

PESQUISA DE AGENTES DA FAMÍLIA ANAPLASMATACEAE EM CARRAPATOS DE ANIMAIS SILVESTRES DO ESTADO DE MATO GROSSO

Raísa Barros Magalhães de Lima
(Bolsista CAPES – UNIC/MT)
raisabmagalhaes@gmail.com

Andréia Lima Tomé Melo
(Orientador – UNIC/MT)
andreialtm@gmail.com

Resumo

Os patógenos transmitidos por carrapatos representam variadas e complexas patologias, dentre os quais se destacam os agentes da família Anaplasmataceae. No Brasil, apesar de haver estudos que relatam a incidência destes agentes nos animais, pouco se sabe sobre a ocorrência destes patógenos nos carrapatos, especialmente aqueles que parasitam os animais silvestres. Nesse contexto, esta pesquisa teve por objetivo principal avaliar a presença de agentes da família Anaplasmataceae em carrapatos de animais silvestres provenientes da “Coleção de Carrapatos da Universidade Federal de Mato Grosso” (Cuiabá, Mato Grosso, Brasil), coletados entre 2015 e 2018. Ao todo, 350 carrapatos foram selecionados aleatoriamente para serem avaliados para investigação da infecção para o gênero Ehrlichia (gene dsb) e para os agentes da família Anaplasmataceae (gene 16S rRNA). Ao todo, 25 foram positivos na PCR, sendo 1 para o gene dsb e 24 para o gene 16S rRNA. Destes, 3 foram sequenciados, no qual 1 macho de *Amblyomma sculptum* amostrado de uma anta foi positivo para o gene dsb e cujo sequenciamento resultou na presença de *Ehrlichia* sp. Por outro lado, 1 fêmea de *Amblyomma sculpturatum* coletada também nesta anta supracitada e 1 macho de *Amblyomma dissimile* obtido de uma sucuri foram positivos para o gene 16S rRNA e o sequenciamento indicou ser *Anaplasma* sp. Estes resultados demonstram que há presença de bactérias pertencentes à família Anaplasmataceae nos carrapatos avaliados, o que representa uma informação muito importante pois contribui para o melhor entendimento da circulação de agentes transmitidos por estes artrópodes no estado de Mato Grosso.

Palavras-chave: Ectoparasitos. Parasitologia animal. Saúde pública.

Introdução

A família Anaplasmataceae, que está inserida na ordem Rickettsiales inclui dois importantes grupos constituídos pelos gêneros *Anaplasma* e *Ehrlichia*, os quais são formados por bactérias gram-negativas e intracelulares obrigatórias capazes de infectar várias células de seus hospedeiros (DUMLER et al., 2001).

Embora a espécie *E. canis* seja o principal agente da Eriquiose Monocítica Canina (EMC) circulante no Brasil (AGUIAR et al., 2008; VIEIRA et al., 2011), alguns estudos destacam que há possibilidade de que outras espécies de *Ehrlichia* spp. também possam estar presentes em território nacional, como a *E. chaffeensis* (MACHADO et al., 2006), a *E. ewingii* (OLIVEIRA et al., 2009) e, mais recentemente, a *E. minasensis* (CABEZAS-CRUZ et al., 2016).

Em relação ao gênero *Anaplasma*, existem várias espécies de importância clínica, como, por exemplo, o *Anaplasma platys*, que infecta plaquetas de cães sendo transmitida pelo carrapato *R. sanguineus* (YABSLEY et al., 2008). Há também outras espécies que afetam ruminantes (BARROS et al., 2005; BARRÉ; UILENBERG, 2010), bem como a espécie *Anaplasma phagocytophilum*, que já foi descrita em humanos, cães, gatos e equinos (WALKER; DUMLER, 1997; SANTOS et al., 2011).

Nos últimos anos, a ocorrência de doenças emergentes transmitidas por carrapatos em humanos e animais domésticos tem sido frequente, sobretudo devido ao maior contato com ambiente silvestre (PAROLA; RAOULT, 2001). A participação destes ectoparasitos na transmissão de bactérias e protozoários causadores de doenças de caráter zoonótico como anaplasmoze, babesiose, erliquiose e riquetsiose tem despertado muito interesse científico, especialmente por causarem sérios problemas relacionados à saúde pública, representando um desafio para a medicina humana e veterinária (FÖLDEVÁRI; FARKAS, 2005; PAROLA et al., 2005; DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2015).

