



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

JÉSSICA CARDOSO PESSOA DE OLIVEIRA

Ectoparasitos de caninos, felinos e equinos e sua relação com patógenos de importância em Saúde Única na Microrregião de Garanhuns, Pernambuco – Brasil

RECIFE-PE

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

JÉSSICA CARDOSO PESSOA DE OLIVEIRA

Ectoparasitos de caninos, felinos e equinos e sua relação com patógenos de importância em Saúde Única na Microrregião de Garanhuns, Pernambuco – Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos
Co-orientadora: Profa. Dra. Gílcia Aparecida de Carvalho

RECIFE-PE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

O48e

Oliveira, Jéssica Cardoso Pessoa de

Ectoparasitos de caninos, felinos e equinos e sua relação com patógenos de importância em Saúde Única na Microrregião de Garanhuns, Pernambuco – Brasil / Jéssica Cardoso Pessoa de Oliveira. - 2020. 96 f. : il.

Orientador: Rafael Antonio do Nascimento Ramos.

Coorientadora: Gilcia Aparecida de Carvalho.

Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2020.

1. Carrapatos. 2. Pulgas. 3. Rickettsia felis. 4. Cão. 5. Gato. I. Ramos, Rafael Antonio do Nascimento, orient. II. Carvalho, Gilcia Aparecida de, coorient. III. Título

CDD 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

Ectoparasitos de caninos, felinos e equinos e sua relação com patógenos de importância em Saúde Única na Microrregião de Garanhuns, Pernambuco – Brasil

Dissertação de Mestrado elaborada por:

Jéssica Cardoso Pessoa de Oliveira

Aprovada em 20/02/2020

Banca Examinadora

Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos (Orientador)
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

Dra. Jaqueline Bianque de Oliveira
Departamento de Biologia – UFRPE

Dr. Leucio Camara Alves
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

A Dilene Cardoso, minha Mami-san,
pelo amor e apoio incondicionais.

AGRADECIMENTOS

Querido Deus, obrigada por não ter soltado a minha mão! Obrigada pela vida, pela capacidade de aprender, pela oportunidade a mim concedida, pelas pessoas que pôs no meu caminho e por me dá a certeza de que o Senhor tem planos pra mim, sonhos infinitamente maiores que os meus...

A minha amada Mãe, Dilene Cardoso, obrigada por tudo! Pela força, pela presença constante, pelo incentivo e principalmente por aliviar o meu cansaço, mesmo quando o seu é maior.

A minha família, pelo suporte, carinho e momentos de alegria compartilhados desde sempre, em especial a Adrielly Cardoso, Arthur Cardoso, Benjamin Dantas, Dallyla Cardoso, Gabriel Pessoa e Maria Emília Pessoa.

Aos meus amigos, Fernanda Santos e Wellington Soares, por me cuidarem à distância, pela amizade a mim ofertada que tantas vezes me resgatou 'daqueles' dias e por me ajudar a entender que crescer é devagar.

Ao meu namorado, Victor Medeiros, por todo o apoio nos 'dias de luta e nos dias de glória', pelos momentos de companheirismo, pela compreensão aos momentos de ausência, por acreditar e torcer por mim rumo às minhas realizações.

Ao meu orientador, Prof.^o Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos, que me acolheu quando mal nos conhecíamos, pela orientação, oportunidades, convívio e aprendizagem ao longo desses anos.

A minha coorientadora, Prof.^a Dra. Gílcia Aparecida de Carvalho, por todas as contribuições feitas para o desenvolvimento desta pesquisa e do mestrado.

A todos do Laboratório de Parasitologia – LAPAR/UAG que contribuíram direta ou indiretamente para este trabalho e/ou para a minha formação. Em especial aos meus amigos Ângela Imperiano, Carlos Ubirajara Filho e Tatiene Móta, pela hospitalidade e cuidado que sempre tiveram comigo e por tornarem os dias mais leves e divertidos dentro e fora do laboratório.

A todos que fazem o Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, pelo amadurecimento acadêmico e conhecimento oferecido durante a realização do curso de mestrado. Em particular a Prof.^a Dra. Tatiana Porto, pela orientação, serviços prestados e solicitude.

Aos demais, que não citei os nomes, mas devo gratidão por ter contribuído de alguma forma tanto na elaboração deste trabalho quanto na minha formação.

MUITO OBRIGADA!

Deus me enviou a terra com uma missão.
Só Ele pode me deter, os homens nunca poderão.
- Bob Marley

RESUMO

Os ectoparasitos são importantes invertebrados que acometem diferentes espécies de animais, incluindo o homem. Dentre os principais representantes destacam-se os carrapatos e pulgas que apresentam ampla distribuição geográfica, causam grandes prejuízos econômicos e atuam como vetores de diferentes agentes patogênicos. Desta forma, o objetivo desse estudo foi pesquisar ectoparasitos de animais domésticos e sua relação com patógenos de importância em saúde única na Microrregião de Garanhuns no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco - Brasil. De janeiro de 2017 a abril de 2019, foram coletados ectoparasitos de animais domésticos (gatos, cães e cavalos), armazenados em frascos contendo etanol a 70% e posteriormente identificados morfolologicamente utilizando chaves dicotômicas. Além disso, a pesquisa de patógenos foi realizada molecularmente por PCR e sequenciamento. Foram incluídos neste estudo 86 animais (gatos = 8; cães = 22; cavalos = 56) infestados com ectoparasitos provenientes de áreas urbanas (n = 37) e rurais (n = 49). Foram identificadas duas espécies de pulgas (*Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*) e cinco espécies de carrapatos (*Amblyomma ovale*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* s.l.). Um total de 401 espécimes (344 carrapatos e 57 pulgas; $\chi^2 = 206,038$; p = 0,0000) foram coletados, sendo 10 (2.49%), 96 (23.94%) e 295 (73.57%) de gatos, cães e cavalos, respectivamente. As sequências derivadas dos amplicons obtidos na PCR para *Rickettsia* spp. mostrou identidade > 99% com sequências de *Rickettsia felis* disponíveis no GenBank. O DNA de *R. felis* foi detectado em *C. felis*, *D. nitens* e *R. sanguineus* s.l.. As espécies de pulgas e carrapatos identificadas apresentam capacidade vetorial para transmissão de patógenos zoonóticos, o que reforça a importância de estudos sobre a ectoparasitofauna. Portanto, medidas preventivas para reduzir o risco de exposição dos animais domésticos e humanos a esses ectoparasitos e, conseqüentemente, aos patógenos por eles transmitidos, devem ser implementadas na área de estudo.

Palavras-chave: Carrapatos; Pulgas; *Rickettsia felis*; Cão; Gato; Cavalo.

ABSTRACT

Ectoparasites are important invertebrates that affect different animal species, including humans. Ticks and fleas, the main representants of ectoparasites, have a wide geographical distribution, and cause relevant economic and sanitary losses. In addition, may act as vectors of pathogens of medical and veterinary concern. The aim of this study was to evaluate the diversity of ectoparasites of domestic animals (dogs, cats and horses) and their relationship with pathogens of importance in public health in the Microregion of Garanhuns, South Agreste, State of Pernambuco - Brazil. From January 2017 to April 2019, ectoparasites were collected from animals (cats, dogs and horses), stored in plastic vials containing 70% ethanol and then morphologically identified by using dichotomous keys. In addition, the search for pathogens was performed molecularly by PCR and sequencing. In this study were included 86 domestic animals (cats = 8; dogs = 22; horses = 56) infested with ectoparasites from urban (n = 37) and rural (n = 49) areas. Two species of fleas (*Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis*) and five tick species (*Amblyomma ovale*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Rhipicephalus sanguineus s.l.*) were identified. A total of 401 specimens (344 ticks and 57 fleas; $\chi^2 = 206.038$; $p = 0.0000$) were collected, being 10 (2.49%), 96 (23.95%) and 295 (73.57%) obtained from cats, dogs and horses, respectively. The sequences derived from the amplicons obtained in PCR to *Rickettsia* spp. showed identity > 99% with *Rickettsia felis* sequences available in GenBank. DNA of *R. felis* was detected in *C. felis*, *D. nitens* and *R. sanguineus s.l.*. Fleas and ticks species herein reported present vectorial ability to transmit zoonotic pathogens, which reinforce the importance of the studies of ectofauna. Therefore, preventive measures should be implemented to reduce the infestation by ectoparasites in animals and humans, and decrease the risk of infection by the pathogens for them transmitted.

Key-words: Ticks; Fleas; *Rickettsia felis*; Dog; Cat; Horse.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC	Centers for Disease Control and Prevention
DL	Doença de Lyme
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EM	Eritrema Migratório
FMB	Febre Maculosa Brasileira
PCR	Polymerase Chain Reaction
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Fêmea de *Nuttalliella namaqua*. A) Visão dorsal, evidenciando o pseudoescudo. B) Fêmea ingurgitada fixada a um lagarto. Fonte: Mans *et al.* (2011).19

Figura 2 - Fêmea de *Argas miniatus*. A) Visão dorsal. B) Visão ventral. Fonte: Museu do Carrapato (Foto: Jaqueline Matias. Embrapa Gado de Corte. ©Copyright 2008-2012.).18

Figura 3 - Macho de *Amblyomma ovale*. A) Visão dorsal. B) Visão ventral. Fonte: Ogrzewalska (2009).18

Figura 4 - A) Sulco anal distinto anterior ao ânus (Prostriata). B) Sulco anal posterior ao ânus (Metastriata). Fonte: Bristol University Tick ID – Online Photographic Guide to Ticks (Bristol University Tick ID. ©Copyright 2016-2019).19

Figura 5 - Representantes dos cinco gêneros de ixodídeos que ocorrem no Brasil. A) *Amblyomma cajennense*. B) *Dermacentor nitens*. C) *Haemaphysalis juxtakochi*. D) *Ixodes loricatus*. E) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Fonte: Ogrzewalska (2009) (Fotos A e C) / Museu do Carrapato (Fotos B, D e E - Jaqueline Matias. Embrapa Gado de Corte. ©Copyright 2008-2012.).22

Figura 6 - Ciclo biológico do carrapato. Fonte: Taylor *et al.* (2017).23

Figura 7 - Representantes das cinco famílias de sifonápteros de importância médico-veterinária que ocorrem no Brasil. A) *Leptopsylla segnis*. B) *Ctenocephalides felis*. C) *Polygenis (Polygenis) acodontis*. D) *Craneopsylla minerva*. E) *Tunga penetrans*. Fonte: Biblioteca de Imagens de Pragas e Doenças (Fotos A e B) / López Berrizbeitia *et al.* (2017) (Foto C e D) / Whiting *et al.* (2008) (Foto E).28

Figura 8 - Ciclo biológico da pulga. Adaptado de: Taylor *et al.* (2017).29

CAPÍTULO 1

Figure 1 - Study area: Micror region of Garanhuns, state of Pernambuco, Northeastern Brazil.65

Figure 2 - Distribution of ectoparasites collected from cats, dogs and horses in the study area.69

CAPÍTULO 2

Figure 1 - Study area – Microrregion of Garanhuns, state of Pernambuco, Northeastern Brazil.....83

LISTA DE QUADROS

REVISÃO DE LITERATURA

Quadro 1 - Gêneros e espécies de ixodídeos que ocorrem no Brasil.	20
Quadro 2 - Gêneros e espécies de sifonápteros que ocorrem no Brasil.	27
Quadro 3 - Grupos de <i>Rickettsia</i> e espécies representantes.	32
Quadro 4 - Grupos de <i>Borrelia</i> e espécies representantes.....	35
Quadro 5 - Grupos de <i>Yersinia</i> e espécies representantes.....	38

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Table 1. Frequency and mean intensity of infestation by ectoparasite species on animals assessed.....	67
Table 2. Host, area and ectoparasites (stage and gender) assessed in the study. ...	68

CAPÍTULO 2

Table 1. Primers used for amplifying selected tick-borne pathogens.	84
Table 2. Ectoparasites (numbers) collected from domestic animals and positivity for pathogen tested.....	86

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1. ECTOPARASITOS.....	17
2.1.1. Carrapatos.....	17
2.1.1.1. Taxonomia e morfologia dos ixodídeos	19
2.1.1.2. Ciclo biológico dos ixodídeos	23
2.1.1.3. Distribuição geográfica dos ixodídeos	24
2.1.1.4. Importância dos ixodídeos em saúde única	25
2.1.2. Pulgas	26
2.1.2.1. Taxonomia e morfologia dos sifonápteros.....	26
2.1.2.2. Ciclo biológico dos sifonápteros	29
2.1.2.3. Distribuição geográfica dos sifonápteros	30
2.1.2.4. Importância dos sifonápteros em saúde única	31
2.2. PATÓGENOS DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE ÚNICA TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS E PULGAS.....	31
2.2.1. Gênero <i>Rickettsia</i>	31
2.2.1.1. Aspectos epidemiológicos da Febre Maculosa Brasileira.....	32
2.2.1.2. Vetores de <i>Rickettsia</i> spp.....	34
2.2.2. Gênero <i>Borrelia</i>	35
2.2.2.1. Aspectos epidemiológicos da Síndrome Baggio-Yoshinari	35
2.2.2.2. Vetores de <i>Borrelia</i> spp.....	37
2.2.3. Gênero <i>Yersinia</i>	37
2.2.3.1. Aspectos epidemiológicos da Peste	38
2.2.3.2. Vetores de <i>Yersinia pestis</i>	40
3. REFERÊNCIAS	41
4. OBJETIVOS	60
4.1. OBJETIVO GERAL	60
4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	60
5. CAPÍTULO I.....	61
ABSTRACT	62
RESUMO	62
5.1. INTRODUCTION.....	63

5.2.	MATERIAL AND METHODS.....	65
5.3.	RESULTS	66
5.4.	DISCUSSION.....	69
5.5.	CONCLUSION	71
5.6.	ACKNOWLEDGEMENTS	71
5.7.	REFERENCES	71
6.	CAPÍTULO II.....	78
	ABSTRACT	79
	RESUMO	79
6.1.	INTRODUCTION.....	80
6.2.	MATERIAL AND METHODS.....	82
6.2.1.	<i>Study area and ethical aspects</i>	82
6.2.2.	<i>Sampling and morphological identification</i>	83
6.2.3.	<i>DNA extraction, PCR amplification and Sequencing</i>	84
6.2.4.	<i>Data analysis</i>	85
6.3.	RESULTS	85
6.4.	DISCUSSION.....	87
6.5.	ACKNOWLEDGEMENTS	88
6.6.	REFERENCES	88
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	95

1. INTRODUÇÃO

Os ectoparasitos são invertebrados que se localizam na parte externa do corpo dos seus hospedeiros e são capazes de parasitar a maioria dos animais vertebrados, inclusive os seres humanos (MENCKE, 2013). Podem se alimentar de pele, pêlo, linfa e sangue. Dentre os principais artrópodes espoliadores de sangue destacam-se os carrapatos e pulgas, que apresentam ampla distribuição geográfica, causam grandes prejuízos econômicos na medicina veterinária e são responsáveis por transmitir uma ampla diversidade de patógenos como bactérias, protozoários, vírus, cestódeos e nematódeos (KEWISH *et al.*, 2004; VOBIS; D'HAESE; MEHLHORN, 2005; BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006; DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2016).

Os carrapatos são representados por cerca de 900 espécies divididas em três famílias – Argasidae, Nuttallielidae e Ixodidae –, no entanto a maioria das espécies (~700) pertence à família Ixodidae (GUGLIELMONE *et al.*, 2010; BURGER *et al.*, 2014). Os ixodídeos, comumente conhecidos como carrapatos duros são caracterizados por um corpo revestido com exoesqueleto quitinoso resistente e um escudo fortemente esclerotizado (BOWMAN e NUTTALL, 2009). O ciclo biológico dos representantes desta família apresenta quatro estágios de desenvolvimento, cada um requer vários dias de fixação no hospedeiro e longos repastos sanguíneos, atuando como veiculadores de agentes patogênicos para os animais (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001).

As pulgas são um dos mais importantes ectoparasitos disseminados em todo o Mundo com cerca de 3.000 espécies registradas, e com cinco famílias de importância médico-veterinária no Brasil: Ctenophthalmidae, Pulicidae, Rhopalopsyllidae, Stephanocircidae e Tungidae (LINARDI e GUIMARÃES, 2000; LINARDI, 2017). Dentre os principais representantes destacam-se as espécies *Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*, que parasitam, sobretudo cães e gatos, e podem atuar como vetores de diversos agentes patogênicos (LINARDI e SANTOS, 2012). Além destas, *Xenopsylla cheopis* é

considerada a principal responsável pela circulação de *Yersinia pestis* em roedores (DOBLER e PFEFFER, 2011).

Dentre os patógenos de importância em Saúde Única veiculados estritamente por carrapatos e pulgas destacam-se as bactérias *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. e *Y. pestis*, agentes etiológicos da Febre Maculosa, Síndrome Baggio-Yoshinari e Peste, respectivamente (NELSON, 2015; CHOMEL, 2015; BUTLER, 2013). Aliado a isto, nos últimos anos o número de animais domésticos tem crescido bastante e o convívio destes com os humanos se torna cada vez mais próximo (DIGARD, 2012). Sendo assim, esse convívio pode permitir a interação entre o homem, animais e vetores, e consequentemente os patógenos por eles veiculados.

Diante do exposto, fica claro a importância de se conhecer a fauna de ectoparasitos dos animais domésticos e sua relação com patógenos com potencial zoonótico, sobretudo em áreas como a Microrregião de Garanhuns no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, onde as condições bioclimáticas são favoráveis à disseminação de inúmeros vetores como carrapatos e pulgas.

O objetivo desse estudo foi estudar os ectoparasitos de cães, gatos e cavalos e sua relação com patógenos de importância em Saúde Única na região supracitada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ECTOPARASITOS

Os ectoparasitos são importantes invertebrados que acometem diferentes espécies de animais incluindo o homem (MENCKE, 2013). Dentre os principais representantes destacam-se os hematófagos, como por exemplo, os carrapatos e pulgas que causam grandes prejuízos econômicos na medicina veterinária, além de serem importantes vetores de agentes patogênicos como bactérias, protozoários, vírus e nematódeos (KEWISH *et al.*, 2004; VOBIS; D'HAESE; MEHLHORN, 2005; BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006; DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2016).

2.1.1. Carrapatos

Os carrapatos são ectoparasitos hematófagos obrigatórios, que parasitam uma ampla variedade de hospedeiros vertebrados como anfíbios, répteis, aves, mamíferos e ocasionalmente o homem (ARAGÃO, 1936; ESTRADA-PENÃ *et al.*, 2004; CORNEJO *et al.*, 2006; NAVA e GUGLIELMONE, 2013; SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013; MARTINS *et al.*, 2015).

Pertencentes ao Filo Arthropoda, Subfilo Chelicerata, Classe Arachnida, Subclasse Acari, Superordem Parasitiformes, Ordem Ixodida e Superfamília Ixodoidea (RUGGIERO *et al.*, 2015; KOLLER e MATIAS, 2016) são representados por mais de 900 espécies (GUGLIELMONE *et al.*, 2010; BURGER *et al.*, 2014) agrupadas em três famílias: Argasidae, Ixodidae e Nuttallielidae (GUGLIELMONE *et al.*, 2010; KOLLER e MATIAS, 2016).

A família Argasidae tem aproximadamente 200 espécies descritas, sendo conhecidos popularmente por carrapatos moles (Figura 1), pois não apresentam escudo dorsal em nenhuma de suas fases de vida e possuem o aparelho bucal situado na região ventral do corpo, no interior da camerostoma (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2010; BARROS-BATTESTI *et al.*, 2013). Os

carrapatos argasídeos apresentam dimorfismo sexual discreto. Espécies dos gêneros *Argas* e *Ornithodoros* atuam como vetores de agentes patogênicos, com destaque para *Borrelia* spp. (SOARES *et al.*, 2000; SILVA *et al.*, 2006).



