



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE



Mestrado

FLÁVIO EDUARDO SARAIVA DE ARAÚJO

Dinâmica sazonal de *Amblyomma cajennense* sensu stricto em uma área da Amazônia maranhense.

Área de Concentração:
Saúde e Ambiente.

Linha de Pesquisa:
Saúde Única

São Luís – MA
2023

FLÁVIO EDUARDO SARAIVA DE ARAÚJO

Dinâmica sazonal de *Amblyomma cajennense* sensu stricto em uma área da Amazônia maranhense.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall Agnol

São Luís – MA
2023

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada

Saraiva de Araújo, Flávio Eduardo.

Dinâmica sazonal de *Amblyomma cajennense* sensu stricto em uma Área da Amazônia maranhense / Flávio Eduardo Saraiva de Araújo. - 2023.

69 f.

Coorientador(a): Leonardo Teixeira Dall Agnol.

Orientador(a): Hermes Ribeiro Luz.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Saúde e Ambiente/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luís-MA, 2023.

1. Acari: Ixodidae. 2. Brasil. 3. Dinâmica populacional. 4. Região Amazônica. 5. Rickettsia spp.
I. Ribeiro Luz, Hermes. II. Teixeira Dall Agnol,

FLÁVIO EDUARDO SARAIVA DE ARAÚJO

Dinâmica sazonal de *Amblyomma cajennense* sensu stricto em uma área da Amazônia maranhense.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Federal do Maranhão para obtenção do título de Mestre em Saúde e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz

Coorientador: Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall Agnol

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz

(Orientador - PPGSA/UFMA)

Prof. Dr. Caio Pavão Tavares

(PPGCS/UFMA)

Prof. Dra. Dauana Mesquita Sousa

(PPGCS/UFMA)

Prof. Dr. José Aquino Júnior

(PPGSA/UFMA)

AGRADECIMENTOS

Neste momento de realização acadêmica e pessoal, desejo expressar minha sincera gratidão a todas as pessoas e instituições que tornaram possível a conclusão desta dissertação. Em primeiro lugar, agradeço a Deus por me guiar e me dar a força e a perseverança para enfrentar os desafios que surgiram ao longo desta jornada.

À Universidade Federal do Maranhão (UFMA), minha alma *mater*, estendo minha profunda gratidão. Esta instituição, com seu compromisso com a educação de excelência, proporcionou-me a oportunidade de realizar este estudo. Agradeço a todos os professores e funcionários que contribuíram para minha formação ao longo dos anos.

Minha mãe (*In memoriam*), Maria José Saraiva, merece um agradecimento especial. Seu amor, apoio incondicional e incentivo constante foram a base sólida sobre a qual construí minha trajetória acadêmica. Obrigado por ser minha inspiração.

À minha esposa, Camila Sousa Chagas de Araújo, e aos meus filhos, Sofia Rafaela de Sousa Saraiva, Miguel de Sousa Saraiva e Samir Eduardo de Sousa Saraiva, dedico minha profunda gratidão. Sua paciência, compreensão e apoio inabalável foram fundamentais para que eu pudesse equilibrar os desafios da vida acadêmica com a vida familiar. Seu amor e presença constante são meu maior incentivo.

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz, agradeço por sua orientação sábia, compromisso incansável e paixão pela pesquisa. Sua orientação metódica moldou o desenvolvimento desta dissertação e enriqueceu minha formação acadêmica. Ao Prof. Dr. Leonardo Teixeira Dall Agnol pelos ensinamentos e orientação.

Aos colegas Rafael Nogueira e Carlos Celso pelo apoio nos trabalhos de campo. Ao Laboratório de Controle de Parasitos (LPC), em especial ao professor Dr. Lívio Martins pelo apoio e ensinamentos.

A minha irmã, Vivianne Saraiva de Araújo Almeida, agradeço por seu apoio constante e incentivo ao longo desta jornada. Sua presença e palavras de encorajamento foram inestimáveis.

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, expresso minha gratidão pela expertise que compartilharam e pelo ambiente acadêmico enriquecedor que proporcionaram. Suas aulas e orientações foram fundamentais para minha formação.

Aos meus colegas de turma, agradeço pela troca de conhecimento, amizade e apoio ao longo desta jornada. Juntos, enfrentamos os desafios acadêmicos e construímos valiosas conexões que levaremos para o futuro.

Este trabalho é o resultado de muitos esforços e colaborações, e a todos que contribuíram direta ou indiretamente, meu mais sincero agradecimento. Que nossos caminhos continuem a se cruzar e que continuemos a crescer e aprender juntos.

"O progresso da ciência é alimentado pela curiosidade infindável, pela persistência incansável e pelo compromisso inabalável com a busca incessante do conhecimento."

Ivan Pavlov

RESUMO

O carrapato *Amblyomma cajennense* sensu stricto parasita frequentemente animais silvestres e domésticos, incluindo humanos no bioma Amazônia. Esse ectoparasito é o vetor de *Rickettsia amblyommatis*. No presente estudo investigamos a dinâmica populacional de *A. cajennense* s.s. em uma área degradada do bioma Amazônia, e a presença de riquetsias nesta população de carrapatos. O estudo foi realizado em uma área rural do município de Santa Inês, Estado do Maranhão. Os carrapatos foram coletados no ambiente mensalmente durante 24 meses consecutivos, de junho de 2021 a maio de 2023. A região é caracterizada por duas estações quentes (~26 ° C anual): uma estação chuvosa, de novembro a maio, e uma estação seca, de junho a outubro. Caracterizamos a atividade temporal de *A. cajennense* s.s. na vegetação, examinando a atividade de busca para cada fase da vida (larvas, ninfas, adultos [machos e fêmeas]), em relação à estação seca e chuvosa. Os carrapatos coletados neste estudo foram selecionados aleatoriamente e testados individualmente por um ensaio de PCR em tempo real que teve como alvo um fragmento de 147 pb do gene *gltA* de riquetsia. No geral, foram coletados 1.843 (62,4%) adultos (52,6% fêmeas e 47,4% machos), 1.110 (37,6%) ninfas e 398 aglomerados larvais. Todas as fêmeas adultas, ninfas e larvas foram identificadas morfológicamente como *A. cajennense* s.s. A atividade larval foi observada de abril a dezembro, com pico de junho a setembro (estação seca). O pico de ninfas ocorre de setembro a novembro (período de transição entre as estações seca e chuvosa). Os carrapatos adultos foram abundantes de outubro a maio (primavera/verão/início do outono). A taxa de infecção por *R. amblyommatis* em carrapatos *A. cajennense* s.s. foram de pelo menos 7% (7/99). Nossos dados sugerem um padrão de geração de 1 ano para *A. cajennense* s.s., com sazonalidade bem definida de larvas, ninfas e adultos no bioma Amazônia. Larvas predominando na estação seca, ninfas na transição seca/chuvosa e adultos na estação seca. A presença de *R. amblyommatis* em adultos sugere que animais e humanos na região de estudo correm risco de infecção por este agente riquetsial do grupo da febre maculosa.

Palavras-chaves: Acari: Ixodidae, Brasil, Dinâmica populacional, região Amazônica, *Rickettsia* spp.

ABSTRACT

The *Amblyomma cajennense* sensu stricto tick frequently parasitizes wild and domestic animals, including humans in the Amazon biome. This ectoparasite is the vector of *Rickettsia amblyommatis*. In this study we evaluated the population dynamics of *A. cajennense* s.s. in a degraded area of the Amazon biome, and the presence of rickettsiae in this tick population. The study was carried out in a rural area in the municipality of Santa Inês (altitude: 24 meters), in the state of Maranhão. The ticks were collected from the environment over 24 consecutive months, from June 2021 to May 2023. The region is characterized by two warm seasons (~26 °C annually): a rainy season, from november to may, and a dry season, from june to october. We characterized the temporal activity of *A. cajennense* s.s. in the vegetation, examining the search activity for each life stage (larvae, nymphs, adults [males and females]), in relation to the dry and rainy seasons. The ticks collected in this study were randomly selected and individually tested using a real-time PCR assay that targeted a 147 bp fragment of the rickettsia *gltA* gene. Overall, 1,843 (62.4%) adults (52.6% females and 47.4% males), 1,110 (37.6%) nymphs and 398 larvais clusters were collected. All adult females, nymphs and larvae were morphologically identified as *A. cajennense* s.s. Larval activity was observed from april to december, with a peak from june to september (dry season). The peak of nymphs occurred from september to november (transition period between the dry and rainy seasons). Adult ticks were abundant from october to may (spring/summer/early fall). The *R. amblyommatis* infection rate in *A. cajennense* s.s. ticks was at least 7% (7/99). Our data suggest a 1-year generation pattern for *A. cajennense* s.s., with well-defined seasonality of larvae, nymphs and adults in the Amazon biome. Larvae predominate in the dry season, nymphs in the dry/wet transition and adults in the dry season. The presence of *R. amblyommatis* in adults suggests that animals and humans in the study region are at risk of infection by this rickettsial agent from the spotted fever group.

Keywords: Acari: Ixodidae, Brazil, Population dynamics, Amazon region, *Rickettsia* spp.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Estágios de larva, ninfa e adultos de <i>A. cajennense</i> sensu lato. Fonte: http://www.tickencounter.org/	16
FIGURA 2 - Ciclo de vida de <i>A. cajennense</i> s.l. (DE PAULA <i>et al.</i> 2022)	16
FIGURA 3 - Mapa geopolítico do Brasil, mostrando as localidades de <i>A. cajennense</i> s.s., <i>A. sculptum</i> e <i>A. cajennense</i> s.l. (MARTINS <i>et al.</i> 2014)	17
FIGURA 4 - Distribuição de estudos dinâmicos sazonais de <i>A. cajennense</i> s.l. realizados entre 1990 e 2022 (DE PAULA <i>et al.</i> 2022)	19
FIGURA 5 - Gráfico demonstrando os meses em que ocorreram os números de pico de cada estágio de vida livre do <i>A. cajennense</i> s.l. no Sudeste do Brasil (LUZ <i>et al.</i> 2019; DE PAULA <i>et al.</i> 2022)	20

ARTIGO

FIGURE 1 - Map showing the study area, municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil. Transition area (Eastern Amazon-Cerrado transition area from ~40 to 250 km)	27
FIGURE 2 - Group of capybaras (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>) in the study area. Adults and juveniles (A), adults, juveniles and cubs (B)	28
FIGURE 3 – Temperature (A), Daylight (B) and Rainfall (C) data from the study region (Agritempo/EMBRAPA) (June 2021 to May 2023)	30
FIGURE 4 - Seasonal activity of larvae, nymphs and adults of <i>Amblyomma cajennense</i> sensu stricto in Amazon biome, municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil	33
FIGURE 5 - Average number of individuals collected (dry and rainy seasons) of <i>Amblyomma cajennense</i> sensu stricto in Amazon biome, municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil	34
FIGURE 6 - Pearson's correlation coefficient (<i>r</i>) between number of ticks and precipitation (mm), municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil	35

Sumário

1	INTRODUÇÃO	11
2	JUSTIFICATIVA.....	14
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
4	OBJETIVOS	21
4.1	Objetivo geral.....	21
4.2	Objetivo específico.....	21
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
5.1	CAPITULO 01 - Seasonal dynamics of <i>Amblyomma cajennense</i> (Fabricius, 1787) sensu stricto in a degraded area of the Amazon biome, with notes on <i>Rickettsia amblyommatis</i> infection.....	22
	Abstract	24
5.1.1	Background	25
5.1.2	Methods	26
5.1.2.1	Study Area	26
5.1.2.2	Tick collection	29
5.1.2.3	Molecular detection of rickettsiae.....	30
5.1.2.4	Statistical analyzes.....	31
5.1.3	Results	31
5.1.4	Discussion	35
5.1.5	Conclusion.....	38
	References	39
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	44
	REFERÊNCIAS GERAIS.....	45
	APÊNDICES.....	49
	APÊNDICE A	49
	APÊNDICE B	50
	APÊNDICE C	51

1 INTRODUÇÃO

No Estado do Maranhão a floresta Amazônica ocupa a região oeste e 34% de seu território (81.208,40 km²), abrigando 62 municípios, entre eles Santa Inês (PINHEIRO *et al.*, 2013). Neste bioma, muitos animais domésticos e silvestres são parasitados por carrapatos e atuam como amplificadores e/ou reservatórios de potenciais patógenos que podem ser transmitidos por esses ectoparasitos (GIANIZELA *et al.*, 2018; LUZ *et al.*, 2020). Porém, são raros os estudos sobre a diversidade, agentes patogênicos e bioecologia desses ectoparasitos no bioma amazônico, principalmente no Estado do Maranhão. No Brasil existem ~75 espécies de carrapatos, e destes, um total de 21 espécies já foram registradas no bioma Amazônia. Dentre essas destacam-se *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma oblongoguttatum* e *Amblyomma cajennense* sensu stricto parasitando tanto animais quanto o homem no bioma Amazônia. Sendo *A. cajennense* s.s. é considerada a espécie mais frequente parasitando humanos no bioma Amazônia (LUZ *et al.* 2020).

A espécie *A. cajennense* s.s. faz parte do complexo “*Amblyomma cajennense*” composto por seis espécies, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp., *Amblyomma patinoi* n. sp, *Amblyomma mixtum*, *Amblyomma sculptum* e *A. cajennense* s.s. O carrapato *A. cajennense* s.s. é restrito ao bioma Amazônia e pouco se conhece sobre sua bioecologia. Essa espécie de carrapato parasita uma variedade de animais silvestres e domésticos, sendo seus hospedeiros preferenciais os cavalos (*Equus ferus caballus*), capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e antas (*Tapirus terrestris*). Além disso, é altamente antropofílico e todos os seus estágios (larva, ninfa e adulto) parasitam humanos ao longo de sua distribuição (LUZ *et al.* 2020).

A relevância de *A. cajennense* s. s. para a saúde de animais e seres humanos constitui uma área que requer uma investigação mais aprofundada. Devido à sua capacidade de parasitar uma ampla variedade de hospedeiros, abrangendo tanto animais domésticos quanto seres humanos, esse ectoparasito figura na lista de espécies de carrapatos que apresentam um potencial risco para a saúde de ambos os grupos no bioma Amazônia. É relevante notar que essa espécie de carrapato é reconhecida como o principal vetor da bactéria *Rickettsia amblyommatis* em vertebrados nas Américas, pertencente ao Grupo Febre Maculosa, cuja patogenicidade permanece desconhecida (PAROLA *et al.*, 2013). No entanto, vale ressaltar que alguns casos de Febre Maculosa nos Estados Unidos foram associados a esse agente, embora sem consequências letais (PAROLA *et al.*, 2013). Em pesquisas anteriores realizadas no bioma Amazônia, a taxa de infecção de *R. amblyommatis* em *A. cajennense* s.s. variou de 10% a 100%

(RICHARDSON *et al.*, 2023). Em virtude disso, a compreensão da bioecologia desse vetor potencial no bioma Amazônia assume uma importância crucial do ponto de vista da saúde única, pois pode contribuir de maneira direta e/ou indireta para o estabelecimento de diretrizes relativas ao controle desses ectoparasitos. Além disso, pode auxiliar na previsão de possíveis focos de transmissão de agentes patogênicos para animais e seres humanos dentro desse ecossistema.

As riquetsias transmitidas por carrapatos causam doenças em animais e humanos em todo o mundo (PAROLA *et al.*, 2013). No Brasil, esses patógenos causam a febre maculosa brasileira (FMB) em humanos, uma doença febril contagiosa com mortalidade variável (LABRUNA *et al.*, 2011; PAROLA *et al.*, 2013). Existem quatro cenários epidemiológicos distintos da FMB no país: Um primeiro cenário, e mais importante, é na região Sudeste do Brasil, onde ocorrem elevados índices de letalidade humana, causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* e transmitida pelo carrapato *Amblyomma sculptum* em área rural (por exemplo, interior do Estado de São Paulo). Um segundo cenário na região metropolitana de São Paulo, também por *R. rickettsii* e transmitida pelo carrapato *Amblyomma aureolatum*. Ainda no Sudeste, um terceiro cenário de uma FMB, não letal, causada por *Rickettsia parkeri*, e transmitida pelo carrapato *Amblyomma ovale* em regiões de baixa altitude na Mata Atlântica. Um quarto cenário na Região Sul do Brasil, também por *R. parkeri* transmitida pelo carrapato *Amblyomma tigrinum* (FACCINI-MARTÍNEZ *et al.* 2018; LUZ *et al.* 2019).

Todos esses cenários epidemiológicos da FMB estão intrinsecamente ligados à presença e à dinâmica populacional dos carrapatos vetores, às variáveis ecológicas e à abundância de hospedeiros reservatórios e amplificadores no ciclo natural das riquetsias. Devido a essas variáveis, a FMB causada por *R. rickettsii* apresenta um padrão sazonal, com o maior número de casos ocorrendo entre setembro e novembro (LUZ *et al.* 2019). Esse perfil sazonal está diretamente associado ao comportamento sazonal dos diferentes estágios do vetor *A. sculptum*, sendo as ninfas o estágio mais relevante na transmissão da FMB. Nas áreas endêmicas da FMB, as ninfas de *A. sculptum* predominam principalmente entre setembro e novembro, os adultos são mais comuns entre janeiro e abril, e as larvas são mais abundantes de maio a julho (LABRUNA *et al.*, 2002; LUZ *et al.*, 2019). Portanto, os resultados do estudo da bioecologia desse vetor na região são atualmente considerados como a principal ferramenta para o controle desse ectoparasito e, por conseguinte, para a prevenção da FMB.

No Estado do Maranhão, têm sido comunicadas notificações da Febre Maculosa Brasileira (FMB), embora sua confirmação ainda esteja cercada por incertezas, indicando

possíveis lacunas na investigação. O Ministério da Saúde identificou áreas no Estado onde a doença não foi oficialmente registrada, suscitando dúvidas sobre a possível ocorrência de casos falsos positivos pelo MS (OLIVEIRA *et al.*, 2016), inclusive no município de Santa Inês. Mesmo sem uma confirmação definitiva, a presença de evidências aponta para a necessidade de monitoramento dos potenciais vetores, com destaque para *A. cajennense* s. s. Dessa forma, este estudo foi realizado com o propósito de investigar a bioecologia de *A. cajennense* s.s. no bioma Amazônia e detectar a presença da bactéria *Rickettsia* sp. nesses ectoparasitos.

2 JUSTIFICATIVA

Considerando a correlação entre o surgimento de novos patógenos humanos com a destruição de habitats naturais ricos em biodiversidade, alguns estudos apontam o bioma Amazônia como o provável berço para a próxima pandemia ou surgimento de surtos de novas doenças (VIEIRA *et al.*, 2022). Contudo, avaliações de vetores e seus agentes são escassos neste bioma, particularmente no grupo dos carrapatos. Dentre as espécies de carrapatos antropofílicos nesses biomas, *A. cajennense* s.s. tem chamado atenção pelos inúmeros registros parasitando humanos e animais de companhia. Além disso, é frequente a infecção por *R. amblyommatis* nesse ixodídeo no bioma Amazônia. Embora seja um agente ainda de patogenicidade desconhecida, o monitoramento do vetor desse agente é necessário como prevenção de possíveis surtos de rickettsiose humana na Amazônia.

No Estado do Maranhão existem notificações da FMB, porém ainda duvidosos ou sem confirmação, o que pode indicar lacunas de investigação tanto do agente quanto do vetor. Isso levou o Ministério da Saúde a identificar inúmeras áreas silenciosas no Estado do Maranhão (OLIVEIRA *et al.*, 2016), incluindo o município de Santa Inês. Estudos prévios pela equipe do presente estudo, mostraram que *A. cajennense* s.s. era abundante neste município e frequentemente associado com capivaras, principal amplificador de *Rickettsia rickettsii*. O município de Santa Inês, apresentam o mesmo cenário eco- epidemiológico de uma área endêmica para FM, com populações de capivaras mantendo elevadas infestações de carrapatos no ambiente (QUEIROGAS *et al.*, 2012; LUZ *et al.* 2019), porém, até o momento, não existem estudos sobre a ligação dos carrapatos, *Rickettsia* spp. e capivaras em todo Estado do Maranhão, bem como a dinâmica populacional destes vetores.

