68, p. 229-314, 2015.

BURGDORFER, W.; HAYES, S.F.; THOMAS, L.; et. al. A new spotted fever group rickettsia from the lone star tick. In: R.W. Anacker (ed) **Rickettsiae and Rickettsial Diseases**. Academic Press, New York, 1981. p. 213-267.

BURGDORFER, W.; SEXTON, D.J.; GERLOFF, R.L.; ANACKER, R.L.; PHILIP, R.N.; THOMAS, L.A. *Rhipicephalus sanguineus*: Vector of a New spotted fever group *Rickettsia* in the United States. **Infection and Immunity**, v.12, n. 1, p.205-210, 1975.

BUSH, A.O.; LAFFERTY, K.D.; LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.

CAMPANILI, M.; PROCHNOW, M. **Mata Atlântica - uma rede pela floresta**. Rede de ONGs da Mata Atlântica, Brasília, 2006. 334p.

CLIFFORD, C. M.; ANASTOS, G.; ELBL, A. The larval ixodid ticks of the eastern United States (Acarina-Ixodidae). **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 2, n. 3, p. 213-237, 1961.

COOLEY, R. A. The genera *Boophilus*, *Rhipicephalus* and *Haemaphysalis* (Ixodidae) of the new world. **National Institute of Health Bulletin**, n. 187, p. 1-55, 1946.

COSTA, A.P.; COSTA, F.B.; LABRUNA, M.B.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J.; SOARES, J.F.; SPOLIDORIO, M.G.; GUERRA, R.M.S.N.C. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 1, p. 28-35, 2015.

D'AGOSTO, M. (Coord.) **Caderno do Plano Diretor: Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora**, 2011. 68p.

DANTAS-TORRES, F.D.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic and Applied Acarology**. v. 14, p.30-46, 2009a.

DANTAS-TORRES, F.; BERARDI, L.F.O.; SOUZA-SILVA, M.; FERREIRA, R.L.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. New records of *Ixodes paranaensis* (Acari: Ixodidae) from Minas Gerais, southeastern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, 14:213–215, 2009b.

DIOGO, A.A.R.; GUERIM, L.; PIRES, J.R.; COUTO, A.L.G.; SERRA-FREIRE, N.M. Parasitismo por *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 em *Columba livia* Linnaeus na cidade do Rio de Janeiro, Brasil. **Entomologia y Vectores**, v. 10, n.2, p. 277-280, 2003.

EPIS, S.; SASSERA, D.; BENINATI, T.; LO, N.; BEATI, L.; PIESMAN, J.; RINALDI, I.; MCCOY, K.D.; TORINA, A.; SACCHI, I.; CLEMENTI, E.; GENCHI, M.; MAGNINO, S.; BANDI, C. *Midichloria mitochondrii* is widespread in hard ticks (Ixodidae) and resides in the mitochondria of phylogenetically diverse species. **Parasitology**, v. 135, p. 485-494, 2008.

ESTRADA-PENÑA, A.; MANGOLD, A.J.; NAVA, S.; VENZAL, J.M.; LABRUNA, M.; GUGLIELMONE, A.A. A review of the systematic of the tick family Argasidae (Ixodida). **Acarologia**, v. 50, n. 3, p. 317-333, 2010.

FACCINI-MARTINEZ, A.A.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, A.; FORERO-BECERRA, E.; CORTÉS-VECINO, J.A.; ESCANDÓN, P.; RODAS, J.D.; PALOMAR, A.M.; PORTILLO, A.; OTEO, J.A.; HIDALGO, M. Molecular evidence of different *Rickettsia* species in Villeta, Colombia. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 16, n. 2, p. 85-87, 2016.

FLORES, F.S.; NAVA, S.; BATALLÁN, G.; TAURO, L.B.; CONTIGIANI, M.S.; DIAZ, L.A.; GUGLIELMONE, A.A. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild birds in north-central Argentina. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, p. 715-721, 2014.

GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; VENZAL, J. M.; KEIRANS, J. E.; ROBBINS, R. G.; IPPI, S.; GUGLIELMONE, A. A. New host and locality records for the *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) species group, with a review of host relationships and distribution in the

Neotropical zoogeographic region. **Experimental and Applied Acarology**, v. 37, n. 1, p. 147-156, 2005.

GUGLIELMONE, A.A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; NAVA, S.; VENZAL, J.M.; MANGOLD, M.P.J.; SZABÓ, M.P.J.; MARTTINS, J.R.; ESTRADA-PEÑA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 83–100, 2006.

GUGLIELMONE, A.A.; ROBBINS, R.R.; APANASKEVICH, D.A.; PETNEY, T.N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I.G.; SHAO, R.; BARKER, S.C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, v. 2528, p. 1-28, 2010.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I. G. **The Hard Ticks of the World: (Acari: Ixodida: Ixodidae)**. New York: Springer, 2014. 738 p.

HARRISON, B.A.; ENGBER, B.R.; APPERSON, C.S. Ticks (Acari: Ixodida) uncommonly found biting humans in North Carolina. **Journal of Vector Ecology**, v. 22, n. 1, p. 6–12, 1997.

HOOGSTRAAL, H.; KAISER, M. N.; TRAYLOR, M. A.; GUINDY, E.; GABER, S. Ticks (Ixodidae) on birds migrating from Europe and Asia to Africa, 1959-61. **Bulletin World Health Organization**, v. 28, p. 235-262. 1963.