Figura 1 – Fêmea de *Argas miniatus*. A) Visão dorsal. B) Visão ventral. Fonte: Museu do Carrapato (Foto: Jaqueline Matias. Embrapa Gado de Corte. ©Copyright 2008-2012.).

Por outro lado, a família Ixodidae que abrange pouco mais de 700 espécies, também conhecidos como carrapatos duros (Figura 2), devido à presença de escudo dorsal e peças bucais que se projetam para frente, o que os torna facilmente diferenciados dos argasídeos (BARKER e MURRELL, 2004; SILVA *et al.*, 2006; GUGLIELMONE *et al.*, 2010). É a família que tem maior importância médico-veterinária devido à quantidade de espécies envolvidas na transmissão de agentes patogênicos aos vertebrados, incluindo o homem (BARKER e MURRELL, 2004; SILVA, *et al.*, 2006; PASCOAL *et al.*, 2013).

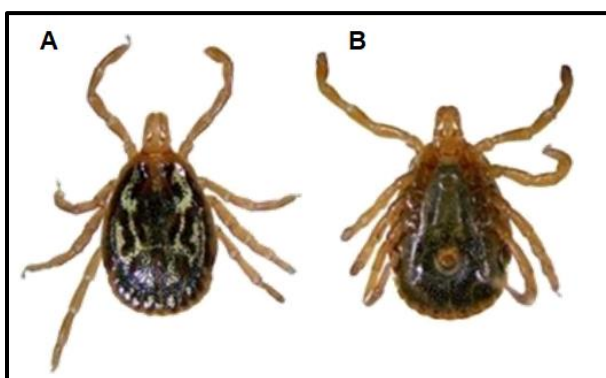


Figura 2 – Macho de *Amblyomma ovale*. A) Visão dorsal. B) Visão ventral. Fonte: Ogrzewalska (2009).

Por fim, a família Nuttallielidae tem um único representante registrado na África do Sul, a espécie *Nuttalliella namaqua* (Figura 3), que apresenta

características intermediárias em relação às demais famílias, podendo ser distinguida por um pseudoescudo com a parte mais elevada rígida e com articulações nas pernas que lembram círculos encaixados entre si (GUGLIELMONE *et al.*, 2010). Com base na biologia desta espécie, acredita-se que sua importância médico-veterinária não está bem esclarecida (KLOMPEN, 2005; MANS *et al.*, 2011).

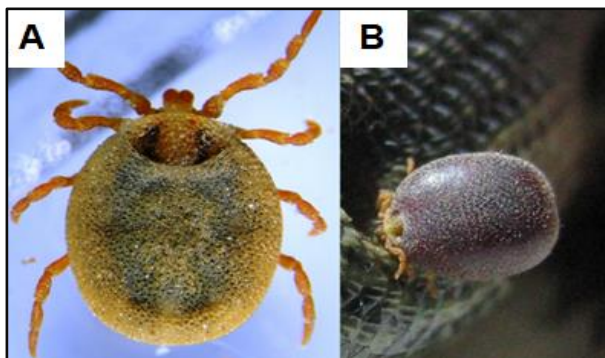


Figura 3 – Fêmea de *Nuttalliella namaqua*. A) Visão dorsal, evidenciando o pseudoescudo. B) Fêmea ingurgitada fixada a um lagarto. Fonte: Mans *et al.* (2011).

2.1.1.1. Taxonomia e morfologia dos ixodídeos

A família Ixodidae está subdividida em dois grupos (Figura 4), Prostriata (apresentam sulco anal bem definido anterior ao ânus) e Metastriata (apresentam o sulco anal bem definido ou indistinto, rodeando posteriormente o ânus) (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001; BARKER e MURRELL, 2004).

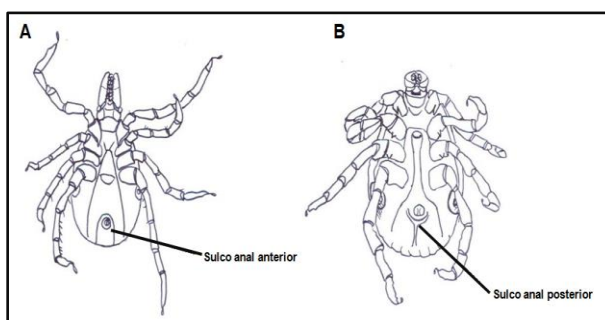


Figura 1 – A) Sulco anal distinto anterior ao ânus (Prostriata). B) Sulco anal posterior ao ânus (Metastriata). Fonte: Bristol University Tick ID – Online Photographic Guide to Ticks (Bristol University Tick ID. ©Copyright 2016-2019).

O grupo Prostriata compreende a subfamília Ixodinae, sendo o gênero *Ixodes* seu único representante (BARKER e MURRELL, 2004). Já o grupo

Metastriata engloba as seguintes subfamílias, com seus respectivos gêneros: Amblyomminae (*Amblyomma*), Haemaphysalinae (*Haemaphysalis*), Hyalomminae (*Hyalomma*) e Rhipicephalinae (*Anomalohimalaya*, *Compluriscutula*, *Cornupalpatum*, *Cosmiomma*, *Dermacentor*, *Margaropus*, *Nosomma*, *Rhipicentor* e *Rhipicephalus*) (BARKER e MURRELL, 2004; GUGLIELMONE *et al.*, 2010).

Cerca de 46 espécies de ixodídeos ocorrem no Brasil (Quadro 1), correspondendo a cinco gêneros: *Amblyomma* (27 espécies), *Dermacentor* (1 espécie), *Haemaphysalis* (3 espécies), *Ixodes* (8 espécies) e *Rhipicephalus* (2 espécies) (DANTAS-TORRES; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2009; MARTINS *et al.*, 2010; ZIMMERMANN *et al.*, 2018).

Quadro 1 - Gêneros e espécies de ixodídeos que ocorrem no Brasil.

Gênero	Espécies
<i>Amblyomma</i>	<i>A. aureolatum</i> , <i>A. auricularium</i> , <i>A. brasiliense</i> , <i>A. cajennense sensu lato</i> (<i>A. cajennense sensu stricto</i> e <i>A. sculptum</i>), <i>A. calcaratum</i> , <i>A. coelebs</i> , <i>A. dissimile</i> , <i>A. dubitatum</i> , <i>A. fuscum</i> , <i>A. humerale</i> , <i>A. incisum</i> , <i>A. latepunctatum</i> , <i>A. longirostre</i> , <i>A. naponense</i> , <i>A. nodosum</i> , <i>A. oblongoguttatum</i> , <i>A. ovale</i> , <i>A. pacae</i> , <i>A. parkeri</i> , <i>A. parvum</i> , <i>A. pseudoconcolor</i> , <i>A. romitii</i> , <i>A. rotundatum</i> , <i>A. sculpturatum</i> , <i>A. tigrinum</i> , <i>A. triste</i> e <i>A. varium</i>
<i>Dermacentor</i>	<i>D. nitens</i>
<i>Haemaphysalis</i>	<i>H. cinnabarina</i> , <i>H. leporipalustris</i> e <i>H. juxtakochi</i>
<i>Ixodes</i>	<i>I. amarali</i> , <i>I. aragaoi</i> , <i>I. auritulus</i> , <i>I. fuscipes</i> , <i>I. loricatus</i> , <i>I. luciae</i> , <i>I. paranaensis</i> e <i>I. schulzei</i>
<i>Rhipicephalus</i>	<i>R. (Boophilus) microplus</i> e <i>R. sanguineus sensu lato</i>

Fonte: Dantas-Torres; Onofrio; Barros-Battesti (2009); Martins *et al.* (2010); Zimmermann *et al.* (2018).

Esses carrapatos são caracterizados por apresentarem um escudo fortemente esclerotizado em todas as fases de desenvolvimento; nas larvas, ninfas e fêmeas, esta estrutura ocupa um terço do dorso, enquanto que nos machos cobre inteiramente seu corpo (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001). De modo geral, possuem corpo achatado dorsoventralmente, contorno oval ou elíptico e a superfície dorsal ligeiramente convexa, são revestidos por um tegumento coriáceo e distensível, aumentando consideravelmente de volume, durante o repasto sanguíneo (REY, 2008).

Em espécies de *Amblyomma* (Figura 5), os palpos e o hipostômio são longos, especialmente o segundo artigo dos palpos e possuem olhos predominantemente convexos ou eventualmente achatados. O escudo é, geralmente, ornamentado, a gnatossoma apresenta formas variadas, de quadrangular a hexagonal, as placas adanais nos machos são ausentes e a placa espiracular tem a forma triangular ou de vírgula (ONOFRIO *et al.*, 2006 ; MARTINS *et al.*, 2010). Vale ressaltar que estudos filogenéticos designaram *Amblyomma cajennense* como um complexo de seis espécies, sendo elas *A. cajennense sensu stricto* (s.s.), *A. mixtum*, *A. sculptum*, *A. interandinum*, *A. tonelliae* e *A. patinoi* (NAVA *et al.*, 2014), das quais apenas duas ocorrem no Brasil: *A. cajennense sensu stricto* (s.s.) e *A. sculptum* (MARTINS *et al.*, 2016).

No gênero *Dermacentor* (Figura 5), os machos de todas as espécies apresentam coxas aumentando progressivamente de tamanho a contar do par anterior para o par terminal. Os escudos são ornamentados, com exceção para a espécie *D. nitens*. A base dorsal do capítulo é quadrangular, a denticção do hipostômio varia de 3/3 a 4/4 e existe a presença de olhos e festões variando de sete a onze e a placa espiracular tem a forma de uma dial (BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006). Após estudos filogenéticos as espécies antes incluídas no gênero *Anocentor* foram transferidas para este gênero (BARKER e MURRELL, 2004).

Os carrapatos do gênero *Haemaphysalis* (Figura 5), caracterizam-se pela ausência de olhos e de ornamentação nos escudos; o hipostômio é curto e espatulado, apresentando denticção variável de 3/3 a 6/6. Os palpos são curtos e com aspecto cônico exibindo uma projeção lateral no fêmur, a base dorsal do capítulo tem forma retangular, sendo mais larga do que longa e as placas espiraculares variam entre os sexos, assumindo a forma oval nas fêmeas e de vírgula nos machos (BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006).

Ixodes (Figura 5) apresentam um sulco anal anterior ao ânus que constitui a principal característica deste gênero, não possuem olhos, festões e escudo ornamentado. As placas espiraculares apresentam formato oval ou circular, e há a presença de placas ventrais nos machos e o hipostômio pode apresentar denticção semelhante à da fêmea. Em função das fêmeas estarem

alimentadas pode ou não haver mudança na coloração do aloescudo (creme ou amarelo claro quando não ingurgitadas, variando tons azulados ou de cinza depois de ingurgitadas) (BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006).

Em *Rhipicephalus* (Figura 5), os machos possuem duas ou quatro placas adanais e, em alguns casos, um apêndice caudal. Possuem escudo sem ornamentação, possuem olhos, o gnatosoma tem forma hexagonal e o rostro é curto. A coloração em todas as espécies varia em tons de marrom (BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006). Baseados em conhecimentos relacionados à taxonomia de ixodídeos, o gênero *Boophilus* teve sua posição taxonômica anterior de gênero mudada para subgênero de *Rhipicephalus* (BARKER e MURRELL, 2004). Vale salientar que o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* é considerado um complexo que inclui 17 espécies, a saber: *R. aurantiacus*, *R. bergeoni*, *R. boueti*, *R. camicasi*, *R. guilhoni*, *R. leporis*, *R. moucheti*, *R. pumilio*, *R. pusillus*, *R. ramachandrai*, *R. rossicus*, *R. sanguineus sensu strictu* (s.s.), *R. schulzei*, *R. sulcatus*, *R. tetracornus*, *R. turanicus* e *R. ziemanni* (DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2015). Deve ser enfatizado que ainda não existe um consenso entre as espécies do complexo com relação às suas similaridades morfológicas, tornando difícil sua identificação (GRAY *et al.*, 2013). Além disso, existem discussões sobre a existência de diferentes linhagens (temperada e tropical) de *R. sanguineus sensu lato* (DANTAS-TORRES *et al.*, 2018). É importante destacar que a existência de diferentes linhagens tem implicações do ponto de vista da competência vetorial.

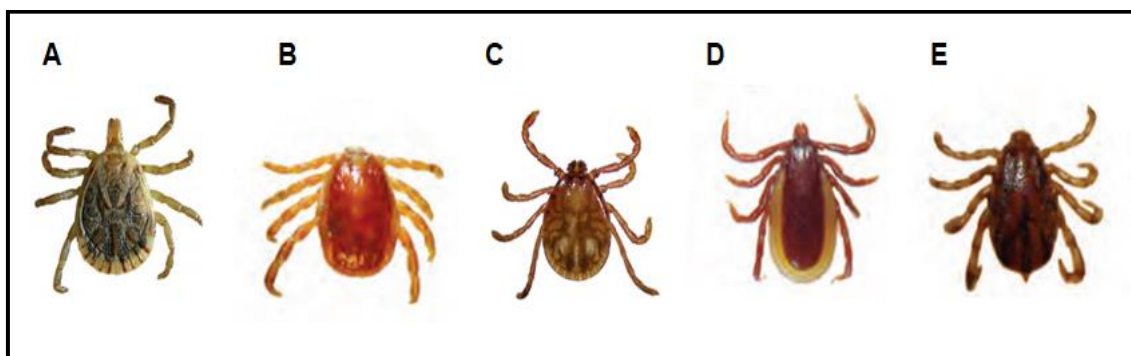


Figura 2 - Representantes dos cinco gêneros de ixodídeos que ocorrem no Brasil. A) *Amblyomma cajennense*. B) *Dermacentor nitens*. C) *Haemaphysalis juxtakochi*. D) *Ixodes loricatus*. E) *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. Fonte: Ogrzewalska (2009) (Fotos A e C) / Museu do Carrapato (Fotos B, D e E - Jaqueline Matias. Embrapa Gado de Corte. ©Copyright 2008-2012.).

2.1.1.2. Ciclo biológico dos ixodídeos

Os carrapatos, enquanto ectoparasitos obrigatórios necessitam de alimentação sanguínea para completar seu desenvolvimento e possuem um ciclo biológico (Figura 6) complexo apresentando uma fase parasitária e outra de vida livre (NAVA e GUGLIELMONE, 2013).

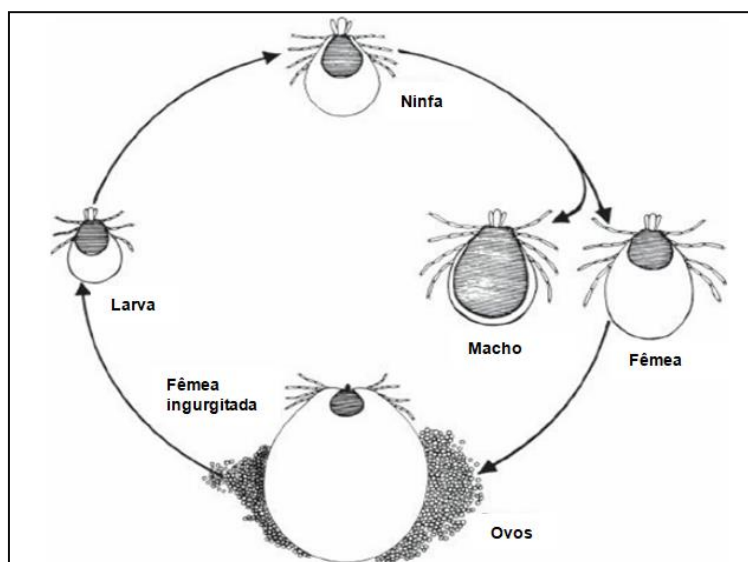


Figura 3 - Ciclo biológico do carrapato. Fonte: Taylor et al. (2017).

O ciclo biológico dos ixodídeos consiste de quatro estágios, a saber: ovo, larva, ninfa e adulto, sendo que nos três últimos estágios o ectoparasito faz longos repastos sanguíneos (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001). No estágio de larva hexápode, a mesma não apresenta estigmas respiratórios e após o primeiro repasto sanguíneo sofre a ecdise. O estágio de ninfa octópode com espiráculos semelhantes aos dos adultos, porém com placas espiraculares, após alimentação, sofre ecdise que leva ao estágio de adulto octópode (SERRA-FREIRE, 2011; TAYLOR et al., 2017).

O ciclo de vida dos ixodídeos depende do número de hospedeiros que o carrapato parasita durante seu desenvolvimento, e de acordo com a espécie, pode envolver um hospedeiro (ciclo monoxeno) – *R. (Boophilus) microplus* e *D. nitens* –, dois hospedeiros (ciclo heteroxeno) – espécies de *Ixodes* e *Hyalomma* – ou três hospedeiros (ciclo heteroxeno) – *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis* e *R. sanguineus* s.l. (SERRA-FREIRE, 2011; NAVA e

GUGLIELMONE, 2013, TAYLOR *et al.*, 2017). Esse comportamento faz dos carrapatos heteroxenos os de maior importância na transmissão de patógenos, pelo fato de parasitarem diferentes vertebrados, facilitando a interação entre patógenos e hospedeiros (DANTAS-TORRES, 2008).

Durante a fase de vida livre ou ambiental esses artrópodes sofrem influências externas que regulam o seu desenvolvimento. A resposta à adversidade do ambiente pode ser apresentada como um estado de supressão metabólica conhecido como diapausa, um conjunto de modificações comportamentais pré-adaptativas que precedem condições ambientais adversas (BRADSHAW e HOLZAPFEL, 2007). Fatores como o fotoperíodo, a temperatura e a umidade são essenciais para a regulação (indução, manutenção e o término) da diapausa dos artrópodes (DELINGER, 2002). Dentre estes o fotoperíodo tem sido considerado o sinal mais importante no controle da diapausa nos carrapatos (BELOZEROV, 1999).

Os carrapatos apresentam a maior variedade de tipos de diapausa (obrigatória, facultativa, comportamental e morfogenética). A diapausa comportamental é caracterizada pela inibição da procura por hospedeiro em larvas, ninfas e adultos em pós-ecdise, ou pela parada do processo de ingurgitamento em carrapatos durante o parasitismo (BELOZEROV, 1999). Assim, durante a diapausa comportamental os carrapatos passam por uma perda temporária da agressividade, tendo como consequência o prolongamento do período sem alimentação (BELOZEROV, 1999). Este fenômeno pode ser observado em larvas (LABRUNA *et al.*, 2003), ninfas (BELOZEROV, 1982;1999) e adultos (BELOZEROV, 1982) do gênero *Amblyomma*, embora outros gêneros de ixodídeos também apresentem diapausa comportamental.

2.1.1.3. Distribuição geográfica dos ixodídeos

Estes artrópodes apresentam ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todos os continentes (BARROS-BATTESTI *et al.*, 2006; ANDREOTTI; KOLLER; GARCIA, 2016). São mais frequentes ao longo da faixa tropical

(ANDREOTTI; KOLLER; GARCIA, 2016) e possuem grande capacidade de adaptação a condições climáticas extremas (WANG e NUTALL, 1999). Cada espécie tem condições ambientais e biótopos que determinam a sua distribuição geográfica e, conseqüentemente, as áreas de risco para transmissão de patógenos (PAROLA e RAOULT, 2001). Atualmente, as alterações climáticas têm propiciado um aumento na dispersão destes vetores em áreas antes consideradas indenes (GAGE *et al.*, 2008) .

São 46 espécies de Ixodidae registradas no Brasil (DANTAS-TORRES; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2009; MARTINS *et al.*, 2010; ZIMMERMANN *et al.*, 2018). Esta ampla diversidade de ixodídeos é decorrente da paisagem composta por diversos biomas e domínios morfoclimáticos situado na faixa tropical (SZABÓ, PINTER e LABRUNA, 2013).