Uma vez que *A. cajennense* s.s. possui baixa especificidade, elevada antropofilia e possível competência na transmissão de agentes rickettsiais, estudos que ajudem apreender as lacunas reportadas anteriormente, são necessários. Com acelerado desmatamento do bioma Amazônia, é possível que este carrapato se torne um sério problema de saúde única no Estado do Maranhão, especialmente em áreas modificadas pelo homem. Além disso, não existem estudos sobre a dinâmica populacional de carrapatos vetores no bioma Amazônia. Os resultados obtidos no atual projeto serão úteis para medidas controle deste ixodídeo, auxiliando na prevenção de possíveis doenças para animais domésticos e o homem, como as rickettsioses.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

Carrapatos são artrópodes de comportamento hematófago e distribuição cosmopolita. Parasitam uma variedade de vertebrados como mamíferos, répteis, anfíbios e aves (KWAK *et al.*, 2020; SONENSHINE & ROE, 2014). Atualmente, são conhecidas 75 espécies de carrapatos no Brasil (MARTINS *et al.*, 2019; 2021; MUÑOZ-LEAL *et al.*, 2020), e mais da metade possui sua bioecologia (ciclo, ecologia, hospedeiros etc.) desconhecida. Deste total, 33 pertencem ao gênero *Amblyomma* que parasitam anfíbios, répteis, aves e mamíferos (DANTAS-TORRES *et al.* 2019). Dentre as espécies desse gênero, *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma cajennense* sensu stricto chamam a atenção por parasitarem animais e humanos no país. As três primeiras espécies são vetores da Febre Maculosa Brasileira (FMB), uma doença de gravidade variável. Portanto, a FMB típica é uma doença infecciosa, febril, aguda e letal quando não tratada (PAROLA *et al.*, 2013). O agente é a bactéria *Rickettsia rickettsii*, e os carrapatos *A. sculptum* e *A. aureolatum* são os vetores (NAVA *et al.* 2014). Uma segunda FMB, não letal, é causada pela *R. parkeri* e o vetor é o carrapato *A. ovale*. Experimentalmente, *A. cajennense* s.s. mostrou competência na transmissão de *R. rickettsii* (SAKAI *et al.*, 2014; SOARES *et al.*, 2012). A bactéria *Rickettsia amblyommatis* é a mais comum em associação com *A. cajennense* s.s., um agente de patogenicidade ainda desconhecida. Contudo, nos Estados Unidos essa bactéria é responsável por casos brandos de FM, portanto é um agente que precisa constantemente ser monitorado. Estudos mostram que no bioma Amazônia de 10 a 100% dos carrapatos *A. cajennense* s.s. estão infectados com *R. amblyommatis*, portanto existem uma alta exposição de animais e humanos a estes agentes nesse bioma (RICHARDSON *et al.* 2023). Adultos de *A. ovale* e *A. aureolatum* parasitam carnívoros silvestres e domésticos, enquanto que larvas e ninfas parasitam aves e pequenos mamíferos, respectivamente. Todos estágios podem parasitar o homem, principalmente adultos (SOARES *et al.*, 2012; GUGLIELMONE *et al.* 2014). O carrapato *A. sculptum* parasitam primariamente equinos e capivaras, mas pode parasitar outros mamíferos e aves silvestres. Todos os estágios parasitam o homem (GUGLIELMONE *et al.* 2014).

Os carrapatos possuem fases evolutivas (ovo, larva, ninfa e adulto). Durante as fases não parasitárias, todo este estágio pode sofrer ação de inúmeras variáveis, incluindo temperatura e umidade (GUGLIELMONE *et al.* 2014). O ciclo biológico de *A. cajennense* s.s. possui quatro estágios de desenvolvimento em seu ciclo biológico, sendo eles: ovo, larva, ninfa e adulto (macho e fêmea) (Figura 1).

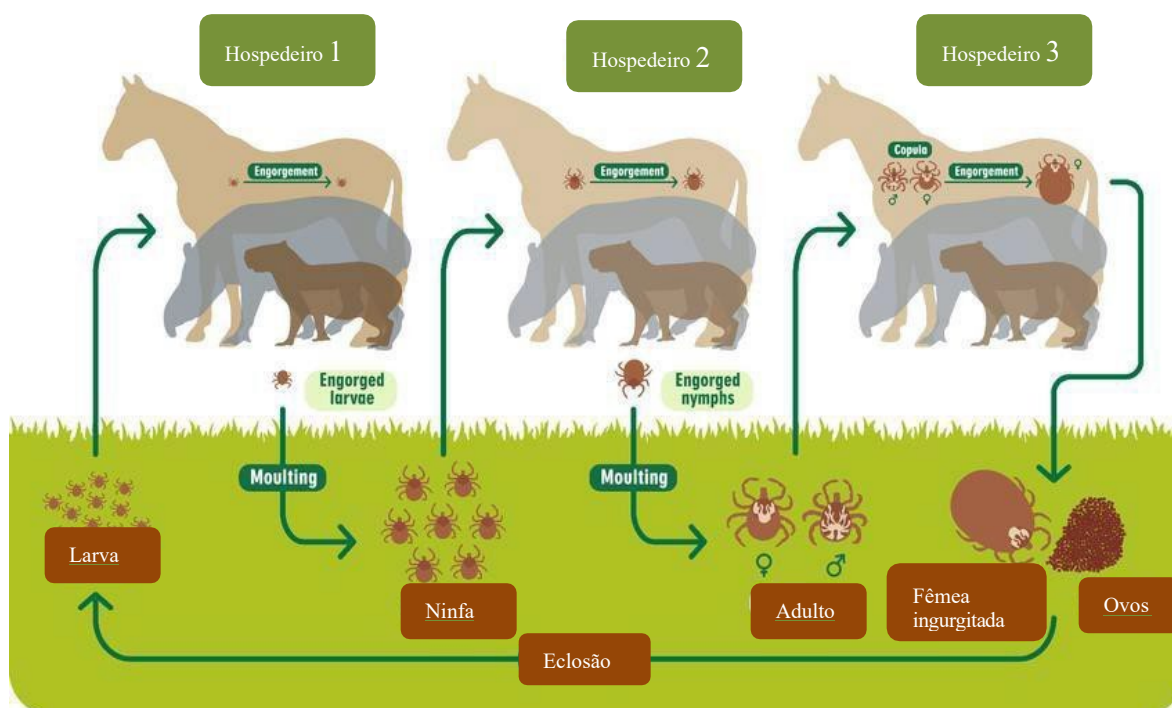
Figura 1 - Estágios de larva, ninfa e adultos de *Amblyomma cajennense* sensu lato.



Fonte: <http://www.tickencounter.org/>

Todos estes estágios podem sofrer ação de inúmeras variáveis, incluindo temperatura e umidade, durante sua fase não parasitária, alterando sua dinâmica populacional (GUGLIELMONE *et al.* 2014). Seu ciclo de vida é trioxeno, necessitando de três hospedeiros para desenvolvimento completo na natureza (Figura 2).

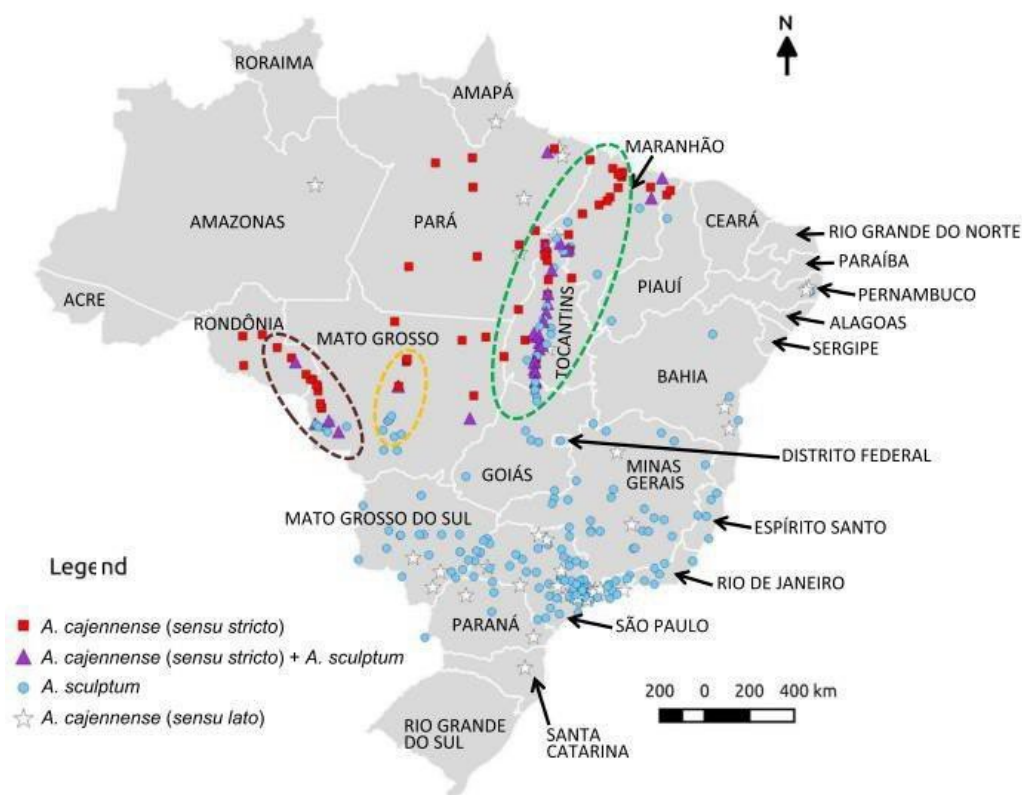
Figura 2 - Ciclo de vida de *Amblyomma cajennense* sensu lato. (DE PAULA *et al.* 2022).



O ciclo biológico se inicia quando a fêmea se alimenta dos hospedeiros, ingurgita e se desprende do animal e caindo no solo para realizar a postura dos ovos em aproximadamente 15 a 20 dias. Uma única fêmea de *A. cajennense* s.l. ovipõe cerca de cinco a oito mil ovos e a incubação dos ovos dura aproximadamente 30 dias. Após a eclosão, as larvas se fixam a um hospedeiro suscetível para iniciarem o ingurgitamento que dura de 3 a 6 dias, caem ao solo e realizam a muda para o estágio de ninfa. As ninfas se fixam a outro hospedeiro também para ingurgitamento e, após um período de 5 a 7 dias, se desprendem, caem ao solo realizando muda para adultos, se diferenciando em macho e fêmea. Estes (macho e a fêmea) realizam a cópula e, após completarem o repasto sanguíneo (5 a 7 dias), as fêmeas ingurgitadas caem ao solo, ovipõem e iniciam um novo ciclo. O ciclo apresenta sazonalidade e necessita de um ano para o desenvolvimento de uma geração (DE PAULA *et al.* 2022).

O complexo *Amblyomma cajennense* está distribuído na região Neotropical, do sul dos EUA (estados do Texas e Florida) ao norte da Argentina (BATTESTI *et al.* 2006). No Brasil, Martins (2014) o complexo engloba duas espécies, *A. cajennense* s. s., encontrada no bioma Amazônia (Norte, Nordeste e Centro-Oeste), e a espécie *A. sculptum*, a única do complexo descrita no restante do país (Figura 3).

Figura 3 - Mapa geopolítico do Brasil, mostrando as localidades de *Amblyomma cajennense* (sensu stricto), *A. sculptum* e *A. cajennense* (sensu lato) (MARTINS *et al.* 2014).

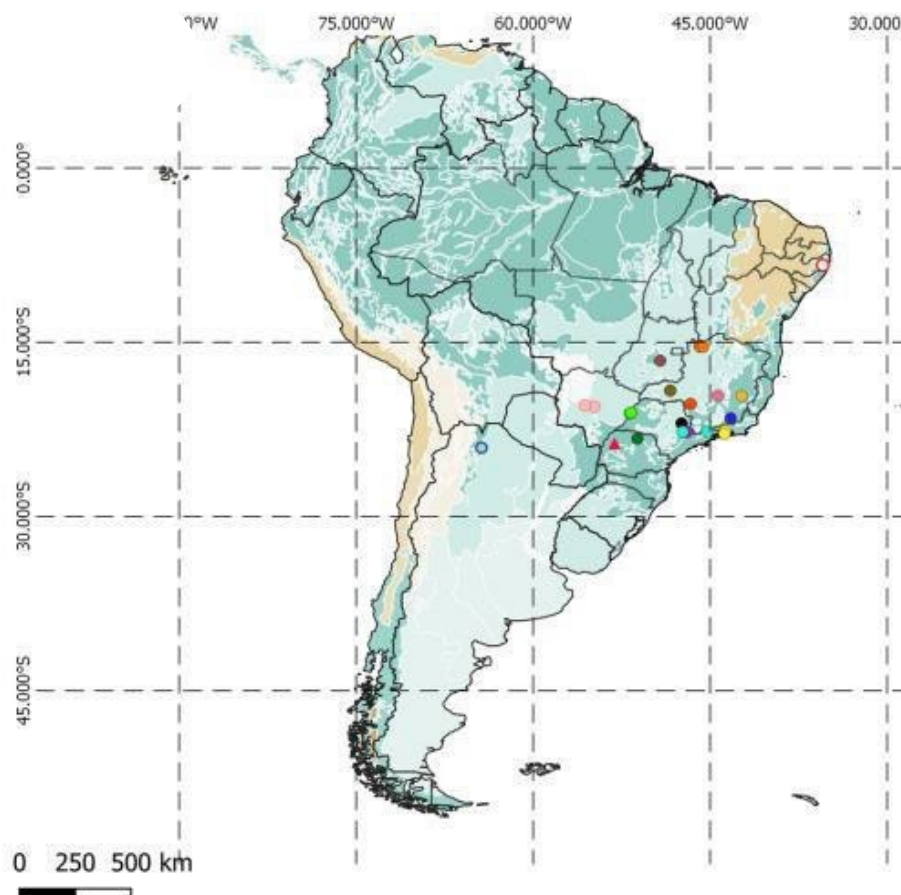


No bioma Amazônia, *A. cajennense* s.s. é encontrado em alta prevalência em área de mata preservada ou/é antropizada, o que facilita o encontro dessa espécie com uma variedade de hospedeiros e humanos. Essa alta prevalência se deve, principalmente, à disponibilidade de hospedeiros susceptíveis, como mamíferos e aves (LUZ *et al.* 2020). Assim, como sua espécie “irmã” (*A. sculptum*), *A. cajennense* s.s. possui um comportamento agressivo na busca por hospedeiro, que mistura procura ativa e acesso ao hospedeiro por “emboscada”, e a alta capacidade de deslocamento (NATIVIDADE *et al.*, 2021; RAMOS *et al.*, 2017; LUZ *et al.* 2020).

Adultos de *A. cajennense* s.s. são frequentes parasitando capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), equinos (*Equus ferus caballus*) e anta (*Tapirus terrestris*). Também possui registros em *Sus scrofa* (Javali), *Caluromys philander* (Saruê), *Cerdocyon thous* (Graxaim ou Cachorro-do-mato), *Didelphis marsupialis* (Gambá), *Dasyprocta azarae* (Mão-pelada), *Mazama gouazoubira* (Veado-catingueiro), *Metachirus nudicaudatus* (Cuica), *Myrmecophaga tridactyla* (Tamanduá-bandeira), *Nasua nasua* – (Quati), *Panthera onca* (Onça-pintada), *Pecari tajacu* (Queixada ou Cateto), *Tayassu pecari* (Queixada ou Cateto), *Bubalus bubalis* (Búfalo), *Canis familiaris* (cão doméstico). Existe também o parasitismo no animal semiaquático *Pteronura brasiliensis* (Ariranha). E aves essa espécie já foi registrada em *Harpia harpyja* (Harpia), *Cariama cristata* (Seriema) e *Penelope superciliaris* (Jacuaçu). Além dos inúmeros registros parasitando humanos no bioma Amazônia (LUZ *et al.* 2020). Se considerarmos a elevada diversidade de vertebrados do bioma Amazônia, ainda existem inúmeras outras associações com outras espécies de hospedeiros para serem descobertas nesse bioma. O carrapato *A. cajennense* s.s. é bastante inespecífico, portanto, a lista citada acima pode ser subestimada.

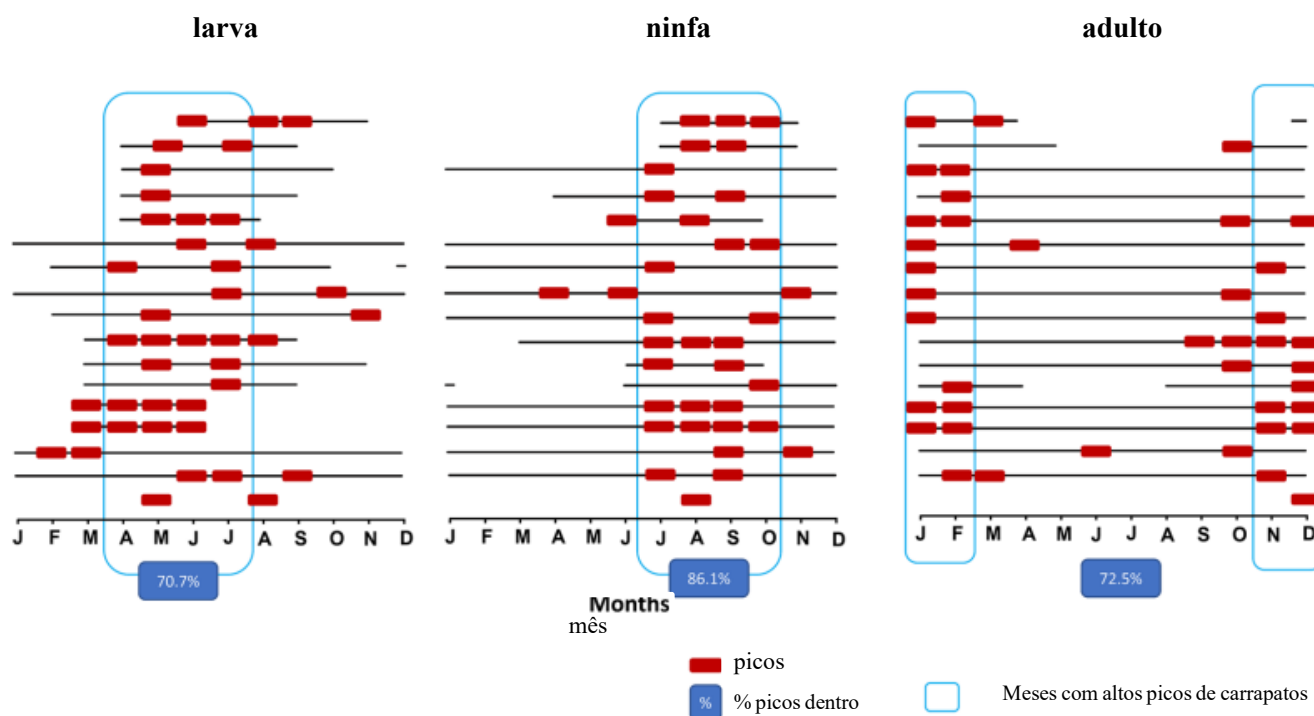
É importante ressaltar que até estudo de Nava *et al.* (2014), os trabalhos publicados sobre *A. sculptum* são referidos a *Amblyomma cajennense* sensu lato. Portanto, vários estudos foram feitos sobre a sazonalidade de *A. cajennense* sensu lato na natureza, porém a grande maioria no sudeste do Brasil (DE PAULA *et al.* 2022). Por outro lado, esse tipo de estudo é escasso ou inexistem nas regiões do nordeste, centro-oeste e sul do Brasil. Mais de 30% desses estudos na região Sudeste foram próximos ou em áreas com casos notificados ou confirmados de riquetsioses humanas, ou com circulação confirmada de *Rickettsia* spp. Essa região concentra ~ 80% dos casos de FM no Brasil, principalmente São Paulo e Minas Gerais (DE PAULA *et al.* 2022) (Figura 4).

Figura 4 - Distribuição de estudos dinâmicos sazonais de *Amblyomma cajennense* sensu lato realizados entre 1990 e 2022 (DE PAULA *et al.* 2022).



Na região sudeste *A. cajennense* s.l. apresenta a sua dinâmica populacional de forma sazonal ao longo do ano. Larvas foram observadas predominando em meados do outono e início do inverno, ninfas durante o inverno e início da primavera; e adultos durante a primavera e verão (Figura 5).

Figura 5 - Gráfico demonstrando os meses em que ocorreram os números de pico de cada estágio de vida livre do *A. cajennense* s.l. no Sudeste do Brasil (LUZ *et al.* 2019; DE PAULA *et al.* 2022).



Na região Nordeste existe um único estudo da dinâmica sazonal de *A. cajennense* s.l., e foi totalmente distinta daqueles publicadas para as demais regiões do Brasil. Nesse estudo, larvas predominaram de janeiro e março, ninfas de outubro a novembro e adulto de junho a julho (DANTAS TORRES *et al.* 2019). Os autores concluem que os resultados podem ter sido mascarados pela baixa quantidade de dados, portanto necessitando de mais estudos. Portanto existe uma carência de estudos da dinâmica populacional de *A. cajennense* s.l. nas regiões nordeste e norte, incluindo o bioma Amazônia.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

- Investigar a bioecologia de *A. cajennense* s.s. no bioma Amazônia e a detecção de *Rickettsia* sp. nesses ectoparasitos.

