

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E  
PARASITÁRIAS

JOELLY CORRÊA DOS SANTOS

**IXODOFAUNA E SEUS AGENTES INFECCIOSOS NO PARQUE DA LAGOA  
COMPRIDA DO MUNICÍPIO DE AQUIDAUANA/MS, BRASIL**

**Campo Grande- MS  
2024**

JOELLY CORRÊA DOS SANTOS

**IXODOFAUNA E SEUS AGENTES INFECCIOSOS NO PARQUE DA LAGOA  
COMPRIDA DO MUNICÍPIO DE AQUIDAUANA/MS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Faculdade de Medicina na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias.

**Orientador:** Prof. Dr. Renato Andreotti

**Coorientador:** Dr. Marcos Valério Garcia

**Campo Grande- MS  
2024**

JOELLY CORRÊA DOS SANTOS

**IXODOFAUNA E SEUS AGENTES INFECCIOSOS NO PARQUE DA LAGOA  
COMPRIDA DO MUNICÍPIO DE AQUIDAUANA/MS, BRASIL**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Faculdade de Medicina na Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Campo Grande, MS, 12 de Agosto de 2024

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Renato Andreotti  
Pós Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias (UFMS)

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alexandra Rodrigues Mendonça Favacho  
Pós Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias (UFMS)

---

Prof. Dr. André de Abreu Rangel Aguirre  
Fundação Oswaldo Cruz Rondônia (FIOCRUZ)

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de expressar minha profunda gratidão e reconhecimento a todas as pessoas e instituições que contribuíram para a realização deste trabalho e para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Primeiramente, ao meu orientador, Dr. Renato Andreotti, pela orientação incansável, pela confiança e apoio constantes. Sua expertise, paciência e dedicação foram inestimáveis para a conclusão deste trabalho. Agradeço por todas as valiosas discussões e por me guiar com sabedoria e clareza ao longo de todo o processo.

Ao meu coorientador, Dr. Marcos Valério Gracia, pelo suporte contínuo, pelas sugestões valiosas e pela confiança depositada em mim. Sua amizade e o respeito e a admiração pelo profissional excepcional que você é foram uma fonte perdurável de inspiração. Suas contribuições foram substanciais para a construção deste trabalho. Agradeço por sua disponibilidade para coorientar, encorajar e compartilhar sua vasta experiência de forma tão generosa e atenciosa.

A Dr.<sup>a</sup> Leandra Marla Oshiro, Dr.<sup>a</sup> Pâmella Oliveira Duarte e Dr. Leandro de Oliveira Souza Higa, não só pela colaboração essencial para o progresso da pesquisa, mas também pela amizade e pelo imenso carinho de cada um de vocês. Suas habilidades e conhecimentos foram imprescindíveis; as suas companhias e o suporte emocional tornaram esta jornada mais leve e significativa. Agradeço profundamente pela generosidade e pelo compromisso com o trabalho e, especialmente, pela relação de amizade que construímos ao longo desse tempo.

A Álvaro Aragão de Lima, meu fiel companheiro em todos os momentos desta jornada. Agradeço por estar ao meu lado nos desafios e nas conquistas, por seu apoio incondicional e por sua presença constante, que foi uma fonte imensurável de força e encorajamento diante de tudo. Muito obrigada!

A Jacqueline Cavalcante Barros, pela dedicação, atenção e apoio incondicional durante a minha trajetória.

Ao Laboratório de Biologia do Carrapato e à Embrapa Gado de Corte, pelo suporte e pela infraestrutura oferecida, essenciais para a execução deste estudo.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), minha instituição de ensino, por proporcionar um ambiente acadêmico rico e estimulante. Sou imensamente grata por fazer parte dessa comunidade acadêmica, que sempre me incentivou a buscar o conhecimento e a excelência.

À Faculdade de Medicina (FAMED), pelos recursos oferecidos, basilares para a consecução deste trabalho. Agradeço a todos os professores e colaboradores que me forneceram as ferramentas e o conhecimento necessários para prosseguir com minha pesquisa.

À Pós-Graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, pela oportunidade de aprofundar meus conhecimentos e pelo apoio contínuo durante o curso.

Às Professoras Dr.<sup>a</sup> Alda Maria Teixeira Ferreira, Dr.<sup>a</sup> Alessandra Gutierrez de Oliveira, Dr.<sup>a</sup> Ana Rita Coimbra Motta de Castro e à querida Dr.<sup>a</sup> Natália Oliveira Alves, que foram pessoas incríveis e me deram o auxílio essencial no início do mestrado. Minha gratidão pela orientação, encorajamento e suporte que me proporcionaram, e por suas palavras de sabedoria e incentivo, que sempre serão lembradas com gratidão.

A Maricelma Francelino Fialho Cândido e Francine de Sales Dorneles, que foram não apenas amigas, mas também pessoas acolhedoras durante a minha jornada acadêmica. Sua generosidade e amizade tornaram o percurso mais gratificante e significativo. Agradeço por todo o suporte emocional, pelo incentivo e pelos momentos compartilhados ao longo deste caminho.

Finalmente, agradeço a todas as pessoas e entidades que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho. A cada um de vocês, minha mais profunda gratidão. Este trabalho é, em grande parte, um reflexo do apoio e da colaboração que recebi ao longo desta jornada.

Muito obrigada!