2.1.1.4. Importância dos ixodídeos em saúde única

Os carrapatos são os ectoparasitos de maior importância para a transmissão de agentes patogênicos para humanos, após os culicídeos, e em primeiro lugar na transmissão de patógenos para os animais (LIU e BONNET, 2014).

A família Ixodidae apresenta maior importância médica, por seu impacto na saúde humana e animal e por sua implicação socioeconômica, especialmente nos países do hemisfério Sul (MASSARD e FONSECA, 2004). Em geral, cada gênero da família é considerado responsável pela transmissão de um bioagente diferente (*Amblyomma* – Rickettsias; *Rhipicephalus* – *Ehrlichia*; *Dermacentor* – *Babesia*), podendo transmitir mais de uma espécie de patógeno (MASSARD e FONSECA, 2004). Estudos recentes estimam que o parasitismo por *R. (Boophilus) microplus* provoca perdas potenciais na pecuária em cerca de US\$ 3,24 bilhões no Brasil por ano (GRISI *et al.*, 2014).

Os carrapatos desempenham um importante papel como vetores e podem transmitir agentes infecciosos à sua progênie, por transmissão transovariana. Pode ocorrer também transmissão transestadial e intraestadial (BURGDORFER e BRINTON, 1975).

2.1.2. Pulgas

As pulgas são insetos ápteros de corpo achatado lateralmente, com cerdas voltadas para trás, dotados de três pares de patas e de coloração castanha (LINARDI, 2011a). São responsáveis pela transmissão de vários patógenos para os animais, incluindo o homem (LINARDI, 2011a).

Esses ectoparasitos hematófagos são encontrados parasitando animais endotérmicos, aves (6%) e mamíferos (94%) (LINARDI, 2011a; ACOSTA-GUTIÉRREZ, 2014; VILLALOBOS-CUEVAS *et al.*, 2016). Dentre os mamíferos, os roedores são os hospedeiros preferenciais, dado o número de espécies parasitadas, e entre os primatas apenas o homem é considerado como hospedeiro habitual (ACOSTA-GUTIÉRREZ, 2014; LINARDI, 2017).

Pertencentes ao Filo Arthropoda, Subfilo Hexapoda, Classe Insecta, Subclasse Pterygota, Superordem Holometabola e Ordem Siphonaptera RUGGIERO *et al.*, 2015) – são descritas cerca de 3.000 espécies, agrupadas em 16 famílias (Ceratophyllidae, Chimaeropsyllidae, Coptopsyllidae, Ctenophthalmidae, Hystrichopsyllidae, Ischnopsyllidae, Leptopsyllidae, Lycopsyllidae, Macropsyllidae, Pulicidae, Pygiopsyllidae, Rhopalopsyllidae, Stephanocircidae, Stivaliidae, Tungidae, Vermipsyllidae (LINARDI e GUIMARÃES, 2000; LINARDI, 2017).

2.1.2.1. Taxonomia e morfologia dos sifonápteros

Os sifonápteros são os únicos representantes da classe Insecta que tem o corpo achatado lateralmente. São desprovidos de asas e de coloração castanha. Apresentam ocelos e ctenídios robustos, esclerosados e dirigidos para trás, próprios à fixação e locomoção entre os pêlos dos hospedeiros. O terceiro par de pernas é bem mais largo tendo a coxa mais desenvolvida e com uma almofada de resilina, tratando de uma adaptação para o salto (LINARDI, 2011a; ACOSTA-GUTIÉRREZ, 2014; TAYLOR *et al.*, 2017).

A sifonapterofauna do Brasil é composta por 63 espécies (Quadro 2), incluídas em 21 gêneros (LINARDI, 2017). As espécies de maior importância

médico-veterinária estão inseridas em cinco famílias: Ctenophthalmidae (*Adoratopsylla antiquorum* e *Leptopsylla segnis*), Pulicidae (*Pulex irritans*, *Xenopsylla cheopis*, *Ctenocephalides felis felis*, *Ctenocephalides canis*), Rhopalopsyllidae (*Polygenis bohlsi jordani*, *Polygenis tripus*, *Polygenis roberti roberti* e *Polygenis rimatus*), Stephanocircidae (*Craneopsylla minerva minerva*) e Tungidae (*Tunga penetrans*) (LINARDI e GUIMARÃES, 2000; LINARDI, 2017).

Quadro 2 - Gêneros e espécies de sifonápteros que ocorrem no Brasil.

Gênero	Espécies
<i>Adoratopsylla</i>	<i>A. (A.) antiquorum antiquorum</i> , <i>A. (A.) antiquorum ronai</i> , <i>A. (A.) bisetosa</i> , <i>A. (Tritopsylla) intermedia intermedia</i> e <i>A. (T.) sinuata</i>
<i>Craneopsylla</i>	<i>C. minerva minerva</i>
<i>Ctenocephalides</i>	<i>C. canis</i> e <i>C. felis felis</i>
<i>Gephyropsylla</i>	<i>G. klagesi</i> , <i>G. klagesi klagesi</i> e <i>G. klagesi samuelis</i>
<i>Hechtiella</i>	<i>H. lakoi</i> , <i>H. lopesi</i> e <i>H. nitidus</i>
<i>Hectopsylla</i>	<i>H. psittaci</i> e <i>H. pulex</i>
<i>Hormopsylla</i>	<i>H. fosteri</i>
<i>Leptopsylla</i>	<i>L. segnis</i>
<i>Myodopsylla</i>	<i>M. wolffsohni wolffsohni</i>
<i>Nosopsyllus</i>	<i>N. fasciatus</i>
<i>Neotropsylla</i>	<i>N. guimaraesi</i>
<i>Polygenis</i>	<i>P. (Neopolygenis) atopus</i> , <i>P. (N.) dentei</i> , <i>P. (N.) frustratus</i> , <i>P. (N.) pradoi</i> , <i>P. (N.) pygaerus</i> , <i>P. (P.) acodontis</i> , <i>P. (P.) adelus</i> , <i>P. (P.) axius axius</i> , <i>P. (P.) axius pessoai</i> , <i>P. (P.) axius proximus</i> , <i>P. (P.) bohlsi bohlsi</i> , <i>P. (P.) bohlsi jordani</i> , <i>P. (P.) occidentales occidentales</i> , <i>P. (P.) occidentalis steganus</i> , <i>P. (P.) rimatus</i> , <i>P. (P.) roberti beebei</i> , <i>P. (P.) roberti roberti</i> , <i>P. (P.) tripopsis</i> e <i>P. (P.) tripus</i>
<i>Ptilopsylla</i>	<i>P. leptina</i>
<i>Pulex</i>	<i>P. irritans</i>
<i>Rhopalopsyllus</i>	<i>R. australis australis</i> , <i>R. australis tamoyus</i> , <i>R. australis tupiniquinus</i> , <i>R. australis tupinus</i> , <i>R. crypturi</i> , <i>R. garbei</i> , <i>R. lugubris lugubris</i> , <i>R. lutzi lutzi</i> e <i>R. saevus</i>
<i>Rhynchopsyllus</i>	<i>R. pulex</i>
<i>Rothschildopsylla</i>	<i>R. noctilionis</i>
<i>Sternopsylla</i>	<i>S. distincta distincta</i>
<i>Synosternus</i>	<i>S. pallidus</i>
<i>Tunga</i>	<i>T. bondari</i> , <i>T. caecata</i> , <i>T. penetrans</i> , <i>T. terasma</i> , <i>T. travassosi</i> e <i>T. trimamillata</i>
<i>Xenopsylla</i>	<i>X. brasiliensis</i> e <i>X. cheopis</i>

Fonte: Linardi e Guimarães (2000); Linardi (2017).

As pulgas adultas da família Ctenophthalmidae (Figura 7) apresentam tanto ctenídeos genais (apenas quatro dentes) quanto pronotais (TAYLOR *et al.*, 2017).

As espécies de Pulicidae são caracterizadas pela presença de uma fileira de cerdas dorsais nos segmentos abdominais. Os ctenídeos genais e pronotais são ausentes em *P. irritans* e *X. cheopis* e presentes em *C. felis* e *C. canis*. O comprimento dos três segmentos torácicos é menor que o primeiro segmento abdominal e a crista pleural é notada na mesopleura do tórax (DANTAS; CARVALHO; VILAR, 2006; TAYLOR *et al.*, 2017).

As pulgas da família Rhopalopsyllidae (Figura 7) têm duas fileiras de cerdas transversas no dorso dos segmentos abdominais. Os ctenídios são ausentes, têm três fileiras de cerdas na região pós-antenal e duas fileiras de cerdas que percorrem transversalmente os segmentos abdominais (CARRERA, 1991; LINARDI, 2005).

Na família Stephanocircidae (apenas uma espécie com duas subespécies descritas) (Figura 7) as subespécies apresentam quantidades variadas de ctenídeos do pente genal, sendo cinco de cada lado para *Craneopsylla minerva minerva* e sete ou oito de cada lado para *Craneopsylla minerva wolffuegeli* (MÜLLER *et al.*, 2002).

Na família Tungidae (Figura 7) os representantes não possuem ctenídeos ou cerdas espiniformes nas coxas metatorácicas. A cabeça apresenta um ângulo frontal e o tórax tem coloração castanho-avermelhada. A fêmea apresenta cerca de 1mm antes da ingestão de sangue, mas pode aumentar a um comprimento de até 7mm após a produção de ovos, já o macho é menor, com aproximadamente 0,5 mm de comprimento (TAYLOR *et al.*, 2017).

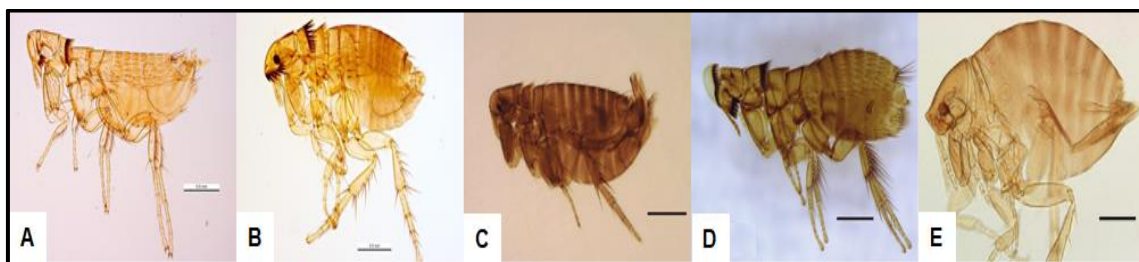


Figura 4 - Representantes das cinco famílias de sifonápteros de importância médico-veterinária que ocorrem no Brasil. A) *Leptopsylla segnis*. B) *Ctenocephalides felis*. C) *Polygenis*

(*Polygenis*) *acodontis*. D) *Craneopsylla minerva*. E) *Tunga penetrans*. Fonte: Biblioteca de Imagens de Pragas e Doenças (Fotos A e B) / López Berrizbeitia *et al.* (2017) (Foto C e D) / Whiting *et al.* (2008) (Foto E).

2.1.2.2. Ciclo biológico dos sifonápteros

As pulgas são insetos holometábolos e passam por quatro estágios no seu ciclo de vida: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 8). Os ovos são esbranquiçados, ovóides ou elipsoidais com a superfície lisa, e podem ser colocados no solo ou sobre o hospedeiro, do qual caem pouco tempo depois. A eclosão ocorre entre 2 dias a 2 semanas, a depender da temperatura do ambiente (LINARDI, 2017; TAYLOR *et al.*, 2017).

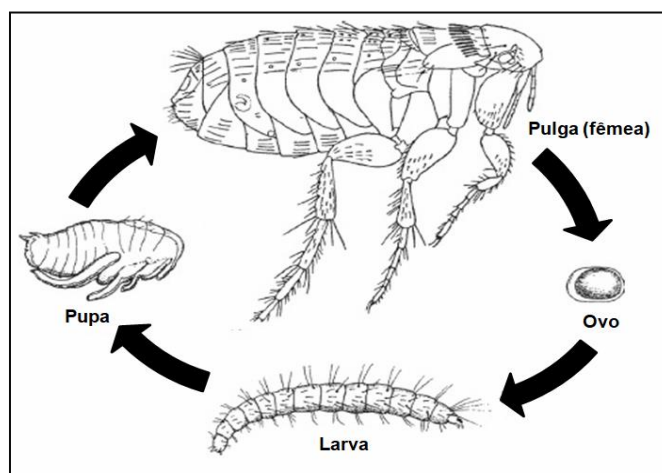


Figura 5 - Ciclo biológico da pulga. Adaptado de: Taylor *et al.* (2017).

As larvas são vermiformes, esbranquiçadas com cabeça acastanhada distinta, os segmentos corporais apresentam cerdas direcionadas para trás que, junto às cerdas anais, permitem que a larva se locomova, ápodas e sem apêndices (LINARDI, 2011a; LINARDI, 2017). Possuem um aparelho bucal mastigador, são detritívoras e se alimentam de restos de matéria orgânica (pele, pelos ou penas), particularmente, das fezes das pulgas adultas, que contém sangue e proporcionam às larvas uma coloração avermelhada. Há três instares larvários, cada um deles passando por mudas a cada três dias - excetuando os tungídeos com apenas dois instares larvários - sendo que o estágio final com aproximadamente 5 a 10 mm de comprimento, forma um casulo, do qual emerge o adulto. A muda e pupação dependem da temperatura

e da umidade do ambiente. Em condições ideais, o ciclo pode levar 18 dias para se completar, embora possa variar de 6 a 12 meses (TAYLOR *et al.*, 2017).

Os adultos apresentam dimorfismo sexual evidente, as fêmeas são maiores e apresentam a parte posterior arredondada, enquanto os machos pelo fato de albergarem o aparelho copulador nos últimos segmentos apresentam a extremidade posterior voltada para cima (LINARDI e GUIMARÃES, 2000; LINARDI, 2011a). Nesta fase, o aparelho bucal é do tipo sugador-pungitivo, com o repasto sanguíneo exercido pelos dois sexos, ainda que nas fêmeas ele também seja importante para a maturação dos ovos e posterior oviposição. As pulgas alimentam-se diretamente dos capilares, cada repasto dura cerca de 10-15 minutos. Na maioria das espécies a hematofagia persiste, mesmo após as fêmeas estarem cheias, pois o sangue digerido e posteriormente eliminado pelo ânus é fundamental para a nutrição e desenvolvimento das larvas (LINARDI, 2011a).

2.1.2.3. Distribuição geográfica dos sifonápteros

As espécies de pulgas ocupam uma grande variedade de habitats e são quase cosmopolitas, variando de desertos e florestas tropicais a áreas de tundra, com exceção da Antártida (WHITING *et al.*, 2008; LINARDI, 2011a,b).

As regiões temperadas são as mais ricas em espécies de pulgas, isso pode ser atribuído à maior preferência dos roedores pelos climas mais frios (WENZEL e TIPTON, 1966; LINARDI, 2011a). Por outro lado, a percentagem de gêneros endêmicos chega a 61% na região Afrotropical, seguida pela Australiana (58%), Neotropical (56%), Paleártica (45%), Oriental (42%) e Neártica (37%) (KRASNOV, 2008).

Na região Neotropical, com exceção do México, ocorrem 52 gêneros e cerca de 280 espécies de sifonápteros, dentre estes 63 espécies foram assinaladas no Brasil, incluídas em 21 gêneros (LINARDI e SANTOS; 2012; LINARDI, 2017).

2.1.2.4. Importância dos sifonápteros em saúde única

As pulgas atuam como vetores de vários agentes patogênicos de importância médico-veterinária (LINARDI, 2017). Sendo importantes causadoras de reações de hipersensibilidade cutânea em cães e gatos (LAWRENCE *et al.*, 2015). Estima-se que as pulgas são responsáveis por cerca de 50% de todos os casos dermatológicos de cães e gatos apresentados em clínicas veterinárias no mundo; assim, a tentativa de controle das pulgas produz custos maiores a US\$ 1bilhão/ano apenas nos EUA (KRÄMER e MENCKE, 2001).

Sua capacidade de parasitar humanos as fazem importantes agentes de relevância em saúde única (TAYLOR *et al.*, 2017). Por exemplo, o parasitismo por *T. penetrans*, conhecida popularmente no Brasil como “bicho-de-pé”, causa a tungíase em humanos (LIMONGI *et al.*, 2013; LINARDI, 2017; TAYLOR *et al.*, 2017). Esses sifonápteros também são vetores de agentes infecciosos, como vírus, bactérias, protozoários e helmintos (LIMONGI *et al.*, 2013; LINARDI, 2017). Em relação aos agentes bacterianos, as pulgas estão envolvidas na transmissão de *R. felis*, *R. typhi*, *Bartonella* spp., *Salmonella* spp., *Francisella tularensis* e *Yersina pestis* bactéria causadora de Peste (WHITING *et al.*, 2008; LIMONGI *et al.*, 2013; LINARDI, 2017).

2.2. PATÓGENOS DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE ÚNICA TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS E PULGAS

2.2.1. Gênero *Rickettsia*

O gênero *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) é representado por bactérias gram-negativas intracelulares obrigatórias, em forma de cocobacilos (PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005; PAROLA *et al.*, 2013). Estas residem no citoplasma do hospedeiro, tanto do vertebrado quanto do vetor invertebrado (CHEN e SEXTON, 2008; DEL FIOLE *et al.*, 2010).

As espécies de *Rickettsia* são divididas em cinco grupos (Quadro 2), de acordo com reações sorológicas e análise filogenética multigênica: Grupo da Febre Maculosa (GFM), Grupo Tifo (GT), Grupo Transicional (GTR), Grupo Canadensis (GC) e o Grupo Bellii (GB) (WEINERT *et al.*, 2009; TARRAGONA *et al.*, 2015).

Quadro 3 - Grupos de *Rickettsia* e espécies representantes.

Grupo	Espécies
Grupo da Febre Maculosa – GFM	<i>R. aeschlimannii</i> , <i>R. africae</i> , <i>R. amblyommii</i> , <i>R. conorii</i> , <i>R. felis</i> , <i>R. helvetica</i> , <i>R. honei</i> , <i>R. japonica</i> , <i>R. marmionii</i> , <i>R. massiliae</i> , <i>R. mongolotimonae</i> , <i>R. montanensis</i> , <i>R. parkeri</i> , <i>R. parkeri</i> , <i>R. peacockii</i> , <i>R. rickettsii</i> , <i>R. rhipicephali</i> , <i>R. sibirica</i> e <i>R. slovaca</i>
Grupo Tifo – GT	<i>R. typhi</i> e <i>R. prowazekii</i>
Grupo Transicional – GTR	<i>R. akari</i> , <i>R. australis</i>
Grupo Canadensis – GC	<i>R. canadensis</i> e <i>R. tarasevichiae</i>
Grupo Bellii – GB	<i>R. bellii</i>
Grupo “ <i>Candidatus</i> ”	“ <i>Candidatus R. amblyommii</i> ” e “ <i>Candidatus R. andeanae</i> ”

Fonte: Weinert *et al.* (2009); Tarragona *et al.* (2015); Nieri-Bastos *et al.* (2014).

2.2.1.1. Aspectos epidemiológicos da Febre Maculosa Brasileira

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença infecciosa febril aguda, transmitida por carrapatos, que pode cursar com formas leves e atípicas até formas graves com alta taxa de letalidade (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013; BRASIL, 2016). O agente etiológico da FMB é *R. rickettsii*, considerada a bactéria de maior importância zoonótica nas Américas (BRASIL, 2009) e um problema de saúde pública no Brasil (MORAES-FILHO, 2017). Até meados dos anos 2000 apenas *R. rickettsii*, era conhecida por ser endêmica no país, mas estudos incluíram *R. parkeri*, *R. rhipicephali* e *R. felis*, “*Candidatus R. amblyommii*” e “*Candidatus R. andeanae*” como espécies responsáveis também pela FMB (LABRUNA *et al.*, 2011; NIERI-BASTOS *et al.*, 2014).