No Brasil, apesar de haver estudos que relatam a incidência de agentes da família Anaplasmataceae nos animais, pouco se sabe sobre a ocorrência destes patógenos em carrapatos que parasitam os animais silvestres. Nesse contexto, esta pesquisa teve por objetivo principal avaliar a presença de agentes da família Anaplasmataceae em carrapatos de animais silvestres de Mato Grosso provenientes da “Coleção de Carrapatos da Universidade Federal de Mato Grosso” (Cuiabá, Mato Grosso, Brasil). Dessa maneira, a partir dos resultados obtidos com este trabalho buscou-se obter informações que fossem relevantes para o desenvolvimento de infecções por estes patógenos em carrapatos na região de estudo.

Material e Métodos

Amostragem

Para execução deste trabalho foram utilizados os carrapatos da “Coleção de Carrapatos da Universidade Federal de Mato Grosso” (Cuiabá, Mato Grosso, Brasil) coletados de animais silvestres entre 2015 e 2018, provenientes do Estado de Mato Grosso. Os carrapatos foram obtidos a partir de animais silvestres de vida livre ou cativeiro atendidos no Hospital Veterinário ou do Zoológico da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e adicionalmente também foram obtidos carrapatos de animais silvestres encontrados mortos na estrada. Estes permaneceram armazenados em álcool isopropílico e foram identificados segundo as chaves taxonômicas de Barros-Battesti et al. (2006), Martins et al. (2010) e Nava et al. (2014). Os ácidos nucleicos dos carrapatos foram obtidos a partir do processo de extração de DNA utilizando o Tiocianato de Guanidina conforme descrito por Sangioni et al. (2005).

Ao todo, 148 animais silvestres foram amostrados, incluindo mamíferos, anfíbios anuros, répteis e aves, tanto de vida livre quanto de cativeiro (Zoológico da Universidade Federal de Mato Grosso). Os carrapatos amostrados neste período totalizaram 2.056, divididos entre 100 larvas, 548 ninfas, 815 adultos machos e 593 adultos fêmeas pertencentes a 4 gêneros, conforme segue: *Amblyomma* spp. (100 larvas); *Amblyomma cajennense* sensu stricto (s. s.) (60 ninfas, 153 machos, 41 fêmeas), *Amblyomma calcaratum* (2 ninfas, 24 machos, 1 fêmea), *Amblyomma coelebs* (31 ninfas, 31 machos, 22 fêmeas), *Amblyomma dissimile* (143 ninfas, 103 machos, 67 fêmeas), *Amblyomma dubitatum* (5 ninfas, 9 machos, 43 fêmeas), *Amblyomma humerale* (5 ninfas, 9 machos), *Amblyomma longirostre* (8 machos, 2 fêmeas), *Amblyomma naponense* (3 ninfas, 3 fêmeas), *Amblyomma nodosum* (45 machos, 33 fêmeas), *Amblyomma oblongoguttatum* (1 ninfa, 5 machos, 10 fêmeas), *Amblyomma ovale* (4 machos), *Amblyomma parvum* (1 fêmea), *Amblyomma rotundatum* (20 ninfas, 19 fêmeas), *Amblyomma romitii* (4 ninfas, 8 machos, 12 fêmeas), *Amblyomma scalpturatum* (7 ninfas, 44 machos, 28 fêmeas), *Amblyomma sculptum* (250 ninfas, 329 machos, 260 fêmeas), *Amblyomma triste* (9 ninfas, 5 machos, 6 fêmeas), *Dermacentor nitens* (1 ninfa), *Haemaphysalis juxtakochi* (1 ninfa, 3 fêmeas), *Rhipicephalus*

microplus (6 ninfas, 22 machos, 33 fêmeas), *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (16 machos, 9 fêmeas).

Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)

Com intuito de investigar a ocorrência de *Ehrlichia* spp., os DNAs dos carrapatos foram submetidos à PCR utilizando-se um par de oligonucleotídeos iniciadores denominados DSB-330 senso e DSB-720 anti-senso que amplificam um fragmento de 409 pares de base (pb) do gene *dsb* (DOYLE et al., 2005). Em seguida, foram usados os oligonucleotídeos DSB-380 senso e DSB-720 anti-senso que amplificam 349 pb para testar os produtos da primeira reação (ALMEIDA et al., 2013). Já para pesquisar a presença de outros agentes da família Anaplasmataceae as amostras de ácidos nucléicos foram testadas com os oligonucleotídeos EHR16SD senso e EHR16SR anti-senso que amplificam um fragmento de 344 pb do gene 16S rRNA (CARVALHO et al., 2016) (Tabela 1).

A amplificação resultante das reações foi visualizada em Gel de Agarose a 1,5% corado com GelRed nucleic Acid Gel Stain, 10000x (Biotium - Uniscience®) e examinada no transiluminador com luz UV (ultravioleta).

Tabela 1. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados na amplificação dos genes *dsb* e 16S rRNA em carrapatos de animais silvestres do Estado de Mato Grosso.

Agente Etiológico	Gene	Oligonucleotídeo	Sequência do oligonucleotídeo (5'-3')	Tamanho (pb)	Referência
<i>Ehrlichia</i> spp.	<i>dsb</i>	DSB-330	GATGATGTTTGAAGATATSAACAAT	409	Doyle et al. (2005)
		DSB-720	CTATTTACTTCTTAAAGTTGATAWATC		
<i>Ehrlichia</i> spp.	<i>dsb</i>	DSB-380*	ATTTTAGRGATTTTCCAATACTTGG	349	Almeida et al. (2013)
		DSB-720*	CTATTTACTTCTTAAAGTTGATAWATC		
Família Anaplasmataceae	16S rRNA	EHR16SD	GGTCCYACAGAAGAAGTCC	344	Carvalho et al. (2016)
		EHR16SR	TGCACTCATCGTTTACAG		

*Reação de *semi-nested*.

Sequenciamento de nucleotídeos

Os produtos da amplificação das PCR foram purificados com ilustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification kit (GE Healthcare®) e suas sequências foram determinadas em sequenciador automático de DNA modelo ABI 3500 Series Genetic Analyser, segundo seu manual de instruções. As sequências obtidas foram alinhadas com outras sequências correspondentes disponíveis no GenBank, utilizando-se o programa NCBI Nucleotide BLAST Searches (ALTSCHUL et al., 1990).

Resultados e Discussão

Do total de 2.056 carrapatos coletados, 350 foram selecionados aleatoriamente para serem avaliados pela Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para investigação da infecção tanto pelo gênero *Ehrlichia* (gene *dsb*) como por agentes da família Anaplasmataceae (gene 16S rRNA). Ao todo, 25 foram positivos na PCR conforme descrito na Tabela 2.

Tabela 2 – Carrapatos positivos na PCR para o gênero *Ehrlichia* (gene *dsb*) e para a família Anaplasmataceae (gene 16S rRNA).

Hospedeiros	Espécies de carrapatos	Positivos na PCR	Genes
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	<i>dsb</i>
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	16s rRNA
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma scalpturatum</i>	1 fêmea	16s rRNA
Sucuri (<i>Eunectes notaeus</i>)	<i>Amblyomma dissimile</i>	1 macho	16s rRNA
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	<i>Amblyomma nodosum</i>	1 macho	16s rRNA
Tamanduá-Bandeira (<i>Myrmecophaga tridactyla</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	16s rRNA
Capivara (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 fêmea	16s rRNA
Tamanduá-Bandeira (<i>Myrmecophaga tridactyla</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	16s rRNA
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma scalpturatum</i>	1 macho	16s rRNA
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma scalpturatum</i>	1 macho	16s rRNA
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma coelebs</i>	1 fêmea	16s rRNA
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	16s rRNA
Veado matoeiro (<i>Mazama americana</i>)	<i>Haemaphysalis juxtakochi</i>	1 fêmea	16s rRNA
Capivara (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>)	<i>Amblyomma romitii</i>	1 fêmea	16s rRNA
Capivara (<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>)	<i>Amblyomma romitii</i>	1 fêmea	16s rRNA
Queixada (<i>Tayassu pecari</i>)	<i>Amblyomma cajennense s. s</i>	1 macho	16s rRNA
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	<i>Amblyomma nodosum</i>	1 macho	16s rRNA
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	<i>Amblyomma nodosum</i>	1 macho	16s rRNA
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	<i>Amblyomma nodosum</i>	1 macho	16s rRNA
Tamanduá-mirim (<i>Tamandua tetradactyla</i>)	<i>Amblyomma nodosum</i>	1 macho	16s rRNA