## Resumo

Carrapatos são ectoparasitas hematófagos obrigatórios que infestam uma variedade de animais vertebrados e têm o potencial de transmitir vírus, bactérias e protozoários. Este estudo visou a investigar a ixodofauna e seus agentes infecciosos no Parque Natural da Lagoa Comprida (PNMLC), no município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. Os carrapatos foram coletados por meio do arraste de flanela e visualização/busca ativa. Após a coleta, os carrapatos foram armazenados em álcool etílico a 70% e encaminhados ao laboratório de biologia do carrapato da Embrapa Gado de Corte, para a identificação taxonômica. Em seguida, as amostras foram submetidas à extração de DNA, PCR e sequenciamento, para detectar a presença dos agentes infecciosos *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., e *Babesia* spp. Os 1.216 carrapatos encontrados foram identificados como *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum*; 31 dessas amostras, ou seja, 2,55% do total, testaram positivo para o protozoário *Babesia*. Uma dessas amostras positivas apresentou 100% de similaridade com a espécie *Babesia bigemina*, sendo proveniente de um carrapato da espécie *A. sculptum*. Este trabalho fornece informações valiosas no âmbito de saúde única, contribuindo para a descoberta de diferentes agentes infecciosos em espécies de carrapatos sem relatos de associação.

**Palavras-chave:** Microorganismos. Ectoparasitas. *Babesia bigemina*. *Amblyomma sculptum*.

## Abstract

Ticks are obligatory blood-feeding ectoparasites that infest a variety of vertebrate animals and have the potential to transmit viruses, bacteria, and protozoa. This study aimed to investigate the tick fauna and their infectious agents in the Parque Natural da Lagoa Comprida (PNMLC), in the municipality of Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brazil. The ticks were collected through flag dragging and active search/visual inspection. After collection, the ticks were stored in 70% ethanol and sent to the Tick Biology Laboratory at Embrapa Gado de Corte, for taxonomic identification. The samples were then subjected to DNA extraction, PCR, and sequencing, to detect the presence of the infectious agents *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., and *Babesia* spp. The 1.216 ticks found were identified as *Amblyomma sculptum* and *Amblyomma dubitatum*. Among these, 31 samples, representing 2.55% of the total, tested positive for the protozoan *Babesia*. Notably, one of these positive samples showed 100% similarity to the species *Babesia bigemina*, originating from a tick of the species *A. sculptum*. This research work provides valuable information within the scope of One Health, thus contributing to the discovery of different infectious agents in tick species not previously reported to be associated with such pathogens.

**Keywords:** Microorganisms. Ectoparasites. *Babesia bigemina*. *Amblyomma sculptum*.

## **Lista de abreviaturas e siglas**

<b>FMB</b>	Febre Maculosa Brasileira
<b>FM</b>	Febre Maculosa
<b>GFM</b>	Grupo da Febre Maculosa
<b>PNMLC</b>	Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida
<b>DNA</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>RMSF</b>	Rocky Mountain Spotted Fever
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>SES</b>	Secretaria de Estado de Saúde
<b>RIFI</b>	Reação de Imunofluorescência Indireta
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention
<b>SISGEN</b>	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
<b>EMBRAPA</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>SEMA</b>	Secretaria de Meio Ambiente

## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO AOS CARRAPATOS</b> .....	8
<b>2. PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR CARRAPATOS E SAÚDE ÚNICA</b> .....	9
2.1.1. Febre Maculosa Brasileira: <i>Rickettsia rickettsii</i> .....	11
2.1.2. Carrapatos vetores: <i>Rickettsia rickettsii</i> .....	12
2.1.3. Sintomas, diagnóstico e tratamento .....	14
2.1.4. Febre Maculosa: <i>Rickettsia parkeri</i> .....	15
2.1.5. Carrapatos vetores: <i>Rickettsia parkeri</i> .....	16
2.1.6. Borreliose: epidemiologia .....	17
2.1.6.1. Borreliose: sintomas, tratamento e vetores .....	19
2.1.7. Babesiose Humana: epidemiologia, sintomas e vetores .....	20
2.1.8. Babesiose Animal: epidemiologia, sinais clínicos e vetores .....	21
<b>3. JUSTIFICATIVA</b> .....	23
<b>4. OBJETIVO</b> .....	23
4.1. Objetivo geral .....	23
4.2. Objetivos específicos .....	23
<b>5. METODOLOGIA</b> .....	24
5.1. Área de estudo .....	24
5.2. Coleta de carrapatos .....	25
5.3. Extração de DNA .....	26
5.4. Análise PCR .....	26
5.5. Análise filogenética .....	27
<b>6. RESULTADOS</b> .....	28
<b>7. DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>8. CONCLUSÃO</b> .....	37
<b>9. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	38
<b>10. APÊNDICE</b> .....	52

10.1. Apêndice A - Artigo publicado.....	52
<b>11. ANEXO .....</b>	<b>53</b>
11.1. Anexo A - protocolo utilizado para a extração de DNA de carrapatos .....	53

## 1. Introdução aos carrapatos

Os carrapatos são artrópodes ectoparasitas pertencentes ao filo Arthropoda, subfilo Chelicerata, classe Arachnida, subclasse Acari, e ordem Ixodida. São obrigatoriamente hematófagos em pelo menos um estágio de vida (De La Fuente, 2003; Estrada-Peña; De La Fuente, 2018). Esses artrópodes têm a capacidade de parasitar uma ampla variedade de hospedeiros, incluindo mamíferos, répteis, anfíbios, aves (Nava *et al.*, 2017; Dantas-torres *et al.*, 2019) e, acidentalmente, humanos (Guglielmone *et al.*, 2006; Garcia *et al.*, 2015; Reck *et al.*, 2018; Durães *et al.*, 2021; Nogueira *et al.*, 2022).

Os carrapatos possuem características específicas, como a ausência de antenas e asas e a presença de quelíceras e pedipalpos. Possuem quatro pares de pernas, com exceção do instar larval, com apenas três pares de pernas, característica esta que distingue as larvas das ninfas. O que torna as ninfas diferentes dos adultos é a ausência de abertura genital e a ornamentação nos escudos (Andreotti; Koller; Garcia, 2016).