4.2 Objetivo específico

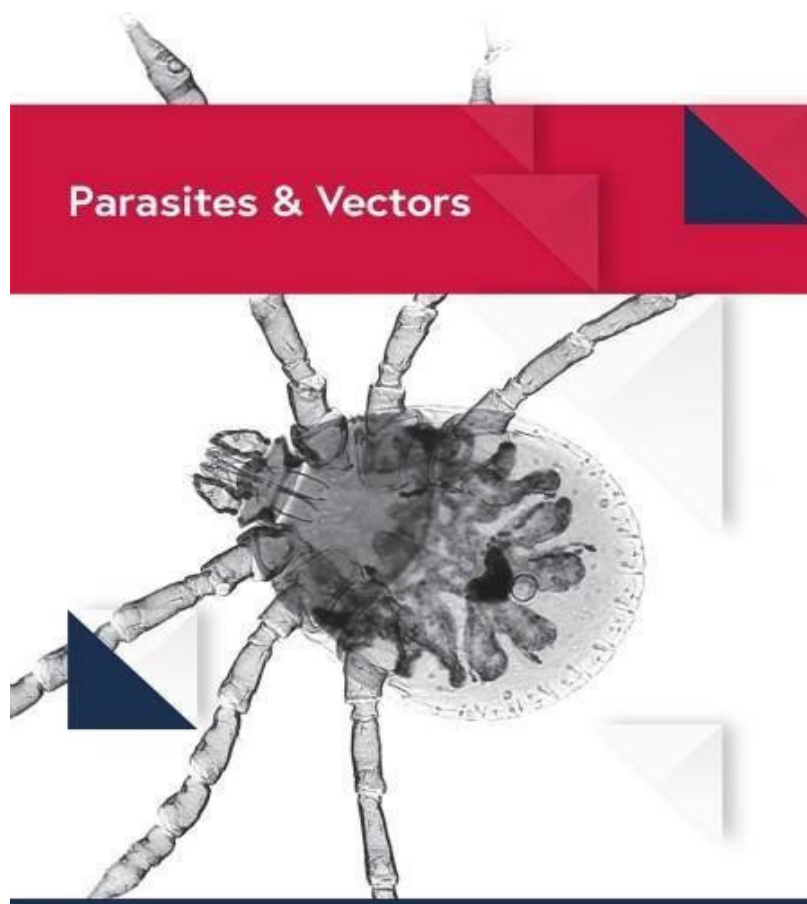
- Identificar o padrão de distribuição dos estágios (larva, ninfa e adultos) de *A. cajennense* s.s. no bioma Amazônia.
- Detectar *Rickettsia* spp. em *A. cajennense* s.s.
- Correlacionar os fatores abióticos que influenciam a distribuição e abundância de *A. cajennense* s.s. no bioma Amazônia.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CAPITULO 01 - Seasonal dynamics of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) sensu stricto in a degraded area of the Amazon biome, with notes on *Rickettsia amblyommatis* infection

PUBLICADO:

Impact Factor 3.8



Seasonal dynamics of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) sensu stricto in a degraded area of the Amazon biome, with notes on *Rickettsia amblyommatis* infection

Flávio Eduardo Saraiva de Araújo¹, Thiago Fernandes Martins^{2,3}, Carlos Celso Mendonça Ramos⁴, Rafael Michael Silva Nogueira¹, João Luiz Horacio Faccini⁵, Mariana Avelar Tavares⁶, Nicolas Jalowitzki de Lima⁶, Carlos Eduardo Bezerra Junior⁷, Filipe Dantas-Torres^{8,9}, Felipe Silva Krawczak⁶, Livio Martins Costa-Junior¹⁰, Marcelo Bahia Labruna³, Leonardo Teixeira DallAgnol¹, Hermes Ribeiro Luz^{1,10*}

¹Post-Graduation Program in Health and Environment, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

²Pasteur Institute, São Paulo State Department of Health, São Paulo, SP, Brazil

³Department of Preventive Veterinary Medicine and Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, University of São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴Post-Graduation Program in Animal Health Defense, State University of Maranhão, Maranhão, Brazil

⁵Post-Graduation Program in Health Sciences from the Center of Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

⁶Veterinary and Animal Science School, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

⁷Post-Graduation Program in Biodiversity and Conservation from the Center of Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

⁸Department of Immunology, Ageu Magalhães Institute, Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Recife, PE, Brazil

⁹Department of Veterinary Medicine, University of Bari, Valenzano, Italy

¹⁰Post-Graduation Program in Northeast Biotechnology Network (RENORBIO), Biodiversity and Conservation from the Center of Biological and Health Sciences, Federal University of Maranhão, São Luís, MA, Brazil

Corresponding author.

E-mail address: hermes.luz@ufma.br (H.R. Luz).

Abstract

Background: The tick *Amblyomma cajennense* sensu stricto (s.s.) frequently parasitizes animals and humans in the Amazon biome, in addition to being the vector of *Rickettsia amblyommatis*. In the present study, we evaluated the population dynamics of *A. cajennense* s.s. in a degraded area of the Amazon biome, and the presence of rickettsial organisms in this tick population.

Methods: The study was carried out in a rural area of the Santa Inês municipality (altitude: 24 meters), Maranhão state. Ticks were collected from the environment during 24 consecutive months, from June 2021 to May 2023. The region is characterized by two warm seasons: a rainy season from November to May, and a dry season from June to October. We characterized the temporal activity of *A. cajennense* s.s. on the vegetation, by examining questing activity for each life stage (larvae, nymphs, adults [males and females]), in relation to the dry and rainy season. Ticks collected in this study, were randomly selected and individually tested by a TaqMan real-time PCR assay that targeted a 147-bp fragment of the rickettsial *gltA* gene.

Results: Overall, 1,843 (62.4%) adults (52.6% females and 47.4% males), 1,110 (37.6%) nymphs and 398 larval clusters were collected. All adult females and nymphs were morphologically identified as *A. cajennense* s.s. Larval activity was observed from April to December, with a peak from June to September (dry season). Nymphs peaked from September to November (transition period between dry and rainy seasons). Adult ticks were abundant from October to May (spring/summer/early autumn). The infection rate by *R. amblyommatis* in *A. cajennense* s.s. ticks were at least 7% (7/99).

Conclusion: Our data suggest a 1-year generation pattern for *A. cajennense* s.s., with a well-defined seasonality of larvae, nymphs and adults in the Amazon biome. Larvae predominating during the dry season, nymphs in the dry/rainy transition and adults in the dry season. The presence of *R. amblyommatis* in adults suggest that animals and humans in the study region are at risks of infection by this spotted fever group rickettsial agent.

Keywords: Acari: Ixodidae, Population dynamics, *Rickettsia* spp., Amazon region, Brazil

5.1.1 Background

The transmission dynamics of tick-borne diseases, such as Lyme disease and spotted fevers, involve complex eco-epidemiological interactions between their causative pathogens, their tick vectors, the environment, and populations of susceptible hosts [1, 2, 3, 4]. The abundance and seasonal distribution of ticks (larvae, nymphs and adults) play a major role in the epidemiology of tick-borne diseases, especially in anthropized areas (e.g., under deforestation) [1, 5, 6, 7]. Therefore, studies that evaluate these variables can contribute to mitigate possible factors that could increase the risk of such diseases to animals and humans [8]. For example, the incidence of Lyme disease is strongly linked to the seasonal pattern of its tick vectors [9, 10, 11]. Similarly, the incidence of Brazilian spotted fever (BSF) caused by *Rickettsia rickettsii* depends mainly on the phenology of its vector *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 [1, 2].

Abiotic factors such as temperature, precipitation and humidity are essential for the survival of ticks during their non-parasitic phase [12, 13, 14, 15]. Outside the optimal range of these factors, tick activities (e.g., host seeking behavior) can be inhibited and ticks can even die [6, 16]. Therefore, these abiotic factors act directly on the spatial and temporal distribution of ticks [6, 17, 18]. For example, *A. sculptum* adults are more abundant during the spring and summer (rainfall and high temperatures), larvae during mid-autumn and early winter (less rainfall and low temperatures), and nymphs during the winter and early spring (less rainfall and moderate temperatures) [19]. Furthermore, it has been demonstrated that the one-year generation pattern of *A. sculptum* in southeastern Brazil is controlled by behavioral diapause of larvae that hatch during spring-summer [20]. These larvae typically begin their host-seeking activity in the subsequent autumn [20, 21].

While the population dynamics of *Amblyomma* ticks has been extensively investigated in southeastern Brazil, only a few studies have been conducted in other regions. For instance, a single study has evaluated the seasonality of *Amblyomma* ticks in the Amazon biome [22]. This is a significant research gap, considering that some of the tick species found in this biome are important from medico-veterinary perspective. This is the case of *Amblyomma cajennense* sensu stricto (s.s.), which is restricted to the Amazon biome [23, 24]. Larvae, nymphs and adults of *A. cajennense* s.s. preferentially feed on large mammals (e.g., *Tapirus terrestris*, *Hydrochoerus hydrochaeris*, *Tayassu pecari*, *Pecari tajacu*), important hosts for the maintenance and dispersion of these ixodids in nature. Larvae and nymphs are also commonly reported on Carnivora species, medium-sized rodents and marsupials, and large ground-

inhabiting birds. Opportunistically, *A. cajennense* s.s. can parasitize humans in the Amazon biome [25, 26, 27]. Moreover, *A. cajennense* s.s. ticks are often infected (20-26%) by *Rickettsia amblyommatis* (formerly '*Candidatus Rickettsia amblyommii*'), which is successfully maintained by transovarial and transstadial transmission [28]. While there is little information on *R. amblyommatis* infections in animals and humans, and the role of this bacterium as a causative agent of spotted fever in humans cannot be ruled out [29].

Thus, the knowledge of the population dynamics of *A. cajennense* s.s. is fundamental for future acarological and health surveillance measures in the Amazon biome. To fill this gap, we evaluated the population dynamics of *A. cajennense* s.s. in a degraded area of the Amazon biome as well as the presence of rickettsial organisms in this tick population.

5.1.2 Methods

5.1.2.1 Study Area

The study was carried out in a rural area of the Santa Inês municipality (altitude: 24 meters), Maranhão state. Santa Inês is located in the Amazon biome and its climate is hot and humid, with an average annual temperature of 27 °C and annual average precipitation of 1710 mm [30]. The region is characterized by two warm seasons: a rainy season from November to May, and a dry season from June to October. The study was carried out in two sites located within a forest fragment, totaling ~10,000 m² (Fig.1). Site 1 (03°05'44"S, 45°32'50"W) was characterized as a more closed vegetation area due to the agglomeration of trees, shrubs and lianas. The shrubs and trees (~3 to 6 m high), presented many medium-sized plants represented by species of *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy, *Solanum paludosum* Moric., *Eugenia biflora* (L.) DC., and young individuals from *Inga* sp., *Pouteria* sp., *Tocoyena* sp. and a large amount of ipês (Family Bignoniaceae) in the underwoods; in addition to the record of two species of the "cipó Mororó" (*Schnella* sp. and *Bauhinia* sp.). Regarding the undergrowth (~50 to 100 cm high) species of *Cyperus* sp., *Ipomoea* sp., *Alternanthera* sp., and *Borreria verticillata* (L.) G.Mey were observed. The babassu palm (*Attalea speciosa* Mart. ex Spreng.) was a dominant plant in the area. Site 2 (03°52'48"S, 45°32'53"W) was composed of more open forest and dense herbaceous and undergrowth vegetation, with the record of *Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob., *Stachytarpheta cayennensis* (Rich.) Vahl, *Mimosa pudica* L., *Sida spinosa* L. and *Turnera ulmifolia* L. An agglomeration of subshrubs and thin-stemmed shrubs was also observed, such *Lantana camara* L., *Cleome spinosa* Jacq., *Urena lobata* L., along

with isolated and spaced arboreal elements throughout the area, represented by *Senna alata* (L.) Roxb., *Sapium glandulosum* (L.) Morong, *Coccoloba* sp., and the cultivated species *Acacia mangium* Willd.; in addition to some young individuals of ipês scattered throughout the area. Between the collection sites there was a lake of around 15,000 m², where it was possible to see groups of capybaras with up to 60 individuals (cubs, juveniles and adults) (Fig. 2). Other mammals were also seen in the study area: paca (*Cuniculus paca*), opossum (*Didelphis* sp.), coati (*Nasua nasua*) and agouti (*Dasyprocta* sp.). Human visits were frequent in tick-infested areas, so parasitism by ticks was common.

Figure 1 - Map showing the study area, municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil. Transition área (Eastern Amazon-Cerrado transition area from ~40 to 250 km).

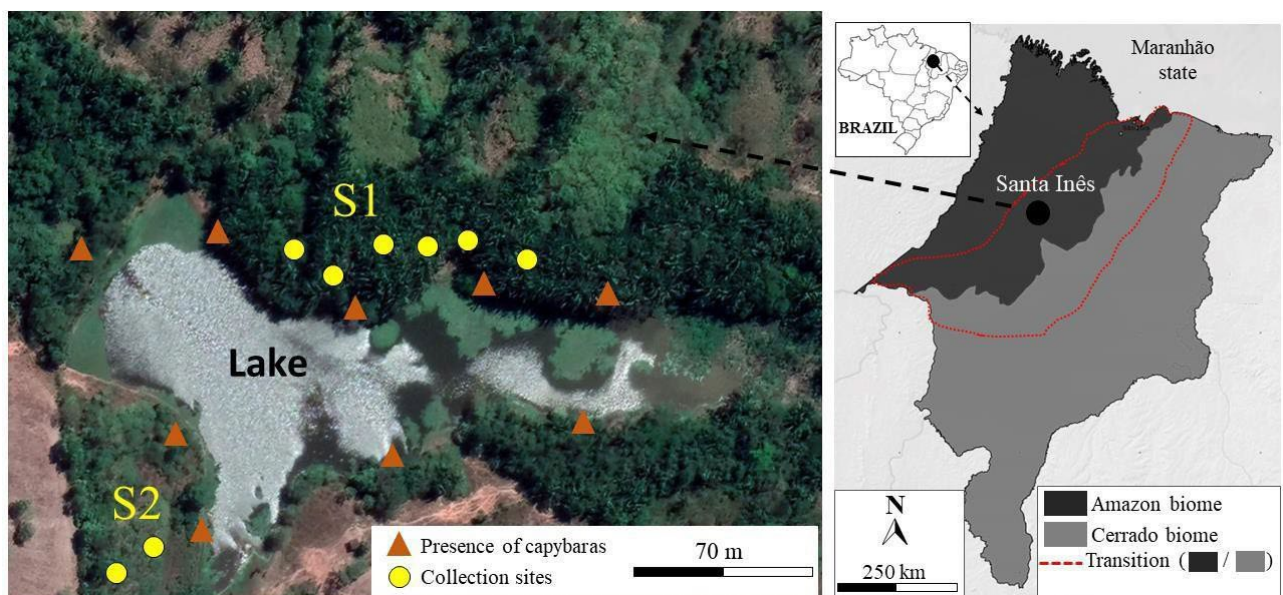


Figure 2 - Group of capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in the study area. Adults and juveniles (A), adults, juveniles and cubs (B).

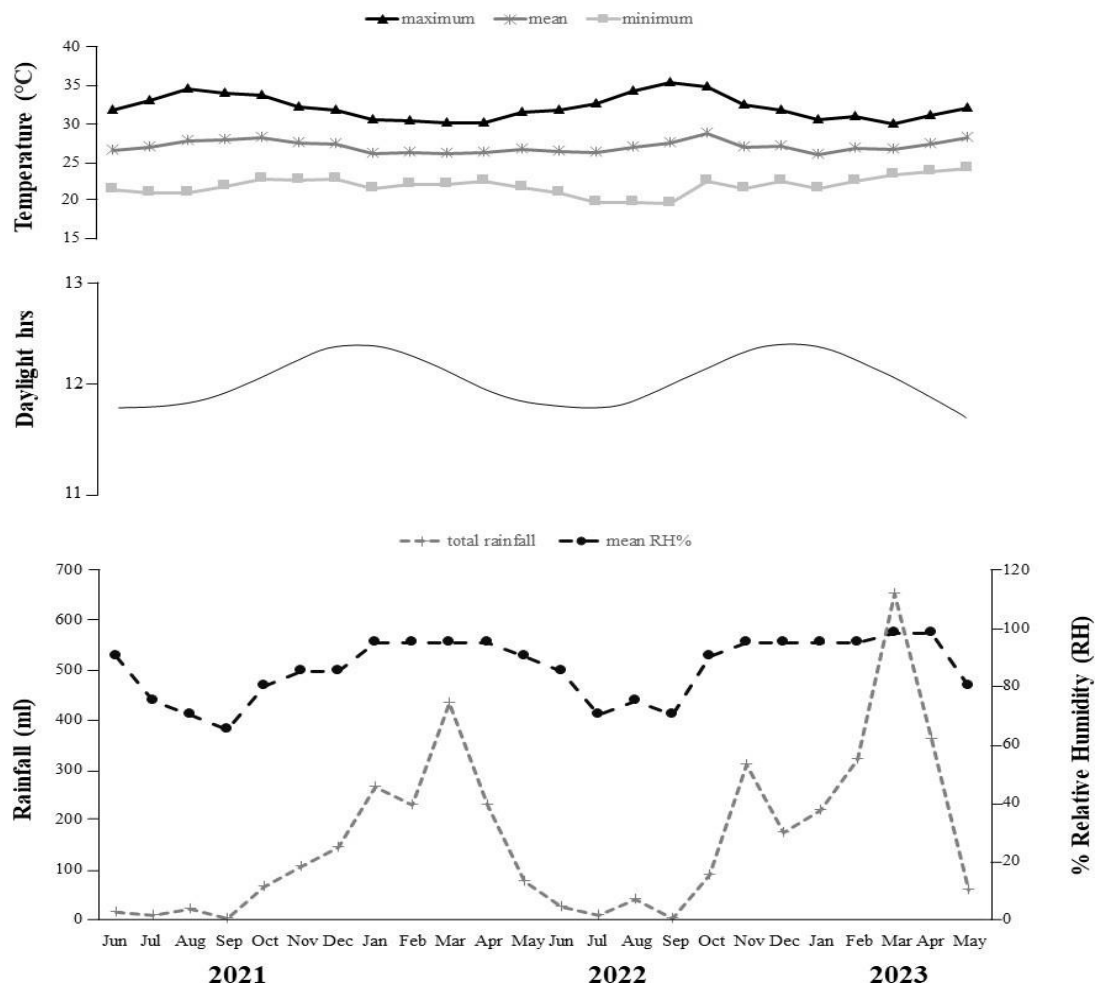


5.1.2.2 Tick collection

Ticks were collected monthly from June 2021 to May 2023, totaling 24 collections, comprising both the rainy (November to May) and dry seasons (June to October) (Fig. 3). Each month, ticks were collected by visual search and by dragging, as previously described [31]. Collections were performed between 8:00 am and 12 pm and between 14:00 and 17:00 pm. The dragging method consisted of passing a cotton flannel (2 m long x 1 m wide) over the leaf litter and vegetation. Dragging was performed for ~ 30-40 minutes, in linear transects of ~ 70-100 meters, making stops every ~5 meters to collect ticks from the cotton flannel and on the researchers' clothes. The visual search method consisted of visually inspecting the vegetation for the presence of ticks [31, 32, 33]. Two researchers were needed to carry out the collections by dragging, and three researchers for the visual search method.

Ticks removed from the researchers' clothes, cotton flannel and vegetation were stored in tubes (15 or 50 mL) containing 70% ethanol and sent to the laboratory Parasite Control Laboratory from the Federal University of Maranhão for identification. The ticks were morphologically examined using a ZEISS binocular stereoscope (magnification between 6.3x and 50x). Adults and nymphs were identified to species level using morphological keys and species descriptions [23, 24, 34, 35]. Voucher specimens were deposited in the tick collection "Coleção Nacional de Carrapatos Danilo Gonçalves Saraiva" of the University of São Paulo (accession number CNC- 4656).

Figure 3 - Temperature (A), Daylight (B) and Rainfall (C) data from the study region (Agritempo/EMBRAPA) (june 2021 to may 2023).



5.1.2.3 Molecular detection of rickettsiae

Of the 3,351 ticks collected in this study, 99 adults (50 males and 49 females) were randomly selected and individually processed for DNA extraction using the guanidine isothiocyanate and phenol/chloroform technique [36].

DNA from ticks were tested by a TaqMan real-time PCR assay that targeted a 147-bp fragment of the rickettsial *gltA* gene [37]. The real-time PCR-positive samples were tested by a conventional PCR assay using primers Rr190.70p and Rr190.602n targeting the 190 kDa outer membrane protein gene (*ompA*) of spotted fever group (SFG) *Rickettsia* spp. [38]. The *ompA* PCR products were purified using Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, WI, USA) and sequenced using BigDye terminator v3.1 matrix standard kit (Applied

Biosystems, Foster City, CA). Sequencing reactions were carried in both directions in a 3500xL genetic analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA), using the same primers as for PCR. The obtained sequences were assembled and analyzed using the Sequencher® v. 5.4.6, considering a Phred quality score of ≥ 30 . Consensus sequences were subjected to BLAST analyses (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) to infer the closest similarities available in GenBank.

All tick DNA samples that were shown to contain no rickettsial DNA by the real-time PCR described above were tested by the conventional PCR targeting the tick mitochondrial 16S rDNA gene [39], in order to validate the DNA extraction protocol. If the tick sample yielded no product by this PCR, it was considered that DNA extraction was not successful, and the individual tick was discarded from the study.

5.1.2.4 Statistical analyzes

We characterized the temporal activity of *A. cajennense* s.s. on the vegetation, by examining questing activity for each life stage (larvae, nymphs, adults [males and females]), in relation to the dry and rainy season. Meteorological data were obtained from the AgriTempo (Brazilian Agricultural Research Corporation - Embrapa), using information recorded from the meteorological station number 82900 (68 km far from the study area). Data on temperature (°C) and rainfall total (mm) are presented as monthly averages. Pearson's correlation coefficient was used to compare the number of ticks at each stage (larvae, nymphs and adults) with the average monthly temperature, relative humidity (RH%) and precipitation (mm), from June to September (dry season) and November to April (rainy season). Means of ticks according to the most significant months of drought and rainfall were compared using Kruskal-Wallis H-test. Daylight was calculated by subtracting the hours between sunrise and sunset, obeying the latitude and altitude of the study area. Normality of data was assessed using the Lilliefors test. The level of significance was set at $P \leq 0.05$. Statistical analyses were performed using BioEstat software, v5.3 (Mamirauá Institute of Sustainable Development, Tefé, AM, Brazil).