A Febre Maculosa foi identificada pela primeira vez nos Estados Unidos, e ao decorrer dos anos foram assinalados casos em vários países do ocidente,

como Canadá, México, Panamá, Costa Rica, Argentina, Colômbia e Brasil (DEL FIOLE *et al.*, 2010). No Brasil, foi primeiramente relatada em 1900, por Adolfo Lutz, no Instituto Bacteriológico de São Paulo, e posteriormente em 1932, foram descritos casos da infecção em humanos em São Paulo (MORAES-FILHO, 2017). No país a Febre Maculosa também é conhecida como Tifo transmitido pelo carrapato, Febre Petequial ou Febre Maculosa Brasileira (DEL FIOLE *et al.*, 2010).

A FMB tem sido registrada em todas as regiões do país (BRASIL, 2016; SINAN, 2019), porém a maior concentração de casos é verificada nas regiões Sudeste e Sul, inclusive onde ocorreram a maioria dos casos fatais (OLIVEIRA *et al.*, 2016).

Por tratar-se de uma zoonose reemergente, a FMB foi incluída na Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória, do Ministério da Saúde, apresentando grande importância na saúde única devido ao diagnóstico médico tardio e a elevada letalidade em humanos (BRASIL, 2016).

Em 2016, o primeiro caso de FMB fatal foi documentado em Pernambuco. O paciente era residente do município de Arcoverde e o provável sítio de infecção estando no município de Sertânia, ambos no estado de Pernambuco, região semi-árida do Brasil. O paciente apresentou manifestações clínicas e exposição epidemiológica compatíveis com FMB. Através de técnicas moleculares a infecção do paciente por *Rickettsia* sp. foi confirmada, embora a sequência obtida não tenha possibilitado a determinação precisa da espécie (OLIVEIRA *et al.*, 2018).

Estudos apontam para uma maior incidência em crianças menores de 9 anos de idade e na população economicamente ativa (20-49 anos), principalmente homens, que relataram a exposição a carrapatos, animais domésticos e/ou silvestres ou frequentaram ambiente de mata, rio ou cachoeira (DEL FIOLE *et al.*, 2010; BRASIL, 2016).

Ressalta-se a importância epidemiológica dos animais silvestres, domésticos e sinantrópicos (WITTER *et al.*, 2015) no ciclo de transmissão da FMB seja como amplificadores (ROQUE e JANSEN, 2014), reservatórios

(JANSEN e ROQUE, 2010), sentinelas ou transportadores de ectoparasitos potencialmente infectados (MELO *et al.*, 2016).

2.2.1.2. Vetores de *Rickettsia* spp.

Dentre os cinco gêneros pertencentes à família Ixodidae, o gênero *Amblyomma* detém as principais espécies apontadas como vetoras da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente da FMB (LABRUNA, 2009).

No Brasil, o *Amblyomma cajennense* foi considerado durante anos a espécie de carrapato relacionada à transmissão do agente (DANTAS-TORRES, 2007; LABRUNA, 2009). No entanto, estudos filogenéticos designaram *A. cajennense* como um complexo de seis espécies (NAVA *et al.*, 2014), das quais apenas duas ocorrem no Brasil: *A. cajennense* s.s. e *A. sculptum* (MARTINS *et al.*, 2016).

No Brasil, essa bactéria já foi detectada em *A. auricularium*, *A. cajennense* (s.s.), *A. coelebs*, *A. geayi*, *A. humerale*, *A. longirostre*, *A. parkeri* e *A. sculptum*, e foi registrada nos estados da Bahia (OGRZEWALSKA *et al.*, 2011), Mato Grosso (ALVES *et al.*, 2014; LOPES *et al.*, 2014; SOARES *et al.*, 2015; WITTER *et al.*, 2015), Pará (OGRZEWALSKA; UEZU; LABRUNA, 2010; SOARES *et al.*, 2015), Paraná (PACHECO *et al.*, 2012), Pernambuco (SARAIVA *et al.*, 2013), Rio de Janeiro (CAMPOS *et al.*, 2017), Rondônia (LABRUNA *et al.*, 2004a,b) e São Paulo (OGRZEWALSKA *et al.*, 2008).

No Brasil, as espécies de *Amblyomma* spp. estão distribuídas em regiões distintas, mas a fauna desses carrapatos é mais diversificada no oeste da Amazônia do que em outras regiões do país (MARTINS *et al.*, 2014; AGUIRRE *et al.*, 2018). Entre as espécies, destacam-se como principais vetoras da bactéria no Brasil: na região Amazônica – *A. cajennense* (s.s.) –, no Cerrado – *A. sculptum* –, na Mata Atlântica – *A. aureolatum* – e em todas as regiões do país – *A. ovale* (MORAES-FILHO, 2017; AGUIRRE *et al.*, 2018).

2.2.2. Gênero *Borrelia*

O gênero *Borrelia* (Spirochaetales: Spirochaetaceae) é composto por bactérias gram-negativas, com formato helicoidal de espiroqueta e anaeróbias (SANTOS *et al.*, 2010; BAĞCI e RUZICKA, 2016). Essas espiroquetas se desenvolvem como simbioses nos artrópodes e como parasitos hemofílicos nos animais, inclusive no homem (HOOGSTRAAL *et al.*, 1985).

As infecções provocadas por espécies patogênicas de *Borrelia* são categorizadas em: Aborto enzoótico bovino, Borreliose aviária, Borreliose bovina, Borreliose de Lyme (Doença de Lyme ou Síndrome Baggio-Yoshinari) e Febre recorrente (Quadro 4) (SOARES *et al.*, 2000; SOCOLOVSCHI *et al.*, 2009; SANTOS *et al.*, 2010; YOSHINARI *et al.*, 2010).

Quadro 4 - Grupos de *Borrelia* e espécies representantes.

Grupo	Espécies
Aborto enzoótico bovino	<i>B. coriaceae</i>
Borreliose aviária	<i>B. anserina</i>
Borreliose bovina	<i>B. theileri</i>
Borreliose de Lyme	<i>B. burgdorferi sensu lato</i> (<i>B. afzelii</i> , <i>B. americana</i> , <i>B. andersonii</i> , <i>B. bavarienses</i> , <i>B. bissettii</i> , <i>B. burgdorferi sensu stricto</i> , <i>B. californiensis</i> , <i>B. carolinensis</i> , <i>B. garinii</i> , <i>B. japonica</i> , <i>B. kurtenbachii</i> , <i>B. lusitaniae</i> , <i>B. sinica</i> , <i>B. spielmanii</i> , <i>B. tanukii</i> , <i>B. turdae</i> e <i>B. valaisiana</i>)
Febre recorrente	<i>B. recurrentis</i>

Fonte: Soares *et al.* (2000); Socolovschi *et al.* (2009); Santos *et al.* (2010); Yoshinari *et al.* (2010).

O complexo *B. burgdorferi* (s.l.) engloba 17 espécies, mas as genoespécies clinicamente relevantes são a *B. afzelii*, *B. bavarienses*, *B. burgdorferi* (s.s), *B. garinii* e *B. spielmanii* (BAĞCI e RUZICKA, 2016; PRITT *et al.*, 2016).

2.2.2.1. Aspectos epidemiológicos da Síndrome Baggio-Yoshinari

A Síndrome Baggio-Yoshinari (SBY) é uma enfermidade que apresenta inúmeras denominações (DL-Símile, Síndrome Infecto Reacional Lyme-Símile (SIRLS) ou Doença de Lyme-Símile Brasileira) criadas com intuito de

diferenciá-la da clássica Doença de Lyme (DL), uma vez que à medida que novos pacientes foram descobertos, observaram-se grandes diferenças entre a DL descrita no hemisfério Norte e no Brasil (YOSHINARI *et al.*, 2010).

A SBY é uma patologia infecciosa, não contagiosa, causada por espiroquetas pertencentes ao complexo *B. burgdorferi* (s.l.) e transmitida por picada de carrapatos do gênero *Ixodes* (YOSHINARI *et al.*, 2010; QUEIROZ *et al.*, 2018). O quadro clínico apresenta amplo espectro, podendo desencadear manifestações cutâneas (Eritema Migratório – EM) e articulares, e que sem tratamento adequado podem evoluir para comprometimentos neurológicos, cardíacos e oftalmológicos (STANEK e STRLE, 2009; YOSHINARI *et al.*, 2010; GARRIDO e BORGES-COSTA, 2018).

A Doença de Lyme (DL) é a mais prevalente antropozoonose transmitida por artrópodes no hemisfério Norte, principalmente, nos países de clima temperado (RIZZOLI *et al.*, 2011; SEHGAL e KHURANA, 2015; GARRIDO e BORGES-COSTA, 2018). No continente americano a DL é endêmica nos Estados Unidos, considerada um problema de saúde pública com cerca de 300.000 casos estimados anualmente (PRITT *et al.*, 2016). Existem relatos de casos no Canadá, México, Costa Rica, Colômbia, Brasil, Venezuela e Chile (BACON; KUGELER; MEAD, 2008; SANTOS *et al.*, 2010; TALHARI *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2017; QUEIROZ *et al.*, 2018).

No Brasil, os primeiros quinze casos com o sinal clínico de EM foram relatados em pacientes da região metropolitana de Manaus (TALHARI *et al.*, 1987). Após esses relatos, outros casos de EM, com achados histológicos sugestivos e sorologia positiva para *Borrelia* sp., foram identificados em outras regiões do Brasil (SANTOS *et al.*, 2010). Os estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Norte e Amazonas têm relatado casos isolados (LOPES *et al.*, 2017; QUEIROZ *et al.*, 2018).

A SBY acomete homens e mulheres de todas as idades (HENGGE *et al.*, 2003; BAĞCI e RUZICKA, 2016). O Ministério da Saúde classifica a SBY como agravo inusitado, por ser doença rara em território brasileiro, sendo, portanto, de notificação compulsória e investigação obrigatória. Deve-se considerar que movimentos migratórios e viagens a áreas endêmicas podem contribuir para o

surgimento de casos de Síndrome Baggio-Yoshinari em território nacional (BRASIL, 2010).

2.2.2.2. Vetores de *Borrelia* spp.

As bactérias *Borrelia* spp. são transmitidas principalmente por carrapatos, embora, em casos raros por tabanídeos, culicídeos e sifonápteros (MAGNARELLI *et al.*, 1987).

Os carrapatos do gênero *Ixodes*, são os responsáveis por transmitir a espiroqueta para humanos, animais domésticos e silvestres. Este gênero agrega cerca de 240 espécies, 45 delas na região neotropical e apontadas como potenciais vetoras da bactéria *B. burgdorferi* (s.s) (GUZMÁN-CORNEJO e ROBBINS, 2010; QUEIROZ *et al.*, 2018).

Assim, os principais vetores da *B. burgdorferi* (s.s.) são *I. scapularis*, *I. ricinus* e *I. pacifus* (LELOVAS *et al.*, 2008; BRASIL, 2010). Apesar dos principais vetores de *B. burgdorferi* (s.s.) serem carrapatos do gênero *Ixodes*, as espécies *A. americanum*, *A. cajennense* e *D. variabilis* também têm sido associadas com a transmissão da *B. burgdorferi* (s.s.) (STROMDAL *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2010).

No Brasil, já foi demonstrada a presença de *Borrelia* spp. em carrapatos dos gêneros *Amblyomma* e *Rhipicephalus*, porém sem a demonstração da participação desses vetores no ciclo epidemiológico da SBY (GUEDES *et al.*, 2008; YOSHINARI *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2010; QUEIROZ *et al.*, 2018).

2.2.3. Gênero *Yersinia*

O gênero *Yersinia* (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae) é composto por bactérias gram-negativas, pleomórficas, imóveis, intracelulares facultativas e não formadoras de esporos (MERHEJ *et al.*, 2008; MURROS-KONTIAINEN *et al.*, 2011a). O bacilo da Peste mantém-se na natureza à custa de complexa rede de interações, envolvendo populações de hospedeiros, do vetor e fatores bióticos e abióticos (BRASIL, 2008).

O gênero *Yersinia* é composto por 18 espécies (Quadro 5), incluindo quatro patogênicas em humanos – *Y. pestis*, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* e *Y. kristensenii* – e 14 espécies não patogênicas (ambientais) (MERHEJ *et al.*, 2008; MURROS-KONTIAINEN *et al.*, 2011a,b; SAVIN *et al.*, 2014).

Quadro 5 - Grupos de *Yersinia* e espécies representantes.

Grupo	Espécies
Peste	<i>Y. pestis</i>
Yersiniose	<i>Y. enterocolitica</i> , <i>Y. kristensenii</i> e <i>Y. pseudotuberculosis</i>
Não patogênicas (ambientais)	<i>Y. aldovae</i> , <i>Y. aleksiciae</i> , <i>Y. bercovieri</i> , <i>Y. entomophaga</i> , <i>Y. frederiksenii</i> , <i>Y. intermedia</i> , <i>Y. massiliensis</i> , <i>Y. mollaretii</i> , <i>Y. nurmii</i> , <i>Y. pekkanenii</i> , <i>Y. rohdei</i> , <i>Y. ruckeri</i> , <i>Y. similis</i> e <i>Y. wautersii</i>

Fonte: Merhej *et al.* (2008); Murros-Kontiainen *et al.* (2011a,b); Savin *et al.* (2014).

Y. pestis causa uma doença febril grave, aguda e de rápida progressão, com taxas de mortalidade significativas, sendo capaz de reproduzir as três formas de peste (bubônica, pneumônica e septicêmica); *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* e *Y. kristensenii* são enteropatogênicas, transmitem-se pela via orofecal causando a Yersiniose, esta última associada principalmente a imunocomprometidos (BRASIL, 2008; SAVIN *et al.*, 2014).

2.2.3.1. Aspectos epidemiológicos da Peste

A Peste ou praga, causada pela *Y. pestis*, é uma das mais antigas doenças infecciosas conhecidas (FALCÃO e FALCÃO, 2006), responsável por três pandemias históricas: (1) a Primeira Pandemia, que começou com a Peste de Justiniano (541-544 dC) e continuou até 750 dC; (2) a Segunda Pandemia, que teve início com a Peste Negra na Europa (1347-1351 dC), incluiu casos consecutivos, como a Grande Peste (1665-1666 dC) se estendendo até o século 18; (3) a Terceira Pandemia, que surgiu na China na década de 1850 e resultou em uma grande epidemia em 1894, antes de se disseminar pelo mundo como uma série de epidemias até meados do século 20 (FALCÃO e FALCÃO, 2006; RASMUSSEN *et al.*, 2015; PECHOUS *et al.*, 2016).

Y. pestis está elencada entre os doze patógenos que podem se disseminar para novas regiões como resultado de alterações climáticas, com potencial impacto para saúde humana e economias globais (WHO, 2010).

A Peste ainda é uma ameaça em países de quatro continentes, na América do Norte (Estados Unidos) e América do Sul (Brasil, Equador, Peru e Bolívia); África (Madagascar, Moçambique, Uganda e Tanzânia), Ásia (China, Vietnã, Mongólia, Quirguistão e Índia) e sudeste Europeu (STENSETH *et al.*, 2008, CDC, 2018). A permanência no Brasil deve-se a existência de dois focos naturais designados, “Foco do Nordeste” e “Foco da Serra dos Órgãos” (BRASIL, 2017).

Os focos localizam-se em áreas com condições ecológicas e geográficas específicas, com uma fauna diversificada de roedores e pulgas agregando condições essenciais à circulação de *Y. pestis* (BRASIL, 2017).

O “Foco do Nordeste” se estende pelos estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia e Piauí, e nordeste de Minas Gerais abrangendo a região do Vale do Jequitinhonha e uma zona fora do Polígono da Seca, o Vale do Rio Doce. Este foco registrou de 20 a 100 casos de peste por ano, até o final da década de 1980, com maior prevalência nos estados de Pernambuco, Ceará, Bahia e um importante surto na Paraíba (BRASIL, 2010). Os últimos casos de infecção humana ocorreram no Ceará, um em 1997 e outro em 2005 (TAVARES *et al.*, 2012).

O “Foco da Serra dos Órgãos” envolve os municípios de Teresópolis, Sumidouro e Nova Friburgo, no Estado do Rio de Janeiro onde ocorreram surtos de curta duração, tendo o último registro em 1967, com oito casos humanos e duas mortes (BRASIL, 2010). A persistência desses focos representa uma ameaça real de possível acometimento humano, podendo determinar sérias consequências tanto no âmbito da saúde, quanto social e econômico (TAVARES *et al.*, 2012).

2.2.3.2. Vetores de *Yersinia pestis*

As pulgas participam do ciclo como vetores do bacilo causador da peste assim têm papel fundamental na manutenção da *Y. pestis* nas comunidades animais, principalmente nos roedores (Muridae, Equimidae e Sigmodontinae) e na transmissão ao ser humano (OLIVEIRA *et al.*, 2009). As espécies de pulgas potenciais vetoras são aquelas capazes de permanecer infectadas com o bacilo durante meses, sob condições propícias de temperatura e umidade (BRASIL, 2017).

No Brasil, as espécies mais importantes e registradas nos focos naturais de Peste fazem parte de cinco famílias: Ctenophthalmidae (*A. antiquorum* e *L. segnis*), Pulicidae (*P. irritans*, *X. cheopis*, *C. felis* e *C. canis*), Rhopalopsyllidae (*P. b. jordani*, *P. tripus*, *P. roberti roberti* e *P. rimatus*), Stephanocircidae (*C. minerva minerva*) e Tungidae (*T. penetrans*) (BRASIL, 2008; LINARDI, 2017).

As espécies *X. cheopis*, *X. brasiliensis*, *X. astia* têm grande capacidade vetorial, *Nosopsyllus fasciatus* e *L. segnis* são menos eficientes. *P. b. jordani* e *P. tripus* têm importância na ocorrência de epizootias entre os roedores, assim como na gênese da Peste humana no Brasil. Já *C. canis*, *C. felis* e *P. irritans*, que apresentam maior proximidade com os humanos, podem transmitir Peste para estes hospedeiros (BRASIL, 2017).

Contudo o vetor mais eficiente da Peste, devido à sua capacidade de bloqueio do proventrículo, consequente à multiplicação das bactérias e formação de biofilme é *X. cheopis*. As espécies *P. b. jordani* e *P. tripus* são os principais vetores entre os roedores no “Foco do Nordeste” (BRASIL, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

3. REFERÊNCIAS

ACOSTA-GUTIÉRREZ, R. Biodiversidad de Siphonaptera en México. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, s. 85, p. S345-S352, 2014.

AGUIRRE, A.A.R.; *et al.* New records of tick-associated spotted fever group *Rickettsia* in an Amazon savannah ecotone, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, p. 1038-1044, 2018.

ANDREOTTI, R.; KOLLER, W.W.; GARCIA, M.V. (Ed.). **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. Brasília: Embrapa, 240 p., 2016.

ALVES, A.S.; *et al.* Seroprevalence of *Rickettsia* spp. in equids and molecular detection of '*Candidatus rickettsia amblyommii*' in *Amblyomma cajennense* sensu lato ticks from the pantanal region of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 6, p. 1242-1247, 2014.

ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, n. 4, p. 759-843, 1936.

BACON, R.M.; KUGELER, K.J.; MEAD, P.S. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for Lyme disease – United States, 1992-2006. **The Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) Surveillance Summaries**, v. 57, p. 1-9, 2008.

BAĞCI, I.S.; RUZICKA, T. Current Review of Lyme Disease. **Turkish Journal of Dermatology**, v. 10, p. 116-121, 2016.

BARKER, S.C.; MURRELL, A. Systematic and Evaluation of Ticks with a List of Valid Genus and Species Names. **Journal of Parasitology**, v. 129, p. 15-36, 2004.

BARROS-BATTESTI, D.M.; *et al.* **Carrapatos de importância Médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.** São Paulo: Vox; International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-3); Butantan, 223p., 2006.