Globalmente, os carrapatos abrangem mais de 950 espécies, distribuídas em três famílias existentes (Dantas-Torres, 2018). Atualmente, as famílias de Ixodidae (~736 spp.), conhecidos como carrapatos duros, e Argasidae (~218 spp.), com carrapatos moles, são as principais, além da Nuttalliellidae, que é representada apenas pela espécie *Nuttalliella namaqua* (Jongejan; Uilenberg, 2004; Garcia *et al.*, 2012; Sonenshine; Roe, 2014).

Os ixodídeos ou carrapatos duros (figura 1), como são popularmente conhecidos, apresentam escudo dorsal e as peças bucais projetadas para frente, geralmente com dimorfismo sexual na fase adulta (Andreotti; Koller; Garcia, 2016).

Diferentemente dos ixodídeos, a maioria dos espécimes de argasídeos (figura 1) não possui escudo (com exceção da presença de um pseudoescudo em *Nothoaspis*). Por esse motivo, são chamados de carrapatos moles, e as peças bucais das ninfas e adultos encontram-se no camerostoma no interior de uma depressão, na região ventral (Barros-Battesti; Aruza; Bechara, 2006; Andreotti; Koller; Garcia, 2016).

**Figura 1.** (A) Espécime representante de carrapatos Ixodídeos. (B) espécime representante de carrapatos Argasídeos



Fonte: Museu do Carrapato

A família Nuttalliellidae possui características intermediárias entre ixodídeos e argasídeos. É composta por dois gêneros extintos, *Deinocroton* e *Legionaris*; a única espécie existente atualmente é a *Nuttalliella namaqua* (Chitimia-Dobler *et al.*, 2024). Essas recentes descobertas sobre os dois gêneros extintos foram possibilitadas pelo estudo de fósseis encontrados no âmbar birmanês, fato que amplia significativamente o entendimento sobre a diversidade e a história evolutiva dos carrapatos (Chitimia-Dobler *et al.*, 2024). Tal descoberta sugere que a origem dos carrapatos pode estar situada no antigo continente Gondwana, o que poderia indicar que os carrapatos datam de aproximadamente 150 milhões de anos. (Chitimia-Dobler *et al.*, 2024).

No território brasileiro, até a presente data, estão catalogadas 78 espécies de carrapatos, distribuídos entre as famílias Ixodidae (53 spp.) e Argasidae (25 spp.). A família Ixodidae engloba cinco gêneros: *Rhipicephalus* (3 spp.), *Ixodes* (12 spp.), *Haemaphysalis* (3 spp), *Dermacentor* (1 sp.) e *Amblyomma* (34 spp.). O gênero *Amblyomma* sobressai-se, devido à sua notável diversidade de espécies e à sua importância significativa no âmbito da saúde única (Dantas-Torres *et al.*, 2019; Martins *et al.*, 2019; Soares *et al.*, 2023).

A família Argasidae, quando comparada com os ixodídeos, é menos numerosa, sendo composta pelos gêneros *Ornithodoros* (19 spp.), *Antricola* (3 spp.), *Argas* (1 spp.) e *Nothoaspis* (2 spp.) (Dantas-Torres *et al.*, 2019; Muñoz-Leal *et al.*, 2020, 2021).

## 2. Patógenos transmitidos por carrapatos e saúde única

Os carrapatos, conhecidos por sua ampla distribuição e diversidade taxonômica, desempenham um papel crucial como vetores de diversos agentes infecciosos para animais e humanos, representando uma séria ameaça à saúde única global. Estima-se que aproximadamente 10% das mais de 950 espécies conhecidas

desses artrópodes sejam capazes de transmitir agentes infecciosos, bem como uma variedade de vírus, bactérias e protozoários (Jongejan; Uilenberg, 2004). Essa capacidade de transmissão posiciona os carrapatos como um dos principais artrópodes, depois dos mosquitos, relacionados à disseminação de agentes infecciosos que podem afetar tanto animais quanto seres humanos (Jongejan; Uilenberg, 2004).

É primordial reconhecer a relevância da relação entre agentes infecciosos transmitidos por carrapatos, animais, seres humanos e o meio ambiente. Essa interconexão é evidente e realça a necessidade do conceito de “saúde única”. O termo reflete a indispensabilidade de integrar a saúde humana, animal e ambiental, para um melhor entendimento das doenças zoonóticas de maneira eficaz, assim como para criar e estimular políticas públicas específicas. Embora essa ideia tenha raízes antigas, foi no século XX que o epidemiologista americano CW Schwabe reintroduziu o uso do termo (Zinsstag *et al.*, 2011; Mackenzie; Mckinnon; Jeggo, 2014).

A abordagem integrada é essencial para o controle das doenças transmitidas por carrapatos, principalmente aquelas classificadas como zoonóticas. A integração entre a medicina veterinária e a medicina humana fomenta o aprimoramento do manejo dessas doenças, fortalecendo a comunicação entre médicos e veterinários, a fim de acelerar o diagnóstico e facilitar as decisões de tratamento (Dantas-Torres; Chomel; Otranto, 2012).

Além disso, os microrganismos transmitidos por carrapatos são geralmente associados a doenças em animais domésticos, mas podem ocasionalmente emergir como agentes infecciosos que afetam humanos, assim como animais silvestres, que desempenham um papel crucial, atuando como sentinelas e ou reservatórios para muitos desses patógenos (Dantas-Torres, 2007; Piesman; Eisen, 2008; Colwell; Dantas-Torres; Otranto, 2011).