<i>Tamanduá-mirim (Tamandua tetradactyla)</i>	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 pool 5N	16s rRNA
<i>Tamanduá-mirim (Tamandua tetradactyla)</i>	<i>Amblyomma nodosum</i>	1 macho	16s rRNA
<i>Cachorro-do-mato (Cerdocyon thous)</i>	<i>Amblyomma ovale</i>	1 macho	16s rRNA
<i>Tamanduá-Bandeira (Myrmecophaga tridactyla)</i>	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	16s rRNA
<i>Seriema (Cariama cristata)</i>	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	16s rRNA

Fonte: Dados da pesquisa.

Destes, 3 carrapatos foram submetidos ao sequenciamento, sendo 1 macho de *Amblyomma sculptum* amostrado de uma anta que foi positivo para o gene dsb e cujo sequenciamento resultou na presença de *Ehrlichia* sp. Por outro lado, 1 fêmea de *Amblyomma scalpturatum* coletada também nesta anta supracitada e 1 macho de *Amblyomma dissimile* obtido de uma sucuri foram positivos para o gene 16S rRNA e o sequenciamento indicou ser *Anaplasma* sp. (Tabela 3).

Tabela 3 – Carrapatos positivos na PCR submetidos ao sequenciamento de nucleotídeos.

Hospedeiros	Espécies de Carrapatos	Positivos na PCR	Identidade mais próxima do GenBank (número de acesso)
Anta (<i>Tapirus terrestris</i>)	<i>Amblyomma sculptum</i>	1 macho	99,62% <i>Ehrlichia</i> sp. (dsb: KT148966)
	<i>Amblyomma scalpturatum</i>	1 fêmea	99,29% <i>Anaplasma</i> sp. (16S rRNA: MG869524)
Sucuri (<i>Eunectes notaeus</i>)	<i>Amblyomma dissimile</i>	1 macho	99,29% <i>Anaplasma</i> sp. (16S rRNA: MG869524)

Fonte: Dados da pesquisa.

A ocorrência de positividade em carrapatos de diferentes espécies do gênero *Amblyomma* demonstra que os agentes da família Anaplasmataceae encontram-se circulando na natureza por meio da infecção nestes artrópodes. Há relatos da presença de bactérias da família Anaplasmataceae em carrapatos que parasitavam antas no Equador, demonstrando a extensão da família na América do Sul (PESQUERA et al., 2015). De maneira similar, os ectoparasitos pertencentes a este gênero já foram descritos como portadores de vários agentes riquetsiais patogênicos (PAROLA et al., 2013), bem como de *A. phagocytophilum*, *E. chaffeensis* e *E. ewingii* (BEKKER et al., 2002; COHEN et al., 2010).

Curiosamente, a bactéria *Ehrlichia* sp. encontrada em *A. sculptum* neste estudo apresentou-se 99,62% idêntica com uma sequência de *Ehrlichia* sp. detectada em cavalos do Sul do Brasil (KT148966). Também já houve uma descrição de infecção por *Ehrlichia* sp. nesta espécie de carrapato retirada de cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) de Mato Grosso do

Sul (SOUSA et al., 2017). Do mesmo modo, houve a detecção molecular de uma possível nova espécie de *Ehrlichia* sp. em carrapatos do gênero *Amblyomma* coletados de onças-pintadas (*Panthera onca*) do Pantanal Sul-Matogrossense (WIDMER et al., 2011).

Além disso, há indícios da circulação de agentes erliquiais também nos animais silvestres, como em onças-pintadas (*P. onca*) do Pantanal de Mato Grosso do Sul (WIDMER et al., 2011) e em cachorro-do-mato (*C. thous*) de vida livre no Espírito Santo (ALMEIDA et al., 2013).