BARROS-BATTESTI, D.M.; *et al.* Immature argasid ticks: diagnosis and keys for neotropical region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 443-456, 2013.

BELOZEROV, V.N. Diapause and biological rhythms in ticks. In: OBENCHAIN, F. O. & GALUN, R. (Ed). **Physiology of ticks.** Oxford: Pergamon, v. 13, p. 469-500, 1982.

BELOZEROV, V. N. Dormancy in the life cycle of ixodid ticks and their adaptations to predictable and unpredictable environmental changes. In: NEEDHAM, G. (Ed), **Acarology IX**, v. 2, p. 53-56, 1999.

BOWMAN, A.S.; NUTTALL, P.A. **Ticks Biology, Disease and Control.** Cambridge University Press, 1ª ed., 518 p., 2009.

BRADSHAW, W.E.; HOLZAPFEL, C.M. Evolution of animal photoperiodism. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 38, p. 1-25, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da peste** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**. 7ed. Brasília: Ministério da Saúde, 816p, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias**: guia de bolso / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 8. ed. rev. – Brasília : Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**: [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia e Serviços. – 1ª. ed. atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume 3 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 1ª. ed. atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BURGDORFER, W.; BRINTON, L.P. Mechanisms of transovarial infection of spotted fever rickettsiae in ticks. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 266, n. 1, p. 61-72, 1975.

BURGER, T.D.; SHAO, R.; LABRUNA, M.B.; BARKER, S.C. Molecular phylogeny of soft ticks (Ixodida: Argasidae) inferred from mitochondrial genome and nuclear rRNA sequences. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, p. 195-207, 2014.

BUTLER, T. Plague gives surprises in the first decade of the 21st century in the United States and worldwide. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 788-793, 2013.

CAMPOS, S.D.E.; *et al.* Circulação de Rickettsias do Grupo da Febre Maculosa em cães no entorno de Unidades de Conservação Federais do estado do Rio de Janeiro: evidência sorológica e fatores associados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1307-1312, 2017.

CARRERA, M. **Insetos de interesse médico e veterinário**. Paraná: Editora UFPR, 228 p., 1991.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention (2019). **Plague worldwide – plague cases by Country 2010–2015**. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/plague/maps/index.html> > Acessado em: 20 de Abril de 2020.

CHEN, L.F.; SEXTON, D.J. What's New in Rocky Mountain Spotted Fever? **Infectious Disease Clinicals of the North American**. v. 22, p. 415-432, 2008.

CHOMEL, B. Lyme disease. **Revue Scientifique et Technique**, v. 34, n. 2, p. 569-576, 2015.

CORNEJO, C.G.; PÉREZ, T.M.; NAVA, S.; GUGLIELMONE, A.A. First records of the ticks *Amblyomma calcaratum* and *A. pacae* (Acari: Ixodidae) parasitizing mammals of Mexico. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 77, p. 123-127, 2006.

DANTAS, J.O.; CARVALHO, C.M.; VILAR, J.C. Chaves para Identificação de Vetores das Principais Zoonoses de Sergipe. II. Hemiptera. Siphonaptera. Basomatophora. **Biologia Geral e Experimental**, v. 6, n. 2, p. 49-63, 2006.

DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 11, p. 724-732, 2007.

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

DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 1, n. 1, p. 25-42, 2008.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Further thoughts on the taxonomy and vector role of *Rhipicephalus sanguineus* group ticks. **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1-2), p. 9-13, 2015.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Best practices for preventing vector-borne diseases in dogs and humans. **Trends in Parasitology**, v. 32, p. 43-55, 2016.

DANTAS-TORRES, F.; et al. Biological compatibility between two temperate lineages of brown dog ticks, *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato). **Parasites & Vectors**. v.11, p. 398, 2018.

DEL FIOL, F.S.; et al. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 461-486, 2010.

DELINGER, D. L. Regulation of Diapause. **Annual Review of Entomology**, v. 47, p. 93-122, 2002.

DIGARD, J-P. Domestic biodiversity, a little-known aspect of animal biodiversity. **Anuário Antropológico**, v. 2, p. 205-223, 2012.

DOBLER, G.; PFEFFER, M. Fleas as parasites of the family Canidae. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 139, p. 1-12, 2011.

ESTRADA-PEÑA, A.; BOUATTOUT, A.; CAMICAS, J-L.; WALKER, A.R. **Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region: A Guide to Identification of Species**. Universidade de Zaragoza, Zaragoza. 1ª ed., 2004.

ESTRADA-PEÑA, A.; *et al.* A review of the systematics of the tick family Argasidae (Ixodida). **Acarologia**, v. 50, n. 3, p. 317-333, 2010.

FALCÃO, J.P.; FALCÃO, D.P. Importância de *Yersinia enterocolitica* em microbiologia médica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 27, n.1, p. 9-19, 2006.

GAGE, K.L.; BURKOT, T.R.; EISEN, R.J.; HAYES, E.B. Climate and vector-borne diseases. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 35, p. 436-450, 2008.

GARRIDO, P.M.; BORGES-COSTA, J. Doença de Lyme: Epidemiologia e Manifestações Clínicas Cutâneas. **Journal of the Portuguese Society of Dermatology and Venereology**, v. 76, n. 2, p. 1-8, 2018.

GRAY, J.; DANTAS-TORRES, F.; ESTRADA-PEÑA, A.; LEVIN, M. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 4, p. 171-180, 2013.

GRISI, L.; *et al.* Reavaliação do potencial impacto econômico de parasitas de gado no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 2, p. 150-156, 2014.

GUEDES, D.S.JR.; *et al.* Frequency of antibodies to *Babesia bigemina*, *B. bovis*, *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma vivax* and *Borrelia burgdorferi* in cattle from the Northeastern region of the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 105-109, 2008.

GUGLIELMONE, A. A.; *et al.* The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Zootaxa**, n. 2528, p. 1-28, 2010.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. Plêiade/FAPESP, São Paulo, 213p., 2001.

GUZMÁN-CORNEJO, C.; ROBBINS, R.G. The genus *Ixodes* (Acari: Ixodidae) in Mexico: adult identification keys, diagnoses, hosts, and distribution. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 81, n. 2, p. 289-298, 2010.

HENGGE, U.R.; *et al.* Lyme borreliosis. **Lancet Infectious Diseases**, v. 3, n. 8, p. 489-500, 2003.

HOOGSTRAAL, H.; WASSEF, H.Y.; HAYS, C.; KEIRANS, J.E. *Ornithodoros (Alectorobius) capensis* group, a tick parasite of the humboldt penguin in Peru. **Journal of Parasitology**, v. 71, p. 635-644, 1985.

JANSEN A.M.; ROQUE A.L.R. Domestic and Wild Mammalian Reservoirs Telleria J., Tibyarenc M. (Eds.), **American Trypanosomiasis – Chagas Disease**, Elsevier, London, p. 249-276, 2010.

KEWISH, K.E.; *et al.* *Mycoplasma haemofelis* and *Mycoplasma haemominutum* detection by polymerase chain reaction in cats from Saskatchewan and Alberta. **Canadian Veterinary Journal**, v. 45, n. 9, p. 749-752, 2004.

KLOMPEN, H. Ticks, the Ixodida In: Marquardt, W.C.; Black, W.C.; Freier, J.E.; Hagedorn, H.H.; Hemingway, J.; Higgs, S.; James, A.A.; Kondratieff, B.; Moore, C.G. **Biology of Disease Vectors**. 2^a ed Colorado: Elsevier Academic Presss, p. 45-55, 2005.

KOLLER, W.W.; MATIAS, J. **Coleta, preservação e identificação de carrapatos.** p. 1-33. In: ANDREOTTI, R.; KOLLER, W.W. Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo. Embrapa, Brasília, 217p., 2016.

KRÄMER, F. ; MENCKE, N. **Flea biology and control.** Springer, EUA, 2001.

KRASNOV, B. **Functional and evolutionary ecology of fleas. A model for ecological parasitology.** Cambridge University Press, 1^a ed., 610p., 2008.

LABRUNA, M.B.; et al. Larval Behavioral Diapause Regulates Life Cycle of *Amblyomma cajennense*(Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 40, n. 2, p. 171-178, 2003.

LABRUNA, M.B.; et al. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 533-537, 2004a.

LABRUNA, M.B.; et al. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 1073-1081, 2004b.

LABRUNA, M.B. Ecology of rickettsia in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1166, p. 156-166, 2009.

LABRUNA, M.B.; et al. Experimental infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 829-834, 2011.

LAWRENCE, A.F.; et al. Integrated morphological and molecular identification of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and dog fleas (*Ctenocephalides canis*) vectoring *Rickettsia felis* in central Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 3-4, p. 215-223, 2015.

LELOVAS, P.; DONTAS, I.; BASSIAKOU, E.; XANTHOS, T. Cardiac implications of Lyme disease, diagnosis and therapeutic approach. **International Journal of Cardiology**, v. 129, n. 1, p. 15-21, 2008.

LIMONGI, J.E.; SILVA, J.J.; PAULA, M.B.C.; MENTES, J. Aspectos epidemiológicos das infestações por sifonápteros na área urbana do município de Uberlândia, Minas Gerais, 2007-2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 22, n. 2, p. 285-294, 2013.

LINARDI, M.P.; GUIMARÃES, L.R. **Sifonápteros do Brasil**. Museu de Zoologia, São Paulo, 291 p., 2000.

LINARDI, P.M. Siphonaptera. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. (Org.). **Parasitologia humana**. 11^a ed. São Paulo: Atheneu, 494 p., 2005.

LINARDI, P. M. Checklist de Siphonaptera (Insecta) do Estado de São Paulo. **Biota Neotropica**, v. 11, s. 1a, p. 1-11, 2011a.

LINARDI, P.M. Pulgas. In: Marcondes, C. B. ed. **Entomologia Médica e Veterinária**. 2^a ed. São Paulo, Rio de Janeiro e Belo Horizonte: Livraria Atheneu, p. 249-277, 2011b.

LINARDI, P.M.; SANTOS, J.L.C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 345-354, 2012.

LINARDI, P.M. Checklist dos Sifonápteros (Insecta) do Estado do Mato Grosso, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v.107, s. e2017148, p. 1-6, 2017.

LIU, X.Y.; BONNET, S.I. Hard tick factors implicated in pathogen transmission. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 8, n. 1, p. e2566, 2014.

LOPES, L.B.; *et al.* *Rickettsia bellii*, *Rickettsia amblyommii*, and Laguna Negra hantavirus in an Indian reserve in the Brazilian Amazon. **Parasites & Vectors**, v. 191, p. 1-7, 2014.

LOPES, F.A.; *et al.* Molecular evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in patients in Brazilian central western region. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 57, n. 6, p. 641-645, 2017.

LÓPEZ BERRIZBEITIA, M.F.; SÁNCHEZ, R.T.; BARQUEZ, R.M.; DÍAZ, M.M. An update on the distribution and nomenclature of fleas (Order Siphonaptera) of bats (Order Chiroptera) and rodents (Order Rodentia) from La Rioja Province, Argentina. **ZooKeys**, v. 678, p. 139-154, 2017.

MAGNARELLI, L.A.; ANDERSON, J.F.; SCHREIER, A.B.; FICKE, C.M. Clinical and serologic studies of canine borreliosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 1, p. 1089-1094, 1987.

MANS, B.J.; KLERK, D.; PIENAAR, R.; LATIF, A.A. *Nuttalliella namaqua*: A living fossil and closest relative to the ancestral tick lineage: implications for the evolution of blood-feeding in ticks. **PLOS ONE**, v. 6, n. 8, s. e23675, p. 1-11, 2011.

MARTINS, T.F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, n. 2, p. 75-99, 2010.

MARTINS, T.F.; *et al.* New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, n. 1, p. 121-128, 2014.

MARTINS, T.F.; *et al.* Carrapatos (Acari: Ixodidae) em mamíferos silvestres do Parque Nacional da Serra da Canastra e arredores, Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 288-291, 2015.

MARTINS, T.F.; *et al.* Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). **Parasites and Vectors**, v. 9, p. 186, 2016.

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

MELO, A.L.; *et al.* A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 30, n. 1, p. 112-116, 2016.

MENCKE, N. Future challenges for parasitology: vector control and 'One health' in Europe: the veterinary medicinal view on CVBDs such as tick borreliosis, rickettsiosis and canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 195, n. 3-4, p. 256-271, 2013.

MERHEJ, V.; *et al.* *Yersinia massiliensis* sp. nov. isolated from fresh water. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 58, p. 779-784, 2008.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. / Brazilian spotted fever. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-**

SP, São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 15, n. 1, p. 38-45, 2017.

MÜLLER, G.; BRUM, J.G.W.; BERNE, M.E.A.; RIBEIRO, P.B. Occurrence of *Craneopsylla minerva minerva* (Rothschild, 1903) (Siphonaptera, Stephanocircidae) from *Didelphis albiventris* in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 107-108, 2002.

MURROS-KONTIAINEN, A.; et al. *Yersinia pekkanenii* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, p. 2363-2367, 2011a.

MURROS-KONTIAINEN, A.; et al. *Yersinia nurmii* sp. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 61, p. 2368-2372, 2011b.

NAVA, S., GUGLIELMONE, A.A. A meta-analysis of host specificity in neotropical hard ticks (Acari: Ixodidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 103, n. 2, p. 216-224, 2013.

NAVA, S.; et al. 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 resurrection of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick-Borne Disease**, v. 5, p. 252-276, 2014.

NAVA, S.; et al. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1-2, p. 2-8, 2015.

NELSON, R. Rocky Mountain spotted fever in Native Americans. **Lancet Infectious Diseases**, v. 15, p. 1013-1014, 2015.

NIERI-BASTOS F.A.; *et al.* *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, p. 259-261, 2014.

OGRZEWALSKA, M.; *et al.* Ticks (Acari:Ixodidae) infesting wild birds in an Atlantic forest area in the state of São Paulo, Brazil, with isolation of *rickettsia* from the tick *Amblyomma longirostre*. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, p. 770-774, 2008.

OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the eastern Amazon, northern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v. 106, p. 809-816, 2010.

OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the Atlantic Forest in northeastern Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v. 108, p. 665-670, 2011.

OLIVEIRA, G.M.; TAVARES, C.; ALVES, L.C.; ALMEIDA, A.M.P. Sifonápteros de roedores de peste da Chapada do Araripe, Pernambuco, Brasil, 2002-2008. **Revista de Patologia Tropical**, v. 38, n. 3, p. 213-219, 2009.

OLIVEIRA, S.V.; *et al.* Vigilância de ambientes da febre maculosa: explorando as áreas silenciosas do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 3, p. 65-72, 2016.

OLIVEIRA, S.V.; *et al.* Fatal case of spotted fever in a patient from Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, p. 1-4, 2018.

ONOFRIO, V.C.; *et al.* **Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma***. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: Um guia

ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox; International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-3); Butantan, p. 53-113, 2006.

PACHECO, R.C.; *et al.* Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, p. 710-716, 2012.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and Tickborne Bacterial Diseases in Humans: An Emerging Infectious Threat. **Clinical Infectious Diseases**, v. 32, n. 6, p. 897-928, 2001.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, p. 719-756, 2005.

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

PASCOAL, J.O.; *et al.* Ticks on birds in a savanna (Cerrado) reserve on the outskirts of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 46-52, 2013.

PECHOUS, R.; SIVARAMAN, V.; STASULLI, N.M.; GOLDMAN, W. "Pneumonic plague: the darker side of *Yersinia pestis*". **Trends in Microbiology**, v. 24, n. 3, p. 190-197, 2016.

PRITT, B.S.; *et al.* Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia: a descriptive study. **Lancet Infectious Diseases**, v. 16, p. 556-564, 2016.

QUEIROZ, N.A.; *et al.* Identificação morfológica da espiroqueta *Borrelia* spp. no exame da hemolinfa de *Rhipicephalus microplus*. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 1, n. 2, p. 414-419, 2018.

RASMUSSEN, S.; *et al.* Early Divergent Strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 Years Ago. **Cell**, v. 163, p. 571-582, 2015.

REY, L. **Parasitologia**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 930 p., 2008.

RIZZOLI, A.; *et al.* Lyme borreliosis in Europe. **Euro Surveillance**, v. 16, p. 2-9, 2011.

ROQUE, A.L.R.; JANSEN, A.M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251-262, 2014.

RUGGIERO, M.A.; *et al.* A higher level classification of all living organisms. **PLoS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0119248, 2015.

SANTOS, M.; HADDAD, JR V.; RIBEIRO-RODRIGUES, R.; TALHARI, S. Borreliose de Lyme. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 6, p. 930-938, 2010.

SARAIVA, D.G.; *et al.* *Rickettsia amblyommii* Infecting *Amblyomma auricularium* Ticks in Pernambuco, Northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission, and transtadial perpetuation. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, p. 615-618, 2013.

SAVIN, C.; *et al.* The *Yersinia pseudotuberculosis* complex: characterization and delination of a new species, *Yersinia wautersii*. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 304, n. 3-4, p. 452-463, 2014.

SEHGAL, V.N.; KHURANA, A. Lyme disease/borreliosis as a systemic disease. **Clinics in Dermatology**, v. 33, n. 542-550, 2015.

SERRA-FREIRE, N.M. **Capítulo 19 – Ácaros (Carrapatos e Outros)**, p. 379-426 In: MARCONDES, C.B. Entomologia Médica e Veterinária. 2ª ed. Editora Atheneu: São Paulo, 526p., 2011.

SILVA, M.M.; SANTOS, A.S.; FORMOSINHO, P.; BACELLAR, F. Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. **Acta Médica Portuguesa**, v. 19, p. 39-48, 2006.

SINAN: Sistema de Informação de Agravos de Notificação. **Febre Maculosa**. 2019. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinannet/cnv/febremaculosabr.def>
Acesso em: 20 de março de 2020.

SOARES, C.O.; ISHIKAWA, M.M.; FONSECA A.H.; YOSHINARI, N.H. Borrelioses, Agents And Vectors: A Review. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n. 1, p. 1-19, 2000.

SOARES, H.S.; *et al.* Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, v. 65, p. 125-140, 2015.

SOCOLOVSKI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Update on tick-born bacterial diseases in Europe. **Parasite**, v. 16, p. 259-273, 2009.

STANEK, G.; STRLE, F. Lyme borreliosis: a European perspective on diagnosis and clinical management. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, 450-454. 2009

STENSETH, N.C.; *et al.* Plague: Past, Present and Future. **PloS Medicine**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2008.

STROMDAL, E.Y.; *et al.* Evidence of *Borrelia lostenari* DNA in *Amblyomma americanum* removed from humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 557-562, 2003.

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

TALHARI, S.; *et al.* Eritema crônico migrans / Doença de Lyme – Estudo de três casos. **XLII Congresso Brasileiro de Dermatologia**, 1987.

TALHARI, S.; *et al.* *Borrelia burgdorferi* “sensu lato” in Brazil: Occurrence confirmed by immunohistochemistry and focus floating microscopy. **Acta Tropica**, v. 115, p. 200-204, 2010.

TARRAGONA, E.L.; *et al.* *Rickettsia* infection in *Amblyomma tonelliae*, a tick species from the *Amblyomma cajennense* complex. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 6, p. 173-177, 2015.

TAVARES, C.; *et al.* Plague in Brazil: from now and then. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 954, p. 69-77, 2012.

TAYLOR, M.A.; *et al.* **Parasitologia Veterinária**. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1052 p., 2017.

VILLALOBOS-CUEVAS, V.A.; WEBER, M.; LARESCHI, M.; ACOSTA, R. Pulgas parásitas de mamíferos pequeños y medianos de Calakmul, Campeche, México y nuevos registros de localidades. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, v. 87, p. 1372-1378, 2016.

VOBIS, M.; D'HAESE, J.; MEHLHORN, H. Experimental quantification of the feline leukaemia virus in the cat flea (*Ctenocephalides felis*) and its faeces. **Parasitology Research**, v. 97, p. S102-S106, 2005.