Dessa forma, a interação entre animais silvestre, domésticos, humanos e o meio ambiente é um fator condicionante para a disseminação de novas doenças e o surgimento de novos potenciais vetores que não haviam sido reportados na literatura (Dantas-Torres; Chomel; Otranto, 2012).

Entre alguns dos patógenos relevantes transmitidos por carrapatos, destacam-se a *Rickettsia rickettsii*, que causa a enfermidade denominada nos Estados Unidos como Rocky Mountain Spotted Fever (RMSF) e, no Brasil, Febre Maculosa Brasileira (FMB) (Labruna, 2009); a bactéria *Borrelia burgdorferi* é causadora da doença de

Lyme, principalmente nas regiões do Hemisfério Norte; a *Babesia* causa a babesiose, uma doença protozoária multissistêmica, de importância global, que vem ganhando maior visibilidade durante os últimos anos (Skrabalo; Deanovic, 1957).

### **2.1.1. Febre Maculosa Brasileira: *Rickettsia rickettsii***

A infecção causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* é conhecida como RMSF nos Estados Unidos, devido ao seu primeiro relato na região montanhosa de Rocky Mountains (Labruna, 2009). No Brasil, essa doença é comumente chamada de FMB. Trata-se de uma doença infecciosa aguda, com grande potencial de letalidade. Essa enfermidade assume grande importância no contexto de saúde pública, devido à sua gravidade (Labruna, 2009).

Os relatos de Febre Maculosa (FM) no Brasil datam de 1920, com alguns casos registrados nos anos 1930 e 1940. No entanto, o número de casos diminuiu significativamente entre os anos 1950 e o início dos anos 1980 (Labruna, 2009).

A partir do final dos anos 1980 até o século XXI, a doença ressurgiu (Labruna, 2009), inicialmente com casos nos estados de São Paulo e de Minas Gerais, principalmente em regiões rurais, sendo primeiramente conhecida por tifo exantemático de São Paulo e tifo exantemático de Minas Gerais (Travasso; Dias, 1939). Apesar de terem ocorrido casos da doença desde há muitos anos, foi no ano de 2001 que a FM foi incluída na lista das doenças de notificação compulsória no país, com o intuito de facilitar o diagnóstico, o tratamento e a prevenção (Ministério da Saúde, 2022).

A partir de 2001, foram confirmados casos nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais. Em 2003, surgiram os primeiros casos no estado de Santa Catarina, fazendo com que as regiões Sudeste e Sul sejam as regiões mais prevalentes da doença (Ministério da Saúde, 2022).

Entre 2007 e 2021, foram notificados 36.497 casos de FM no país, com uma média anual de aproximadamente 170 casos confirmados. Destes, 2.545 casos foram confirmados e cerca de 834, com complicações graves, evoluíram para óbito (Ministério da Saúde, 2022).

A maioria dos casos confirmados ocorreu em áreas rurais, com uma alta incidência entre homens de 35 a 49 anos (Ministério da Saúde, 2022). Em 2023, foram registrados casos em diversas regiões, com maior prevalência no Sudeste e algumas ocorrências no Paraná (Ministério da Saúde, 2022).

Algumas regiões brasileiras são consideradas silenciosas para FMB. O estado do Mato Grosso do Sul está incluso nessa categoria. De acordo com dados da Secretaria de Estado de Saúde (SES), desde 2015 foram notificados 112 casos suspeitos de FMB no estado. Destes, sete casos foram confirmados, com o último registro ocorrido em 2018, no município de Campo Grande.

Embora haja registros de casos confirmados e não tenham ocorrido óbitos durante esse período, o estado não é considerado uma área endêmica para a FMB. Entretanto, as condições climáticas, combinadas com a presença de reservatórios e amplificadores da doença, reforçam a necessidade de vigilância contínua quanto ao risco de transmissão da FMB no estado de Mato Grosso do Sul (Ministério da Saúde, 2022).

As rickettsioses transmitidas por carrapatos são causadas por bactérias intracelulares obrigatórias, pertencentes ao Grupo da Febre Maculosa (GFM); o gênero *Rickettsia* pertence à família *Rickettsiaceae* e à ordem *Rickettsiales* (Parola; Paddock; Raoult, 2005).

*Rickettsia rickettsii* é uma bactéria gram-negativa, com dimensões de 0,2 µm. Possui um cromossomo único e circular, e sua parede celular é formada por lipopolissacarídeos (LPS) (Thorner; Walker; Petri, 1998; Dantas-Torres, 2007).

Grande parte das *Rickettsias* do GFM é de caráter zoonótico. Os humanos são acometidos de forma acidental pela picada do carrapato infectado. Sendo assim, os humanos não possuem envolvimento na manutenção da circulação dessa bactéria no ambiente (Socolovschi *et al.*, 2009).

### **2.1.2. Carrapatos vetores: *Rickettsia rickettsii***

O Brasil, com sua vasta extensão territorial, abriga uma diversidade de biomas, como Amazônia, Mata Atlântica, Cerrado, Pampa, Caatinga e Pantanal (Szabó; Pinter; Labruna, 2013). Esses biomas são lares para uma ampla variedade de carrapatos, que desempenham um papel crucial na disseminação de *R. rickettsii* (Szabó; Pinter; Labruna, 2013).

No Brasil, a espécie *R. rickettsii* é transmitida para humanos por duas espécies de carrapatos: *Amblyomma sculptum*, nas áreas endêmicas de FMB no Sudeste, e *Amblyomma aureolatum*, na região metropolitana de São Paulo (Labruna, 2009).