HORNOK, S.; KOVÁTS, D.; CSÖRGO, T.; MELI, M.L.; GÖNCZI, E.; HADNAGY, Z.; TAKÁCS, N.; FARKAS, R.; HOFMANN-LEHMANN, R. Birds as potential reservoirs of tick-borne pathogens: first evidence of bacteraemia with *Rickettsia helvetica*. **Parasites and Vectors**, v. 7:128, p. 1-7, 2014.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; LINARDI, P.M.; SCHUMAKER, T.T.S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p.793-801, 2007.

HSU, Y.M.; LIN, C.C.; CHOMEL, B.B.; TSAI, K.H.; WU, W.J.; HUANG, C.G.; CHANG, C.C. Identification of *Rickettsia felis* in fleas but not ticks on stray cats and dogs and the evidence of *Rickettsia rhipicephali* only in adult stage of *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus haemaphysaloides*. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 34, p. 513-518, 2011.

HUBÁLEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 4, p. 639-659, 2004.

IEF-MG (Instituto Estadual de Florestas – Minas Gerais). APA - Área de Proteção Ambiental de Minas Gerais. 2015. Disponível em <<http://www.ief.mg.gov.br/component/content/article/117>>. Acesso em: 17/11/2015.

KARPATY, S.E.; SLATES, K.S.; GOLDSMITH, C.S.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia* associated with

multiple species of *Amblyomma* ticks in North, Central and South America. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 12, p. 5236-5243.

KÖPPEN, W. Roteiro para classificação climática. **Mimeo**. 6p. 1970.

KRAWCZAK, F.S.; MARTINS, T.F.; OLIVEIRA, C.S.; BINDER, L.C.; COSTA, F.B.; NUNES, P.H.; GREGORI, F.; LABRUNA, M.B. *Amblyomma yucumense* n. sp. (Acari: Ixodidae), a parasite of wild mammals in southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.52, n.1, p. 28-37, 2015.

KRAWCZAK, F.S.; BINDER, L.C.; OLIVEIRA, C.S.; COSTA, F.B.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; SPONCHIADO, J.; MELO, G.L.; GREGORI, F.; POLO, G.; OLIVEIRA, S.V.; LABRUNA, M.B. Ecology of a tick-borne spotted fever in southern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 70, n. 2, p. 219-229, 2016a.

KRAWCZAK, F.S.; MUÑOZ-LEAL, S.; GUZTAZAKY, A.C.; OLIVEIRA, S.V.; SANTOS, F.C.P.; ANGERAMI, R.N.; MORAES-FILHO, J.; SOUZA-JÚNIOR, J.C.; LABRUNA, M.B. Case report: *Rickettsia* sp. strain Atlantic Rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in Southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 3, p. 551-553, 2016b.

LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z. Agentes transmitidos por carrapatos na região neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA G. H. (Ed.). **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para a identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. cap. 10, p. 155-164.

LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; WALKER, D.H. Detection of spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 169-174, 2005.

LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; POPOV, V.; WALKER, D.H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 6, p.1073-1081, 2004a.

LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from na 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, 2004b.

LABRUNA, M.B.; MCBRIDE, J.W.; BOUYER, D.H.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; WALKER, D.H. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 533-537, 2004c.

LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C.; AGUIAR, D.M.; CAVALVANTE, G.T.; PINTER, A.; GENNARI, S.M.; CAMARGO, M.A. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro municipality, western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 2, p. 249-255, 2007a.

LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C.; RICHTZENHAIN, L.J.; SZABÓ, M.P.J. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* ticks in the State of São Paulo, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 3, p. 869-873, 2007b.

LABRUNA, M.B.; SANFILIPPO, L.F.; DEMETRIO, C.; MENEZES, A.C.; PINTER, A.; GUGLIELMONE, A.A.; SILVEIRA, L.F. Ticks collected on birds in the state of São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 43, p. 147-160, 2007c.

LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in south America. **Rickettsiology and Rickettsial diseases – Fifth International Conference, Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1166, p. 156-166, 2009.

LABRUNA, M.B.; V. MATTAR S.; NAVA, S.; BERMUDEZ, S.; VENZAL, J.M.; DOLZ, G.; ABARCA, K.; ROMERO, L.; SOUSA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO, J.Z. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista científica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Córdoba**, v. 16, n. 2, p. 2435-2457, 2011.

LABRUNA, M.B.; MARCILI, A.; OGRZEWALSKA, M.; BARROS-BATTESTI, D.M.; DANTAS-TORRES, F.; FERNANDES, A.A.; LEITE, R.C.; VENZAL, J.M. New records and human parasitism by *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n.1, p. 283-287, 2014.

LANDULFO, G. A., L. V. PEVIDOR, J. DOS SANTOS SAMPAIO, H. R. LUZ, V. C. ONOFRIO, J.L.H. FACCINI, D. M. BARROS-BATTESTI. Life cycle of *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) under laboratory conditions. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, p. 69-80, 2012.

LIMA, L.M. **Aves da Mata Atlântica: riqueza, composição, status, endemismos e conservação**. 51f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

LUGARINI, C.; MARTINS, T.F.; OGRZEWALSKA, M.; VASCONCELOS, N.C.T.; ELLIS, V.A.; OLIVEIRA, J.B.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B.; SILVA, J.C.R. Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, n.3, p. 364-375, 2015.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; LANDULFO, G. A.; BERTO, B. P.; FERREIRA, I. Bird ticks in an area of the Cerrado of Minas Gerais State, southeast Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 58, n. 1, p. 89-99, 2012.

LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H. Ticks on Brazilian Birds: Overview. In: Ruiz, L. e Iglesias, F. (Ed.). **Birds - Evolution, Behavior and Ecology**. New York: Nova Science Publishers, Inc., 2013. p. 97-125.

LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H.; LANDULFO, G.A.; BERTO, B.P. New host records of ticks (Ixodidae) infesting birds in an Atlantic Forest fragment in southeastern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 21, n.8, p. 1107-1115, 2016.

- MACIEL, T.T.; BARBOSA, B.C. Áreas verdes urbanas: História, Conceitos e Importância Ecológica. **Ces Revista**, v. 29, n. 1, p. 30-42, 2015.
- MANGOLD, A.J.; BARGUES, M.D.; MAS-COMA, S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 84, p. 478-484, 1998.
- MARTINS, T.F.; FECCHIO, A.; LABRUNA, M.B. Ticks of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) on wild birds in the Brazilian Amazon. **Systematic and Applied Acarology**, v. 19, n. 4, p. 385-392, 2014.
- MARTINS, T.F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.1, n.2, p. 75–99, 2010.
- MATURANO, R.; FACCINI, J.H.; DAEMON, E.; FAZZA, P.C.; BASTOS, R. Additional information about tick parasitism in Passeriformes birds in an Atlantic Forest in southeastern Brazil. **Parasitology Research**, v.114, n.11, p. 4181-4193, 2015.
- MCINTOSH, D.; BEZERRA, R.A.; LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H.; GAIOTTO, F.A.; GINÉ, G.A.F.; ALBUQUERQUE, G.R. Detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma logirostre* (Acari : Ixodidae) from Bahia state, Northeast Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 879-883, 2015.
- MELO, A.L.T.; MARTINS, T.F.; HORTA, M.C.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M. Seroprevalence and risk factors to *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. in dogs from the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 2, p. 213-218, 2011.
- MELO, A.L.T.; WITTER, R.; MARTINS, T.F.; PACHECO, T.A.; ALVES, A.S.; CHITARRA, C.S.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v.30, n. 1, 2015.
- MEDEIROS, A.P.; DE SOUZA, A.P.; DE MOURA, A.B.; LAVINA, M.S.; BELATTO, V.; SARTOR, A.A.; NIERI-BASTOS, F.A.; RICHTZENHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari Ixodidae) in the state of Santa Catarina Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.106, p. 926-930, 2011.
- MERHEJ, V.; RAOULT, D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. **Biological Reviews**, Cambridge Philosophical Society, v. 86, p. 379-405, 2011.
- MERHEJ, V.; ANGELAKIS, E.; SOCOLOVSCHI, C.; RAOULT, D. Genotyping, evolution and epidemiological findings of *Rickettsia* species. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 25, p. 122-137, 2014.
- MINERVINO, A.H.H.; LIMA, J.T.R.; SOARES, H.S.; MALHEIROS, A.F.; MARCILI, A.; KRAWCZAK, F.S.; LOPES, M.G.; MARTINS, T.F.; MOREIRA, R.R.; RIBEIRO, M.F.B.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M. Seroprevalence of Tick-Borne Pathogens and Tick

Infestation in Dogs from Tapirapé and Karajá Indigenous Communities, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 15, n. 7, p. 412-418, 2015.

MITCHELL, E.A.; WILLIAMSON, P.C.; BILINGSLEY, P.M.; SEALS, J.P.; FERGUSON, E.E.; ALLEN, M.S. Frequency and distribution of Rickettsiae, Borreliae, and Ehrlichiae detected in human-parasitizing ticks, Texas, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 2, 2016.

MMA - Ministério do Meio Ambiente - Secretaria de Biodiversidade e Florestas. **Biodiversidade Brasileira - Avaliação e identificação de áreas e ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição dos benefícios da biodiversidade nos biomas brasileiros**. Brasília, 2002. 404 p.

MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R.C.; GUTMANN, T.B.; BARBOSA, S.O.; GONZÁLES, M.A.R.M.; MURARO, M.A.; CECÍLIO, S.R.M.; LABRUNA, M.B. New epidemiological data on Brazilian Spotted Fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 9, n. 1, p. 73-78, 2009.

MUKHERJEE, N.; BEATI, L.; SELLERS, M.; BURTON, L.; ADAMSON, S.; ROBBINS, R.G.; MOORE, F.; KARIM, S. Importation of exotic ticks and tick-borne spotted fever group rickettsiae into the United States by migrating songbirds. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, p. 127-134, 2014.

MYERS, N. Threatened biotas: 'hotspots' in tropical forests. **Environmentalist**, v.8, n.3, p. 187-208. 1988.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**. v. 403, p. 853-858, 2000.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, A. G.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 3, p. 252-276, 2014.

NUNES, E.C.; VIZZONII, V.F.; NAVARRO, D.L.; IANI, F.C.M.; DURÃES, L.S.; DAEMON, E.; SOARES, C.A.G.; GAZETA, G.S. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 8, p. 1058-1061, 2015.

OGATA, H.; SCOLA, B.L.; AUDIC, S.; RENESTO, P.; BLANC, G.; P, BLANC G, ROBERT, C.; FOURNIER, P.E.; CLAVERIE, J.M.; RAOULT, D. Genome sequence of *Rickettsia bellii* illuminates the role of amoebae in gene exchanges between intracellular pathogens. **PLoS Genetics**, v. 2, n. 5, p. 733-744. 2006.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R.; UEZU, A.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in an Atlantic Forest area in the state of São Paulo, Brazil, with isolation of *Rickettsia* from the tick *Amblyomma longirostre*. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 4, p. 770-774, 2008.

- OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R.C.; UEZU, A.; RICHTZENHAIN, L.J.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting birds in an Atlantic rain forest region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 5, p. 1225-1229, 2009a.
- OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R.C.; UEZU, A.; RICHTZENHAIN, L.J.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in *Amblyomma nodosum* ticks (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 103, n. 5, p. 413-425, 2009b.
- OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the eastern Amazon, northern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v. 106, p. 809-816, 2010.
- OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; JENKINS, C.N.; LABRUNA, M.B. Effect of forest fragmentation on tick infestations of birds and tick infection rates by *Rickettsia* in the Atlantic Forest of Brazil. **EcoHealth**, v. 8, p. 320-331, 2011a.
- OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the Atlantic Forest in northeastern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v. 108, p. 665-670, 2011b.
- OGRZEWALSKA, M.; SARAIVA, D.G.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; COSTA, F.B.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, v. 139, p. 1283-1300, 2012.
- OGRZEWALSKA, M.; MARTINS, T.; CAPEK, M.; LITERAK, I.; LABRUNA, M.B. A *Rickettsia parkeri*-like agent infecting *Amblyomma calcaratum* nymphs from wild birds in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 4, p. 145-147, 2013.
- OGRZEWALSKA, M.; PINTER, A. Ticks (Acari: Ixodidae) as ectoparasites of Brazilian wild birds and their association with rickettsial diseases. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 1, p. 1-31, 2016.
- OLSÉN, B.; JAENSON, T.G.T.; BERGSTROM, S. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato-Infected ticks on migration birds. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 8, p. 3082-3087, 1995.
- ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; FACCINI, J.L.H. Diagnoses of and illustrated key to the species of *Ixodes* Latreille, 1795 (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Systematic Parasitology**, v.72, p. 143-157, 2009.
- OTOMURA, F.H.; SANGIONI, L.A.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; GALHARDO, J.A.; RIBEIRO, M.G.; TEODORO, U. Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Estado do Paraná, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 761-764, 2010.
- PACHECO, R. C.; HORTA, M. C.; MORAES, J. F.; ATALIBA, A. C.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from São Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. **Biomedica**, v. 27, n. 3, p. 364-371, 2007.

PACHECO, R.C.; ARZUA, M.; NIERI-BASTOS, F.A.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A.; RICHTZENHAIN, L.J.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 3, p. 710-716, 2012.

PADDOCK, C.D.; SUMNER, J.W.; COMER, J.A.; ZAKI, S.R.; GOLDSMITH, C.S.; GODDARD, J.; McLELLAN, S.L.; TAMMINGA, C.L.; OHL, C.A. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, n. 6, p. 805–811, 2004.

PAGLIA, A.P.; FONSECA, G.A.B.; RYLANDS, A.B.; HERRMANN, G.; AGUIAR L.M.S.; CHIARELLO, A.G.; LEITE, Y.L.R., COSTA, L.P., SICILIANO, S., KIERULFF, M.C.M., MENDES, S.L., TAVARES, V.C., MITTERMEIER, R.A., PATTON, J.L. **Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil / Annotated Checklist of Brazilian Mammals**. Occasional Papers in Conservation Biology, Conservation International, Arlington, VA, 2012. 82p.

PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Veterinary Research**, v. 36, p. 469-492, 2005.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSCHI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 657-702, 2013.

PERLMAN, S.J.; HUNTER, M.S.; ZCHORI-FEIN, E. The emerging diversity of *Rickettsia*. **Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, p. 2097-2106, 2006.

PHILIP, R.N.; CASPER, E.A. Serotypes of spotted fever group rickettsiae isolated from *Dermacentor andersoni* (Stiles) in western Montana. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, p. 230-238, 1981.

PHILIP, R.N.; LANE, R.S.; CASPER, E.A. Serotypes of tick-borne spotted fever group rickettsiae from western California. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 30, n.3, p. 722-727, 1981.

PIACENTINI, V.Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C.E.; MAURÍCIO, G.N.; PACHECO, J.F.; BRAVO, G.A.; BRITO, G.R.R.; NAKA, L.N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; SILVEIRA, L.F.; BETINI, G.S.; CARRANO, E.; FRANZ, I.; LEES, A.C.; LIMA, L.M.; PIOLI, D.; SCHUNCK, F.; AMARAL, F.R.; BENCKE, G.A.; COHN-HAFT, M.; FIGUEIREDO, L.F.A.; STRAUBE, F.C.; CESARI, E. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 23, n. 2, p. 291-298, 2015.

PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 523-530, 2006.

PORNWIROON, W.; BOURCHOOKARN, A.; PADDOCK, C.D.; MACALUSO, K.R. Immunoproteomic profiling of *Rickettsia parkeri* and *Rickettsia amblyommii*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.6, n.6, p. 829-835, 2015.

RAMOS, D.G.S.; MELO, A.L.T.; MARTINS, T.F.; ALVES, A.S.; PACHECO, T.A.; PINTO, L.B.; PINHO, J.B.; LABRUNA, M.B.; DUTRA, V.; AGUIAR, D.M.; PACHECO, R.C. Rickettsial infection in ticks from wild birds from Cerrado and the Pantanal region of Mato Grosso, Midwestern, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, p. 836-842, 2015.

RANDOLPH, S. To what extent has climate change contributed to the recent epidemiology of tick-borne diseases? **Veterinary Parasitology**, v. 167, p. 92-94, 2010.