Com relação ao parasitismo da espécie *A. sculptum* em anta (*Tapirus terrestris*) pode-se afirmar que já era esperado, pois este mamífero é um dos hospedeiros primários deste carrapato, juntamente com os equinos e as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (SOUZA et al., 2006). Ademais, este carrapato sabidamente possui um grande potencial para parasitar seres humanos, inclusive atuando de forma agressiva (PAJUABA et al., 2018). Ele destaca-se pelo seu impacto na saúde pública, por ser o principal vetor que atua na transmissão da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa Brasileira (LABRUNA, 2009). Há registros de parasitismo humano pelo carrapato *A. sculptum* em várias localidades, incluindo Argentina, Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Paraguai, Suriname e Venezuela (GUGLIELMONE et al., 2006).

Neste trabalho foi identificado *Anaplasma* sp. 99,29% similar ao encontrado em caprinos na China (MG869524) e que foi considerado próximo à espécie *A. phagocytophilum* (GUO et al., 2018). Desse modo, o fato de haver a presença de um agente com as mesmas características moleculares já identificadas em animais, carrapatos e humanos sugere que esse organismo poderia representar uma ameaça à saúde animal e humana (LI et al., 2015).

Em relação ao carrapato *A. scalpturatum* sabe-se que ele já foi encontrado infectado com *Rickettsia bellii* na floresta amazônica (LABRUNA et al., 2004); entretanto, tudo indica que este seja o primeiro relato da infecção por *Anaplasma* sp. nesta espécie de carrapato. Este artrópode tem predileção por parasitar mamíferos, sendo as antas (*T. terrestres*) os principais hospedeiros (LABRUNA et al., 2005), e já possui registros nos estados do Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Paraná e Acre (ONOFRIO et al., 2006, 2010; LIMA et al., 2018). Há relatos inclusive de parasitismo humano pelo *A. scalpturatum* (GUGLIELMONE; ROBBINS, 2018; SILVA et al., 2016) e, recentemente,

foi descrito o primeiro registro de uma alimentação concluída por uma ninfa desta espécie de carrapato em um hospedeiro humano na região Norte do Brasil (AGUIRRE et al. 2019).

A presença de *Anaplasma* sp. em *A. dissimile* desta pesquisa corrobora com um achado recente que também detectou essa bactéria nesta espécie de carrapato coletada de jararaca-do-norte (*Bothrops atrox*) no Pará (OGRZEWALSKA et al., 2019). Carrapatos desta espécie coletados de iguanas (*Iguana iguana*) também já foram identificados com uma nova espécie de *Rickettsia* sp. na Colômbia (MIRANDA et al., 2012) e também aqui no Brasil (LUZ et al., 2018). Quanto ao parasitismo do *A. dissimile* em sucuri nota-se que tal achado é suportado pela literatura atual, que afirma que esta espécie de carrapato é comumente encontrada em vertebrados de sangue frio, incluindo répteis e anfíbios, especialmente os sapos (GUGLIELMONE et al., 2014).

A maioria das espécies de mamíferos, está sujeito a infestações por ectoparasitos, sendo comumente parasitado por carrapatos do gênero *Amblyomma* (MARTINS et al., 2014). E a espécie *A. nodosum*, em sua fase adulta tem sido encontrada quase que exclusivamente em tamanduás, o que confirma os achados desta pesquisa. Bem como, a espécie *A. coelebs* que parasita principalmente mamíferos também, preferencialmente *T. terrestris* (GUIMARÃES et al., 2001).

O parasitismo da espécie *Haemaphysalis juxtakochi* em veado mateiro (*Mazama americana*) de vida livre está de acordo com a literatura, uma vez que, é primariamente um carrapato de cervídeos (LABRUNA et al., 2005e).

A espécie *A. romitii* já foi descrita abrangendo as Guianas (Francesa, Britânica e Suriname), Venezuela e os estados brasileiros do Pará e Rondônia (LABRUNA et al., 2010). Contudo, houve registros da espécie em Mato Grosso, relatado como um novo local geográfico, o qual contribui para o achado de parasitismo em capivaras (WITTER et al., 2016).

A presente identificação do parasitismo do cachorro do mato pela espécie *A. ovale* condiz com os achados na literatura que parasitam preferencialmente pequenos mamíferos e possuem hábitos silvestres (ARAGÃO; FONSECA, 1961).