WANG, H.; NUTTALL, P.A. Immunoglobulin binding proteins in ticks: New target for vaccination development against the bloodfeeding parasite. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 56, p. 286-295, 1999.

WEINERT, L.A.; *et al.* Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. **BMC BIOLOGY**, v. 7, n. 6, p. 1-15, 2009.

WENZEL, R.L.; TIPTON, V.J. **Some relationships between mammal hosts and their ectoparasites**. In: Ectoparasites of Panama (Wenzel, R.L.; Tipton, V.J.; Ed.). Chicago: Field Museum of Natural History, p. 677-723, 1966.

WHITING, M.F.; WHITING, A.S.; HASTRITER, M.W.; DITTMAR, K. A molecular phylogeny of fleas (Insecta: Siphonaptera): origins and host associations. **Cladistics**, v. 24, n. 5, p. 677-707, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. Human plague: review of regional morbidity and mortality, 2004-2009. **Weekly Epidemiological Record**, v. 85, n. 6, p. 37-45, 2010.

WITTER, R.; *et al.* Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) of wild animals in midwestern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 415-423, 2015.

YOSHINARI, N.H.; *et al.* Doença de Lyme-símile brasileira ou Síndrome Baggio-yoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363-369, 2010.

ZIMMERMANN, N. P.; *et al.* Wildlife species, Ixodid fauna and new host records for ticks in an Amazon forest area, Rondônia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 177-182, 2018.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GERAL

Identificar a ectofauna de cães, gatos e cavalos e sua relação com patógenos de importância em saúde única na Microrregião de Garanhuns no Agreste Meridional do Estado de Pernambuco, Brasil.

4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar morfologicamente espécies de carrapatos e pulgas coletadas de cães, gatos e cavalos;

Conhecer a prevalência dos ectoparasitos investigados em cães, gatos e cavalos;

Calcular a intensidade média de infestação dos ectoparasitos investigados em cães, gatos e cavalos;

Caracterizar molecularmente *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. e *Yersinia pestis* nos ectoparasitos coletados de cães, gatos e cavalos;

Discutir aspectos epidemiológicos dos ectoparasitos e patógenos identificados com base na perspectiva de Saúde Única.

5. CAPÍTULO I

Ectoparasites infesting animals living in close contact with human beings: a real trouble for One Health perspective?

[Artigo aceito para publicação no Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia]

Ectoparasites infesting animals living in close contact with human beings: a real trouble for One Health perspective?

ABSTRACT

The number of domestic animals living in close contact with humans is increasing, along with the risk of transmission of ectoparasites and the pathogens they might be carrying. The aim of this study was to assess the occurrence of ectoparasites infesting animals in an area of Northeastern Brazil and discuss the findings based on the One Health approach. From January 2017 to April 2019, arthropods were collected from cats, dogs and horses, and morphologically identified using dichotomous keys. Ectoparasites were removed from 86 infested animals (cat = 8; dog = 22; horses = 56) from urban (n = 37) and rural (n = 49) areas. A total of 401 specimens (344 ticks and 57 fleas) were identified, being 10 (2.49%), 96 (23.94%) and 295 (73.57%) obtained from cats, dogs and horses, respectively. Flea species (*Ctenocephalides canis* and *Ctenocephalides felis*) and tick species (*Amblyomma ovale*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus* s.l.) were detected. This study provides information about ectoparasite fauna infesting domestic animals from Northeastern Brazil. Therefore, considering arthropod species herein reported may be carriers of pathogens of medical and veterinary concern, the human population living in close contact with these animals are at risk of infection by zoonotic pathogens.

Keywords: Tick; Flea; Dog; Cat; Horse.

RESUMO

O número de animais domésticos infestados por ectoparasitos vivendo em estreito contato com seres humanos está aumentando, elevando o risco de infecção pelos patógenos transmitidos por vetores. Objetivou-se avaliar a ocorrência de ectoparasitos infestando animais em uma área do Nordeste do Brasil e discutir o papel desses ectoparasitos com base na perspectiva de Saúde Única. De janeiro de 2017 a abril de 2019, artrópodes foram coletados e

identificados morfologicamente. Oitenta e seis animais (gatos = 8; cães = 22; cavalos = 56) foram infestados por ectoparasitos em áreas urbanas (n = 37) e rurais (n = 49). Foram identificados 401 espécimes (344 carrapatos e 57 pulgas), sendo 10 (2,49%), 96 (23,94%) e 295 (73,57%) obtidos de gatos, cães e cavalos, respectivamente. Diferentes espécies de pulgas (*Ctenocephalides canis* e *Ctenocephalides felis*) e carrapatos (*Amblyomma ovale*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* s.l.) foram identificadas. Este estudo fornece informações sobre a ectofauna de animais domésticos do Nordeste do Brasil. Portanto, considerando que os artrópodes aqui relatados podem veicular patógenos zoonóticos, a população humana que vive em contato com esses animais está exposta ao risco de infecção.

Palavras-chave: Carrapato; Pulga; Cão; Gato; Cavalo.

5.1. INTRODUCTION

Over the last years, the number of domestic animals living in close contact with humans has increased (ESCH; PETERSEN, 2013). Dogs and cats, the most common pet animals, have acquired a great importance in the social dynamic of families throughout the world (KRAUSE-PARELLO, 2012). Similarly, horses have also established a deep relationship with humans, due to their important historic role along the time (DIGARD, 2012). The importance of these animals on the positive aspects of human behaviour is indisputable, however this connection is likewise considered to influence the risk for pathogen transmission between these hosts (ESCH; PETERSEN, 2013). Amongst the pathogens of zoonotic concern, great attention has been undoubtedly paid towards those transmitted by ectoparasites (CHOMEL, 2015; NELSON, 2015; PECHOUS *et al.*, 2016).

Arthropod vectors are represented especially by ticks and fleas, which are haematophagous arthropod vectors especially ticks and fleas feed on a plethora of vertebrates including domestic and wild animals and humans

(MENCKE, 2013; SPONCHIADO *et al.*, 2015). These invertebrates have a wide geographical distribution, and cause relevant sanitary and economic losses (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2016). For instance, in Brazil, at least 71 and 63 species of ticks and fleas respectively have been reported (ZIMMERMANN *et al.*, 2018; LINARDI, 2017). These ectoparasites are considered vectors of more than 24 pathogens of zoonotic concern, including *Borrelia* spp., *Rickettsia* spp. and *Yersinia pestis* (MASSARD; FONSECA, 2004; DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2014; LINARDI, 2017; BOULANGER *et al.*, 2019).

Although the majority of these vector-borne pathogens are supposed to remain confined to rural or wild environments (DEL FIOLE *et al.*, 2010; MORAES-FILHO, 2017), the possibility of transmission to urban areas cannot be ruled out (GONÇALVES *et al.*, 2015; PINTER *et al.*, 2016), since many flea or tick species are well adapted to urban settings (LIMONGI *et al.*, 2013; RIZZOLI *et al.*, 2014; USPENSKY, 2014). Anthropic actions such as animal trading and transport have contributed to the spread of ectoparasites (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012). Nowadays some species are in a so-called urbanization process (BRADLEY; ALTIZER, 2007), with a dramatic impact of the circulation of pathogens (TROTTE *et al.*, 2012). Recently, the One Health approach has debated extensively the control of vector-borne pathogens, and undoubtedly this perspective should be applied, in which animal, human and environmental factors are considered together (CUNNINGHAM *et al.*, 2017). For instance, it has been demonstrated that the presence of dogs seropositive to Lyme disease is a risk factor for the occurrence of the human infection (LIU *et al.*, 2019). Similarly, the presence of dogs and horses exposed to *Rickettsia* spp. favour the occurrence of Spotted Fever (GEHRKE *et al.*, 2009; PACHECO *et al.*, 2011; ANGERAMI *et al.*, 2012). Therefore, considering the epidemiological importance of these invertebrates, the aim of this study was to assess the occurrence of ectoparasites infesting animals living in close contact with humans in an area of Northeastern Brazil and to discuss the potential role of these ectoparasites as vectors on the light of One Health.

5.2. MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in 14 different municipalities of the state of Pernambuco, Northeastern Brazil (Figure 1). The area is featured by high altitude of 842 m above sea level (asl), semi-arid climate with mean annual temperature of 22°C (from 17°C to 30°C), mean rainfall of 147 (from 25 mm to 295 mm) and relative air humidity of 94%.

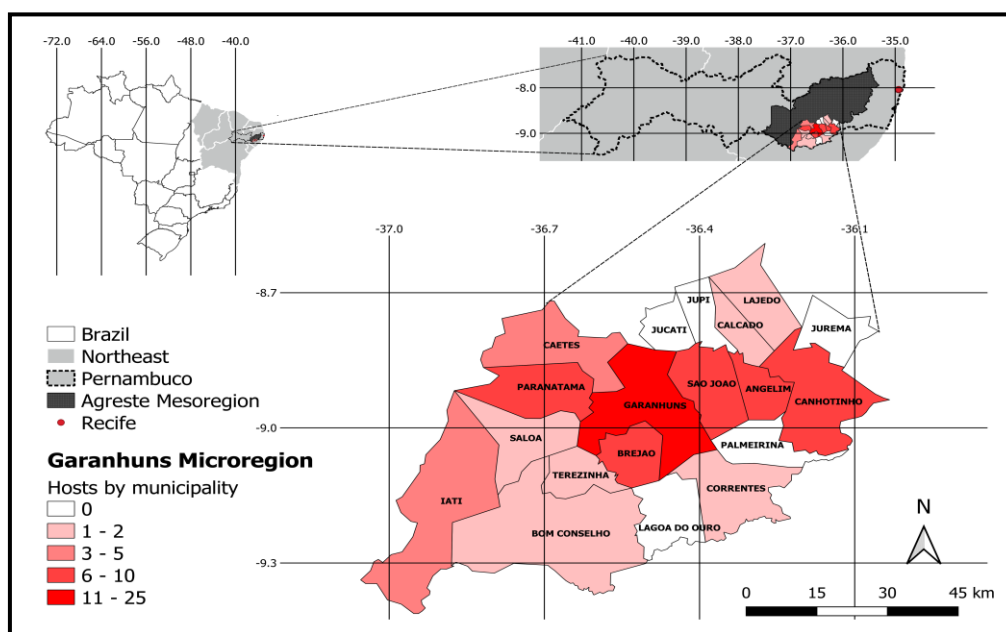


Figure 1 - Study area: Micror region of Garanhuns, state of Pernambuco, Northeastern Brazil.

The Ethics Committee for Animal Experimentation (ECAE) of Universidade Federal Rural de Pernambuco approved all procedures herein performed (license number: 94/2018).

From January 2017 to April 2019, domiciled dogs, domiciled cats and horses were examined for the presence of ectoparasites (i.e., ticks, fleas and/or lice). Animals were selected by convenience irrespective of their gender, age or breed, and data related to these parameters were recorded in individual clinical charts.

Animals were carefully inspected for the presence of arthropods for a period of 5 minutes through the examination of the following body regions: head, ears, breast-neck, thorax, abdomen, fore and back limbs, inter-digital areas, axilla, tail and inguinal area (DANTAS-TORRES *et al.*, 2013). All

specimens detected were collected in plastic tubes containing 70% ethanol for morphological analysis. All ectoparasites were separated according to the gender, stage and were morphologically identified using dichotomous keys (ARAGÃO; FONSECA, 1961; LINARDI; GUIMARÃES, 2000; GUIMARÃES *et al.*, 2001; NAVA *et al.*, 2017).

A descriptive analysis was performed to obtain absolute and relative frequencies. The Friedman test was used to compare the difference between genders of ectoparasites. In addition, the difference of species collected in rural and urban areas were analysed by using the Chi-square (χ^2) test. The significance level was set up at 5%. All analyses were carried out using the statistical software BioEstat version 5.3 (AYRES *et al.*, 2000).

The mean intensity was calculated based on Bush *et al.* (1997). Maps were constructed using the Quantum Geographic Information System (QGIS 3.2 Zanzibar). The optimization Jenks method was used for ordering data, which consist in minimize the variance between classes generating values more suitable and less discrepant (JENKS; CASPALL, 1971).

5.3. RESULTS

Eighty-six animals (cats = 8; dogs = 22; horses = 56) infested by ectoparasites and from urban (n = 37) and rural (n = 49) areas were included in this study (Table 1).

1 **Table 1.** Frequency and mean intensity of infestation by ectoparasite species on animals assessed.

Animal	Cat			Dog			Horse		
Ectoparasite	N	%	Mean Intensity (min. – max.)	N	%	Mean Intensity (min. – max.)	N	%	Mean Intensity (min. – max.)
Fleas									
<i>Ctenocephalides canis</i>	0	0	0	3	13.64	1,66 (1 – 3)	0	0	0
<i>Ctenocephalides felis</i>	8	100	1.25 (1 – 2)	19	86.36	2.21 (1 – 3)	0	0	0
Ticks									
<i>Amblyomma ovale</i>	0	0	0	1	100	1 (1)	0	0	0
<i>Amblyomma sculptum</i>	0	0	0	0	0	0	3	5.36	17.33 (1 – 24)
<i>Dermacentor nitens</i>	0	0	0	0	0	0	50	89.29	4.68 (1 – 9)
<i>Rhipicephalus microplus</i>	0	0	0	0	0	0	3	5.36	3 (2 – 4)
<i>Rhipicephalus sanguineus s.l.</i>	0	0	0	21	95.45	2.28 (1 – 3)	0	0	0

A total of 401 specimens (344 ticks and 57 fleas; $\chi^2 = 206.038$; $p = 0.0000$) were collected, being 10 (2.49%), 96 (23.94%) and 295 (73.57%) obtained from cats, dogs and horses, respectively (Table 2). Cats were parasitized exclusively by fleas, horses by ticks and dogs were co-infested by both ectoparasites.

Table 2. Host, area and ectoparasites (stage and gender) assessed in the study.

Host (N)	Host /Area (N)	Ectoparasites (N)	Nymphs (N)	Male (N)	Female (N)
Cat (8)	Rural (3)	<i>Ctenocephalides felis</i> (3)	0	0	3
	Urban (5)	<i>Ctenocephalides felis</i> (7)	0	2	5
Dog (22)	Rural (6)	<i>Ctenocephalides felis</i> (8)	0	0	8
		<i>Rhipicephalus sanguineus s.l.</i> (31)	3	13	15
	Urban (16)	<i>Ctenocephalides canis</i> (5)	0	5	0
		<i>Ctenocephalides felis</i> (34)	0	9	25
		<i>Amblyomma ovale</i> (1)	0	0	1
		<i>Rhipicephalus sanguineus s.l.</i> (17)	2	3	12
Horse (56)	Rural (40)	<i>Amblyomma sculptum</i> (52)	3	15	34
		<i>Dermacentor nitens</i> (170)	29	27	114
		<i>Rhipicephalus microplus</i> (9)	0	2	7
	Urban (16)	<i>Dermacentor nitens</i> (64)	9	20	35

The majority of fleas collected were females (71.93%) followed by males (28.07%) ($Fr = 3.0000$; $p = 0.0833$), whereas on ticks 63.37% were females and 23.26% males ($Fr = 4.0000$; $p = 0.0455$). Most of ticks collected were adults (86.63%), followed by nymphs (13.37%). Larval stages were not detected. Dogs and cats predominated in urban area while horse in rural zones, fleas predominated in urban areas while ticks in rural zones ($\chi^2 = 56.942$; $p = 0.0000$).

The distribution of ectoparasites and respective hosts according to the municipality is summarized in Fig. 2. The municipalities in colour were sampled for this study.

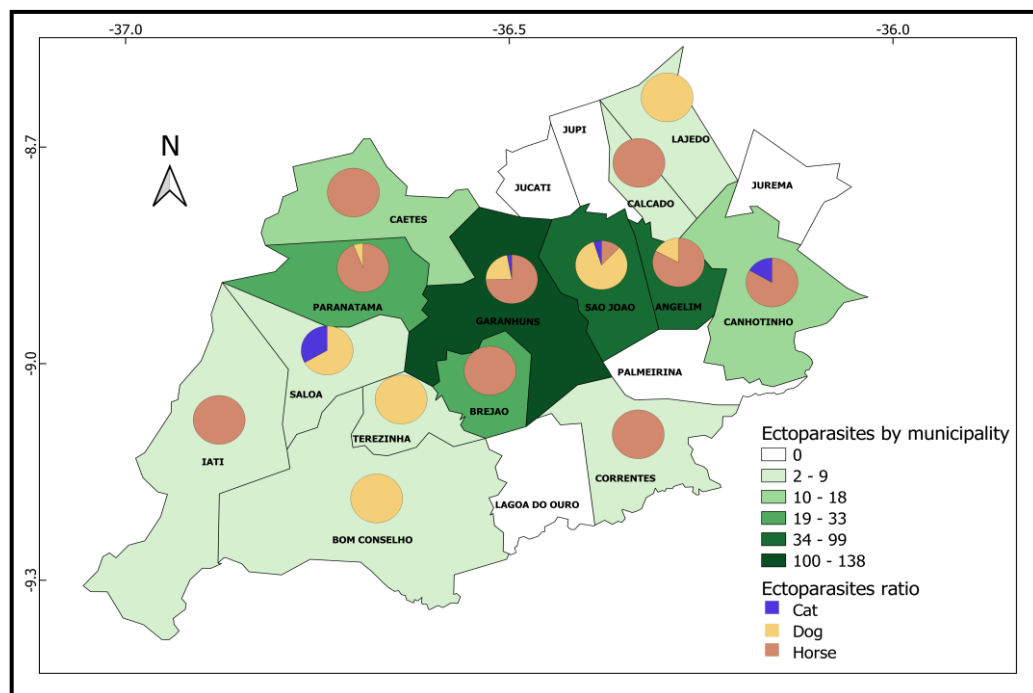


Figure 2 - Distribution of ectoparasites collected from cats, dogs and horses in the study area.

5.4. DISCUSSION

This study demonstrates that seven species (*C. canis*, *C. felis*, *A. ovale*, *A. sculptum*, *D. nitens*, *R. microplus* e *R. sanguineus* s.l.) of ectoparasites infesting dogs, cats and horses living in close contact with humans in a region of Northeastern Brazil.

Most of these ectoparasites were ticks from horses. This is probably due to the fact that ixodids are considered one of the most common ectoparasites affecting animals, and horses may be parasitized by several tick species (HORAK *et al.*, 2017). Similarly, the co-infestation by ticks and fleas in dogs is a common finding, specially in tropical areas that present climatic conditions favourable to their development and survival (KUMSA *et al.*, 2019). The absence of fleas and ticks in horses and cats, respectively, was expected since cats are rarely parasitized by ticks, most likely due to its hygienic behaviour that difficult the attachment and facilitate the removal of these ectoparasites (ECKSTEIN; HART, 2000; DANTAS-TORRES, 2009).

From an epidemiological point of view, the ectoparasites herein reported is a great relevance due to the vectorial role of some species. For instance, horses were more frequently parasitized by *A. sculptum*, the main tick species involved in the epidemiology of Spotted Fever in Brazil (MORAES-FILHO, 2017). Recently,

phylogenetic studies have designated *A. sculptum* as member of the *A. cajennense* species complex, composed of five other species (NAVA *et al.*, 2014). These species are distributed in distinct regions and *A. sculptum* has been considered one of the most widespread in different Brazilian biomes, included the Caatinga biome (MORAES-FILHO, 2017).