RANDOLPH, S.E. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. **Parasitology**, 129 (Supplement), p. 37-65, 2004.

RAOULT, D., PAROLA, P. **Rickettsial Diseases**. New York, CRC Press, 2007. 386p.

REGNERY, R.L.; SPRUILL, C.L.; PLIKAYTIS, B.D. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n.5, p. 1576-1589, 1991.

RIBEIRO, M.C.; METZGER, J.P.; MARTENSEN, A.C.; PONZONI, F.J.; HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v.142, p.1141-1153, 2009.

ROUX, V.; RAOULT, D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (*ompB*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 50, p. 1449-1455, 2000.

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

SAITO, T.B.; CUNHA-FILHO, N.A.; PACHECO, R.C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F.G.; FARIAS, N.A.R.; LARSSON, C.E.; LABRUNA, M.B. Canine infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 1, p. 102-108, 2008.

SAMUEL, W.M.; PYBUS, M.J.; KOCAN, A.A. **Parasitic diseases of wild mammals**, 2nd edn. Iowa State University Press/Ames, Iowa, 2001. 559p.

SANTOLIN, Í.D.A.C.; FAMADAS, K.M.; MCINTOSH, D. Detection and identification of *Rickettsia* agents in ticks collected from wild birds in Brazil by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, supl. 2, p. 68-73, 2013

SCHNEIDER, S.C.; PARKER, C.M.; MILLER, J.R.; FREDERICKS, L.P.; ALLAN, B.F. Assessing the contribution of songbirds to the movement of ticks and *Borrelia burgdorferi* in the Midwestern United States during fall migration. **EcoHealth**, v. 12, p.164–173, 2015.

SES-MG (SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS). Nota de esclarecimento sobre febre maculosa, 2016. Disponível em <<http://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/8573-exame-realizado-pela-funed-confirma-febre-maculosa>>. Acesso em 09/01/2017.

SHAPIRO, M.R.; FRITZ, C.L.; TAIT, K.; PADDOCK, C.D.; NICHOLSON, W.L.; ABRAMOWICZ, K.F.; KARPATY, S.E.; DASCH, G.A.; SUMNER, J.W.; ADEM, P.V.; SCOTT, J.J.; PADGETT, K.A.; ZAKI, S.R.; EREMEEVA, M.E. *Rickettsia* 364D: a newly recognized cause of eschar-associated illness in California. **Clinical Infectious Diseases**, v. 50, p. 541-548, 2010.

SIGRIST, T. **Avifauna Brasileira**. São Paulo: Avis Brasilis, 2014. 607 p.

SILVA, N.; ERMEEVA, M.E.; ROZENTAL, T.; RIBEIRO, G.S.; PADDOCK, C.D.; RAMOS, E.A.G.; FAVACHO, A.R.M.; REIS, M.G.; DASCH, G.A.; LEMOS, E.R.S.; KO, A.I. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 275-278, 2011.

SILVEIRA, I.; PACHECO, R.C.; SZABO, M.P.; RAMOS, H.G.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, p. 1111–1113, 2007.

SOARES, H.S.; BARBIERI, A.R.M.; MARTINS, T.F.; MINERVINO, A.H.H.; LIMA, J.T.R.; MARCILI, A.; GENNARI, S.M.; LABRUNA, M.B. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, p. 125-140, 2015.

SOCOLOVSKI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group rickettsiae and ixodid ticks. **Veterinary Research**, 40:34, 2009.

SOSMA; INPE. **Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica - Período 2013 – 2014**. São Paulo, 2015. 60p.

SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWALSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.L.; BORBA, R.C.M.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrocharis* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, v. 161, p. 116-121, 2009.

SOUZA, W. **Doenças negligenciadas**. Academia Brasileira de Ciências, 2010. 56p.

SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel spotted fever group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 521-523, 2010.

SPOLIDORIO, M.G.; MINERVINO, A.H.H.; VALADAS, S.Y.O.B.; SOARES, H.S.; NEVES, K.A.L.; LABRUNA, M.B.; RIBEIRO, M.F.B.; GENNARI, S.M. Serosurvey for tick-borne diseases in dogs from the Eastern Amazon, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 214-219, 2013.

SPONCHIADO, J.; MELO, G. L.; MARTINS, T. F.; KRAWCZAK, F. S.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, N. C. Association patterns of ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae, Argasidae) of small mammals in Cerrado fragments, western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, n. 3, p. 389-401, 2015.

STOTZ, D.F.; FITZPATRICK, J.W.; PARKER III, T.A.; MOSKOVITS, D.K. **Neotropical**

birds: ecology and conservation. Chicago: University of Chicago Press, 1996. 502p.

SZABÓ, M.P.J.; TOLESANO-PASCOLI, G.V.; MARÇAL-JUNIOR, O.; FRANCHIN, A.G.; TORGA, K. Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. **Ciência Rural**, v.38, n. 2, p. 543-545, 2008.

SZABÓ, M.P.J.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 3, article 27, p. 1-9, 2013a.

SZABO, M.P.J.; NIERI-BASTOS, F.A.; SPOLIDORIO, M.G.; MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v. 140, p. 719-728, 2013b.

TAMEKUNI, K.; TOLETO, R.S.; SILVA-FILHO, M.F.; HAYDU, V.B.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; DUMLER, J.S.; VIDOTTO, O. Survey of *Rickettsiae* in humans, dogs, horses, and ticks in northern Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1527-1538, 2011.