O carrapato *Amblyomma sculptum* é encontrado em países como a Bolívia, Paraguai e Argentina. No território brasileiro, é encontrado principalmente nos biomas

Cerrado, Pantanal e áreas degradadas da Mata Atlântica (Martins *et al.*, 2016; Nava *et al.*, 2014; Tarragona *et al.*, 2018).

A espécie *A. sculptum* é naturalmente encontrada infectada com *R. rickettsii*. Porém, as taxas de infecção de carrapatos são inferiores a 1,3%, sendo de difícil detecção (Guedes *et al.*, 2005; Labruna, 2009; Krawczak *et al.*, 2014). Embora seja um carrapato com capacidade vetorial confirmada, apresenta uma eficiência reduzida para transmitir a bactéria por meio de gerações subsequentes, resultando em uma queda acentuada nas taxas de infecção por *R. rickettsii* ao longo das gerações seguintes (Soares *et al.*, 2012).

Entre as fêmeas de *A. sculptum* infectadas por *R. rickettsii*, a transmissão vertical (transovariana) da bactéria geralmente ocorre em pouco menos que 50%. As fêmeas infectadas possuem significativa redução no desempenho reprodutivo, quando comparadas a fêmeas não infectadas (Soares *et al.*, 2012).

No entanto, foi demonstrado que a *R. rickettsii* pode infectar capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), com ausência de sinais clínicos, e que a riquetsemia por cerca de dez dias é suficiente para infectar novos carrapatos. Assim, as capivaras desempenham o papel de amplificadores dessa bactéria em ambiente natural, e são hospedeiros eficientes para todos os estágios de vida de *A. sculptum*, principalmente em áreas endêmicas de FMB (Souza *et al.*, 2009; Labruna *et al.*, 2013).

Normalmente, *A. sculptum* parasita cavalos (*Equus ferus caballus*), antas (hospedeiro primário) (*Tapirus terrestres*) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Sua capacidade de parasitar outros hospedeiros é notável, tornando-se uma espécie generalista. Esse comportamento é mais evidente nos estágios imaturos (larva e ninfa), e essa espécie de carrapato pode ser agressiva para os humanos (Aragão, 1936; Labruna *et al.*, 2001; Guglielmone *et al.*, 2006; Martinset *et al.*, 2016; Paula *et al.*, 2022). As ninfas de *A. sculptum* são reportadas como as de maior antropofília documentada no Brasil (Ramos *et al.*, 2014; Szabó *et al.*, 2020).

A espécie *Amblyomma aureolatum* é comumente encontrada parasitando cães, principalmente no instar adulto. Assim, os casos de FMB associados ao *A. aureolatum* tendem a ocorrer em áreas com altitude elevada, onde habitações humanas estão próximas a fragmentos florestais e os cães domésticos têm acesso livre a esses locais

(Labruna; Pereira, 2001; Pinter; Labruna, 2006; Labruna, 2009; Szabó; Pinter; Labruna, 2013; Bitencourth *et al.*, 2021).

Essa espécie de carrapato está associada a habitats muito úmidos e temperaturas subtropicais mais frias, principalmente em áreas da Mata Atlântica (Pinter *et al.*, 2004). Alguns mamíferos carnívoros, como cães (*Canis familiaris*) e a raposa caranguejeira (*Cerdocyon thous*), estão entre os principais hospedeiros da fase adulta de *A. aureolatum* na natureza (Pinter *et al.*, 2004), ao passo que os estágios mais imaturos são normalmente associados a pássaros e pequenos roedores (Pinter *et al.*, 2004).

*R. rickettsii* causa efeito deletério nas fêmeas de *A. aureolatum*. Sendo assim, a transmissão horizontal, com a participação de hospedeiros vertebrados atuando como amplificadores, parece ser essencial para a disseminação e a formação de novas linhagens de carrapatos infectados. Informações adicionais quanto ao potencial de animais que podem atuar como hospedeiros amplificadores nas regiões de transmissão pelo carrapato *A. aureolatum* ainda são desconhecidas (Labruna *et al.*, 2011; Szabó; Pinter; Labruna, 2013).

No estado de Mato Grosso do Sul, diversas espécies de carrapatos já foram reportadas infectadas por bactérias do GFM (tabela 1).

**Tabela 1.** Bactérias do Grupo de Febre Maculosa Brasileira em espécies de carrapatos no estado de Mato Grosso do Sul

Carrapatos	Cepas encontradas	Referências
<i>R. linnaei</i> (antes <i>R. sanguineus</i> )	<i>R. rickettsii</i>	(Almeida <i>et al.</i> , 2012)
<i>A. nodosum</i>	<i>Rickettsia</i> spp. <i>Rickettsia parkeri</i> cepa NOD	(Almeida <i>et al.</i> , 2013, Szabó <i>et al.</i> , 2019)
<i>A. calcaratum</i>	<i>Rickettsia parkeri-like</i>	(Ogrzewalska <i>et al.</i> , 2013)
<i>A. dubitatum</i>	cepa SFG <i>Rickettsia</i>	(Matias <i>et al.</i> , 2015; Higa <i>et al.</i> , 2020)
<i>A. sculptum</i>	cepa SFG <i>Rickettsia</i>	(Matias <i>et al.</i> , 2015; Higa <i>et al.</i> , 2020)
<i>A. parvum</i>	<i>Candidatus Rickettsia andeanae</i>	(Luz <i>et al.</i> , 2019)
<i>A. triste</i>	<i>R. parkeri</i> ss	(Nieri-Bastos <i>et al.</i> , 2013)
<i>A. ovale</i>	<i>R. parkeri</i> Mata Atlântica	(Garcia <i>et al.</i> , 2022)

Fonte: Autoria própria.