Dogs showed the highest variety of ectoparasites (up to four species) among the hosts herein enrolled. The parasitism by *A. ovale* in a dog living in the urban area deserves a special mentioning. It is known that this tick species is common in wild carnivores (LABRUNA *et al.*, 2000) living in fragments of Atlantic Forest (MORAES-FILHO, 2017), thus suggesting that this ixodid species is shared between wild and domestic animals (LABRUNA *et al.*, 2000), favouring the dispersion of pathogens, in particular *Rickettsia parkeri* – Atlantic Forest strain (MORAES-FILHO, 2017). Interestingly, *C. felis* was found more in dogs than in cats. It is known that this species has been observed in dogs (LINARDI; SANTOS, 2012) and frequently overcomes the presence of *C. canis* in these animals (SLAPETA *et al.*, 2011). Most likely, the great ability of adaptation to different environmental conditions has been the key factor for the success of *C. felis* compared to other species (SLAPETA *et al.*, 2011). In general, dogs were more exposed than cats to ectoparasites, most likely the features of fur and the poor hygienic behaviour presented by canids provide suitable conditions for the infestation and establishment of ectoparasites (CAÑÓN-FRANCO; PÉREZ-BEDOYA, 2010).

Data obtained in this study are pivotal to better understand the potential risk that humans living in close contact with jeopardized animals. Some species herein reported are accounted as important vector of pathogens. For instance, *C. felis* has been important in the life cycle and transmission of the *Rickettsia typhi* and *Rickettsia felis* (PENICHE-LARA *et al.*, 2015), whereas *A. sculptum* is the most important vector of *R. rickettsii* to humans (SZABÓ *et al.*, 2013; LABRUNA *et al.*, 2017).

It is important to highlight that *A. ovale* is the main tick involved in transmission *R. parkeri* strain Atlantic rainforest (SZABÓ *et al.*, 2013; KRAWCZAK; LABRUNA, 2018), and although until now in Brazil the role *R. sanguineus* as vector of *R. rickettsii* has not been elucidated, this tick species is a competent vector for this bacteria in Mexico and United States (OWEN *et al.*, 2019).

5.5. CONCLUSION

In conclusion, this study provides important information on the ectoparasites infesting domestic animals; therefore the vector role of these species as carriers of pathogens of medical and veterinary concern should be investigated. In addition, preventive measures should be employed on the light of One Health to reduce the threat of emerging and re-emerging pathogens.

5.6. ACKNOWLEDGEMENTS

This article is based on the Master dissertation (Postgraduate Program in Animal Bioscience) developed at the Federal Rural University of Pernambuco, with support from a fellowship from Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE).

This study also integrates the universal project (420184/2016-3) entitled “Diversity of Ixodids and Sifonapteros in company animals and its relationship with pathogens of importance in Public Health in the northeast region of Brazil”, financed by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

5.7. REFERENCES

ANGERAMI, R.N.; *et al.* Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. **Tick and Tick-borne Diseases**, v.3, n.5-6, p.346-348, 2012.

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. VII. Lista e Chave Para os Representantes da Fauna Ixodológica Brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.59, p.115-130, 1961.

AYRES, M.; AYRES, J.; SANTOS, A.S. **Bioestat 2.0: aplicações estatísticas nas áreas de ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil Mamirauá, Amazonas, 2000. 259p.

BOULANGER, N.; BOYER, P.; TALAGRAND-REBOUL, E.; HANSMANN, Y. Ticks and tick-borne diseases: Tiques et maladies vectorielles à tiques. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v.49, n.2, p.87-97, 2019.

BRADLEY, C.A.; ALTIZER, S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. **Trends in Ecology & Evolution**, v.22, n.2, p.95-102, 2007.

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

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; PÉREZ-BEDOYA, J.L. Siphonaptera (Pulicidae) in dogs and cats of Colombia: Clinical and epidemiological aspects. **Veterinary Parasitology**, v.173, p.353-357, 2010.

CHOMEL, B. Lyme disease. **Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)**, v.34, n.2, p.569-576, 2015.

CUNNINGHAM, A.A.; DASZAK, P.; WOOD, J.L.N. One Health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, n.372, 2017.

DANTAS-TORRES, F. Ticks on domestic animals in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.3, p.22-28, 2009.

DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a one health perspective. **Trends in Parasitology**, v.28, p.437-446, 2012.

DANTAS-TORRES, F.; *et al.* Efficacy of an imidacloprid/flumethrin collar against fleas, ticks and tick-borne pathogens in dogs. **Parasites & Vectors**, v.6, n.245, p.1-8, 2013.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. **Parasites & Vectors**, v.7, p.1-25, 2014.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Best practices for preventing vector-borne diseases in dogs and Humans. **Trends in Parasitology**, v.32, p.43-55, 2016.

DEL FIOLE, F.S.; *et al.* A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.27, n.6, p.461-486, 2010.

DIGARD, J-P. Domestic biodiversity, a little-known aspect of animal biodiversity. **Anuário Antropológico**, v.2, p.205-223, 2012.

ECKSTEIN, R.A.; HART, B.L. Grooming and control of fleas in cats. **Applied Animal Behaviour Science**, v.68, p.141-150, 2000.

ESCH, K.J.; PETERSEN, C.A. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, n.1, p.58-85, 2013.

GEHRKE, F.S.; *et al.* *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio de Janeiro / Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v.15, n.2, p.267-268, 2009.

GONÇALVES, D.D.; *et al.* First record of *Borrelia burgdorferi sensu lato* antibodies in stray dogs in the Northwest Region of Parana State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.4, p.2641-2648, 2015.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, C.E.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. Plêide/FAPESP, São Paulo, 2001. 218p.

HORAK, I.G.; *et al.* Parasites of domestic and wild animals in South Africa. L. Ixodid ticks infesting horses and donkeys. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, v.84, p.1-6, 2017.

JENKS, G.F.; CASPALL, F.C. Error on choroplethic maps: Definition, measurement, reduction. **Annals of the Association of American Geographers**, v.61, p.217-244, 1971.

KRAUSE-PARELLO, C.A. Pet ownership and older women: the relationships among loneliness, pet attachment support, human social support, and depressed mood. **Geriatric Nursing**, v.33, n.3, p.194-203, 2012.

KRAWCZAK, S.F.; LABRUNA, M.B. The rice rat *Euryoryzomys russatus*, a competent amplifying host of *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest for the tick *Amblyomma ovale*. **Tick and Tick-borne Diseases**, v.9, p.1133-1136, 2018.

KUMSA, B.; ABIY, Y.; ABUNNA, F. Ectoparasites infesting dogs and cats in Bishoftu, central Oromia, Ethiopia. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.15, n.100263, p.1-6, 2019.

LABRUNA, M.B.; HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; NETO, J.S.F. Ticks (Acari:Ixodidae) associated with rural dogs in Uruará, Eastern Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.37, p.774-776, 2000.

LABRUNA, M.B.; *et al.* Isolation of *Rickettsia rickettsii* from the tick *Amblyomma sculptum* from a Brazilian spotted fever-endemic area in the Pampulha Lake region, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.8, p.82-85, 2017.

LIMONGI, J.E.; SILVA, J.J.; PAULA, M.B.C.; MENTES, J. Aspectos epidemiológicos das infestações por sifonápteros na área urbana do município de Uberlândia, Minas Gerais, 2007-2010. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.22, n.2, p.285-294, 2013.

LINARDI, M.P.; GUIMARÃES, L.R. **Sifonápteros do Brasil**. Museu de Zoologia, São Paulo, 2000. 291p.

LINARDI, P.M.; SANTOS, J.L.C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.4, p.345-354, 2012.

LINARDI, P.M. Checklist dos Sifonápteros (Insecta) do Estado do Mato Grosso, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v.107, p.e2017148, 2017.

LIU, Y.; *et al.* Quantifying the relationship between human Lyme disease and *Borrelia burgdorferi* exposure in domestic dogs. **Geospatial Health**, v.14, p.111-120, 2019.

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

MENCKE, N. Future challenges for parasitology: vector control and 'One health' in Europe: the veterinary medicinal view on CVBDs such as tick borreliosis, rickettsiosis and canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.195, p.256-271, 2013.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.15, p.38-45, 2017.

NAVA, S.; *et al.* 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). **Tick and Tick-borne Diseases**, v.5, n.3, p.252-276, 2014.

NAVA, S.; *et al.* **Ticks of the southern cone of America**. Diagnosis, Distribution, and Hosts with taxonomy, ecology and sanitary importance. Academic Press, Cambridge, 2017. 372p.

NELSON, R. Rocky Mountain spotted fever in Native Americans. **Lancet Infectious Diseases**, v.15, p.1013-1014, 2015.

OWEN, H.; *et al.* Variation in the Geographic Distribution and Rickettsial Infection Rates of *Rhipicephalus sanguineus* Contributes to the Spread of RMSF in Arizona and Mexico. **The FASEB Journal**, v.33, n.662.48, 2019.

PACHECO, R.R.; *et al.* Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Journal of Medical Entomology**, v.25, n.2, p.148-155, 2011.

PECHOUS, R.; SIVARAMAN, V.; STASULLI, N.M.; GOLDMAN, W. "Pneumonic plague: the darker side of *Yersinia pestis*". **Trends in Microbiology**, v.24, n.3, p.190-197, 2016.

PENICHE-LARA, G.; DZUL-ROSADO, K.; PÉREZ-OSORIO, C.Y.; ZAVALA-CASTRO, J. *Rickettsia typhi* in rodents and *R. felis* in fleas in Yucatán as a possible causal agent of undefined febrile cases. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.57, p.129-132, 2015.

PINTER, A. *et al.* A febre maculosa brasileira na região metropolitana de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA)**, v.13, n.151, p.3-47, 2016.

RIZZOLI, A.; *et al.* *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: new hazards and relevance for public health. **Frontiers in Public Health**, v.2, n.251, p.1-26, 2014.

SLAPETA, J.; *et al.* The cat flea (*Ctenocephalides f. felis*) is the dominant flea on domestic dogs and cats in Australian veterinary practices. **Veterinary Parasitology**, v.180, n.3-4, p.383-388, 2011.

SPONCHIADO, J.; *et al.* Interaction of ectoparasites (Mesostigmata, Phthiraptera and Siphonaptera) with small mammals in Cerrado fragments, western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.66, p.369-381, 2015.

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

TROTTA, M.; *et al.* Detection of *Leishmania infantum*, *Babesia canis*, and rickettsiae in ticks removed from dogs living in Italy. **Tick and Tick-borne Diseases**, v.6, n.5-6, p.294-297, 2012.

USPENSKY, I. Tick pests and vectors (Acari: Ixodoidea) in European towns: introduction, persistence and management. **Tick and Tick-borne Diseases**, v.5, p.41-47, 2014.

ZIMMERMANN, N.P.; *et al.* Wildlife species, Ixodid fauna and new host records for ticks in an Amazon forest area, Rondônia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.27, n.2, p.177-182, 2018.

6. CAPÍTULO II

Detection of *Rickettsia felis* in ectoparasites collected from domestic animals

[Artigo publicado na revista Experimental and Applied Acarology]

Detection of *Rickettsia felis* in ectoparasites collected from domestic animals

ABSTRACT

Ticks and fleas are arthropods widely distributed around the world involved in the transmission of various vector-borne diseases (VBDs), including Brazilian Spotted Fever (BSF), Baggio-Yoshinari Syndrome and the plague, with outstanding consequences for the public health. The aim of this study was to investigate the presence of *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. and *Yersinia pestis* in arthropods collected from dogs, cats and horses living in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. From January 2017 to April 2019, ectoparasites were collected, morphologically identified and molecularly analysed through PCR and sequencing. In total 401 specimens were collected from 86 animals, being 68% (n = 273) and 32% (n = 128) from rural and urban areas, respectively. The most commonly detected species were the ticks *Dermacentor nitens*, *Amblyomma sculptum*, *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, *Rhipicephalus microplus*, and *Amblyomma ovale*, and the fleas *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis*. DNA of *Rickettsia felis* was detected in *D. nitens* collected from horses, and *C. felis*, and *R. sanguineus* s.l. collected from dogs. All samples scored negative for *Borrelia* spp. and *Y. pestis* DNA. This study provides valuable data on ectoparasite fauna from domestic animals and identifies the circulation of a zoonotic pathogen (i.e., *R. felis*) in the population of the arthropods assessed. Therefore, preventive measures should be adopted in order to reduce the risk of occurrence of neglected VBD caused by this pathogen in animal and human hosts.

Keywords: *Rickettsia felis*; Vector-borne pathogens; Fleas; Ticks.

RESUMO

Carrapatos e pulgas são artrópodes amplamente distribuídos pelo mundo e envolvidos no ciclo de diversas doenças transmitidas por vetores, incluindo a Febre Maculosa Brasileira (FMB), a síndrome de Baggio-Yoshinari e a peste, com consequências marcantes para a saúde pública. O objetivo deste estudo foi investigar a presença de *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. e *Yersinia pestis* em artrópodes coletados de cães, gatos e cavalos oriundos no estado de Pernambuco,

Nordeste do Brasil. De janeiro de 2017 a abril de 2019, ectoparasitas foram coletados, identificados morfológicamente e analisados molecularmente por PCR e sequenciamento. No total, 401 espécimes foram coletados de 86 animais, sendo 68% (n = 273) e 32% (n = 128) das áreas rural e urbana, respectivamente. As espécies mais comumente detectadas foram os carrapatos *Dermacentor nitens*, *Amblyomma sculptum*, *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, *Rhipicephalus microplus* e *Amblyomma ovale*, e as pulgas *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis*. DNA de *Rickettsia felis* foi detectado em *D. nitens* coletados de cavalos, e *C. felis* e *R. sanguineus s.l.* coletado de cães. Todas as amostras tiveram resultados negativos para DNA de *Borrelia* spp. e *Y. pestis*. Este estudo fornece dados valiosos sobre a fauna de ectoparasitas de animais domésticos e identifica a circulação de um patógeno zoonótico emergente (ou seja, *R. felis*) na população dos artrópodes avaliados. Portanto, medidas preventivas devem ser adotadas a fim de reduzir o risco de ocorrência desses patógenos transmitidos por vetores negligenciados em hospedeiros animais e humanos.

Palavras-chave: *Rickettsia felis*; Patógenos transmitidos por vetores; Pulgas; Carrapatos.

6.1. INTRODUCTION

Nowadays, the majority of emerging and re-emerging diseases affecting humans are originating from zoonotic pathogens (ZANELA, 2016) transmitted by vectors (e.g., mosquitoes, ticks and fleas) (EWALD, 1983). In fact, the involvement of blood-sucking vectors in ancient epidemics, as that caused by plague, has been speculated for a long time (SIMOND, 1898) and currently the development of molecular techniques has opened a new chapter on the study of these diseases, revealing unprecedented information on the interaction between host, vector and parasite at the molecular level.

In Brazil the role of ticks as vectors of pathogens such as *Rickettsia* spp. (MORAES-FILHO, 2017; AGUIRRE *et al.*, 2018) and the role of fleas as vectors of *Yersinia pestis* (LINARDI; GUIMARÃES, 2000; LINARDI, 2017) is well documented. Accordingly, zoonoses such as the Brazilian Spotted Fever (BSF) and plague have acquired a great importance over time. BSF is a disease of public health concern

caused by *Rickettsia rickettsi* and transmitted mainly by *Amblyomma* ticks (SZABÓ, *et al.*, 2013; MORAES-FILHO, 2017). Clinically, this parasitic condition is characterized by fever, joint pain and general vasculitis (DEL FIOLE *et al.*, 2010). In recent years, several cases have been reported, especially from the Southeast and South regions of the country (OLIVEIRA *et al.*, 2016). At the same time, there is speculation that the prevalence of the infection in the Northeastern region is underestimated, the first fatal case having been documented only in 2016 (OLIVEIRA *et al.*, 2018). It is important to highlight the current importance of *Rickettsia felis*, which has been considered an emerging rickettsial pathogen and whose distribution overlaps the occurrence area of *Ctenocephalides felis* fleas (BROWN; MACALUSO, 2016). The spreading of this pathogen represents a threat to the human population due to the lack of host specificity for the cat flea (PÉREZ-OSORIO *et al.*, 2008).

On the other hand, the plague caused by *Y. pestis* is responsible for a severe, acute and progressing febrile illness, with significant mortality rates and clinically characterized by three clinical conditions (bubonic, pneumonic and septicemic diseases) (BRASIL, 2008). It is important to note that in some Brazilian regions this disease is still a threat (CDC, 2019) due to the existence of two natural foci – Foco do Nordeste and Foco da Serra dos Órgãos – located in areas with specific ecological and geographical conditions (BRASIL, 2017). Although the last human case in Brazil occurred in 2005 (TAVARES *et al.*, 2012), the rich fauna of rodents and fleas allow the circulation of *Y. pestis* in these foci.

Another important disease is caused by spirochetes within the *Borrelia burgdorferi* complex, which are primarily transmitted by ticks of the genus *Ixodes*. In Brazil, this disease is known as the Baggio-Yoshinari Syndrome (BYS) and the main clinical sign observed in patients is the *Erythema migrans*, often associated with arthritis (YOSHINARI *et al.*, 2010; PRITT *et al.*, 2016). Until now, only few cases have been notified (YOSHINARI *et al.*, 2007; CARRANZA-TAMAYO *et al.*, 2012; ROSA NETO *et al.*, 2014), and although the clinical suspect exists since 1987 (TALHARI *et al.*, 1987) the isolation of the *Borrelia* species was only achieved in 2010 (TALHARI *et al.*, 2010; SANTOS *et al.*, 2011).

Recently, global warming has facilitated and increased contact between humans and vectors in part due to the spreading of these arthropods or their growing abundance in endemic areas (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2012). As a matter of fact, the risk of infection by vector-borne pathogens has increased worldwide (OGDEN;

LINDSAY, 2016; SEMENZA; SUK, 2018; SONENSHINE, 2018; PETERSEN *et al.*, 2019) and (re) emerging infections such as BSF, BYS and plague are still a real threat. Therefore, the aim of this study was to investigate the presence of *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. and *Y. pestis* in ectoparasites collected from dogs, cats and horses living in the state of Pernambuco, Northeastern Brazil.

6.2. MATERIAL AND METHODS

6.2.1. *Study area and ethical aspects*

This study was conducted in various municipalities (Figure 1) of the state of Pernambuco, Northeastern Brazil. The region is situated at a mean altitude of 842 m above sea level, with a semi-arid climate and an annual temperature mean of 22 °C (ranging from 17 to 30 °C), rainfall mean of 147 mm (ranging from 25 to 295 mm) and a relative air humidity of about 90%. It is an ecological area defined as high altitude swamp which is characterized by an oasis of humid vegetation surrounding the Caatinga. Therefore, it presents favorable natural conditions for the establishment and development of vector populations (RODRIGUES *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2014). In addition, it is inserted in a natural foci (i.e., Foco do Nordeste) of risk for the occurrence of plague.

The Ethics Committee for Animal Experimentation of the 'Universidade Federal Rural de Pernambuco' approved all procedures herein performed (approval number: 94/2018).