TOLEDO, R. S.; TAMEKUN, K.; SILVA FILHO, M. F.; HAYDU, V. B.; BARBIERI, A. R. M.; HILTEL, A. C.; PACHECO, R.; LABRUNA, M. B.; DUMLER, J. S.; VIDOTTO, O. Infection by spotted fever *Rickettsiae* in people, dogs, horses and ticks in Londrina, Parana State, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 58, n. 6, p. 416-423, 2011.

TOLESANO-PASCOLI, G. V.; TORGA, K.; FRANCHIN, A. G.; OGRZEWALSKA, M.; GERARDI, M.; OLEGARIO, M. M. M.; LABRUNA, M. B.; SZABO, M. P. J.; MARCAL, O. Ticks on birds in a forest fragment of Brazilian Cerrado (Savanna) in the municipality of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 244-248, 2010.

TOLESANO-PASCOLI, G.; GARCIA, F. I.; GOMES, C. R. G.; DINIZ, K. A.; ONOFRIO, V. C.; VENZAL, J. M.; SZABÓ, M. P. J. Ticks (Acari: Ixodidae) on swifts (Apodiformes: Apodidae) in Minas Gerais, southeastern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 64, n. 2, p. 259-263, 2014.

TSUI, P.Y.; TSAI, K.H.; WENG, M.H.; HUNG, Y.W.; LIU, Y.T.; HU, K.Y.; LIEN, J.C.; LIN, P.R.; SHAI, M.F.; WANG, H.C.; JI, D.D. Detection and characterization of spotted fever group *Rickettsiae* in Taiwan. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 77, n. 5, p. 883-890, 2007.

VENZAL, J.M.; PORTILLO, A.; ESTRADA-PEÑA, A.; CASTRO, O.; CABRERA, P.A.; OTEO, J.A. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 8, p. 1493-1495, 2004.

WEINERT, L.A.; WERREN, J.H.; AEBI, A.; STONE, N.G.; JIGGINS, F.M. Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. **BioMed Central Biology**, v. 7, n. 6, p.1-15, 2009.

WIDMER, C.E.; AZEVEDO, F.C.C.; ALMEIDA, A.P.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Tick-borne bacteria in free-living jaguars (*Panthera onça*) in Pantanal, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 8, p. 1001-1005, 2011.

WIKSWO, M.E.; HU, R.; DASCH, G.A.; KRUEGER, L.; ARUGAY, A.; JONES, K.; HESS, B.; BENNETT, S.; KRAMER, V.; EREMEEVA, M.E. Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in Dermacentor species from southern California. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 3, p. 509-516, 2008.

WITTER, R.; MARTINS, T.F.; CAMPOS, A.K.; MELO, A.L.T.; CORRÊA, S.H.R.; MORGADO, T. O.; WOLF, R.W.; MAY-JÚNIOR, J.A.; SINKOC, A.L.; STRUSSMANN, C.; AGUIAR, D.M.; ROSSI, R.V.; SEMEDO, T.B.F.; CAMPOS, Z.; DESBIEZ, A.L.J.; LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) of wild animals in midwestern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 415-423, 2015.

WOLF, R.W.; ARAGONA, M.; MUÑOZ-LEAL, S.; PINTO, L.B.; MELO, A.L.T.; BRAGA, I.A.; COSTA, J.S.; MARTINS, T.F.; MARCILI, A.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 449-456, 2016.

ZERINGÓTA, V.; MATURANO, R.; SANTOLIN, Í.D.; MCINTOSH, D.; FAMADAS, K.M.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L. New host records of *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) on birds in Brazil. **Parasitology Research**, v. 115, n. 5, p. 2107-2110, 2016.

ANEXOS

ANEXO A - Artigo publicado: Zeringóta, V., Maturano, R., Santolin, Í.D., McIntosh, D., Famadas, K.M., Daemon, E., Faccini, J.L.H., 2016. New host records of *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) on birds in Brazil. *Parasitology Research*, v. 115, p. 2107-2110. 44

ANEXO B - Artigo publicado: Zeringóta, V., Maturano, R., Luz, H.R., Senra, T.O.S., Daemon, E., Faccini, J.L.H., McIntosh, D., 2017. Molecular detection of *Rickettsia rhipicephali* and other spotted fever group *Rickettsia* species in *Amblyomma* ticks infesting wild birds in the state of Minas Gerais, Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, v.8, p. 81-89. 45

ANEXO C - Lista com as sessenta e nove espécimes de aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, infestadas com carrapatos (larvas e/ou ninfas), infectadas ou não por espécies de *Rickettsia*. Cada linha representa um espécime de ave. Aca- *Amblyomma calcaratum*, Alo- *Amblyomma longirostre*, Apa- *Amblyomma parkeri*, ANa- *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Hle- *Haemaphysalis leporispalustris*, *-ninfas. 46

New host records of *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) on birds in Brazil

Viviane Zeringóta¹ & Ralph Maturano¹ & Ísis Daniele Alves Costa Santolin¹ & Douglas McIntosh¹ & Kátia Maria Famadas¹ & Erik Daemon² & João Luiz Horacio Faccini¹

Received: 26 January 2016 / Accepted: 1 March 2016
Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

Abstract Birds are an important component of the life histories and bioecology of a number of tick species and of some tick associated pathogens. An examination of the data concerning bird/tick associations in the Neotropics, showed that the tick *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) was rarely recorded infesting birds. The current study reports parasitism by *H. leporispalustris* in wild birds collected from Atlantic rain forest environments in the states of Rio de Janeiro (4LL) and Minas Gerais (17LL, 1NN), Brazil. All ticks were identified morphologically to the genus level; total DNA was extracted from each *Haemaphysalis* tick and examined by PCR and nucleotide sequencing of fragments of the eukaryotic genes encoding 16S rRNA and 12S rRNA. The bird species *Arremon semitorquatus*, *Corythopsis delalandi*, *Fluvicola nengeta*, *Troglodytes musculus*, and *Volatinia jacarina* were recorded as hosts for *H. leporispalustris* for the first time in South America, and *Turdus rufiventris* represented a new record for Brazil.