### 2.1.3. Sintomas, diagnóstico e tratamento

Dentre os principais sintomas da FMB listados pelo Ministério da Saúde, estão: febre, cefaleia, náuseas e vômitos, gastroenterite e dor abdominal, dor muscular constante, inchaço e vermelhidão nas palmas das mãos e sola dos pés, gangrena nos dedos e orelhas, paralisia dos membros e parada respiratória (Ministério da Saúde, 2022). Com o agravamento da doença, é comum surgirem manchas avermelhadas nos pulsos e tornozelos. Embora essas manchas não provoquem coceira, podem se espalhar para as palmas das mãos, braços ou solas dos pés (Ministério da Saúde, 2022).

O diagnóstico torna-se complicado principalmente nos primeiros dias de infecção, devido à semelhança entre os sintomas, que são inespecíficos, com os sintomas de outras enfermidades, como leptospirose, dengue, hepatite viral, salmonelose, encefalite, malária, meningite, sarampo, lúpus e pneumonia (Ministério da Saúde, 2022).

Dessa maneira, para a realização de um diagnóstico acurado, é essencial a obtenção de informações detalhadas acerca de visitas a ambientes naturais, tais como matas, florestas, fazendas e trilhas ecológicas, onde possa ter ocorrido a eventualidade de uma picada de carrapato (Ministério da Saúde, 2022).

Alguns testes laboratoriais são indicados para diagnóstico específico: Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), sendo este o mais indicado, exame de imunohistoquímica, Polymerase Chain Reaction (PCR) e isolamento da bactéria (Ministério da Saúde, 2022).

O tratamento da FMB consiste no uso de antibióticos. Até o momento, considera-se que as únicas drogas com eficácia reconhecida para o tratamento das infecções causadas por *R. rickettsii* sejam a doxiciclina e o cloranfenicol (Biggs *et al.*, 2016; Oliveira *et al.*, 2017b).

#### **2.1.4. Febre Maculosa: *Rickettsia parkeri***

A *Rickettsia parkeri* foi descoberta em 1937, quando foi isolada do carrapato *Amblyomma maculatum*, coletado de gado no Texas, Estados Unidos (Parker *et al.*, 1939). O primeiro relato de FM no território brasileiro por *R. parkeri* cepa Mata Atlântica ocorreu no ano de 2010, na região litorânea de São Paulo (Spolidorio *et al.*, 2010a), seguido de casos confirmados nos estados de Santa Catarina e Bahia (Silva *et al.*, 2011; Krawczak *et al.*, 2016a).

As enfermidades causadas por *R. parkeri* e *R. rickettsii* são relativamente semelhantes, embora a FM ocasionada pela *R. parkeri* tenha sintomas mais brandos (Paddock *et al.*, 2008).

Se comparada a sintomatologia das duas enfermidades, nota-se que, embora ambos os grupos apresentem sintomas comuns, como febre e manchas (Paddock *et al.*, 2008), a Rickettsiose por *R. parkeri* tende a ter uma presença significativa de escaras de inoculação e uma menor gravidade geral dos sintomas, incluindo ausência de mortalidade. Esta seria uma das maiores diferenças entre as duas doenças (Paddock *et al.*, 2008), pois a FM por *R. rickettsii* apresenta sintomas mais graves (Paddock *et al.*, 2008; Faccini-Martínez *et al.*, 2018).

#### **2.1.5. Carrapatos Vetores: *Rickettsia parkeri***

O carrapato *Amblyomma ovale* pode parasitar humanos (Guglielmone *et al.*, 2003) e, até então, é tido como o principal vetor desse agente infeccioso. A distribuição geográfica dessa riquetsiose está ligeiramente associada à ocorrência de *A. ovale* (Krawczak *et al.*, 2016b). Os registros de sua ocorrência concentram-se principalmente na Mata Atlântica, nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste (Krawczak *et al.*, 2016b; Silva *et al.*, 2011; Spolidorio *et al.*, 2010a), onde a *R. parkeri* cepa Mata Atlântica é a principal cepa responsável pelos casos de FM (Spolidorio *et al.*, 2010a; Krawczak *et al.*, 2016a).

Muitos dos carrapatos *A. ovale* coletados em áreas endêmicas para FM na Mata Atlântica encontram-se infectados com a *Rickettsia sp.* Mata Atlântica. Estima-se que aproximadamente 10% desses espécimes são encontradas infectadas (Barbieri *et al.*, 2014; Szabó; Pinter; Labruna, 2013).

Os espécimes de *A. ovale* podem manter a *Rickettsia sp.* Mata Atlântica de forma transestadial, de um instar para outro, e de forma transovariana, da fêmea para os ovos (Krawczak *et al.*, 2016a). Em adição, essa riquetsia necessita de um hospedeiro amplificador para que ocorra a manutenção desse agente infeccioso na natureza, já que estudos indicam que essa riquetsia causa efeito deletério nas fêmeas de *A. ovale* infectadas (Krawczak *et al.*, 2016a).

Os hospedeiros mais importantes para a espécie *A. ovale* nas regiões de registro de FM são cães domésticos para os carrapatos adultos, e o roedor rato-domato (*Euryoryzomys russatus*) para estágios imaturos (Szabó *et al.*, 2013). Dessa forma, foi demonstrado que o roedor-do-mato pode atuar como um potencial

hospedeiro amplificador de *R. parkeri* cepa Mata Atlântica (Krawczak ; Labruna , 2018). Cerca de 60% das larvas do carrapato *A. ovale* se alimentaram em roedores (*Euryzomatomys russatus*) previamente infestados com ninfas infectadas pela cepa Mata Atlântica e adquiriram a infecção (Krawczak; Labruna, 2018).