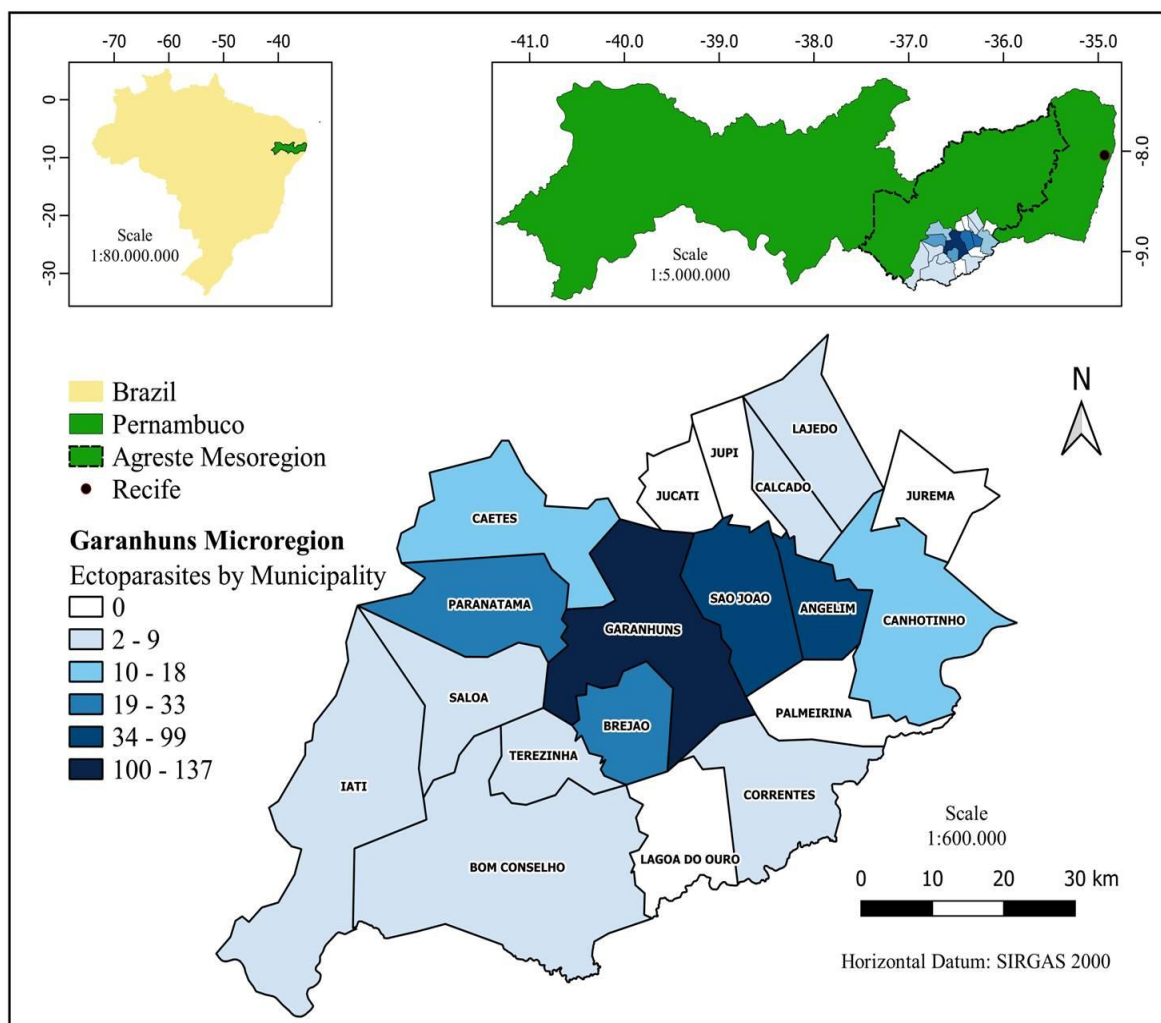


Figure 1 - Study area – Micror region of Garanhuns, state of Pernambuco, Northeastern Brazil.

6.2.2. Sampling and morphological identification

From January 2017 to April 2019 ectoparasites were collected from dogs, cats and horses living in urban and rural zones. Samples obtained in urban areas were from domiciled animals living inside the urban perimeters of each municipality. Conversely, those obtained in rural areas were from farms of bovine milk production, which is one of the most important economical activities of the region. Animals were selected by convenience irrespective of their sex, age or breed.

Each animal was physically examined for a period of 5 min. The presence of arthropods was assessed through the examination of the following body regions: head, ears, breast-neck, thorax, abdomen, fore and back limbs, inter-digital areas (dogs and cats), axilla, tail and inguinal area. Ectoparasites were removed with the aid of tweezers, washed in saline solution (0.9% NaCl) and placed in plastic vials

containing 70% ethanol until laboratory analysis. Specimens were quantified, separated according to life stage/sex, and then identified morphologically by using dichotomous keys (LINARDI; GUIMARÃES, 2000; ARAGÃO; FONSECA, 1961; GUIMARÃES *et al.*, 2001; BARKER; MURRELL, 2004). All animals sampled did not use ectoparasiticide compounds over the previous 4 months before sampling.

Pools (n = 131) containing 1-3 individuals were prepared and kept at -20 °C until molecular analysis. The segregation of pools was based on the species and life stage of ectoparasites. In addition, each pool included samples merely from a single animal.

6.2.3. DNA extraction, PCR amplification and Sequencing

Genomic DNA was extracted from pools using a protocol previously described (RAMOS *et al.*, 2015).

Each pool was tested for DNA detection of *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. and *Y. pestis* using the primers reported in Table 1. All reactions included positive and negative controls.

Amplified products were revealed through electrophoresis using 1.5% agarose gel, stained with GelRed (Biotium) and viewed under an UV transillumination. Amplicons were purified using ExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific), according to manufacturer's instructions, and sequenced in both directions by the Sanger method (SANGER *et al.*, 1977) using an automatic sequencer ABI 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems). The DNA sequences identity was defined through comparison with others from the GenBank using the BLASTn search tool (ALTSCHUL *et al.*, 1990).

Table 1. Primers used for amplifying selected tick-borne pathogens.

Pathogens	Target gene	Primer / Sequence (5'-3')	Product size	Reference
<i>Rickettsia</i> spp.	gltA	CS-78 (GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT) CS-323 (GCTTCCTTAAATTCATAAATCAGGAT)	401 (pb)	Labruna <i>et al.</i> (2004)
<i>Borrelia</i> spp.	flagE	flgE 262 (TCCTCCGGGATTCATACAAG) flgE 262 (TGGGTGCAAATGTAGGTGAA)	262 (pb)	Rezende <i>et al.</i> (2016)
<i>Yersinia pestis</i>	Pla	Yp1 (ATCTTACTTTCCGTGAGAA) Yp2 (CTTGGATGTTGAGCTTCCTA)	478 (pb)	Hinnebusch and Schwan (1993)

6.2.4. Data analysis

A descriptive analysis was performed to obtain absolute and relative frequencies. In addition, the difference of species collected in rural and urban areas were analysed by using the Chi-square (χ^2) test ($\alpha = 0.05$). All analyses were carried out using the statistical software BioEstat version 5.3 (AYRES *et al.*, 2007).

6.3. RESULTS

In total 401 ectoparasites (male = 96; female = 259; and nymphs = 46) were collected from 86 animals (cats = 8; dogs = 22; horses = 56) during the whole study period (Table 2), 68% (n = 273) from rural areas and 32% (n = 128) from urban areas. In particular, fleas predominated in urban areas whereas ticks were more common in rural zones ($\chi^2 = 56.94$, $p < 0.0001$).

Two flea species (*Ctenocephalides canis* and *C. felis*) and five tick species (*Amblyomma ovale*, *A. sculptum*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus microplus* and *R. sanguineus sensu lato*) were identified. Table 2 summarizes the results of molecular examination according to the arthropod species. Out of all positive samples only (*D. nitens* from a horse) was collected from an animal from a rural area. All scored negative for *Borrelia* spp. and *Y. pestis* DNA.

The sequences derived from the amplicons obtained in PCR for *Rickettsia* spp. showed identity > 99% with *R. felis* sequences available in the GenBank. The DNA sequences obtained in the present study were deposited in the GenBank under the access numbers shown in Table 2.

Table 2. Ectoparasites (numbers) collected from domestic animals and positivity for pathogen tested.

Host / Ectoparasite	Nº	Stage and sex			Area		Positive pools / Tested pools	<i>Rickettsia</i> (n)	Genbank accession numbers
		Nymphs (n)	Male (n)	Female (n)	Rural (n)	Urban (n)			
Cat									
<i>C. felis</i>	10	0	2	8	3	7	0 / 9	0	-
Dog									
<i>C. canis</i>	5	0	5	0	0	5	0 / 3	0	-
<i>C. felis</i>	42	0	9	33	8	34	4 / 18	4	MN726355, MN726356, MN726357, MN726358
<i>A. ovale</i>	1	0	0	1	0	1	0 / 1	0	-
<i>R. sanguineus s.l.</i>	48	5	16	27	31	17	1 / 31	1	MN726359
Horse									
<i>A. sculptum</i>	52	3	15	34	52	0	0 / 7	0	-
<i>D. nitens</i>	234	38	47	149	170	64	1 / 57	1	MN726354
<i>R. (B) microplus</i>	9	0	2	7	9	0	0 / 5	0	-
Total	401	46	96	259	273	128	6 / 131	6	

6.4. DISCUSSION

This study confirms the presence of *R. felis* in ectoparasites collected from dogs and horses in the study area. All species of ticks and feas reported in this study have already been described as infesting cats, dogs and horses in tropical regions (EHLERS *et al.*, 2019). The climatic conditions observed in these areas favour the establishment of these arthropods in vertebrate hosts (KUMSA *et al.*, 2019).

Most of the ectoparasites collected were ticks from horses, including *A. sculptum*, which is the vector of *R. rickettsii*, the etiological agent of BSF (MORAES-FILHO, 2017). *Amblyomma ovale* was collected from a dog living in an urban area. This tick species is frequently reported in wild carnivores, occasionally sharing the same environment with domestic dogs (LABRUNA *et al.*, 2000). It has already been demonstrated that the proximity among animals, ectoparasites and humans may be considered a risk due to the possibility of sharing pathogens with each other (ESCH; PETERSEN, 2013).

The presence of *R. felis* in *C. felis* and *R. sanguineus s.l.* collected from dogs, and in *D. nitens* collected from horses is important due to the possibility of transmission to vertebrate hosts, including human beings (PACHECO *et al.*, 2011; ANGERAMI *et al.*, 2012). The detection of *R. felis* DNA in these invertebrates does not confirm the vector role of these arthropods, but it indicates the circulation of this pathogen in the area of study. It is known that *C. felis* is recognized as the most relevant vector of *R. felis* due to its ability to infect progeny by transovarian transmission (AZAD *et al.*, 1992).

The absence of *R. rickettsii* was an interesting finding. Although a fatal case of BSF has already been reported in Northeastern Brazil (OLIVEIRA *et al.*, 2018), this kind of infection in vertebrate hosts and arthropods in this area has been poorly investigated and data are scarce. Also, the presence of *R. felis* does not exclude the possibility of detection of other rickettsial organisms, rather it may suggest the predominance of this pathogen in invertebrates in the study area.

From an epidemiological perspective, the detection of this emerging vector-borne pathogen in urban areas is interesting and follows a similar trend reported in other regions of the world (RAOULT *et al.*, 2001). The disease in humans is called fea-born spotted fever and the symptoms of infection range from non-specific flu-like

illness to severe multisystemic disease with generalized vasculitis (TEOH *et al.*, 2016).

In Brazil, these clinical signs are also observed in diseases caused by other rickettsial organisms (murine typhus and Q fever) and dengue, which makes diagnosis difficult (OLIVEIRA *et al.*, 2002). This suggests that infections caused by *R. felis* are underestimated, therefore their real impact on public health remains unknown. Unfortunately, in this study animals were not investigated for detection or exposure to these pathogens. To have information about the real condition of animals it would be important to corroborate our findings.

The non detection of *Y. pestis* and *Borrelia* spp. DNA does not confirm the absence of both pathogens in this area, but indicates that these invertebrates most likely have not established contact with vertebrate hosts involved in the epidemiological cycle of these organisms.

In conclusion, the data herein reported indicates the circulation of a zoonotic pathogen (i.e., *R. felis*) in the population of arthropods assessed. Therefore, preventive measures should be adopted in order to reduce the risk of occurrence of neglected vector-borne disease caused by this pathogen in animal and human hosts.

6.5. ACKNOWLEDGEMENTS

This article is based on the Master dissertation (Postgraduate Program in Animal Bioscience) developed at the Federal Rural University of Pernambuco, supported by a grant from the Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE). This work integrates the universal project (420184/2016-3) entitled "Diversity of Ixodids and Sifonaptera in companion animals and its relationship with pathogens of importance in Public Health in the northeast region of Brazil", funding by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ).

6.6. REFERENCES

AGUIRRE, A.A.R.; *et al.* New records of tick-associated spotted fever group Rickettsia in an Amazon-Savannah ecotone, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.9, n.4, p.1038-1044, 2018.

ALTSCHUL, S.F.; *et al.* Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v.215, n.3, p.403-410, 1990.

ANGERAMI, R.N.; *et al.* Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.3, n.5-6, p.346-348, 2012.

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de ixodologia: VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira: notas de ixodologia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.59, n.2, p.115-129, 1961.

AYRES, M.; *et al.* **BioEstat: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Ong Mamiraua: Belém, PA, 2007.

AZAD, A.F.; *et al.* Genetic characterization and transovarial transmission of a typhus-like rickettsia found in cat fleas. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.89, n.1, p.43-46, 1992.

BARKER, S.C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, v.129, n.S1, p.S15, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da peste** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume 3 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 1ª. ed. atual. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BROWN, L.D.; MACALUSO, K.R. *Rickettsia felis*, an emerging flea-borne rickettsiosis. **Current Tropical Medicine Reports**, v.3, n.2, p.27-39, 2016.

CARRANZA-TAMAYO, C.O.; DA COSTA, J.N.G.; BASTOS, W.M. Lyme disease in the state of Tocantins, Brazil: report of the first cases. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.16, n.6, p.586-589, 2012.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention (2019). **Plague worldwide – plague cases by Country 2010–2015**. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/plague/maps/index.html> > Acessado em: 20 de Abril de 2020.

DEL FIOLE, F.S.; *et al.* A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 461-486, 2010.

EHLERS, J.; *et al.* Ectoparasites of endemic and domestic animals in southwest Madagascar. **Acta tropica**, v.196, p.83-92, 2019.

ESCH, K.J.; PETERSEN, C.A. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, n.1, p.58-85, 2013.

ESTRADA-PEÑA, A.; AYLLÓN, N.; DE LA FUENTE, J. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. **Frontiers in Physiology**, v.3, p.64, 2012.

EWALD, P.W. Host-parasite relations, vectors, and the evolution of disease severity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v.14, n.1, p.465-485, 1983.

GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, C.E.; BARROS-BATTESTI, D.M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. Plêide/FAPESP, São Paulo, 2001. 218p.

HINNEBUSCH, J.; SCHWAN, T.G. New method for plague surveillance using polymerase chain reaction to detect *Yersinia pestis* in fleas. **Journal of Clinical Microbiology**, v.31, n.6, p.1511-1514, 1993.

KUMSA, B.; ABIY, Y.; ABUNNA, F. Ectoparasites infesting dogs and cats in Bishoftu, central Oromia, Ethiopia. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v.15, p.100263, 2019.

LABRUNA, M.B.; HOMEM, V.S.F.; HEINEMANN, M.B.; NETO, J.S.F. Ticks (Acari:Ixodidae) associated with rural dogs in Uruará, Eastern Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.37, p.774-776, 2000.

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

LINARDI, M.P.; GUIMARÃES, L.R. **Sifonápteros do Brasil**. Museu de Zoologia, São Paulo, 291 p., 2000.

LINARDI, P.M. Checklist dos Sifonápteros (Insecta) do Estado do Mato Grosso, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, v.107, s. e2017148, p.1-6, 2017.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v.15, p.38-45, 2017.

OGDEN, N.H.; LINDSAY, L.R. Effects of climate and climate change on vectors and vector-borne diseases: ticks are different. **Trends in parasitology**, v.32, n.8, p.646-656, 2016.

OLIVEIRA, R.P.; *et al.* *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.3, p.317, 2002.

OLIVEIRA, S.V.; *et al.* Vigilância de ambientes da febre maculosa: explorando as áreas silenciosas do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.7, n.3, p.65-72, 2016.

OLIVEIRA, S.V.; *et al.* Fatal case of spotted fever in a patient from Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.60, p.1-4, 2018.

PACHECO, R.R.; *et al.* Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Journal of Medical Entomology**, v.25, n.2, p.148-155, 2011.

PÉREZ-OSORIO, C.E.; *et al.* *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.7, p.1019, 2008.

PETERSEN, L.R.; BEARD, C.B.; VISSER, S.N. Combatting the increasing threat of vector-borne disease in the United States with a national vector-borne disease prevention and control system. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.100, n.2, p.242-245, 2019.

PRITT, B.S.; *et al.* Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia: a descriptive study. **The Lancet Infectious Diseases**, v.16, n.5, p.556-564, 2016.

RAMOS, R.A.N.; *et al.* Occurrence of *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Southern Italy. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.6, n.3, p.234-236, 2015.

RAOULT, D.; *et al.* A flea-associated *Rickettsia* pathogenic for humans. **Emerging Infectious Diseases**, v.7, n.1, p.73, 2001.

REZENDE, J.; *et al.* Detection of *Borrelia burgdorferi sensu lato* in Mato Grosso do Sul, Brazil. **JSM Tropical Medicine and Research**, v.1, n.1, p.1, 2016.

RODRIGUES, P.C.G.; *et al.* Ecologia dos Brejos de Altitude do agreste pernambucano. **Revista de Geografia**, v.25, n.3, p.20-34, 2008.

ROSA NETO, N.S.; GAUDITANO, G.; YOSHINARI, N.H. Chronic lymphomonocytic meningoencephalitis, oligoarthritis and erythema nodosum: report of Baggio-Yoshinari syndrome of long and relapsing evolution. **Revista Brasileira de Reumatologia (English Edition)**, v.54, n.2, p.148-151, 2014.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.74, n.12, p.5463-5467, 1977.

SANTOS, M.; *et al.* Presence of *Borrelia burgdorferi* “*Sensu Lato*” in patients with morphea from the Amazonic region in Brazil. **International Journal of Dermatology**, v.50, n.11, p.1373-1378, 2011.

SANTOS, L.S.; BARROS SILVA, H.P.; PEREIRA, E.C.G. Cerrado em área disjunta em brejo de altitude no Agreste pernambucano. **Boletim Goiano de Geografia**, v.34, n.2, p.337-353, 2014.

SEMENZA, J.C.; MENNE, B. Climate change and infectious diseases in Europe. **The Lancet Infectious Diseases**, v.9, n.6, p.365-375, 2009.

SIMOND, P.L. La propagation de la peste. **Annales de l'Institut Pasteur**, v.10, p.626-687, 1898.

SONENSHINE, D.E. Range expansion of tick disease vectors in North America: implications for spread of tick-borne disease. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v.15, n.3, p. 478, 2018.

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

TALHARI, S.; *et al.* Eritema crônico migrans / Doença de Lyme – Estudo de três casos. **XLII Congresso Brasileiro de Dermatologia**, 1987.

TALHARI, S.; *et al.* *Borrelia burgdorferi* “sensu lato” in Brazil: Occurrence confirmed by immunohistochemistry and focus floating microscopy. **Acta Tropica**, v. 115, p. 200-204, 2010.

TAVARES, C.; *et al.* Plague in Brazil: from now and then. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 954, p. 69-77, 2012.

TEOH, Y.T.; *et al.* Evidence of exposure to *Rickettsia felis* in Australian patients. **One Health**, v.2, p.95-98, 2016.

YOSHINARI, N.; *et al.* Lyme disease like syndrome associated lymphocytoma: first case report in Brazil. **Clinics**, v.62, n.4, p.525-526, 2007.

YOSHINARI, N.H.; *et al.* Doença de Lyme-símile brasileira ou Síndrome Baggio-Yoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363-369, 2010.

ZANELA, J.R.C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.5, p.510-519, 2016.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresenta informações relevantes em relação a ectofauna dos animais domésticos estudados. Foi constatada a presença de seis espécies de ectoparasitos, *Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* s.l. parasitando gatos, cães e cavalos. Vale ressaltar que as espécies de pulgas e carrapatos identificadas apresentam capacidade vetorial para transmissão de importantes patógenos zoonóticos, logo, demais animais e humanos podem estar em risco de exposição aos patógenos veiculados por estes ectoparasitos na área estudada.

Além disso, foi detectada a presença de *Rickettsia felis* em ectoparasitos coletados dos animais domésticos aqui relatados, indicando que existe o risco de infecção humana e/ou animal por esse patógeno. Portanto, medidas preventivas devem ser adotadas para reduzir o risco de ocorrência desses patógenos transmitidos por vetores negligenciados.