Keywords Passeriformes · Rabbit tick · Brazil · PCR

* Viviane Zeringóta
vivianeZR@yahoo.com.br

¹ Program in Veterinary Sciences, Parasitology Animal Department, Rio de Janeiro Federal Rural University, UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil

² Program in Animal Behavior and Biology, Juiz de Fora Federal University, UFJF, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil

Introduction

The genus *Haemaphysalis* comprises 167 known species, but only three occur in the Neotropical Region: *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley, 1946, *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) and *Haemaphysalis cinnabarina* Koch, 1844; the first two with reports of human infestations (Cooley 1946; Harrison et al. 1997; Guglielmone et al. 2006; Bermudez et al. 2012; Guglielmone et al. 2014). These species are three-host ticks, with immatures reported as feeding on small mammals and birds, and adults feeding on larger mammals (Samuel et al. 2001).

Haemaphysalis leporispalustris is widely distributed throughout the Americas, with species of wild rabbits and hares related as the main hosts for all developmental stages (Guglielmone et al. 2014). However, based on observations from Argentina (Beldomenico et al. 2003; Flores et al. 2014) and the USA (Mukherjee et al. 2014; Schneider et al. 2015), immature stages of this tick can parasitize birds as alternative hosts. In Brazil there exists a single confirmed report of this tick in association with birds in the South-Eastern state of São Paulo (Ogrzewalska et al. 2012), but this may simply reflect the limited number of surveys conducted to date on bird-tick associations (Luz and Faccini 2013).

The host relationships of *H. leporispalustris* is relevant due mainly to the possibility that this tick may be involved in maintaining and disseminating pathogens including the etiological agent of rocky mountain spotted fever (RMSF) *Rickettsia rickettsii* (Parker et al. 1951; Fuentes et al. 1985; Parola 2007; Hun et al. 2008), *Rickettsia parkeri* (Henning et al. 2014), *Rickettsia bellii* and *Rickettsia canadensis* (Parola et al. 2013), *Borrelia burgdorferi* (Banerjee et al. 1995), *Babesia* sp. (Yabley et al. 2006), *Anaplasma bovis* (Goethert and Telford 2003), and *Anaplasma phagocytophilum* (Schmitz et al. 2014). Furthermore, this tick

Contents lists available at [ScienceDirect](http://www.elsevier.com/locate/tbdis)

Ticks and Tick-borne Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/tbdis

Original article

Molecular detection of *Rickettsia rhipicephali* and other spotted fever group *Rickettsia* species in *Amblyomma* ticks infesting wild birds in the state of Minas Gerais, Brazil



Viviane Zeringóta^{a,*}, Ralph Maturano^a, Hermes Ribeiro Luz^a,
Tatiane Oliveira Souza Senra^a, Erik Daemon^b, João Luiz Horacio Faccini^a,
Douglas McIntosh^a

^a Programa de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil

^b Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, UFJF, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

a r t i c l e i n f o

Article history:

Received 15 June 2016
Received in revised form
23 September 2016
Accepted 5 October 2016
Available online 6 October 2016

Keywords:

Passeriformes
Rickettsiosis
Ixodidae
Atlantic forest
Amblyomma sp. haplotype Nazaré

a b s t r a c t

The current study evaluated parasitism of wild birds by ticks in a fragment of Atlantic Forest in the state of Minas Gerais, Brazil, and examined the ticks for rickettsial agents. Birds were captured during 2014 and 2015 and ticks were identified by sequencing fragments of the 16S and 12S ribosomal DNA. Among 260 birds representing 19 families and 52 species, a total of 69 (26.5%) were found to be infested by larvae (LL) and/or nymphs (NN) of *Amblyomma longirostre* (Koch, 1844) (45 LL, 4 NN), *Amblyomma calcaratum* Neumann, 1899 (9 LL, 15 NN), *Amblyomma nodosum* Neumann, 1899 (2 NN), *Amblyomma parkeri* Fonseca and Aragão, 1952 (21 LL), *Amblyomma* sp. haplotype Nazaré (77 LL), and *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) (17 LL, 1 NN). The use of PCR and sequencing of the rickettsial genes *gltA*, *htrA*, *ompA* and *ompB*, revealed the presence of “*Candidatus* Rickettsia amblyommii” in *A. longirostre* (13/49; 26%) and *Rickettsia parkeri* (strain ApPR) in both *A. parkeri* (1/21; 5%) and haplotype Nazaré (42/77; 55%) ticks. In addition, we detected *Rickettsia rhipicephali* in 31 (40%) of the 77 haplotype Nazaré ticks. This is the first record of this rickettsial agent in a species of the genus *Amblyomma*. The pathogenic potential of this bacterium is undetermined, but the unprecedented association with *Amblyomma* ticks may represent a cause for concern for public and/or animal health.

© 2016 Elsevier GmbH. All rights reserved.