Algumas espécies de carrapatos já foram reportadas infectadas com cepas de *R. parkeri*, principalmente *A. ovale*, com a cepa *Rickettsia* sp. Mata Atlântica (Melo *et al.*, 2015; Nieri-Bastos *et al.*, 2016; Krawczak *et al.*, 2016a; Vizzoni *et al.*, 2016; Luz; Faccini; McIntosh, 2017; Acosta *et al.*, 2018) e *Rhipicephalus sanguineus*, cepa *Rickettsia* sp. Mata Atlântica (Moerbeck *et al.*, 2016), *Amblyomma aureolatum*, cepa *Rickettsia* sp. Mata Atlântica (Medeiros *et al.*, 2011).

No estado de Mato Grosso do Sul, as espécies reportadas são: *Amblyomma calcaratum* com *Rickettsia parkeri-like* (Ogrzewalska *et al.*, 2013), *A. nodosum* infectado com a *Rickettsia parkeri* cepa NOD (Szabó *et al.*, 2019), *Amblyomma triste* reportado com *R. parkeri* sensu stricto (Nieri-Bastos *et al.*, 2013) e *A. ovale* com a cepa *R. parkeri* cepa Mata Atlântica (Garcia *et al.*, 2022).

#### **2.1.6. Borreliose: Epidemiologia**

A *Borrelia* é uma bactéria conhecida pela sua notável forma helicoidal, característica esta que faz com que esteja inserida no filo *Spirochaetales*. Em se tratando de patógenos infecciosos para seres humanos, destacam-se: *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii* e *Borrelia burgdorferi* sensu stricto, que são as bactérias responsáveis por causar a Doença de Lyme na Europa, Ásia e América do Norte (Steere; Coburn; Glickstein, 2004).

Atualmente, existem várias espécies identificadas dessas espiroquetas, que são classificadas em dois grandes grupos principais (Cutler; Ruzic-Sabljić; Potkonjak, 2017). O primeiro grupo é o complexo *Borrelia burgdorferi* sensu lato; o segundo grupo, denominado grupo da Febre Recorrente, é composto por espécies responsáveis por diferentes tipos de febre recorrente (Cutler; Ruzic-Sabljić; Potkonjak, 2017).

No Brasil, diversos estudos registraram a presença do DNA de *Borrelia* ou a presença de anticorpos ou antígenos. Para isso, foram utilizadas algumas técnicas e métodos variados, como sorologia, microscopia e PCR. Na região Norte, no município de Castanhal, no estado do Pará (PA), foram detectados anticorpos que indicam exposição a *B. burgdorferi* sensu lato em cães domésticos por sorologia (Pacheco *et*

*al.*, 2016), Em Belém (PA), casos em humanos foram confirmados por métodos clínicos e sorológicos (Rodrigues; Meireles; Braz, 2007).

Em Manaus, no estado de Amazonas, foi encontrado *B. burgdorferi* sensu lato em humanos, utilizando sorologia e microscopia (Talhari *et al.*, 2010). Já em cidades no estado de Tocantins, possível exposição a *Borrelia* sp em humanos foi detectada por meio de métodos clínicos e sorológicos (Carranza-Tamayo; Costa; Bastos, 2012).

No Sudeste, estudos em várias localidades também identificaram *Borrelia*, como no estado do Rio de Janeiro. A exposição ao patógeno *Borrelia* sp foi detectada em humanos por métodos clínicos e sorológicos (Azulay *et al.*, 1991). Em Cotia, no estado de São Paulo, *Borrelia burgdorferi* foi encontrada em humanos, além de *Borrelia* sp em roedores, por sorologia (Abel *et al.*, 2000; Yoshinari *et al.*, 2003; Gouveia *et al.*, 2010).

No estado do Espírito Santo, *B. burgdorferi* foi detectada em cães, cavalos e humanos por sorologia e PCR (Spolidorio *et al.*, 2010b). Nos municípios de Santa Cruz Escavaldo e Pingo D'Água, no estado de Minas Gerais, anticorpos indicativos da exposição a *B. burgdorferi* foram observados em mamíferos silvestres e domésticos pelo método de sorologia (Montandon *et al.*, 2014).

Na região Sul, no estado do Paraná, verificou-se *B. burgdorferi* sensu lato em cães domésticos por sorologia, em Umuarama (Gonçalves *et al.*, 2015); *B. burgdorferi* sensu stricto em *Dermacentor nitens*, pelo método de PCR, no município de Jataí (Gonçalves *et al.*, 2013); ainda no Paraná, indicativos da exposição ao patógeno *B. burgdorferi* foram observados, por sorologia, em cães domésticos, cavalos e humanos (Nascimento *et al.*, 2016), *B. burgdorferi* sensu lato em *Ixodes longiscutatus* por PCR nos municípios de Chuí e Vitória do Palmar, no estado de Rio Grande do Sul (Dall'Agnol *et al.*, 2017).

Na região Centro-Oeste, no estado de Mato Grosso, foi detectada sorologia positiva para *B. burgdorferi* em cavalos (Socoloski *et al.*, 2018). No estado de Mato Grosso do Sul, a presença de *B. burgdorferi* sensu lato foi identificada em humanos por PCR, com reação positiva na sorologia (Lopes *et al.*, 2017) e no carrapato *Rhipicephalus microplus* por PCR (Rezende *et al.*, 2016), além da *Borrelia* sp. relatada em um espécime de *A. sculptum*, por meio da técnica de PCR (Higa *et al.*, 2020).

Apesar dos relatos sobre a *Borrelia* no Brasil, estudos utilizando sorologia baseada em proteínas apontaram várias inconsistências nos resultados diagnósticos. Essas inconsistências, juntamente com a ausência de isolamento da bactéria em

tecidos ou fluidos corporais, evidenciam que, até o presente momento, a doença de Lyme não foi confirmada no país (Oliveira *et al.*, 2018).