Nesse sentido, apesar dos agentes da família Anaplasmataceae serem reconhecidamente transmitidos por carrapatos e já terem a dinâmica da infecção bem

definida entre seus hospedeiros domésticos (DUMLER et al., 2001), é imprescindível a realização de novos estudos para esclarecer como ocorre essa complexa rede epidemiológica no ambiente silvestre, considerando a crescente evidência da presença destes patógenos nos animais e nos carrapatos do meio selvático de diferentes regiões do país.

Conclusão

A partir dos resultados observados neste estudo foi possível avaliar a presença de agentes da família Anaplasmataceae nos carrapatos avaliados, o que representa uma informação relevante, pois contribui para a melhor compreensão da circulação de agentes transmitidos por carrapatos na região de estudo, principalmente devido à implicação zoonótica apresentada por algum deles. O conhecimento do parasitismo de animais silvestres por carrapatos é essencial e serve de fomento para novas descobertas sobre a ecologia e a distribuição destes artrópodes, bem como a relação com seus hospedeiros.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Agradeço, a minha orientadora profa. Dra. Andréia Melo, prof. Dr. Daniel Aguiar, prof. Dr. Richard, e em especial e não menos importante, minha família.

Referências

AGUIAR, D. M.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. *In vitro* isolation and molecular characterization of an *Ehrlichia canis* strain from São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 39, p. 489-493, 2008.

AGUIRRE, A. A. R.; RODRIGUES, V. S.; COSTA, I. N.; GARCIA, M. V.; CSORDAS, B. G.; ANDREOTTI, R.; MEDEIROS, J. F. *Amblyomma scalpturatum* Neumann, 1906 (Acari: Ixodidae): confirmation in Acre State, Brazil, and description of parasitism in a human. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, p. 473-478, 2019.

ALMEIDA, A.P.; SOUZA, T.D.; MARCILI, A.; LABRUNA, M.B. Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in southeastern Brazil. **Journal of**

Medical Entomology, v. 50, p. 640–646, 2013.

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D.J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p. 403-410, 1990.

ARAGÃO, H.B.; FONSECA, F. Notas de ixodologia: IX. O complexo *ovale* do gênero *Amblyomma*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.59, n.2, p.131-148, 1961.

BARRÉ, N.; UILENBERG, G. Spread of parasites transported with their hosts: case study of two species of cattle tick. **Revue Scientifique et technique**, v. 29, n. 1, p.149-160, 2010.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. (Ed). Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: **Vox/ICTTD-3/Butantan**; p. 53-113, 2006.

BARROS, S. L.; MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; MENK, C. F.; ALMEIDA, M. A. O.; MELO, E. P. S.; KESSLER, R. H. Serological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* antibodies in cattle from the semi-arid region of the state of Bahia, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assays. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 6, p. 613-617, 2005.

BEKKER, C.P.; DE VOS, S.; TAOUFIK, S.A.; SPARAGANO, O.A.; JONGEJAN, F. Simultaneous detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in ruminants and detection of *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* ticks by reverse line blot hybridization. **Veterinary Microbiology**, v. 89, p. 223-238, 2002.

CABEZAS-CRUZ, A.; ZWEYGARTH, E.; VANCOVÁ, M.; BRONISZEWSKA, M.; GRUBHOFFER, L.; PASSOS, L. M. F.; RIBEIRO, M. F. B.; ALBERDI, P. DE LA FUENTE, J. *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, p. 1426-1430, 2016.

CARVALHO, I.T.; MELO, A.L.; FREITAS, L.C.; VERÇOZA, R.V.; ALVES, A.S.; COSTA, J.S.; CHITARRA, C.S.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; PACHECO, R.C.; AGUIAR, D.M. Minimum infection rate of *Ehrlichia minasensis* in *Rhipicephalus microplus* and *Amblyomma sculptum* ticks in Brazil. **Ticks Tick Borne Diseases**, v. 7, n. 5, p. 849–852, 2016.

COHEN, S.B.; YABSLEY, M.J.; FREVE, J.D.; DUNLAP, B.G.; ROWLAND, M.E.; HUANG, J. Prevalence of *Ehrlichia chaffeensis* and *Ehrlichia ewingii* in ticks from Tennessee. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 10, p. 435–440, 2010.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, O. Vector-borne zoonoses. In: SING, Andreas. **Zoonoses: infections affecting humans and animals—a focus on public health aspects**. Springer, Netherlands, p. 683–695, 2015.