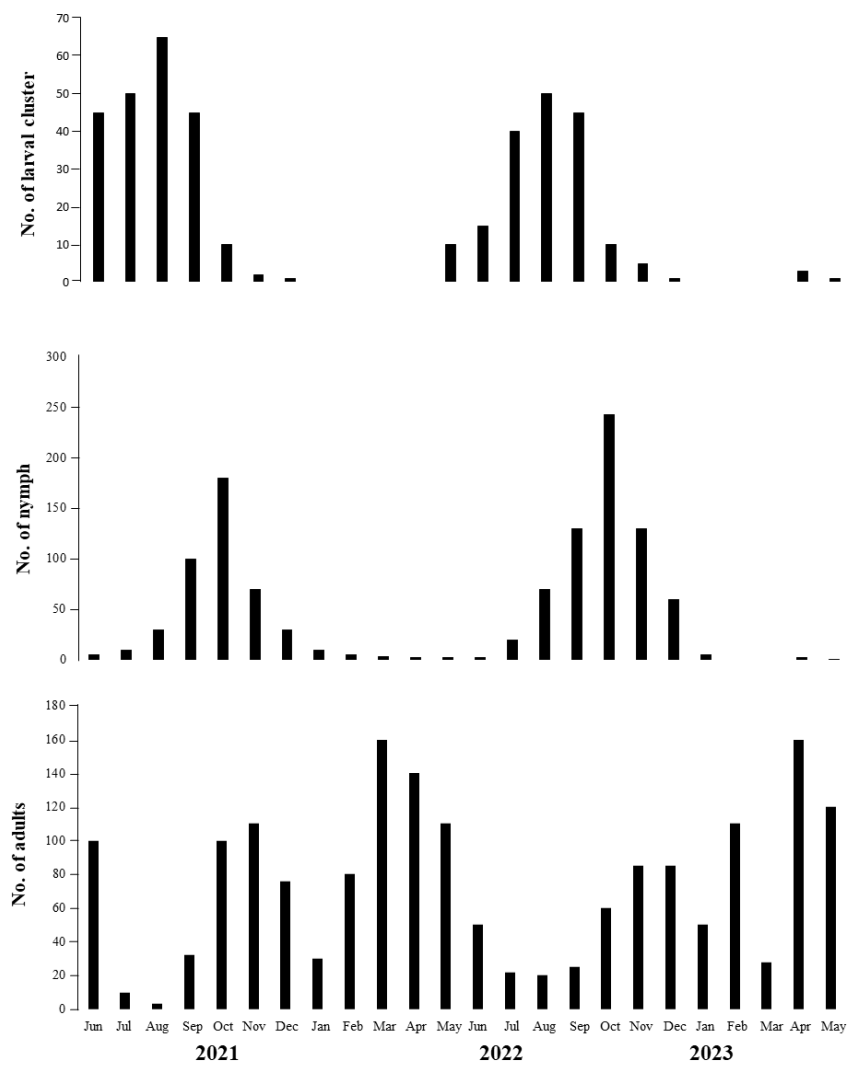
5.1.3 Results

Overall, 1,843 (62.4%) adults (52.6% females and 47.4% males), 1,110 (37.6%) nymphs and 398 larvae clusters were collected. All adult females and nymphs were morphologically identified as *A. cajennense* s.s. Since no other species of tick was found in our study, all adult males and larvae (morphologically compatible with *A. cajennense* sensu lato) were

conveniently designated as *A. cajennense* s.s. Furthermore, *A. sculptum* specimens have not been found in the study area [24]. Ticks were collected in both sites mostly in S1 (93.6% of the individuals and 82.2% of the larvais clusters) as compared to S2 ($\chi^2 = 6.68$, $df = 1$, $P < 0.002$). In S1, all tick stages (larvae, nymphs and adults) were highly abundance, regardless the season. In S2, larvae, nymphs and adults were also collected, mainly larvae (47 clusters) and, in lower abundance, adults ($n=23$) and nymphs ($n=89$). In S2, larvais clusters were found exclusively in the dry season. Adult ticks were collected in all 24 sampled months, whereas nymphs were collected in 22 months (no nymphs during february-march 2023) and larvae were collected in 17 months (no larvae during january-april 2022 and january-march 2023) (Fig. 4). In both years, larval activity was observed from april to december, with a peak from june to september (dry season) (Fig. 4). August was the month with the highest abundance of larvae in the environment (65 and 50 larvais clusters in 2021 and 2022, respectively). Nymphs peaked from september to november (transition period between dry and rainy seasons), with the highest abundance in october; 180 individuals in october 2021 and 243 in october 2023 (Fig. 4). Adult ticks were abundant from october to may (spring/summer/early autumn), with high highest peaks in march and april of both 2022 (156-143 individuals per month) and 2023 (163-195 individuals per month) (Fig. 4).

Comparisons of the mean number of larvais clusters, nymphs and adults in the dry and rainy seasons showed that the larvais clusters were significantly more abundant in the dry season than in the rainy season (Kruskal-Wallis H-test: $H = 36.90$, $df = 1$, $P = 0.0003$) (Fig. 5 and 6). On the other hand, adults were significantly more abundant in the rainy season (Kruskal-Wallis H-test: $H = 36.90$, $df = 1$, $P = 0.002$) (Fig. 5C). Finally, nymphs were more frequent in the transition from the dry and rainy season, so their abundance was similar in both seasons (Kruskal-Wallis H-test: $H = 36.90$, $df = 1$, $P = 0.2426$) (Fig. 5 and 6).

Larvais clusters ($n=355$) were more frequent when daylight hours were shorter (<12 h) (dry season) ($P < 0.0002$). Although present in all months of the experiment, adults were more frequent on long daylight hours (> 12 h) ($n= 1308$) ($P < 0.001$). Nymphal abundance was statistically similar among different daylight hour-periods ($P = 0.003$). In addition, larvae showed a significant negative linear correlation with rainfall ($r = -0.7462$; $P < 0.001$; $R^2 = 0.6417$), while adults showed a positive correlation ($r = 0.8476$; $P < 0.001$; $R^2 = 0.7941$). There was no correlation between tick stage and average temperature ($^{\circ}\text{C}$) and relative humidity (RH%).

Figure 4 - Seasonal activity of larvae, nymphs and adults of *Amblyomma cajennense*

A total of 38.4% (38/99) adults of *A. cajennense* s.s. were positive by real-time PCR assay targeting the rickettsial *gltA* gene. Of these, 33 (14 males and 19 females) were positive for the conventional PCR targeting the *ompA* gene of SFG-rickettsiae. PCR products of *ompA* gene generated reliable DNA sequences from seven ticks (four females and three males), which were 100% identical to sequences of *R. amblyommatis* available in GenBank (accession numbers: MN313363.1, MH818422.1). Based on rickettsial confirmation by DNA sequences, the infection rate by *R. amblyommatis* in *A. cajennense* s.s. ticks were at least 7% (7/99). Sequences obtained from the above analyzes were deposited in GenBank under accession numbers OR289675 to OR289681.

Although ticks on humans were not quantified, all three active stages (larvae nymphs and adults) were frequent on clothing and/or attached to humans in the study area, both on

researchers and on farmworkers.

Figure 5 - Average number of individuals collected (dry and rainy seasons) of *Amblyomma cajennense* sensu stricto in Amazon biome, municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil.

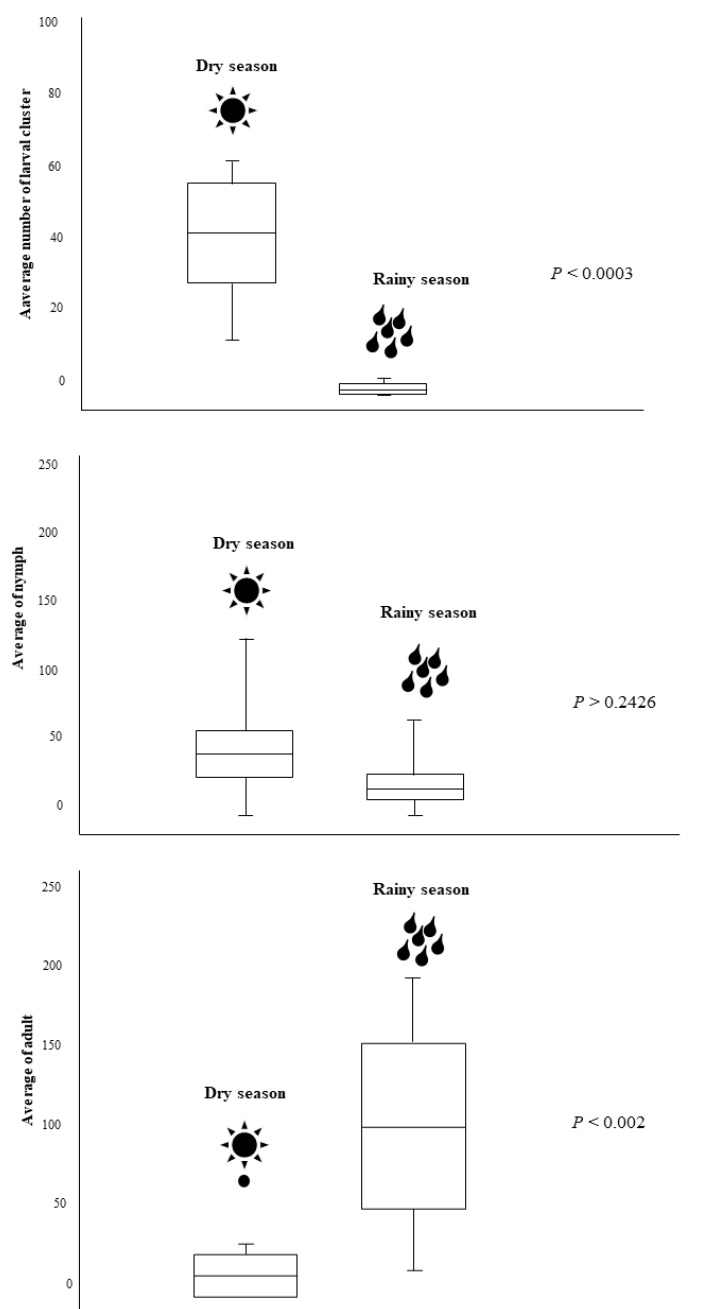
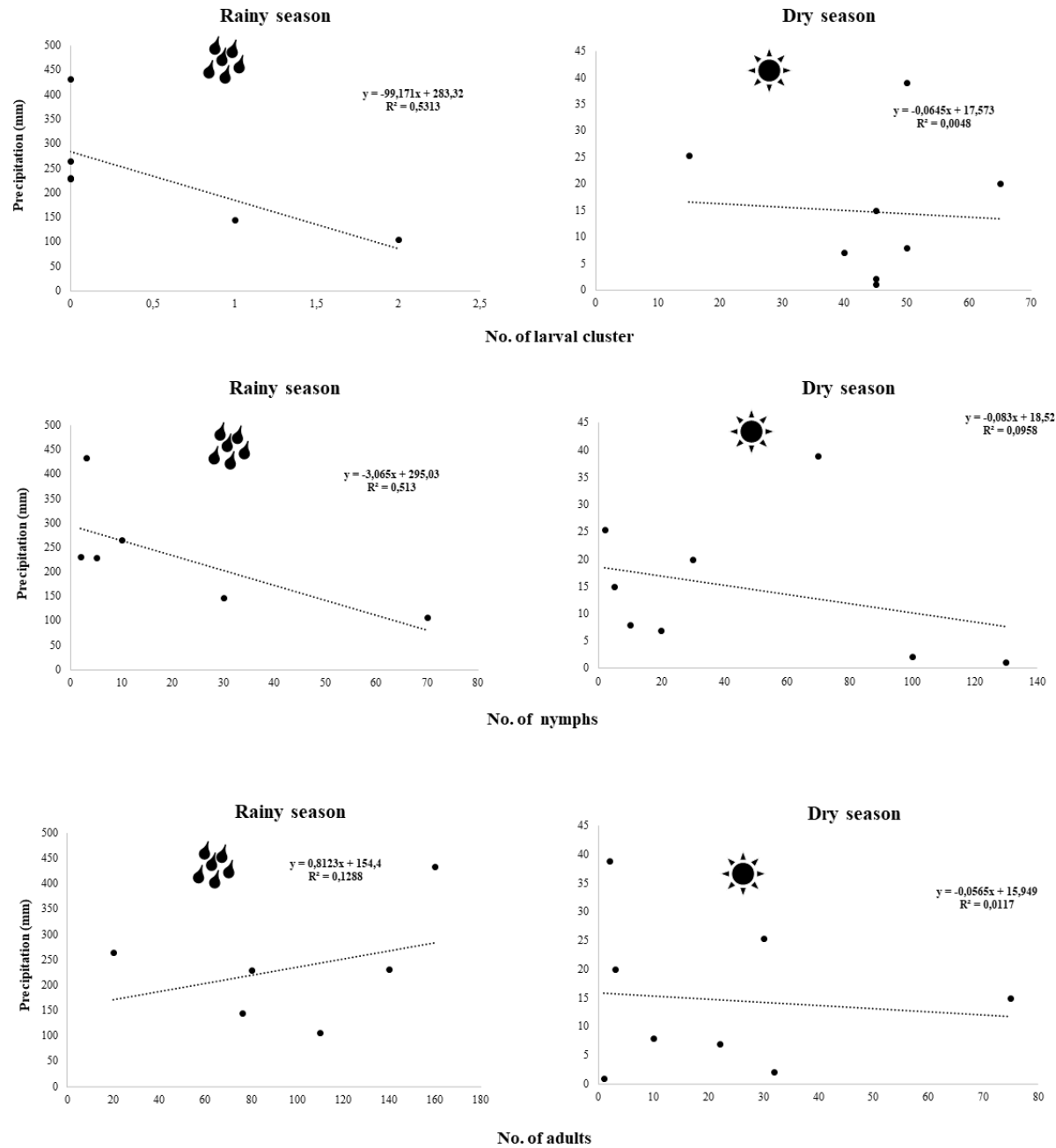


Figura 6 - Pearson's correlation coefficient (r) between number of ticks and precipitation (mm), municipality of Santa Inês, Maranhão state, Brazil.



5.1.4 Discussion

The *A. cajennense* species complex has a distribution from southern United States to northern Argentina [40, 41], and is represented by six species, two of which occur in Brazil: *A. sculptum* (Atlantic Forest, Pantanal, and Cerrado, being rare in the Caatinga) and *A. cajennense* s.s. (restricted to the Amazon biome) [23, 24]. Previous studies showed that *A. sculptum* is typically found in the Cerrado biome, where the relative humidity is moderate (~65–78%

RH) [42]. On the other hand, the Amazonian tick *A. cajennense* s.s. prefers high relative humidity (~90% RH) [42]. Both species occur in Maranhão state, *A. cajennense* s.s. in the Amazon biome and *A. sculptum* in the Cerrado, with their sympatric occurrence being observed in the Amazon- Cerrado transition zone [24, 43]. Although the study area is on the limits of the Amazon-Cerrado transition zone (Fig. 1), *A. cajennense* s.s. was the only species found, confirming the previous observations of Martins *et al.* [24]. The absence of *A. sculptum* can be explained by the high relative humidity in the area throughout the year, even in dry periods (~3 months) (Fig. 3). In addition, during the rainy season, the soil become predominately wet, with some areas flooded for hours or days. These characteristics are unfavorable for *A. sculptum*, which prefers areas where the soil is never wet or flooded [44, 45]. Labruna [42] showed experimentally that *A. sculptum* succumbed after being immersed in water, especially for 48–72 h. Therefore, even being transitional and degraded, our study area is still not sustainable for *A. sculptum*.

Numerous studies showed the effect of climate on the bioecology of ticks during the non-parasitic phase, by affecting their survival, inhibiting their host-seeking activity or influencing their population density over in time and space [6, 14, 16, 46, 47, 48, 49, 50]. In this context, climatic factors (rainfall, temperature and RH%) are essential for the survival of *A. cajennense* s.s. in the Amazon region. While *A. cajennense* s.s. ticks were collected year-round in the present study, the monthly number of larvae, nymphs and adults varied. In particular, larval activity was observed from april to december, peaking in the dry season. Nymphs predominated from september to november, peaking in the transition period between dry and rainy seasons. Adult peaked in the rainy season. This seasonal pattern is similar to that recorded for the only previous study in the Amazon biome, which was related to *Amblyomma* spp. (including *A. cajennense* s.s.) in the state of Rondônia, western Brazilian Amazon [22]. These results are also similar to those reported for *A. sculptum* in the southeastern and midwestern regions of Brazil (Cerrado and Atlantic Forest biomes), where larvae predominated in dry season (autumn and winter), nymphs in dry-rainy transition period (winter-spring), and adults in the rainy season (spring and summer) [51]. Indeed, results of the present study suggest that *A. cajennense* s.s. completes one generation per year in the eastern Amazonian at Maranhão state, similarly to what has been established for *A. sculptum* in other Brazilian biomes [19]. Larvae of *A. cajennense* s.s. were more abundant during the dry season, when the relative humidity was ~70%, being absent in the highest rainfall periods. In southeastern Brazil, Labruna *et al.* [20] reported that the one-year generation pattern of *A. sculptum* is controlled by larval behavioral diapause during spring and summer months (i.e., the rainy season). These authors showed that

larvae hatching during the warm and rainy seasons remained inactive and confined under the leaf litter until early autumn (april or may, end of the rainy season), when they were observed questing on the vegetation. Interestingly, larval activity in our study also started at the end of the rainy season, in may 2022 and april 2023 (i.e., there was no active larvae during the rainy season).

Cabrera and Labruna [21] demonstrated that larval behavioral diapause of *A. sculptum* is primarily controlled by photoperiod. They showed that larvae hatching during in spring and summer (daylight length >12 h) remain inactive until the next autumn. When either daylight lengths decrease <12 h or the mean temperature drops to <20 °C, larvae terminate the dormancy state and begin their host-seeking activity. In the present study, host-seeking larvae were absent from the vegetation during january to march (rainy season) and was first captured during april or may of 2022 and 2023. This initial larval activity coincided with daylight lengths dropping to <12h, suggesting that, similarly to *A. sculptum*, the larval behavioral diapause could also be controlling the one-year generation pattern of *A. cajennense* s.s. Indeed, further studies are needed to confirm such hypothesis.

At least 7% (7/99) of the *A. cajennense* s.s. adults tested by PCR were infected with *R. amblyommatis*. This % infection is likely higher, since 33 (33%) of the 99 tested ticks yielded amplicons by a PCR assay targeting the rickettsial *ompA* gene, which is present only in SFG *Rickettsia* species (i.e., reliable DNA sequences were obtained from only 7 out of 33 *ompA*-PCR positive ticks). *Rickettsia amblyommatis* has a wide distribution, having been detected in 34 species of ticks in 17 American countries [29]. The infection rate in ticks can exceed 90% in the USA, Panamá and Brazil, with ~70% infection for the Amazon biome [52]. In Maranhão, *R. amblyommatis* is frequent in *A. cajennense* s.s. populations, with infection rates ranging from 1 to 16.7%, corroborating our results [53]. It is important to mention that *R. amblyommatis* is potentially pathogenic to humans [29], but its association with clinical cases of spotted fever rickettsiosis in humans and animals is unclear. Interestingly, it has been shown that *R. amblyommatis* infection may prevent ticks from acquiring other species of *Rickettsia*, may alter tick host-seeking behavior and also influence the progression of disease symptoms when infecting humans [29]. Altogether, these data emphasize the importance of further studies on this rickettsial organism.

Finally, our study reports for the first time a seasonal behavior of the Amazonian tick *A. cajennense* s.s. The observed pattern of one-yr generation, confirms the suggestion for *Amblyomma* spp. in the Amazon biome [22]. The finding of *A. cajennense* s.s. adults infected

with *R. amblyommatis* suggests that animals and humans are constantly exposed to the risk of infection by this agent, since humans and wild animals are frequent in the study sites. Although the natural hosts of *R. amblyommatis* remain unknown, the presence of infected ticks and capybaras in the present study suggest the possibility that these rodents may be acting as amplifying hosts of this agent. It is necessary to better understand the relationship between *A. cajennense* s.s., *R. amblyommatis*, capybaras and humans in the Amazon biome, considering that this ixodid is the primary vector of *R. amblyommatis* and one of the most common ticks parasitizing animals and humans in this region [24, 26, 27].

5.1.5 Conclusion

Our data suggest a 1-year generation pattern for *A. cajennense* s.s., with a well-defined seasonality of larvae, nymphs and adults in the Amazon biome. Larvae predominating during the dry season, nymphs in the dry/rainy transition and adults in the dry season. The presence of *R. amblyommatis* in adults suggest that animals and humans in the study region are at risks of infection by this spotted fever group rickettsial agent. Future studies investigating the relationship between *R. amblyommatis*, *A. cajennense* s.s., reservoirs (e.g., capybara) and humans are needed in the Amazon biome.

References

1. Szabó MPJ, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front. Cell Infect Microbiol* 2013; 3: 27.
2. Luz HR, Costa FB, Benatti HR, Ramos VN, de A Serpa MC, Martins TF, et al. Epidemiology of capybara-associated Brazilian spotted fever. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13, e0007734.
3. Bernard Q, Phelan JP, Hu LT. Controlling Lyme Disease: New Paradigms for Targeting the Tick Pathogen-Reservoir Axis on the Horizon. *Front cell infect microbiol.* 2020; 10.
4. Dias TC, Stabach JA, Huang Q, Labruna MB, Leimgruber P, Ferraz KM. Habitat selection in natural and human-modified landscapes by capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), an important host for *Amblyomma sculptum* ticks. *PloS One.* 2020; 15: e0229277.
5. Rand PW, Lubelczyl C, Lavigne GR, Elias S. Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 2003; 40: 179–184.
6. Randolph SE. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology.* 2004; 129: 37–65.
7. Boyer PH, Barthel C, Mohseni-Zadeh M, Talagrand-Reboul E, Frickert M, Jaulhac B, *etal.* Impact of different anthropogenic environments on ticks and tick-associated pathogens in Alsace, a French region highly endemic for tick-borne diseases. *Microorganisms.* 2022; 10: 245.
8. Randolph SE, Rogers DJ. Towards new population models as tools for the control of African ticks and tick-borne diseases. *Proceedings of the 2nd International Conference on Tick-borne Pathogens at the Host-Vector Interface.* Kruget; South Africa. (ed. by L. Coons). 1997.
9. Eisen R J, Eisen L. The blacklegged tick, *Ixodes scapularis*: an increasing public health concern. *Trends Parasitol.* 2018; 34: 295–309.
10. Burtis JC, Foster E, Schwartz AM, Kugeler KJ, Maes SE, Fleshman AC. Predicting distributions of blacklegged ticks (*Ixodes scapularis*), Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi* sensu stricto) and human Lyme disease cases in the eastern United States. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022; 13: 102000.
11. Ostfeld RS, Felicia K. Does Experimental Reduction of Blacklegged Tick (*Ixodes capularis*) Abundance Reduce Lyme Disease Incidence? *Pathogens.* 12, 714.
12. Sonenshine, D.E., 1993. *Biology of Ticks*, Oxford University Press, New York, 447p. 2023.
13. Sonenshine DE, Atwood EL, Lamb JTJR. The ecology of ticks transmitting Rocky Mountain Spotted Fever in a study area in Virginia. *Ann Entomol Soc Am.* 1996; 59: 1234–62.