1. Introduction

The study of parasitism of birds by ticks in Brazil has gathered steady momentum during the last fifteen years, with surveys conducted in different biomes including the Amazon Forest, Atlantic Forest, Cerrado and Pantanal (Luz and Faccini, 2013; Ramos et al., 2015; Ogrzewalska and Pinter, 2016). However, it would be fair to state, that given the enormous area covered by these habitats and the extreme biodiversity including 1919 species of birds registered

in Brazil (Piacentini et al., 2015), our knowledge of this topic should be considered as a work in progress.

The Atlantic Forest contains a vast diversity of species and even with its greatly reduced vegetation cover (SOSMA and INPE, 2015) is home to over 20,000 species of plants, 280 amphibians, 200 types of reptiles (Campanili and Prochnow, 2006), 298 mammalian species, of which 90 are endemic (Paglia et al., 2012) and 891 bird species of which 213 are classified as endemic (Lima, 2014). One of the consequences of deforestation is the greater proximity of humans with wild animals that may act as fortuitous hosts for the native ixodofauna, which may in turn be associated with pathogens. Fragmentation of forest habitats can induce significant effects upon the abundance of ticks (Ogrzewalska et al., 2011a), and the higher the abundance of hosts, the higher the probability that tick populations will expand (Randolph, 2004).

* Corresponding author.

E-mail addresses: vivianeZR@yahoo.com.br (V. Zeringóta), ralphmaturano@gmail.com (R. Maturano), hermesluz@globomail.com (H.R. Luz), senra.tatiane@gmail.com (T.O.S. Senra), erik.daemon@ufjf.edu.br (E. Daemon), jlhfacchini@globo.com (J.L.H. Faccini), pus972@yahoo.co.uk (D. McIntosh).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.tbdis.2016.10.001>
1877-959X/© 2016 Elsevier GmbH. All rights reserved.

ANEXO C

Lista com as sessenta e nove espécimes de aves capturadas no Jardim Botânico da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, infestadas com carrapatos (larvas e/ou ninfas), infectadas ou não por espécies de *Rickettsia*. Cada linha representa um espécime de ave. Aca- *Amblyomma calcaratum*, Alo- *Amblyomma longirostre*, Apa- *Amblyomma parkeri*, ANa- *Amblyomma* sp. haplótipo Nazaré, Hle- *Haemaphysalis leporispalustris*, *-ninfas.

Espécies de aves	Números de carrapatos	Espécies de carrapatos	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>	Negativo
<i>Cyanoloxia brissonii</i>	2	Alo				1*
		ANa		1		
<i>Conopophaga lineata</i>	2	ANa		1		
		Aca				1*
<i>Sittasomus griseicapillus</i>	3	ANa		3		
	1	Apa				1
	1	Alo				1
	6	Alo				6
	8	Alo				8
	1	Alo				1
	1	ANa		1		
<i>Xiphorhynchus fuscus</i>	1	ANa	1			
	5	ANa	5			
	1	Alo				1
	1	Alo				1
<i>Synallaxis ruficapilla</i>	1	Alo				1
<i>Basileuterus culicivorus</i>	1	Alo			1	
	1	ANa		1		
<i>Arremon semitorquatus</i>	2	Hl				1, 1*
	3	Hl				3
	1	Hl				1
<i>Platyrrinchus mystaceus</i>	2	Aca				2
	6	ANa	3	3		
	1	Alo			1	
	4	Alo				4
<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	2	Alo				1
		ANa		1		
<i>Corythopsis delalandi</i>	1	Hl				1
<i>Mionectes rufiventris</i>	2	Alo				2
	1	Alo			1	
<i>Poecilatriccus plumbeiceps</i>	1	Aca				1
<i>Pyriglena leucoptera</i>	2	ANa		1		
		Aca				1*

Anexo C (Continuação)

Espécies de aves	Números de carrapatos	Espécies de carrapatos	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>	Negativo
<i>Lanio melanops</i>	1	Alo				1
	2	ANa		1		
		Aca				1*
	3	Alo				2
		ANa	1			
	2	Ano				1*
		Alo				1
	10	Apa				10
	1	ANa	1			
	6	Apa				3
		ANa				1
		Aca				2*
	14	Apa	1			2
		Aca				1, 1*
		ANa	2			
	HI				7	
2	Alo					
	ANa	1				
6	ANa			4		
	Aca				1	
					1*	
<i>Tachyphonus coronatus</i>	2	Alo			1	1
	2	ANa	1			
		Alo			1*	
	1	Alo			1*	
	1	ANa				1
	1	ANa	1			
	1	Aca				1*
	1	Aca				1*
	1	Alo				1
	4	ANa	2	1		1
	2	ANa		1		
		Aca				1*
	1	Aca				1*
	5	Alo			2	1
		ANa	1			
		Aca				1*
	1	ANa	1			
1	Alo			1		
18	ANa	6	11	1		
<i>Coereba flaveola</i>	1	Alo			1	

Anexo C (Continuação)

Espécies de aves	Números de carrapatos	Espécies de carrapatos	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia rhipicephali</i>	<i>Rickettsia amblyommatis</i>	Negativo
<i>Tiaris fuliginosus</i>	1	Apa				1
	1	Aca				1*
<i>Troglodytes musculus</i>	1	Aca				1
	3	Aca				3
	5	Apa				3
		Alo				1
		Hl				1
1	Alo				1	
<i>Turdus albicollis</i>	7	ANa	7			
<i>Turdus rufiventris</i>	1	Ano				1*
	1	Aca				1*
	3	Hl				3
	3	ANa	2			
		Aca				1*
1	Alo			1*		
<i>Attila rufus</i>	8	ANa	7	1		
	1	Aca				1
Total	191		43	31	13	104