DOYLE, C.K.; LABRUNA, M.B.; BREITSCHWERDT, E.B.; TANG, Y.W.; CORSTVET, R.E.; HEGARTY,

B.C.; BLOCH, K.C.; LI, P.; WALKER, D.H.; MCBRIDE, J.W. Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolour TaqMan real-time polymerase chain reaction of the *dsb* gene. **Journal of Molecular Diagnostics**, v. 7, p. 504–610, 2005.

DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and HGE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51: p. 2145-2165. 2001.

FÖLDVÁRI, G.; FARKAS, R. Ixodid tick species attaching to dogs Hungary. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 125-131, 2005.

GUIMARÃES, J. C.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATESTTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Plêiade, p. 213, 2001.

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

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PENÑA, A.; HORAK, I. G. *The Hard Ticks of the World (Acari: Ixodida: Ixodidae)*. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, 2014.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R.G. Tick species found feeding on humans. In: **Hard Ticks (Acari: Ixodida: Ixodidae)**. London: Springer, 1 ed., p. 205, 2018.

GUO, W.P.; HUANG, B.; ZHAO, Q.; XU, G.; LIU, B.; WANG, Y.H.; ZHOU, E.M. Human-pathogenic *Anaplasma* spp., and *Rickettsia* spp. in animals in Xi'an, China. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 11, e0006916, 2018.

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.; WHITWORTH, T.; BOUVER, D.H.; MCBRIDE, J.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E. P. *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, 2004.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A.; JÁCOMO, A.T. A.; KASHIVAKURA, C.K.; FURTADO, M.M. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 149-163, 2005.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; TERRASSINI, F. A.; FERREIRA, F.; SCHUMAKER, T. T.; CAMARGO, E. P. Ticks (Acari: Ixodidae) from the state of Rondonia, western Amazon, Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 10, p. 17-32, 2005e.

LI, H.; ZHENG, Y. C.; MA, L.; JIA, N.; JIANG, B. G.; JIANG, R.R. Human infection with a novel tick-borne *Anaplasma* species in China: a surveillance study. **Lancet Infect Diseases**, v. 15, n. 6, p. 663–670. 2015.

LIMA, M. A.; MARTINS, T. F.; MUÑOZ-LEAL, S.; GUILHERME, E.; OGRZEWALSKA, M.; LABRUNA, M. B. Ticks and tick-associated spotted fever group *Rickettsia* from birds in the Southwestern Brazilian Amazon. **Colombian Journal of Animal Science**, v. 31, p. 26-35, 2018.

LUZ, H. R.; SILVA-SANTOS, E.; COSTA-CAMPOS, C. E.; ACOSTA, I.; MARTINS, T. F.; MUÑOZ-LEAL, S.; MCINTOSH, D.; FACCINI, J. L. H.; LABRUNA, M. B. Detecção de *Rickettsia* spp. em carrapatos parasitando sapos (marina de *Rhinella*) no norte da Amazônia brasileira. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 3, p. 309-318, 2018.

MACHADO, R. Z.; DUARTE, J. M. B.; DAGNONE, A. S.; SZABÓ, M. P. J. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilia marsh deer (*Blastocercus dichotomus*). **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 262-266, 2006.

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, p. 75-99, 2010.

MARTINS, J. R.; MEDRI, I. M.; OLIVEIRA, C. M.; GUGLIELMONE, A. Ocorrência de carrapatos em tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*) na região do Pantanal Sul Mato-grossense, Brasil. **Cienc. Rural**, v.34, p.293-295, 2014.

MIRANDA, J.; PORTILLO, A.; OTEO, J. A.; MATTAR, S. *Rickettsia* sp. strain *colombianensi* (Rickettsiales: Rickettsiaceae): a new proposed *Rickettsia* detected in *Amblyomma dissimile* (Acari: Ixodidae) from iguanas and free-living larvae ticks from vegetation. **Journal of Medical Entomology**, v. 49, p. 960–965, 2012.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, A. G.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and SANTOS, H. A.; PIRES, M. S.; VILELA, JOICE, A. R. Detection of *Anaplasma phagocytophilum* in Brazilian dogs by real-time polymerase chain reaction. **Journal of Veterinary Diagnostic Investestigation**, v. 23, p.770, 2011.