14. Ogden NH, Lindsay LR. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: Ticks are different. *Trends Parasitol.* 2016; 32: 646–56.
15. Nielebeck C, Kim SH, Pepe A, Himes L, Miller Z, Zummo S. Climatic stress decreases tick survival but increases rate of host-seeking behavior. *Ecosphere.* 2023;14: e4369.
16. Ogden NH, Lindsay LR, Beauchamp G, Charron D, Maarouf A, O’Callaghan C.J., et al. Investigation of relationships between temperature and developmental rates of tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *J Med Entomol.* 2004; 41: 622– 633.
17. MacDonald AJ. Abiotic and habitat drivers of tick vector abundance, diversity, phenology and human encounter risk in southern California. *Plos One.* 2018; 13: e0201665.
18. Reynolds C, Kontschán J, Takács N, Solymosi N, Sándor AD, Keve G. Shift in the seasonality of ixodid ticks after a warm winter in an urban habitat with notes on morphotypes of *Ixodes ricinus* and data in support of cryptic species within *Ixodes frontalis*. *Exp Appl Acarol.* 2022; 88: 127–38.
19. de Paula LGF, do Nascimento RM, Franco AO, Szabó MPJ, Labruna MB, Monteiro C, *et al.* Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum*: A review. *Parasit Vectors.* 2022; 15: 193.
20. Labruna MB, Amaku M, Metzner JA, Pinter A, Ferreira F. Larval behavioral diapause regulates life cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. *J Med Entomol.* 2003; 40: 170–8.
21. Cabrera RR, Labruna MB. Influence of photoperiod and temperature on the larval behavioral diapause of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 2009; 46:1303-9. doi: 10.1603/033.046.0608.
22. Labruna M.B, Terassini FA, Camargo LMA. Notes on population dynamics of *Amblyomma* Ticks (Acari: Ixodidae) in Brazil. *J Parasitol.* 2009; 95: 1016–8.
23. Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, 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 Dis.* 2014; 5: 252-256.
24. Martins TF, Barbieri ARM, Costa FB, Terassini FA, Camargo LMA, Peterka C RL, et al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasit Vectors.* 2016; 9: 186.

25. Gianizella SL, Martins TF, Onofrio VC, Aguiar NO, Gravena W, Nascimento CA R., et al. Ticks (Acari: Ixodidae) of the state of Amazonas. Brazil. *Exp Appl Acarol.* 2018; 74:177–183.
26. Luz HR, Martins TF, Muñoz-Leal S, Costa FB, Gianizella SL, Faccini JLH. Ticks from the Brazilian Amazon: species, distribution and host-relations. In: Mikkola, H. (Ed.), *Ecosystem and biodiversity of Amazonia*. Intech Open, London, p 1–34. 2020.
27. Nogueira BCF, Campos AK, Muñoz-Leal S, Pinter A, Martins TF. Soft and hard ticks (Parasitiformes: Ixodida) on humans: a review of Brazilian biomes and the impact of environmental change. *Acta Trop.* 2022; doi: 10.1016/j.actatropica.2022.106598.
28. Benatti HR, Binder LC, Costa FB, Soares HS, Luz HR, Labruna MB. Maintenance of the infection by *Rickettsia amblyommatis* in *Amblyomma cajennense* sensu stricto ticks and evaluation of vector competence. *Exp App Acarol.* 2020; 82: 151-159.
29. Richardson EA, Roe RM, Apperson CS, Ponnusamy L. *Rickettsia amblyommatis* in Ticks: A Review of Distribution, Pathogenicity, and Diversity. *Microorganisms.* 2023; 11: 493.
30. ZEE - Sumário Executivo do Zoneamento Ecológico Econômico do Estado do Maranhão –ZEE: etapa Bioma Amazônico. Paulo Henrique de Aragão Catunda; Luiz Jorge Bezerra da Silva Dias (organizadores). São Luís: IMESC, 2019.
31. Terassini FA, Barbieri FS, Albuquerque S, Szabó MP, Camargo LM, Labruna MB. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010; 1:194–6.
32. Szabó MP, Labruna MB, Garcia MV, Pinter A, Castagnolli KC, Pacheco RC., et al. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. *Ann Trop Med Parasitol.* 2009; 103: 57–72.
33. Ramos VN, Osava CF, Piovezan U, Szabó MPJ. Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 2014; 23: 516-521. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014091>.
34. Martins TF, Onofrio VC, Barros-Battesti DM, Labruna MB. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. *Ticks and Tick-borne Dis.* 2010; 1: 75-99.
35. Dantas-Torres F, Martins TF, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: updated species checklist and taxonomic keys. *Ticks Tick-borne Dis.* 2019; 10: 101252.
36. Sangioni LA, Horta MC, Vianna MCB, Gennari SM, Soares RM, Galvão MAM, et al.

- Rickettsial Infection in Animals and Brazilian Spotted Fever Endemicity. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11: 265–270.
37. Soares JF, Soares HS, Barbieri AM, Labruna MB. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. *Med Vet Entomol.* 2012; 26: 139–151.
 38. Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J Bacteriol.* 1991; 173: 1576–1589.
 39. Mangold AJ, Barges MD, Mas-Coma S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res.* 1998; 84: 478–484.
 40. Estrada-Peña A, Guglielmone AA, Mangold AJ. The distribution and ecological preferences of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. *Ann Trop Med Parasitol.* 2004; 98: 83–92.
 41. Beati L, Nava S, Burkman EJ, Barros-Battesti D, Labruna MB, Guglielmone AA, *et al.* *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evol Biol.* 2013; 13:267.
 42. Labruna MB. Comparative survival of the engorged stages of *Amblyomma cajennense* sensu stricto and *Amblyomma sculptum* under different laboratory conditions. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018; 9: 996–1001.
 43. Costa FB, Martins TF, Muñoz-Leal S, Serpa MCA, Ogrzewalska M, Luz HR, *et al.* Retrospective and new records of ticks (Acari: Argasidae, Ixodidae) from the state of Maranhão, an Amazon- Cerrado transition area of Brazil. *Vet Parasitol Reg. Stud. Reports*, 2020; 21, Article 100413, 10.1016/j.vprsr.2020.100413
 44. Szabó MP, Castro MB, Ramos HG, Garcia MV, Castagnolli KC, Pinter A, *et al.* Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: ixodidae) in the natural habitat of wild Marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Southeastern Brazil. *Vet Parasitol.* 2007; 143: 147–154.
 45. Queirogas VL, Del Claro K, Nascimento AR, Szabó MP. Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. *Exp Appl Acarol.* 2012; 57: 75–82.
 46. Campbell A, Glines MV. Development, survival, and oviposition of the rabbit tick,

- Haemaphysalis leporispalustris* (Packard) (Acari: Ixodidae), at constant temperatures. J Parasitol. 1979; 65: 777–782.
47. Peavey CA, Lane RS. Field and laboratory studies on the timing of oviposition and hatching of the western black-legged tick, *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). Exp Appl Acarol. 1996; 20: 695–711.
 48. Chilton NB, Andrews RH, Bull CM. Influence of temperature and relative humidity on the moulting success of *Amblyomma limbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs. Int J Parasitol. 2000; 30: 973–979.
 49. Eisen L, Eisen J, Lane RS. Seasonal activity patterns of *Ixodes pacificus* nymphs in relation to climatic conditions. Med Vet Entomol. 2002; 16: 235–244.
 50. Herrmann C, Gern L. Survival of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) under challenging conditions of temperature and humidity is influenced by *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection. J Med Entomol. 2010; 47: 1196–1204.
 51. De Paula LGF, Sampaio ALN, Zeringota V, Bezerra G, Barreto ALG, Santos A A, *et al.* Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) in the Cerrado biome of midwestern Brazil. Exp Appl Acarol. 2021; 84: 215–225.
 52. Soares HS, Barbieri ARM, Martins TF, Minervino AHH, de Lima JTR, Marcili A, *et al.* Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. Exp Appl Acarol. 2015; 65: 125–140.
 53. Costa FB, Costa AP, Moraes-Filho J, Martins TF, Soares HS, Ramirez DG, *et al.* *Rickettsia amblyommatis* infecting ticks and exposure of domestic dogs to *Rickettsias* spp. in an Amazon-Cerrado transition region of northeastern Brazil. PLoS One. 2017; 8;12 e0179163. doi: 10.1371/journal.pone.0179163.
 54. Marques EQ, Marimon-Junior BH, Marimon BS, Matricardi EAT, Mews HA, Colli GR. Redefining the Cerrado-Amazonia transition: Implications for conservation. Biodivers Conserv. 2020; 29: 1501-1517. <https://doi.org/10.1007/s10531-019-01720-z>

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O artigo, por sua vez, concentrou-se na dinâmica sazonal do *A. cajennense* s.s. em áreas degradadas do bioma Amazônia e sua possível associação com a infecção por *Rickettsia amblyommatis*. Os resultados obtidos sugerem que áreas impactadas pelo desmatamento e atividades humanas podem criar condições propícias para o aumento da densidade populacional desse carrapato. A dinâmica sazonal de *A. cajennense* s.s. mostrou que larva predominam no outono-inverno, ninfas na primavera e adultos no verão.

Além disso, a pesquisa evidenciou a presença da *R. amblyommatis* em uma proporção significativa dos carrapatos analisados, destacando a importância de considerar essa associação na saúde pública e na ecologia da região. Isso ressalta a necessidade de aprofundar os estudos sobre a ecologia da *Rickettsia* e seu ciclo de transmissão em ambientes amazônicos.

REFERÊNCIAS GERAIS

BARROS-BATTESTI DM, ARZUA M, BECHARA GH. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região Neotropical**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, 2006.

DANTAS-TORRES F, FERNANDES MARTINS T, MUÑOZ-EAL S, ONOFRIO VC, BARROS-BATTESTI DM. **Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys**. Ticks Tick Borne Dis. 10:101252, 2019.

DANTAS-TORRES F, MELO MF, SALES K, DA SILVA FJ, FIGUEREDO LA, LABRUNA MB. **Phenology of *Amblyomma sculptum* in a degraded area of Atlantic rainforest in north-eastern Brazil**. Ticks Tick Borne Dis. 10:101263, 2019.

DE PAULA LGF, DO NASCIMENTO RM, FRANCO AO, SZABÓ MPJ, LABRUNA MB, MONTEIRO C, *et al.* **Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum*: A review**. Parasit Vectors. 2022; 15: 193.

FACCINI-MARTÍNEZ, Á. A.; OLIVEIRA, S. V. de; CERUTTI JUNIOR, C.; LABRUNA, M. B. **Febre Maculosa por *Rickettsia parkeri* no Brasil: condutas de vigilância epidemiológica, diagnóstico e tratamento**. Journal of Health & Biological Sciences, v. 6, n. 3, p. 299, 2 jul. 2018.

GIANIZELLA SL, MARTINS TF, ONOFRIO VC, AGUIAR NO, GRAVENA W, NASCIMENTO CA R., *et al.* **Ticks (Acari: Ixodidae) of the state of Amazonas, Brazil**. Exp Appl Acarol. 2018; 74: 177–183.

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)**. Netherlands, Springer Science + Business Media, 738 p, 2014.

KWAK ML, NEVES ES, BORTHWICK SA, SMITH GJD, MEIER R, MENDENHALL IH.

Habitat impacts the abundance and network structure within tick (Acari: Ixodidae) communities on tropical small mammals. Ticks Tick Borne Dis. 2021 May;12(3):101654. doi: 10.1016/j.ttbdis.2021.101654. Epub 2021 Jan 19. PMID: 33548598.

LABRUNA MB, KASAI N, FERREIRA F, FACCINI JLH, GENNARI SM. **Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil.** J Vet Parasitol. 105:65–77, 2002.

LABRUNA MB, PINTER A, CASTRO MB, CASTAGNOLLI KC, SZABÓ MJP. **Some records on host questing behavior of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) larvae.** Rev Bras Parasitol Vet. 11:91–3, 2002.

LABRUNA, M.B., SOARES, J.F., MARTINS, T.F., SOARES, H.S., CABRERA, R.R. **Crossmating experiments with geographically different populations of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae).** Exp. Appl. Acarol. 54, 41–49, 2011.

LUZ HR, MARTINS TF, MUÑOZ-LEAL S, COSTA FB, GIANIZELLA SL, FACCINI JLH. **Ticks from the Brazilian Amazon: species, distribution and host-relations.** In: Mikkola, H. (Ed.), *Ecosystem and biodiversity of Amazonia*. IntechOpen, London, p 1–34. 2020.

LUZ HR, RAMÍREZ-HERNÁNDEZ A, BENATTI HR, RAMIREZ DG, SZABÓ MPJ, LABRUNA MB. **Comparative survival of the engorged stages of *Amblyomma dubitatum* and *Amblyomma sculptum* in the laboratory: Implications for Brazilian spotted fever epidemiology.** Ticks Tick Borne Dis. 2020; 11:101360.

MARTINS TF, LABRUNA MB, MANGOLD AJ, CAFRUNE MM, GUGLIELMONE AA, NAVA S. **Taxonomic key to nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) in Argentina, with description and redescription of the nymphal stage of four *Amblyomma* species.** Ticks Tick Borne Dis. 2014 Oct;5(6):753-70. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.05.007. Epub 2014 Aug 10. PMID: 25113984.

MARTINS TF, REIS JL, VIANA EB, LUZ HR, ODA FH, DANTAS SP, *et al.* **Ticks (Acari:**

Ixodidae) on captive and free-ranging wild animals in Tocantins State, a Cerrado-Amazon transition region of northern Brazil. Int J Acarology. 2020; 46:254–7.

MUÑOZ-LEAL, S.; MARCILI, A.; FUENTES-CASTILLO, D.; AYALA, M.; LABRUNA, M.B. **A relapsing fever *Borrelia* and spotted fever *Rickettsia* in ticks from an Andean valley, central Chile.** Exp. Appl. Acarol. 2019, 78, 403–420.

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 Tick Borne Dis. 5, 252–276, 2014.

OLIVEIRA SV, ROMERO-ALVAREZ D, MARTINS TF, SANTOS JPD, LABRUNA MB, GAZETA GS, *et al.* ***Amblyomma* ticks and future climate: Range contraction due to climate warming.** Acta Trop.; 176:340–8, 2017.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSCHI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; *et al.* **Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach.** Clin. Microbiol. Rev. 2013, 26, 657–702.

PINHEIRO MDA C, LOURENÇO EC, PATRÍCIO PM, SÁ-HUNGARO IJ, FAMADAS KM. **Free-living ixodid ticks in an urban Atlantic Forest fragment, state of Rio de Janeiro, Brazil.** Rev Bras Parasitol Vet. 2014 Apr-Jun;23(2):264-8. doi: 10.

QUEIROGAS VL, DEL CLARO K, NASCIMENTO ART, SZABÓ MPJ. **Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases.** Exp Appl Acarol. 57:75–82, 2012.

RAMOS VN, OSAVA CF, PIOVEZAN U, SZABÓ MPJ. **Ambush behavior of the tick**

Amblyomma sculptum (*Amblyomma cajennense* complex) (Acari: Ixodidae) in the Brazilian Pantanal. Ticks Tick Borne Dis. 8:506–10, 2017.

RICHARDSON EA, ROE RM, APPERSON CS, PONNUSAMY L. *Rickettsia amblyommatis* in Ticks: A Review of Distribution, Pathogenicity, and Diversity. Microorganisms. 2023; 11: 493.

SAKAI, RENATA KAZUKO. **Avaliação experimental de *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) como vetor biológico de *Rickettsia rickettsii* (Rickettsiales: Rickettsiaceae).** 2014. 33 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária) - Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

SOARES JF, SOARES HS, BARBIERI AM, LABRUNA MB. **Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever.** Med Vet Entomol. 2012; 26: 139–151.

VIEIRA, T. B.; LAPOLA, D. *et al.* **Amazônia pode virar berço de novas epidemias, alerta pesquisa.** Amazonia Latitude, 1 nov. 2022. Disponível em: <https://www.amazonialatitude.com/2022/11/01/destruicao-da-amazonia-pode-transforma-la-em-berco-de-novas-epidemias-revela-pesquisa/>. Acesso em: 30 out. 2023.

SZABÓ MP, LABRUNA MB, GARCIA MV, PINTER A, CASTAGNOLLI KC, PACHECO RC., et al. **Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil.** Ann Trop Med Parasitol. 2009; 103: 57–72.

TERASSINI FA, BARBIERI FS, ALBUQUERQUE S, SZABÓ MP, CAMARGO LM, LABRUNA MB. **Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest.** Ticks Tick Borne Dis. 2010; 1:194–6.

APÊNDICES

APÊNDICE A



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

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 83484-4	Data da Emissão: 08/05/2023 12:23:18	Data da Revalidação*: 23/06/2023
De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: HERMES RIBEIRO LUZ	CPF: 088.990.417-09
Título do Projeto: Diversidade de ecto e endoparasitos de animais silvestres e domésticos, e ectoparasitos de humanos e ambiente de duas áreas com distintos níveis de conservação do bioma Amazônia, Brasil.	
Nome da Instituição: Fundação Universidade Federal do Maranhão	CNPJ: 06.279.103/0001-19

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Pesquisa científica	06/2022	05/2024

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Nacionalidade
1	Bruno Pereira Berto	Auxiliar/Biólogo	103.532.617-50	Brasileira
2	Dauana Mesquita Sousa	Auxiliar/Biólogo	054.030.443-37	Brasileira
3	Thiago Fernandes Martins	Auxiliar/Veterinário	220.508.838-62	Brasileira
4	IGOR DA CUNHA LIMA ACOSTA	Auxiliar/Veterinário	369.281.478-06	Brasileira
5	FLAVIO EDUARDO SARAIVA DE ARAUJO	Auxiliar/Veterinário	828.791.333-00	Brasileira

APÊNDICE B



COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CIAEP: 02.0341.2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO



CERTIFICADO

(21/2023)

Certificamos que a proposta intitulada **"Diversidade de ecto e endoparasitos de pequenos mamíferos e aves silvestres de duas áreas com distintos níveis de conservação do bioma Amazônia, Brasil."** Processo 23115.012423/2023-85, sob a responsabilidade do **Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA - UFMA) da Universidade Federal do Maranhão, na reunião realizada em 23 de junho de 2023.

We certify that the proposal: **"Diversity of ecto and endoparasites of small mammals and wild birds from two areas with different levels of conservation in the Amazon biome, Brazil."**, Process 223115.012423/2023-85, under the responsibility of **Prof. Dr. Hermes Ribeiro Luz**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, sub phylum Vertebrata (except humans beings) for scientific research purposes (or teaching) - is in accordance with Law No. 11,794, of October 8, 2008, Decree No. 6.899, of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethics Committee on Animals Use of the Federal University of Maranhão (CEUA - UFMA), in meeting of June 23, 2023.

APÊNDICE C

**PESQUISA
aberto**

Acesso



Dinâmica sazonal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) sensu stricto em uma área degradada do bioma amazônico, com notas sobre a infecção por *Rickettsia amblyommatis*

Flávio Eduardo Saraiva de Araújo¹, Thiago Fernandes Martins^{2,3}, Carlos Celso Mendonça Ramos⁴, Rafael Michael Silva Nogueira¹, João Luiz Horacio Faccini⁵, Mariana Avelar Tavares⁶, Nicolas Jalowitzki de Lima⁶, Eduardo Bezerra de Almeida Júnior⁷, Lucas Christian de Sousa-Paula⁸, Filipe Dantas-Torres⁹, Felipe da Silva Krawczak⁶, Livio Martins Costa-Junior¹⁰, Marcelo Bahia Labruna³, Leonardo Teixeira Dall'Agnol¹ e Hermes Ribeiro Luz^{1,10*}

Resumo

Histórico O carrapato *Amblyomma cajennense* sensu stricto (*A. cajennense* s.s.) frequentemente parasita animais *A. cajennense* s.s. e humanos no bioma amazônico, além de ser um vetor de *Rickettsia amblyommatis*. No presente estudo, avaliamos a dinâmica populacional do *A. cajennense* s.s. em uma área degradada do bioma amazônico e a presença de organismos rickettsiais nessa população de carrapatos.

Métodos O estudo foi realizado em uma área rural do município de Santa Inês (altitude: 24 m a.s.l.), estado do Maranhão, Brasil. Os carrapatos foram coletados do ambiente por 24 meses consecutivos, de junho de 2021 a maio de 2023. A região é caracterizada por duas estações quentes: uma estação chuvosa (novembro-maio) e uma estação seca (junho-outubro). Caracterizamos a atividade temporal do *A. cajennense* s.s. na vegetação examinando a atividade de busca para cada estágio de vida (larvas, ninfas, adultos [machos e fêmeas]) em relação à estação seca e chuvosa. Os carrapatos coletados neste estudo foram selecionados aleatoriamente e testados individualmente por um ensaio de PCR em tempo real TaqMan que teve como alvo um fragmento de 147 pb do gene *gltA* de rickettsias.