OGRZEWALSKA, M.; MACHADO, C.; ROZENTAL, T.; FORNEAS, D.; CUNHA, L.E.; LEMOS, E.R.S.

Microorganisms in the ticks *Amblyomma dissimile* Koch 1844 and *Amblyomma rotundatum* Koch 1844 collected from snakes in Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 33, n. 1, p. 154–161, 2019.

ONOFRIO, V. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F. G.; BARROS-BATTESTI, D. M. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: **Vox/ICTTD-3/Butantan**; p. 53-113, 2006.

PAJUABA, A. A.; RAMOS, V. N.; MARTINS, M. M.; OSAVA, C. F.; PASCOAL J. O.; SUZIN, A.; YOKOSAWA, J.; SZABÓ, M. P. J. Influence of microhabitat use and behavior of *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma dubitatum* nymphs (Acari: Ixodidae) on human risk for tick exposure, with notes on *Rickettsia* infection. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, p. 67-71, 2018.

PAROLA, P.; RAOULT, T. 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 Microbiological Reviews**, v. 18, p. 719-756, 2005.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSKI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T. Update on tick-borne rickettsiosis worldwide: a geographical approach. **Clinical Microbiological Reviews**, v. 26, p. 657–702, 2013.

PESQUERA, C.; PORTILLO, A.; PALOMAR, A. M.; OTEO, J. A. Investigation of tick-borne bacteria (*Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp. and *Borrelia* spp.) in ticks collected from Andean tapirs, cattle and vegetation from a protected area in Ecuador. **Parasites & Vectors**, v. 8, p. 46, 2015.

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A.; SCHUMAKER, T. T.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in animals and Brazilian Spotted Fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 11, p. 265-270, 2005.

SILVA, T. K. S.; BLANCO, C. M.; LEMOS, E. R. S.; OGRZEWALSKA, M. Notes on parasitism and screening for microorganism of ticks *Amblyomma* (Acari: Ixodidae), Amazon, Brazil. **Virus Research**, v. 21, n. 2, p. 41-44, 2016.

SOUSA, K.C.M., CALCHI, A.C.; HERRERA, H.M.; DUMLER, J.S.; BARROS-BATTESTI, D.M.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M.R. Anaplasmataceae agents among wild mammals and ectoparasites in Brazil. **Epidemiology & Infection**, v. 145, n. 16, p. 3424-3437, 2017.

SOUZA, S. S. A. L.; SOUZA, C. E.; RODRIGUES NETO, E. J.; PRADO, A. P. Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para febre maculosa na

região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 3, p.887-891, 2006.

VIEIRA, R.F.C.; BIONDO, A.W.; GUIMARAES, A.M.; SANTOS, A.P.; SANTOS, R.P.; DUTRA, L.H. Ehrlichiosis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 20, p. 1-12, 2011.

WALKER, D.H.; DUMLER, J. S. Human monocytic and granulocytic ehrlichioses. Discovery and diagnosis of emerging tick-borne infections and the critical role of the pathologist. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 121, n. 8, p. 785-791, 1997.

WIDMER, C. E.; AZEVEDO, F. C.; ALMEIDA, A. P.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Tick-borne bacteria in free-living jaguars (*Panthera onca*) in Pantanal, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v. 11, p. 1001-1006, 2011.

WITTER, R.; MARTINS, T. F.; CAMPOS, A. K.; MELO, A. L. T.; CORRÊA, S. H. R.; MORGADO, T. O.; PACHECO, R. C. Rickettsial infection in ticks (*Acari: Ixodidae*) of wild animals in midwestern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, 7(3), 415-423, 2016.

YABSLEY, M.J.; MCKIBBEN, J.; MACPHERSON, C.N.; CATTAN, P.F.; CHERRY, N.A. & HEGARTY, B.C. Prevalence of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Bartonella vinsonii berkhoffii*, and *Rickettsia* spp. in dogs from Grenada. **Veterinary Parasitology**, v. 151, p. 279-285, 2008.