Resultados No total, foram coletados 1.843 (62,4%) adultos (52,6% fêmeas, 47,4% machos), 1.110 (37,6%) ninfas e 398 grupos de larvas. Todas as fêmeas adultas e ninfas foram morfológicamente identificadas como *A. cajennense* s.s. Atividade larval

A abundância de carrapatos adultos foi observada de abril a dezembro, com um pico de junho a setembro (estação seca); a abundância de ninfas atingiu o pico de setembro a novembro (período de transição entre as estações seca e chuvosa); e os carrapatos adultos foram abundantes de outubro a maio (primavera/verão/início do outono). A taxa de infecção por *R. amblyommatis* em carrapatos *A. cajennense* s.s. foi de pelo menos 7% (7/99).

Conclusão Nossos dados sugerem um padrão de geração de um ano para o *A. cajennense* s.s., com uma sazonalidade bem definida

de larvas, ninfas e adultos no bioma amazônico. As larvas predominam durante a estação seca, as ninfas são mais abundantes na transição entre a estação seca e a chuvosa e os adultos são mais abundantes na estação chuvosa. A presença de *R.*

*Correspondência:

Hermes Ribeiro Luz

hermes.luz@ufma.br

A lista completa de informações sobre os autores está disponível no final do artigo



© The Author(s) 2023. **Acesso aberto** Este artigo está licenciado sob uma Licença Creative Commons Attribution 4.0 International, que permite o uso, o compartilhamento, a adaptação, a distribuição e a reprodução em qualquer meio ou formato, desde que seja dado o devido crédito ao(s) autor(es) original(is) e à fonte, seja fornecido um link para a licença Creative Commons e seja indicado se foram feitas alterações. As imagens ou outros materiais de terceiros neste artigo estão incluídos na licença Creative Commons do artigo, a menos que indicado de outra forma em uma linha de crédito para o material. Se o material não estiver incluído na licença Creative Commons do artigo e o uso pretendido não for permitido por regulamentação legal ou exceder o uso permitido, será necessário obter permissão diretamente do detentor dos direitos autorais. Para visualizar uma cópia dessa licença, visite <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. A renúncia à Dedicção ao Domínio Público da Creative Commons (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) aplica-se aos dados disponibilizados neste artigo, a menos que seja declarado de outra forma em uma linha de crédito para os dados.

amblyommatis em carrapatos adultos sugere que os animais e os seres humanos na região do estudo estão sob risco de infecção por essa espécie pertencente ao grupo de *Rickettsia* da febre maculosa.

Palavras-chave *Amblyomma cajennense*, Ixodidae, Dinâmica populacional, *Rickettsia*, Região amazônica, Brasil

Histórico

A dinâmica de transmissão de doenças transmitidas por carrapatos, como a doença de Lyme e a febre maculosa, envolve interações ecoepidemiológicas complexas entre seus patógenos causadores, vetores de carrapatos, o ambiente e populações de hospedeiros suscetíveis [1-4]. A abundância e a distribuição sazonal dos carrapatos (larvas, ninfas e adultos) desempenham um papel importante na epidemiologia das doenças transmitidas por carrapatos [1, 5-7]. Portanto, os estudos que avaliam essas variáveis contribuem para a mitigação de possíveis fatores que poderiam aumentar o risco de tais doenças para animais e seres humanos [8]. Por exemplo, a incidência da doença de Lyme está fortemente ligada ao padrão sazonal de seus vetores de carrapatos [9-11]. Da mesma forma, a incidência da febre maculosa brasileira (BSF) causada por *Rickettsia rickettsii* depende principalmente da fenologia de seu vetor *Amblyomma sculptum* [1, 2].

Fatores abióticos, como temperatura, precipitação e umidade, são essenciais para a sobrevivência dos carrapatos durante sua fase não parasitária [12-15]. Fora da faixa ideal desses fatores, as atividades do carrapato (por exemplo, o comportamento de busca do hospedeiro) podem ser inibidas e, em alguns casos, levar à mortalidade do carrapato [6, 16]. Consequentemente, os fatores abióticos governam diretamente os padrões de distribuição espacial e temporal dos carrapatos [6, 17, 18], como foi demonstrado para o *A. sculptum*, por exemplo, cujos estágios de desenvolvimento apresentam uma correlação pronunciada com as flutuações sazonais. Os adultos são mais abundantes durante a primavera e o verão (chuvas e altas temperaturas), as larvas durante o meio do outono e o início do inverno (menos chuvas e baixas temperaturas) e as ninfas são mais abundantes durante o inverno e o início da primavera (menos chuvas e temperaturas moderadas) [19]. Foi demonstrado que o padrão de geração de um ano de *A. sculptum* no sudeste do Brasil é controlado pela diapausa comportamental das larvas que eclodem durante a primavera e o verão [20]. Essas larvas normalmente iniciam sua atividade de busca de hospedeiros no outono seguinte [20, 21].

Embora a dinâmica populacional dos carrapatos *Amblyomma* tenha sido amplamente investigada no sudeste do Brasil, apenas alguns estudos desse tipo foram realizados em outras regiões, como no bioma amazônico, onde apenas um único estudo avaliou a sazonalidade dos carrapatos *Amblyomma* [22]. Essa é uma lacuna de pesquisa significativa, considerando que algumas das espécies de carrapatos encontradas nesse

bioma são importantes do ponto de vista médico-veterinário. Esse é o caso do *Amblyomma cajennense* sensu stricto (A.

de Araújo et al. *Parasitas e vetores* (2023) 16:391
cajennense s.s.), cuja distribuição é restrita ao bioma amazônico [23, 24]. Larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense* s.s. alimenta-se preferencialmente de mamíferos de grande porte (por exemplo, *Tapirus terrestris* [anta sul-americana], *Hydrochoerus hydrochaeris* [capivara], *Tayassu pecari* [queixada], *Pecari tajacu* [queixada]), que são hospedeiros importantes para a manutenção e a dispersão desses ixodídeos na natureza. Larvas e ninfas também são comumente relatadas em espécies da ordem Carnívora, roedores de tamanho médio e marsupiais, bem como em grandes aves que habitam o solo. O *Amblyomma cajennense* s.s. é um micróbio oportunista transmitido por carrapatos que pode parasitar seres humanos no bioma amazônico [25-27]. Além disso, os carrapatos *A. cajennense* s.s. são frequentemente infectados (20-26%) pela *Rickettsia amblyommatis* (anteriormente denominada "*Candidatus Rickettsia amblyommii*"), que é mantida com sucesso pela transmissão trans-ovariana e transestadial [28]. Embora existam poucas informações sobre infecções por *R. amblyommatis* em animais e humanos, não se pode descartar sua função como agente causador da febre maculosa em humanos [29].

Assim, o conhecimento da dinâmica populacional do *A. cajennense* s.s. é fundamental para futuras medidas de vigilância acarológica e sanitária no bioma amazônico. Para preencher essa lacuna, avaliamos a dinâmica populacional do *A. cajennense* s.s. em uma área degradada do bioma amazônico, bem como a presença de organismos rickettsiais nessa população de carrapatos.

Métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em uma área rural do município de Santa Inês (altitude: 24 m acima do nível do mar), no estado do Maranhão. Santa Inês está localizada no bioma amazônico, e seu clima é quente e úmido, com temperatura média anual de 27 °C e precipitação média anual de 1710 mm [30]. A região é caracterizada por duas estações quentes: uma estação chuvosa, de novembro a maio, e uma estação seca, de junho a outubro. O estudo foi realizado em dois locais localizados em um fragmento de floresta, totalizando aproximadamente 10.000 m² (Fig. 1). O local de estudo 1 (S1; 03°05'44"S, 45°32'50"W) foi caracterizado como uma área de vegetação mais fechada devido à aglomeração de árvores, arbustos e lianas. Os arbustos e árvores (aprox. 3-6 m de altura) incluíam muitas plantas de tamanho médio, como a árvore da febre (*Vismia guianensis*), jurubeba roxa (*Solanum paludosum*), pau-preto (*Eugenia biflora*) e indivíduos jovens de *Inga* sp.

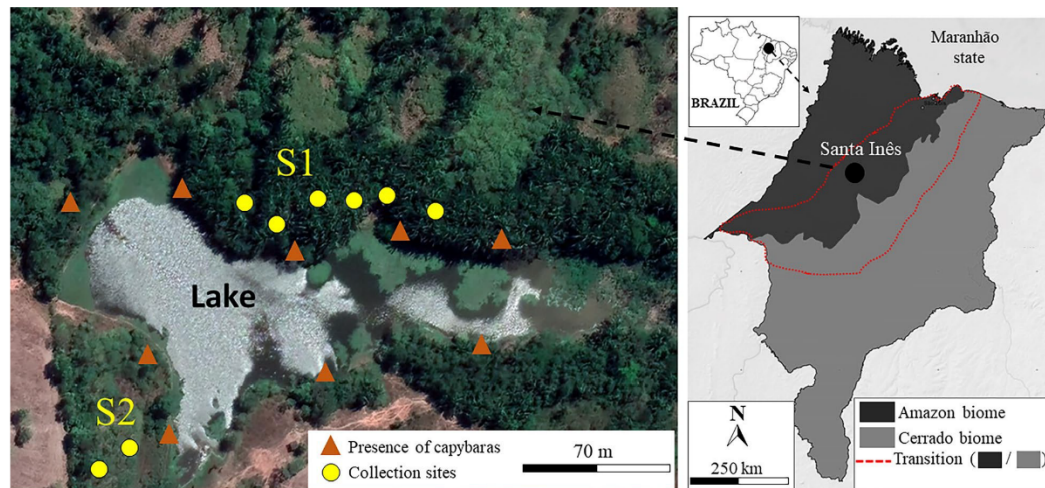


Fig. 1 Mapa mostrando a área de estudo, município de Santa Inês, estado do Maranhão, Brasil. A área de transição foi definida de acordo com Marques et al. [54] A área de transição Amazônia Oriental-Cerrado variou de aproximadamente 40 a 250 km. S1, S2, Locais de estudo 1 e 2, respectivamente

como uma grande quantidade de ipês (família Bignoniaceae) no sub-bosque; além disso, foram registradas duas espécies da grande família Fabaceae (*Schnella* sp. e *Bauhinia* sp.). Em termos de vegetação rasteira (vegetação com aproximadamente 50-100 cm de altura), foram observadas *Cyperus* sp., *Ipomoea* sp., *Alternanthera* sp. e vassoura-de-cabeça-branca (*Borreria verticillata*). A palmeira de babaçu (*Attalea speciosa*) era uma planta dominante na área. O local de estudo 2 (S2; 03°52'48"S, 45°32'53"W) era composto por uma floresta mais aberta e vegetação herbácea e rasteira densa, com a presença de erva-de-são-joão (*Chromolaena odorata*), erva-cobra-azul (*Stachytarpheta cayennensis*), erva-de-são-joão (*Mimosa pudica*), malva-preta (*Sida sp. nosa*) e amieiro-amarelo (*Turnera ulmifolia*). Também foi observada uma aglomeração de subarbustos e arbustos de caule fino, como a lantana comum (*Lantana camara*), a flor-de-aranha (*Cleome spinosa*), a erva-de-são-joão (*Urena lobata*), além de elementos arbóreos isolados e espaçados em toda a área, representados por candle bush (*Senna alata*), gumtree (*Sapium glandulosum*), *Coccoloba* sp. e a espécie cultivada brown salwood (*Acacia mangium*); além disso, foram registrados alguns indivíduos jovens de ipês espalhados pela área. Entre os locais de coleta havia um lago de cerca de 15.000 m², onde era possível ver grupos de capivaras em grupos de até

60 indivíduos (filhotes, jovens e adultos) (Fig. 2). Outros mamíferos também foram vistos na área de estudo: paca (*Cuniculus paca*), gambá (*Didelphis* sp.), quati (*Nasua nasua*) e cutia (*Dasyprocta* sp.). Os seres humanos visitavam com frequência áreas infestadas de carrapatos, de modo que o parasitismo por carrapatos era comum.

Sabe-se que *Amblyomma cajennense* s.s. está presente na área de estudo, enquanto *A. sculptum* ainda não foi registrado [24].

Coleta de carrapatos

Os carrapatos foram coletados mensalmente de junho de 2021 a maio de 2023, com um total de 24 coletas nas estações chuvosa (novembro-maio) e seca (junho-outubro) (Fig. 3). A cada mês, os carrapatos foram coletados por busca visual e por arrasto, conforme descrito anteriormente [31]. As coletas foram realizadas entre 8:00 e 12:00 horas e entre 14:00 e 17:00 horas. O método de arrasto consistiu em passar uma flanela de algodão (2 m de comprimento × 1 m de largura) sobre a folhagem e a vegetação. O arrasto foi realizado por aproximadamente 30 a 40 minutos ao longo de transectos lineares de aproximadamente 70 a 100 m, com paradas a cada 5 m para coletar carrapatos da flanela de algodão e os que estavam nas roupas dos pesquisadores. O método de busca visual consistia em inspecionar visualmente a vegetação para verificar a presença de carrapatos [31-33]. Foram necessários dois pesquisadores para realizar as coletas arrastando, e três pesquisadores para o método de busca visual.

Os carrapatos retirados das roupas dos pesquisadores, da flanela de algodão (método de arrasto) e da vegetação foram armazenados em tubos de ensaio de 15 ou 50 ml contendo etanol 70% e enviados ao Laboratório de Controle de Parasitas da Universidade Federal do Maranhão para identificação. Os carrapatos foram examinados morfológicamente em um estereoscópio binocular (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Alemanha) com uma ampliação entre 6,3× e 50×. Os adultos e as ninfas

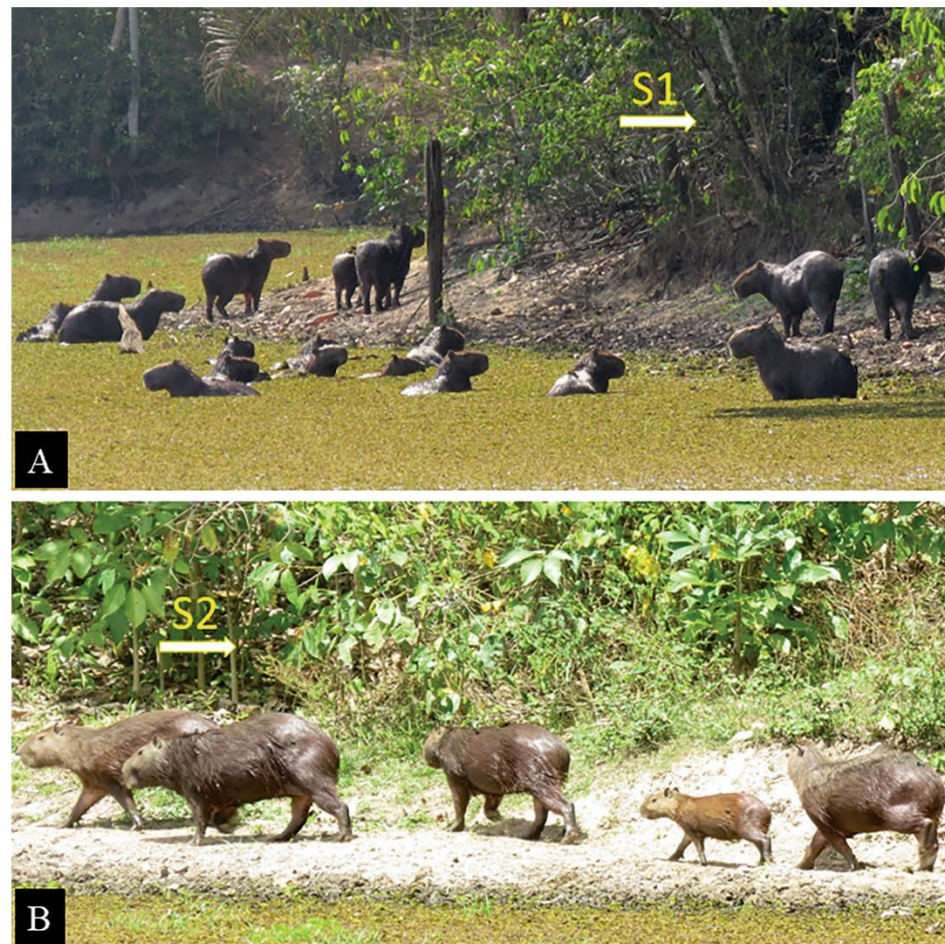


Fig. 2 Grupo de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) na área de estudo. **A** Adultos e juvenis, **B** adultos, juvenis e filhotes

identificados até o nível de espécie usando chaves morfológicas e descrições de espécies [23, 24, 34, 35]. Os espécimes foram depositados na coleção de carrapatos "Coleção Nacional de Carrapatos Danilo Gonçalves Saraiva" da Universidade de São Paulo (número de acesso CNC-4656).

Detecção molecular de rickettsias

Dos 3.351 carrapatos coletados neste estudo, 99 adultos (50 machos e 49 fêmeas) foram selecionados aleatoriamente e processados individualmente para extração de DNA usando a técnica de isotiocianato de guanidina e fenol/clorofórmio [36].

O DNA dos carrapatos foi testado por um ensaio de PCR em tempo real TaqMan (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA) que teve como alvo um fragmento de 147 pb da bactéria rickettsial

gltA, seguindo o protocolo descrito anteriormente por Soares et al. [37]. As amostras positivas para PCR em tempo real foram subsequentemente testadas com um ensaio de PCR convencional usando os primers Rr190.70p e Rr190.602n visando o gene da proteína da membrana externa de 190 kDa (*ompA*) do grupo da febre maculosa (SFG) *Rickettsia* spp. conforme descrito anteriormente [38]. Os produtos de PCR do *ompA* foram purificados usando o Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, Madison, WI, EUA) e sequenciados usando o BigDye™ Terminator v3.1 Matrix Standards Kit (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific). As reações de sequenciamento foram realizadas em ambas as direções em um analisador genético 3500xL (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific) usando os mesmos primers das análises de PCR.

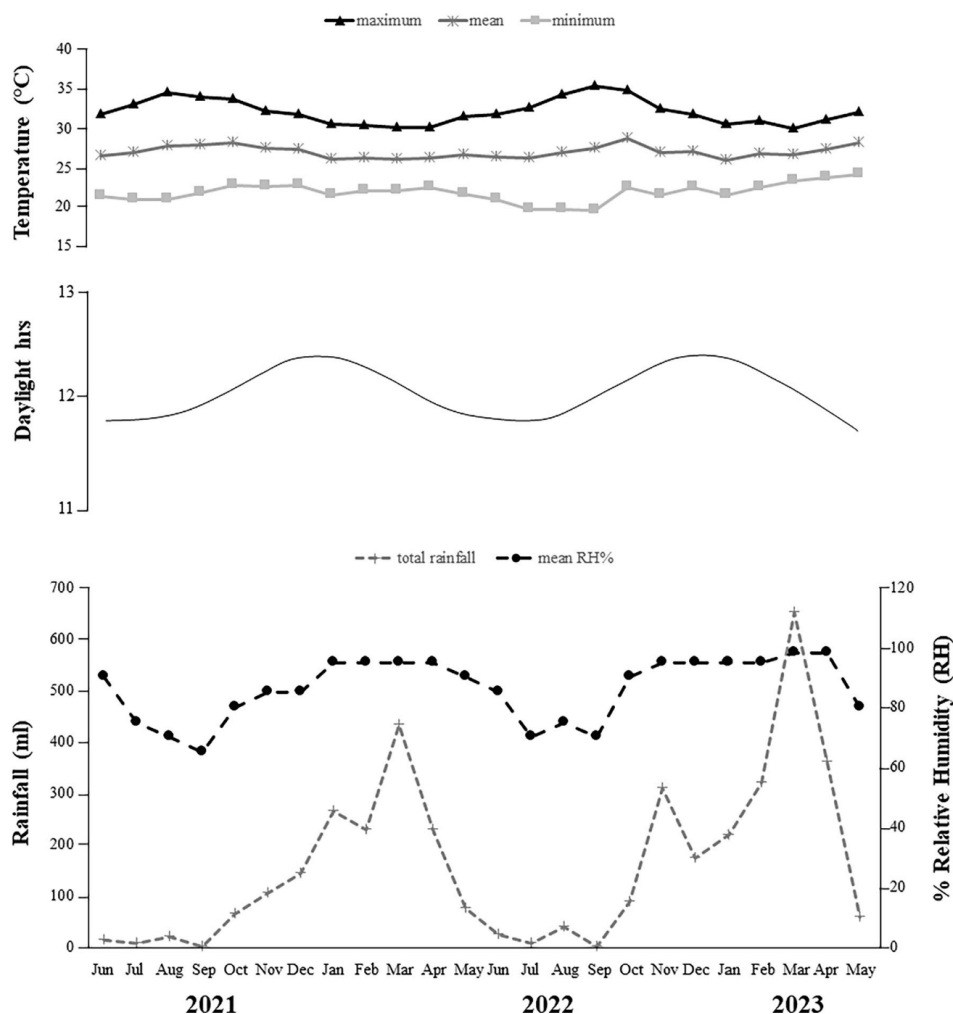


Fig. 3 Os dados meteorológicos da região de estudo durante o período de estudo (junho de 2021 a maio de 2023) foram fornecidos pela Agritempo/EMBRAPA

As sequências obtidas foram montadas e analisadas com o software Sequencher® v. 5.4.6 (Gene Codes Corp., Ann Arbor, WI, EUA), considerando um escore de qualidade Phred ≥ 30 . As sequências de consenso foram submetidas a análises BLASTn (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast) para inferir as semelhanças mais próximas disponíveis no GenBank.

As amostras de DNA de carrapato que apresentaram resultado negativo para DNA de rickettsia pela PCR em tempo real também foram testadas pela PCR convencional que tem como alvo o gene 16S ribossomal DNA (rDNA) mitocondrial do carrapato [39], com o objetivo de validar o protocolo de extração de DNA. Se a amostra do carrapato não produzisse nenhum produto por essa PCR, considerava-se que o DNA

A extração não foi bem-sucedida, e o carrapato individual foi descartado do estudo.

Análises estatísticas

Caracterizamos a atividade temporal do *A. cajennense* s.s. na vegetação, examinando a atividade de busca para cada estágio de vida (larvas, ninfas, adultos [machos e fêmeas]) em relação à estação seca e chuvosa. Os dados meteorológicos foram obtidos do Agritempo, um sistema de monitoramento agrometeorológico fornecido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), usando informações registradas na estação meteorológica número

82900 (68 km distante da área de estudo). Os dados de temperatura (°C) e precipitação total (mm) são apresentados como médias mensais. O coeficiente de correlação de Pearson foi usado para comparar o número de carrapatos em cada estágio (larvas, ninfas e adultos) com a temperatura média mensal, a umidade relativa (UR) e a precipitação (mm), de junho a setembro (estação seca) e de novembro a abril (estação chuvosa). As médias de carrapatos de acordo com os meses mais significativos de seca e precipitação foram comparadas usando o teste H de Kruskal-Wallis. A luz do dia foi calculada subtraindo-se as horas entre o nascer e o pôr do sol, de acordo com a latitude e a altitude da área de estudo. A normalidade dos dados foi avaliada usando o teste de Lilliefors. O nível de significância foi definido como $P \leq 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com o software BioEstat, v5.3 (Instituto Mamirauá de Desenvolvimento Sustentável, Tefé, AM, Brasil).

Resultados

No geral, 1.843 (62,4%) adultos (52,6% mulheres, 47,4% machos), 1110 (37,6%) ninfas e 398 grupos de larvas foram coletados. Todas as fêmeas adultas e ninfas foram morfológicamente identificadas como *A. cajennense* s.s. Como nenhuma outra espécie de carrapato foi encontrada em nosso estudo, todos os machos e larvas (morfológicamente compatíveis com *A. cajennense* sensu lato) foram convenientemente designados como *A. cajennense* s.s. Embora os carrapatos tenham sido coletados em ambos os locais, um número significativamente maior foi coletado em S1 (93,6% dos carrapatos individuais e 82,2% dos grupos de larvas) em comparação com S2 (teste do qui-quadrado, $\chi^2 = 6,68$, $df = 1$, $P < 0,002$). Em S1, todos os estágios do carrapato (larvas, ninfas e adultos) foram altamente abundantes, independentemente da estação. Larvas, ninfas e adultos também foram coletados em S2, mas os carrapatos coletados eram principalmente larvas (47 grupos) e, em menor abundância, adultos ($n = 23$) e ninfas ($n = 89$). Em S2, os grupos de larvas foram encontrados exclusivamente na estação seca.

Carrapatos adultos foram coletados em todos os 24 meses de amostragem, enquanto as ninfas foram coletadas em 22 meses (nenhuma ninfa foi coletada em fevereiro e março de 2023) e as larvas foram coletadas em 17 meses (nenhuma larva foi coletada durante os períodos de janeiro a abril de 2022 e janeiro a março de 2023) (Fig. 4). Em ambos os anos de coleta, a atividade larval foi observada de abril a dezembro, com um pico de junho a setembro (estação seca) (Fig. 4). A maior abundância de larvas no ambiente foi registrada em agosto em ambos os anos de estudo (65 e 50 grupos de larvas em 2021 e 2022, respectivamente). A abundância de ninfas atingiu o pico de setembro a novembro (período de transição entre as estações seca e chuvosa), com a maior

abundância registrada em outubro de ambos os anos (180 e 243 indivíduos em outubro de 2021 e outubro de 2022, respectivamente) (Fig. 4). Os carrapatos adultos foram abundantes de outubro a maio (primavera/verão/início do outono), com os maiores picos

de Araújo *et al. Parasitas e vetores* (2023) 16:391 em abundância ocorrendo em março e abril de 2022 (156 e 143 indivíduos, respectivamente) e 2023 (163 e 195 indivíduos, respectivamente (Fig. 4).

As comparações do número médio de aglomerados de larvas, ninfas e adultos nas estações seca e chuvosa mostraram que os aglomerados de larvas foram significativamente mais abundantes na estação seca do que na estação chuvosa (teste H de Kruskal-Wallis, $H = 36,90$, $df = 1$, $P = 0,0003$) (Figs. 5, 6). Em

Em contraste, os adultos foram significativamente mais abundantes na estação chuvosa (teste H de Kruskal-Wallis, $H = 36,90$, $df = 1$, $P = 0,002$) (Fig. 5c). As ninfas foram mais frequentes nos períodos de transição entre as estações seca e chuvosa, de modo que sua abundância foi semelhante em ambas as estações (teste H de Kruskal-Wallis, $H = 36,90$, $df = 1$, $P = 0,2426$) (Figs. 5, 6).

Os grupos de larvas ($n = 355$) foram mais frequentes quando o número de horas de luz do dia foi menor (< 12 h) (estação seca) ($P < 0,0002$). Embora presentes em todos os meses do experimento, os adultos foram mais frequentes em condições de longa luz do dia (> 12 h) ($n = 1308$) ($P < 0,001$). A abundância de ninfas foi estatisticamente semelhante entre os períodos de diferentes horas de luz do dia ($P = 0,003$). Além disso, as larvas apresentaram uma correlação linear negativa significativa com a precipitação ($r = -0,7462$; $P < 0,001$; $R^2 = 0,6417$), enquanto os adultos apresentaram uma correlação positiva ($r = 0,8476$; $P < 0,001$; $R^2 = 0,7941$). Não houve correlação entre os estágios do carrapato e a temperatura média ($^{\circ}\text{C}$) e a UR (%).

Um total de 38,4% (38/99) dos adultos de *A. cajennense* s.s. apresentou resultado positivo no ensaio de PCR em tempo real visando o gene *gltA* da rickettsia. Desses, 33 (14 machos, 19 fêmeas) também foram positivos para a PCR convencional visando o gene *ompA* da SFG-rickettsiae. Os produtos de PCR do gene *ompA* geraram sequências de DNA confiáveis de sete carrapatos (4 fêmeas, 3 machos), todas 100% idênticas às sequências de *R. amblyommatis* disponíveis no GenBank (números de acesso: MN313363.1, MH818422.1). Com base na confirmação de rickettsias por sequências de DNA, a taxa de infecção por *R. amblyommatis* em carrapatos *A. cajennense* s.s. foi de 7,1% (7/99).

Embora os carrapatos coletados em humanos não tenham sido quantificados, todos os três estágios ativos (larvas, ninfas e adultos) foram encontrados com frequência nas roupas e/ou presos a humanos na área de estudo, tanto em pesquisadores quanto em trabalhadores rurais.

Discussão

O complexo de espécies *A. cajennense* tem uma distribuição que vai do sul dos EUA ao norte da Argentina [40, 41] e é representado por seis espécies nominais, duas das quais ocorrem no Brasil: *A. sculptum* (biomas Mata Atlântica, Pantanal e Cerrado, sendo rara na Caatinga) e *A. cajennense* s.s. (restrita ao bioma amazônico) [23, 24]. Estudos anteriores mostraram que o *A. sculptum* é normalmente

encontrado no bioma Cerrado, onde

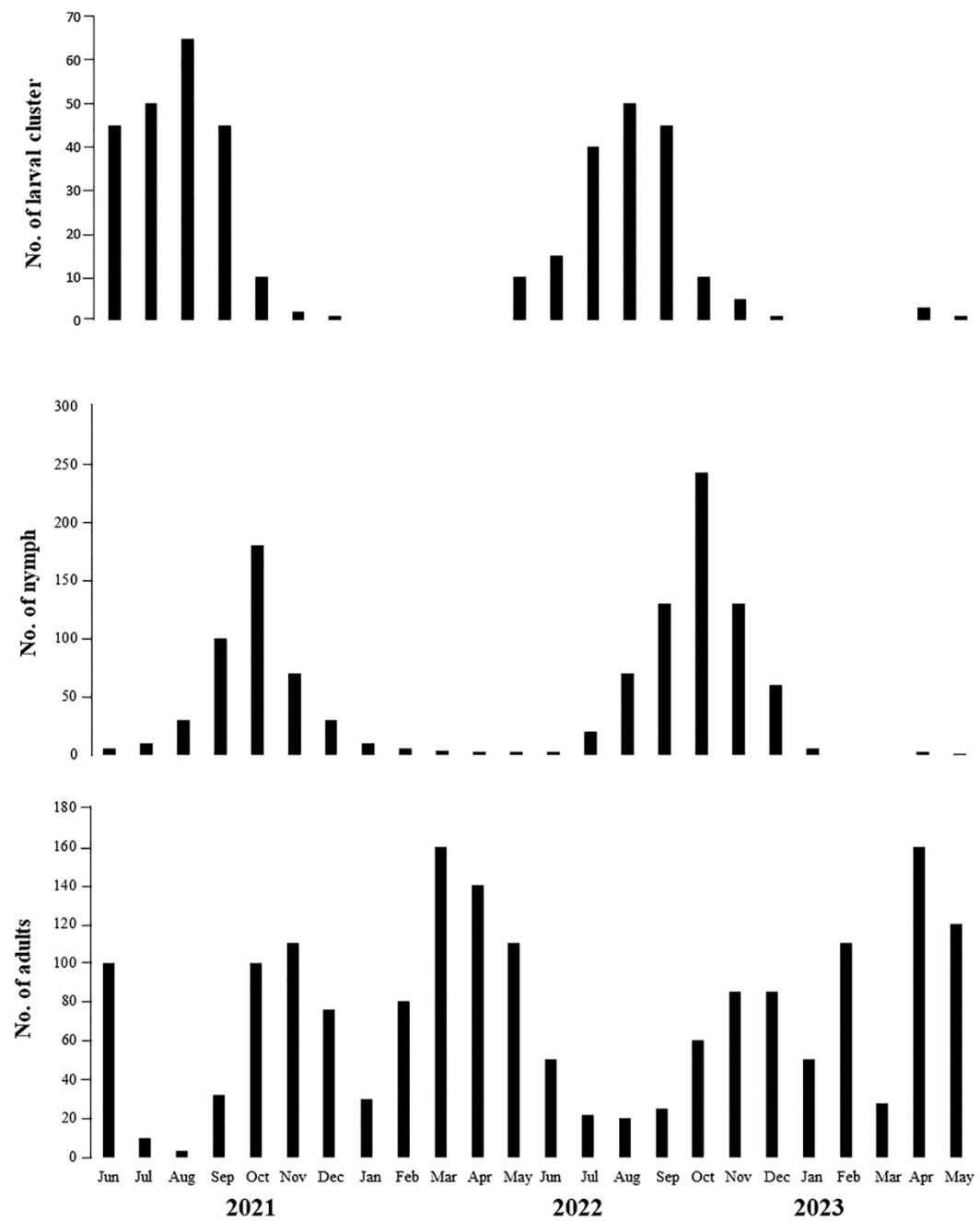


Fig. 4 Atividade sazonal de larvas, ninfas e adultos de *Amblyomma cajennense* sensu stricto no bioma amazônico, município de Santa Inês, estado do Maranhão, Brasil

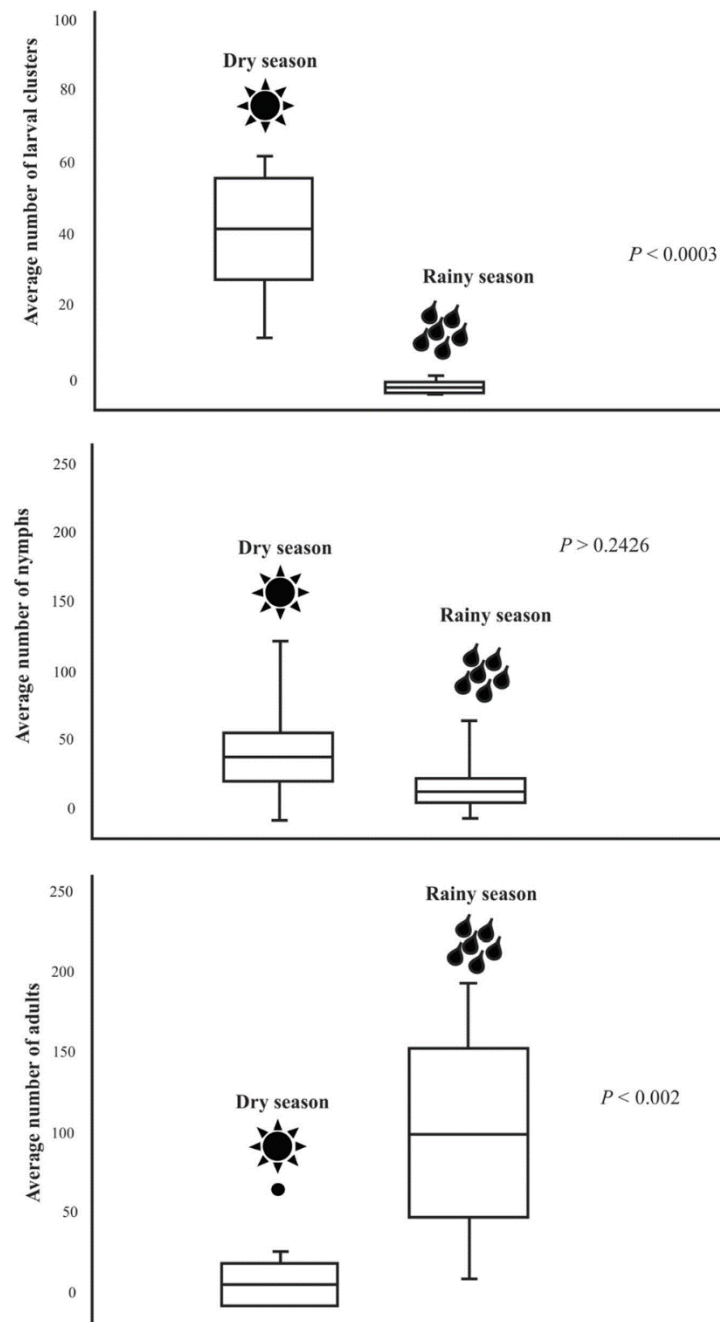


Fig. 5 Boxplot do número médio de carrapatos *Amblyomma cajennense* sensu stricto (grupos de larvas, ninfas e adultos) coletados nas estações seca e chuvosa no bioma amazônico, município de Santa Inês, estado do Maranhão, Brasil

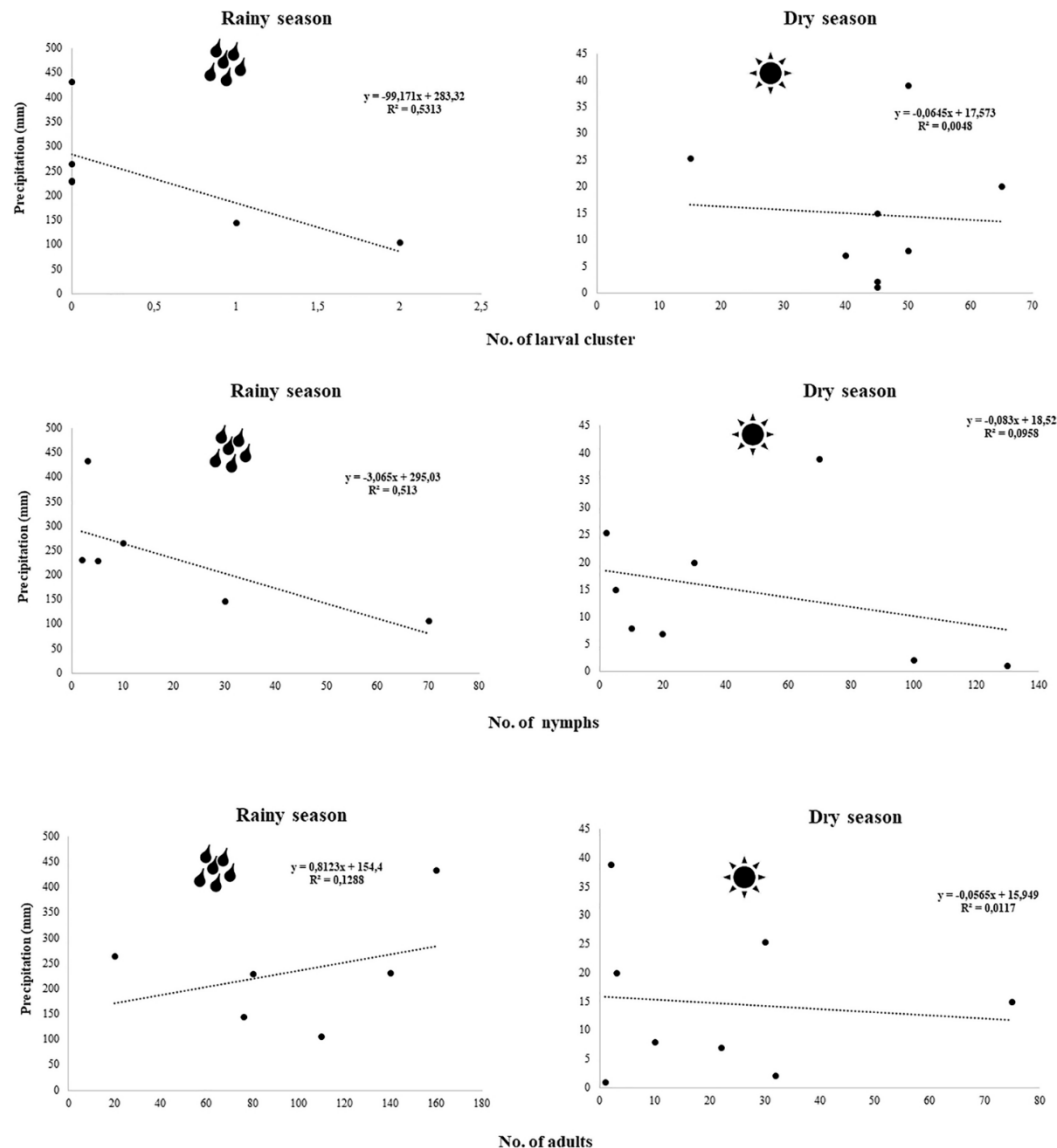


Fig. 6 Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre o número de carrapatos *Amblyomma cajennense* sensu stricto (grupos de larvas, ninfas e adultos) e a precipitação (mm), município de Santa Inês, estado do Maranhão, Brasil

a umidade relativa é moderada (aprox. 65-78% RH) [42]. Em contraste, o carrapato amazônico *A. cajennense* s.s. prefere umidade relativa mais alta (aproximadamente 90% UR) [42]. Ambas as espécies ocorrem no estado do Maranhão - *A. cajennense* s.s. no bioma amazônico e *A. sculptum* no Cerrado - com sua ocorrência simpátrica sendo observada no

zona de transição Amazônia-Cerrado [24, 43]. Embora a área de estudo esteja nos limites da zona de transição Amazônia-Cerrado (Fig. 1), *A. cajennense* s.s. foi a única espécie encontrada durante o presente estudo, confirmando as observações anteriores de Martins et al. [24]. A ausência de *A. sculptum* pode ser explicada pela alta umidade relativa

na área durante todo o ano, mesmo em períodos secos (aprox. 3 meses) (Fig. 3). Além disso, durante a estação chuvosa, o solo fica predominantemente úmido, com algumas áreas inundadas por horas ou dias. Essas características são desfavoráveis para o *A. sculptum*, que prefere áreas onde o solo nunca está úmido ou inundado [44, 45].

Labruna [42] mostraram experimentalmente que o *A. sculptum* sucumbe após ser imerso em água, especialmente por 48-72 h. Portanto, embora nossa área de estudo seja transitória e degradada, ela ainda não é sustentável para o *A. sculptum*.

Diversos estudos demonstraram o efeito do clima na bioecologia dos carrapatos durante a fase não parasitária, afetando sua sobrevivência, inibindo sua atividade de busca de hospedeiros e/ou influenciando sua densidade populacional ao longo do tempo e do espaço [6, 14, 16, 46-50]. Nesse contexto, os fatores climáticos (por exemplo, precipitação, temperatura e umidade relativa) são essenciais para a sobrevivência do *A. cajennense* s.s. na região amazônica. Os carrapatos *Amblyomma cajennense* s.s. foram coletados durante todo o ano no presente estudo; em contrapartida, o número mensal de larvas, ninfas e adultos coletados variou. A atividade das larvas foi observada de abril a dezembro, com pico na estação seca; as ninfas predominaram de setembro a novembro, com pico no período de transição entre as estações seca e chuvosa; e os adultos tiveram pico na estação chuvosa. Esse padrão sazonal é semelhante ao registrado no único estudo anterior realizado no bioma amazônico, que foi relacionado a *Amblyomma* spp. (incluindo *A. cajennense* s.s.) no estado de Rondônia, oeste da Amazônia brasileira [22]. Esses resultados também são semelhantes aos relatados para *A. sculptum* nas regiões sudeste e centro-oeste do Brasil (biomas Cerrado e Mata Atlântica), onde as larvas predominaram na estação seca (outono e inverno), as ninfas no período de transição seca-seca (inverno-primavera) e os adultos na estação chuvosa (primavera e verão) [51]. De fato, os resultados do presente estudo sugerem que *A. cajennense* s.s. completa uma geração por ano na Amazônia Oriental do estado do Maranhão, o que é semelhante ao ciclo de vida registrado para *A. sculptum* em outros biomas brasileiros [19].

As larvas de *A. cajennense* s.s. eram mais abundantes durante a estação seca, quando a umidade relativa era de aproximadamente 70%, e estavam ausentes nos períodos de maior precipitação. No sudeste do Brasil, Labruna et al. [20] relataram que o padrão de geração de um ano de *A. sculptum* é controlado pela diapausa comportamental das larvas durante os meses de primavera e verão (ou seja, a estação chuvosa). Esses autores mostraram que as larvas que eclodiam durante as estações quentes e chuvosas permaneciam inativas e confinadas sob a folhagem até o início do outono (abril ou maio, final da estação chuvosa), quando eram observadas buscando a

vegetação. Curiosamente, a atividade larval em nosso estudo também começou no final da estação chuvosa, em maio de 2022 e abril de 2023 (ou seja, não havia larvas ativas durante a estação chuvosa).

Cabrera e Labruna [21] demonstraram que a diapausa comportamental das larvas de *A. sculptum* é controlada principalmente pelo fotoperíodo. Eles mostraram que as larvas que eclodem durante a primavera e o verão (duração da luz do dia > 12 h) permanecem inativas até o outono seguinte. Quando as horas de luz do dia diminuem para menos de 12 h ou a temperatura média cai para menos de 20 °C, as larvas terminam o estado de dormência e iniciam sua atividade de busca de hospedeiros. No presente estudo, as larvas em busca de hospedeiros estiveram ausentes da vegetação durante o período de janeiro a março (estação chuvosa) e foram capturadas pela primeira vez em abril ou maio de 2022 e 2023. Essa atividade larval inicial coincidiu com a diminuição das horas de luz do dia para < 12 h, sugerindo que, de forma semelhante à *A. sculptum*, a diapausa comportamental larval também pode estar controlando o padrão de geração de um ano do *A. cajennense* s.s. De fato, são necessários mais estudos para confirmar essa hipótese.

Embora nosso objetivo principal fosse entender a dinâmica sazonal do *A. cajennense* s.s. no bioma do Amazonas, 99 carrapatos adultos também foram testados para agentes rickettsiais. No total, 33 (33,3%) carrapatos apresentaram resultados positivos em ensaios de PCR visando o gene rickettsial *ompA*, que é enviado apenas em espécies de *Rickettsia* SFG. As sequências de DNA foram geradas com sucesso para sete dos 33 carrapatos positivos para *ompA*-PCR, todos atribuídos à *R. amblyommatis*. Essa bactéria foi detectada em 34 espécies de carrapatos em 17 países americanos [29]. A taxa de infecção em carrapatos pode exceder 90% nos EUA, Panamá e Brasil, com aproximadamente 70% de infecção natural no bioma amazônico [52]. Sabe-se que a *Rickettsia amblyommatis* é menos prevalente nas populações de *A. cajennense* s.s. no Maranhão [53], conforme corroborado por nossos resultados. É importante mencionar que a *R. amblyommatis* é potencialmente patogênica para humanos [29], mas sua associação com casos clínicos de rickettsiose da febre maculosa em humanos e animais ainda não está clara. É interessante notar que foi demonstrado que a infecção por *R. amblyommatis* pode impedir que os carrapatos adquiram outras espécies de *Rickettsia*, pode alterar o comportamento de busca do hospedeiro pelo carrapato e pode influenciar a progressão dos sintomas da doença ao infectar humanos [29]. Em conjunto, esses dados enfatizam a importância de mais estudos sobre esse organismo rickettsial.

Por fim, nosso estudo relata pela primeira vez um comportamento sazonal do carrapato amazônico *A. cajennense* s.s. O padrão observado de geração de 1 ano confirma esse tempo de geração para *Amblyomma* spp. no bioma amazônico [22]. A descoberta de adultos de *A. cajennense* s.s. infectados com *A. presença de R. amblyommatis* sugere que os animais e os seres humanos estão expostos ao risco de infecção por esse agente, uma vez que os seres humanos e os animais selvagens são frequentes nos locais de estudo.

Embora os hospedeiros naturais da *R. amblyommatis* permaneçam desconhecidos, a presença de carrapatos e capivaras infectados no presente estudo sugere a possibilidade de que esses

Os roedores podem estar atuando como hospedeiros amplificadores dessa bactéria. Estudos adicionais são recomendados para entender melhor a relação entre *A. cajennense* s.s., *R. amblyommatidis*, capivaras e humanos no bioma amazônico, considerando que esse ixodídeo é o vetor primário de *R. amblyommatidis* e um dos carrapatos mais comuns que parasitam animais e humanos nessa região [24, 26, 27].

Conclusão

Nossos dados sugerem um padrão de geração de um ano para *A. cajennense* s.s., com uma sazonalidade bem definida de larvas, ninfas e adultos no bioma amazônico. As larvas predominam durante a estação seca, as ninfas na transição seca/chuvosa e os adultos na estação seca. A presença de *R. amblyommatidis* em adultos sugere que os animais e os seres humanos da região de estudo correm o risco de serem infectados por esse agente de SFG-rickettsial. Estudos futuros que investiguem a relação entre *R. amblyommatidis*, *A. cajennense* s.s., reservatórios (por exemplo, capivara) e seres humanos são necessários no bioma amazônico.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)-"Amazônia-Legal" (número 0762/2020 / 88887.510068/2020-00), à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro. Agradecemos também ao Núcleo de Plataformas Tecnológicas (NPT) do Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz-PB) pelo apoio no sequenciamento do DNA.

Contribuições dos autores

FESA, CSMR, RMSN, LMCJ, LTD e HRL coletaram as amostras, realizaram os experimentos e projetaram o estudo. FESA, TFM, CSMR, RMSN, JLHF, MAT, LMCJ, NJL, CEBJ, FSK, LCSP, FDT, MBL, LTD e HRL analisaram os resultados. FESA, LMCJ, JLHF, FSK, FDT, MBL e HRL redigiram o manuscrito. Todos os autores corroboraram, leram e aprovaram o manuscrito final.

Financiamento

Este estudo recebeu apoio financeiro da CAPES/DPG-"Amazônia-Legal" (Programa de Apoio aos Estudos de Pós-Graduação na Amazônia Legal (número 088.990.417-09) para HRL. TFM é apoiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo FAPESP nº 2019/03167-0, 2020/05987-1). LMCJ, MBL e FSK são pesquisadores bolsistas do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Este estudo foi financiado em parte pela CAPES - Código Financeiro 001. LCSP recebeu apoio do Programa de Pesquisa Intramural do Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infecciosas (Z01 AI001337-01).

Disponibilidade de dados e materiais

As sequências geradas neste estudo estão depositadas no GenBank sob os números de acesso OR289675-OR289681.

Declarações

Aprovação ética e consentimento para participar

Não aplicável.

Consentimento para publicação

Não aplicável.

Interesses conflitantes

FDT é o editor-chefe da *Parasites & Vectors*, mas o processo de revisão por pares e a decisão final foram tratados de forma independente pela Dra. Anna Bajer, editora da seção "Ticks and Tick-Borne Diseases". Os demais coautores declaram não haver conflito de interesses.

Detalhes do autor

¹Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil. ²Instituto Pasteur, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil. ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. ⁴Programa de Pós-Graduação em Defesa Sanitária Animal, Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão, Brasil. ⁵Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil. ⁶Veterinária e Faculdade de Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, Brasil. ⁷Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil. ⁸Unidade de Transmissão de Carrapatos-Patógenos, Laboratório de Bacteriologia, Instituto Nacional de Alergia e Doenças Infecciosas, Hamilton, MT, EUA. ⁹Departamento de Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Recife, PE, Brasil. ¹⁰Programa de Pós-Graduação em Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO), Biodiversidade e Conservação, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, MA, Brasil.

Recebido: 20 de agosto de 2023 Aceito: 23 de setembro de 2023

Published online: 27 October 2023

Referências

1. Szabó MPJ, Pinter A, Labruna MB. Ecologia, biologia e distribuição de vetores do carrapato da febre maculosa no Brasil. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013;3:27.
2. Luz HR, Costa FB, Benatti HR, Ramos VN, Serpa A, Martins MC, et al. Epidemiologia da febre maculosa brasileira associada à capivara. *PLoS Neg Trop Dis*. 2019;13:e0007734.
3. Bernard Q, Phelan JP, Hu LT. Controlando a doença de Lyme: novos paradigmas para atingir o eixo patógeno-reservatório do carrapato no horizonte. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:607170. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.607170>.
4. Dias TC, Stabach JA, Huang Q, Labruna MB, Leimgruber P, Ferraz KM. Seleção de hábitos em paisagens naturais e modificadas pelo homem por capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), um importante hospedeiro para carrapatos *Amblyomma sculptum*. *PLoS ONE*. 2020;15:e0229277.
5. Rand PW, Lubelczyl C, Lavigne GR, Elias S. Deer density and the abundance of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*. 2003;40:179-84.
6. Randolph SE. Ecologia dos carrapatos: processos e padrões por trás do risco epidemiológico representado pelos carrapatos ixodídeos como vetores. *Parasitology*. 2004;129:37-65.
7. Boyer PH, Barthel C, Mohseni-Zadeh M, Talagrand-Reboul E, Frickert M, Jaulhac B, et al. Impact of different anthropogenic environments on ticks and tick-associated pathogens in Alsace, a French region highly endemic for tick-borne diseases. *Microorganisms*. 2022;10:245.
8. Randolph SE, Rogers DJ. Rumo a novos modelos populacionais como ferramentas para o controle de carrapatos africanos e doenças transmitidas por carrapatos. Em: Coons LB, editor. *Proceedings of the 2nd international conference on tick-borne pathogens at the host-vector interface*. Parque Nacional Kruger, África do Sul; 1997. pp. 20-35.
9. Eisen RJ, Eisen L. The blacklegged tick, *Ixodes scapularis*: an increasing public health concern. *Trends Parasitol*. 2018;34:295-309.
10. Burtis JC, Foster E, Schwartz AM, Kugeler KJ, Maes SE, Fleshman AC. Distribuições anteriores de carrapatos de pernas pretas (*Ixodes scapularis*), espiroquetas da doença de Lyme (*Borrelia burgdorferi* sensu stricto) e casos humanos da doença de Lyme no leste dos Estados Unidos. *Ticks Tick Borne Dis*. 2022;13:102000.
11. Ostfeld RS, Felicia K. Does experimental reduction of blacklegged tick (*Ixodes scapularis*) abundance reduce Lyme disease incidence? *Pathogens*. 2023;12:714.
12. Sonenshine DE. *Biology of ticks* (Biologia dos carrapatos). Nova York: Oxford University Press; 1993.

14. Ogden NH, Lindsay LR. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases (Efeitos do clima e das mudanças climáticas sobre vetores e doenças transmitidas por vetores): Os carrapatos são diferentes. *Trends Parasitol.* 2016;32:646-56.
15. Nielebeek C, Kim SH, Pepe A, Himes L, Miller Z, Zummo S. Climatic stress decreases tick survival but increases rate of host-seeking behavior. *Ecosphere.* 2023;14:e4369.
16. Ogden NH, Lindsay LR, Beauchamp G, Charron D, Maarouf A, O'Callaghan CJ, et al. Investigação das relações entre temperatura e taxas de desenvolvimento do carrapato *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) no laboratório e no campo. *J Med Entomol.* 2004;41:622-33.
17. MacDonald AJ. Fatores abióticos e de habitat da abundância, diversidade, fenologia e risco de encontro humano de vetores de carrapatos no sul da Califórnia. *PLoS ONE.* 2018;13:e0201665.
18. Reynolds C, Kontschán J, Takács N, Solymosi N, Sándor AD, Keve G. Mudança na sazonalidade dos carrapatos ixodídeos após um inverno quente em um habitat urbano com notas sobre os morfotipos de *Ixodes ricinus* e dados de apoio a espécies crípticas dentro de *Ixodes frontalis*. *Exp Appl Acarol.* 2022;88:127-38.
19. Paula LGF, de Nascimento RM, Franco AO, Szabó MPJ, Labruna MB, Monteiro C, et al. Dinâmica sazonal de *Amblyomma sculptum*: uma revisão. *Parasit Vectors.* 2022;15:193.
20. Labruna MB, Amaku M, Metzner JA, Pinter A, Ferreira F. A diapausa com portamento larval regula o ciclo de vida de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) no sudeste do Brasil. *J Med Entomol.* 2003;40:170-8.
21. Cabrera RR, Labruna MB. Influência do fotoperíodo e da temperatura na diapausa comportamental larval de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 2009;46:1303-9.
22. Labruna MB, Terassini FA, Camargo LMA. Notas sobre a dinâmica populacional de carrapatos *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) no Brasil. *J Parasitol.* 2009;95:1016-8.
23. Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, Guglielmonne AA. Reavaliação do status taxonômico de *Amblyomma cajennense* (Fabricio, 1787) com a descrição de três novas espécies, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. e *Amblyomma patinoi* n. sp., e reintegração de *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 e *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Carrapatos Tick-borne Dis.* 2014;5:252-6.
24. Martins TF, Barbieri ARM, Costa FB, Terassini FA, Camargo LMA, Peterka CRL, et al. Distribuição geográfica de carrapatos *Amblyomma cajennense* (sensu lato) (Parasitiformes: Ixodidae) no Brasil, com descrição da ninfa de *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasit Vectors.* 2016;9:186.
25. Gianizella SL, Martins TF, Onofrio VC, Aguiar NQ, Gravena W, Nascimento CA, et al. Carrapatos (Acari: Ixodidae) do estado do Amazonas. *Brasil Exp Appl Acarol.* 2018;74:177-83.
26. Luz HR, Martins TF, Muñoz-Leal S, Costa FB, Gianizella SL, Faccini JLH. Carrapatos da Amazônia brasileira: espécies, distribuição e relações com os hospedeiros. Em: Mikola H, editor. *Ecosystem and biodiversity of Amazonia* (Ecossistema e biodiversidade da Amazônia). Londres: IntechOpen; 2020. p. 1-34.
27. Nogueira BCF, Campos AK, Muñoz-Leal S, Pinter A, Martins TF. Carrapatos moles e duros (Parasitiformes: Ixodida) em humanos: uma revisão dos biomas brasileiros e o impacto das mudanças ambientais. *Acta Trop.* 2022;234:106598.
28. Benatti HR, Binder LC, Costa FB, Soares HS, Luz HR, Labruna MB. Manutenção da infecção por *Rickettsia amblyommatis* em carrapatos *Amblyomma cajennense* sensu stricto e avaliação da competência do vetor. *Exp App Acarol.* 2020;82:151-9.
29. Richardson EA, Roe RM, Apperson CS, Ponnusamy L. *Rickettsia amblyommatis* em carrapatos: uma revisão da distribuição, patogenicidade e diversidade. *Microorganisms.* 2023;11:493.
30. ZEE - Sumário Executivo do Zoneamento Ecológico Econômico do Estado do Maranhão - ZEE: etapa Bioma Amazônico. Paulo Henrique de Aragão Catunda; Luiz Jorge Bezerra da Silva Dias (organizadores). São Luís: IMESC; 2019.
31. Terassini FA, Barbieri FS, Albuquerque S, Szabó MP, Camargo LM, Labruna MB. Comparação de dois métodos de coleta de carrapatos de vida livre na floresta amazônica. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010;1:194-6.
32. Szabó MP, Labruna MB, Garcia MV, Pinter A, Castagnoli KC, Pacheco RC, et al. Aspectos ecológicos dos carrapatos de vida livre (Acari: Ixodidae) em trilhas de animais na Mata Atlântica no sudeste do Brasil. *Ann Trop Med Parasitol.* 2009;103:57-72.
33. Ramos VN, Osava CF, Piovezan U, Szabó MPJ. Dados complementares sobre quatro métodos de amostragem de carrapatos de vida livre no Pantanal brasileiro. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2014;23:516-21.
34. Martins TF, Onofrio VC, Barros-Battesti DM, Labruna MB. Ninfas do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) do Brasil: descrições, redescrições e chave de identificação. *Ticks Tick-borne Dis.* 2010;1:75-99.
35. Dantas-Torres F, Martins TF, Muñoz-Leal S, Onofrio VC, Barros-Battesti DM. Carrapatos (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) do Brasil: espécies atualizadas checklist e chaves taxonômicas. *Ticks Tick-borne Dis.* 2019;10:101252.
36. Sangioni LA, Horta MC, Vianna MCB, Gennari SM, Soares RM, Galvão MAM, et al. Infecção por rickettsias em animais e endemidade da febre maculosa brasileira. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:265-70.
37. Soares JF, Soares HS, Barbieri AM, Labruna MB. Infecção experimental do carrapato *Amblyomma cajennense*, carrapato de Cayenne, com *Rickettsia rickettsii*, o agente da severidade maculosa das Montanhas Rochosas. *Med Vet Entomol.* 2012;26:139-51.
38. Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Identificação genotípica da rickettsiae e estimativa da divergência de sequência intraespecífica para as porções de dois genes de rickettsia. *J Bacteriol.* 1991;173:1576-89.
39. Mangold AJ, Bargues MD, Mas-Coma S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res.* 1998;84:478-84.
40. Estrada-Peña A, Guglielmonne AA, Mangold AJ. The distribution and ecological preferences of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. *Ann Trop Med Parasitol.* 2004;98:83-92.
41. Beati L, Nava S, Burkman EJ, Barros-Battesti D, Labruna MB, Guglielmonne AA, et al. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), o carrapato de Caiena: filogeografia e evidências de especiação alopatrica. *BMC Evol Biol.* 2013;13:267.
42. Labruna MB. Sobrevida comparativa dos estágios ingurgitados de *Amblyomma cajennense* sensu stricto e *Amblyomma sculptum* em diferentes condições de laboratório. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9:996-1001.
43. Costa FB, Martins TF, Muñoz-Leal S, Serpa MCA, Ogrzewalska M, Luz HR, et al. Registros retrospectivos e novos de carrapatos (Acari: Argasidae, Ixodidae) do estado do Maranhão, uma área de transição Amazônia-Cerrado do Brasil. *Vet Parasitol Reg Stud Rep.* 2020;21:100413.
44. Szabó MP, Castro MB, Ramos HG, Garcia MV, Castagnoli KC, Pinter A, et al. Diversidade de espécies e sazonalidade de carrapatos de vida livre (Acari: Ixodidae) no habitat natural do cervo-do-pantanal (*Blastocerus dichotomus*) no sudeste do Brasil. *Vet Parasitol.* 2007;143:147-54.
45. Queirogas VL, Del Claro K, Nascimento AR, Szabó MP. Capivaras e carrapatos nas áreas urbanas de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil: aspectos ecológicos para a epidemiologia das doenças transmitidas por carrapatos. *Exp Appl Acarol.* 2012;57:75-82.
46. Campbell A, Glines MV. Desenvolvimento, sobrevivência e oviposição do carrapato do coelho, *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard) (Acari: Ixodidae), em temperaturas constantes. *J Parasitol.* 1979;65:777-82.
47. Peavey CA, Lane RS. Estudos de campo e de laboratório sobre o momento da posição do óvulo e da eclosão do carrapato de pernas pretas do oeste, *Ixodes pacificus* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol.* 1996;20:695-711.
48. Chilton NB, Andrews RH, Bull CM. Influência da temperatura e da umidade relativa no sucesso da muda de larvas e ninfas de *Amblyomma limbatum* e *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae). *Int J Parasitol.* 2000;30:973-9.
49. Eisen L, Eisen J, Lane RS. Seasonal activity patterns of *Ixodes pacificus* nymphs in relation to climate conditions (Padrões de atividade sazonal das ninfas de *Ixodes pacificus* em relação às condições climáticas). *Med Vet Entomol.* 2002;16:235-44.
50. Herrmann C, Gern L. Survival of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) under challenging conditions of temperature and humidity is influenced by the infection by *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *J Med Entomol.* 2010;47:1196-204.
51. De Paula LGF, Sampaio ALN, Zeringota V, Bezerra G, Barreto ALG, Santos AA, et al. Dinâmica sazonal de *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae) no bioma Cerrado do centro-oeste do Brasil. *Exp Appl Acarol.* 2021;84:215-25.
52. Soares HS, Barbieri ARM, Martins TF, Minervino AHH, de Lima JTR, Marcelli A, et al. Carrapatos e infecção por rickettsias na fauna silvestre de duas regiões da Amazônia brasileira. *Exp Appl Acarol.* 2015;65:125-40.

53. Costa FB, Costa AP, Moraes-Filho J, Martins TF, Soares HS, Ramirez DG, et al. *Rickettsia amblyommatis* infectando carrapatos e exposição de cães domésticos a *Rickettsia* spp em uma região de transição Amazônia-cerrado do norte leste do Brasil. PLoS One. 2017;8:120179163.
54. Marques EQ, Marimon-Junior BH, Marimon BS, Matricardi EAT, Mews HA, Colli GR. Redefinindo a transição cerrado-amazônia: implicações para a conservação. Biodivers Conserv. 2020;29:1501-17.

Nota do editor

A Springer Nature permanece neutra com relação a reivindicações jurisdicionais em mapas publicados e afiliações institucionais.

Pronto para enviar sua pesquisa? Choose BMC e s e beneficie:

- envio on-line rápido e conveniente
- revisão completa por pesquisadores experientes em sua área
- **publicação rápida após a aceitação**
- suporte para dados de pesquisa, incluindo tipos de dados grandes e complexos
- gold Open Access, que promove uma colaboração mais ampla e um aumento das citações
- visibilidade máxima para sua pesquisa: mais de 100 milhões de visualizações do site por ano

Na BMC, a pesquisa está sempre em

andamento. Saiba mais

biomedcentral.com/submissions