#### **2.1.6.1. Borreliose: Sintomas, tratamento e vetores**

A doença é caracterizada por sintomas iniciais entre o 3º e o 30º dias de infecção, com ocorrência de febre, calafrios, dor de cabeça, fadiga, dores musculares e articulares, e erupção cutânea de eritema migratório (CDC, 2024e; Sanchez, 2015). Sintomas posteriores podem ocorrer, causando paralisia facial, palpitações cardíacas, inflamação do cérebro e da medula espinhal (CDC, 2024e; Sanchez, 2015).

Existem alguns fatores que podem alterar a condição sintomática em que o paciente se encontra, bem como a espécie de *Borrelia* pela qual o indivíduo foi infectado. Estudos indicam que sintomas afetando o sistema nervoso são mais comuns em infecções causadas pela *Borrelia garinii*, especialmente na Europa (Stanek; Reiter, 2011; Koedel; Fingerle; Pfister, 2015). Na América do Norte, manifestações que atingem as juntas são mais comuns em infecções ocasionadas por *B. burgdorferi* ss. Já sintomas como dermatites são ligeiramente associadas a infecções por *Borrelia afzelii* (Coipan *et al.*, 2016).

O tratamento consiste no uso de antibióticos; nos estágios iniciais da doença, é comum que ajudem na recuperação rápida e eficaz do paciente. Dentre os medicamentos indicados, estão doxiciclina, amoxicilina ou cefuroxima axetil. A duração do período de tratamento depende de quais sintomas estão se manifestando, da idade do paciente, da presença de alergias e de gravidez (CDC, 2024c).

A transmissão desse patógeno ocorre por meio da picada do carrapato infectado. Os principais vetores conhecidos até então, nas regiões do hemisfério norte, são os carrapatos do gênero *Ixodes*, bem como as espécies: *Ixodes pacificus* e *Ixodes scapularis* na América do Norte, e *Ixodes ricinus* e *Ixodes persucatus* na Europa (Diuk-Wasser; Vannier; Krause, 2016).

Embora os vetores conhecidos para as diversas espécies de *Borrelia* sejam os carrapatos do gênero *Ixodes*, estudos moleculares indicam que as espécies *R. linnaei*, *Amblyomma americanum*, *Dermacentor variabilis*, *Dermacentor andersoni*, e *Haemaphysalis longicornis* foram reportadas com a bactéria *B. burgdorferi*. No entanto, nenhuma dessas espécies foi, de fato, confirmada como vetor desse agente infeccioso (Breuner *et al.*, 2020; Elhelw *et al.*, 2021; CDC, 2024a).

O notável envolvimento dos carrapatos na transmissão desses agentes infecciosos foi reconhecido durante os anos 1980. Isso ocorreu quando investigações

de casos clínicos da doença de Lyme na Europa associaram os carrapatos como potenciais vetores da doença (Weber, 2001).

### **2.1.7. Babesiose humana: Epidemiologia, sintomas e vetores**

No tocante aos patógenos transmitidos por carrapatos aos humanos, as espécies de *Babesia* podem acarretar sérias implicações na saúde humana, como *Babesia microti*, *Babesia divergens*, *Babesia venatorum*, *Babesia duncani* e *Babesia crassa-like*, especialmente em países como Estados Unidos, Canadá e China, onde se observa um aumento significativo no número de casos relatados (Bajer; Dwuznik-Szarek, 2021).

No ano de 2011, a babesiose passou a ser considerada de notificação nos Estados Unidos pelos *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC). Desde então, um total de 18.294 casos foram reportados até o ano de 2020 (CDC, 2024a), tornando-se uma preocupação global crescente, devido ao seu caráter emergente (Antunes *et al.*, 2017).

De acordo com CDC, a ocorrência de *Babesia* em países que são endêmicos para a malária é pouco conhecida. A dificuldade de identificação da *Babesia* decorre da presença de *plasmodium*, que pode ser confundido erroneamente com *Babesia* (CDC, 2024d)

Na Europa, grande parte dos relatos de babesiose é devido a *B. divergens*, em pacientes esplenectomizados. Nas regiões Nordeste e Centro-Oeste dos Estados Unidos, os agentes comumente encontrados são a *B. microti* e a *B. ducani*, com registros em Washington e na Califórnia (CDC, 2024d).

No Brasil, há alguns relatos de babesiose em humanos, com casos no estado de Pernambuco, diagnosticados pelo exame direto de lâminas de sangue, que constatou a presença de *Babesia* spp. Esse foi o primeiro relato de babesiose em humanos no território brasileiro (Alecrim *et al.*, 1983). Outro relato se deu no estado do Rio Grande do Sul, onde exames microscópicos de esfregaços de sangue revelaram a presença de *Babesia microti* em uma criança de dois anos de idade, imunocomprometida. Esse caso ocorreu de forma assintomática (Rech *et al.*, 2004).

Os sintomas podem ter início uma semana após a infecção, desenvolvendo-se por semanas e até meses. Normalmente, pessoas com babesiose são assintomáticas, embora possam surgir sintomas parecidos com os da gripe (CDC, 2024b)

Pessoas imunocomprometidas podem desenvolver complicações mais graves, como anemia hemolítica, quando seus glóbulos vermelhos são destruídos mais rapidamente do que podem ser substituídos, com contagem de plaquetas muito baixa (trombocitopenia), insuficiência respiratória aguda, insuficiência cardíaca congestiva, e insuficiência renal, podendo levar à morte (Wormser *et al.*, 2006; CDC, 2024b). Para o diagnóstico, são indicados exame microscópico de esfregaços de sangue e métodos moleculares e/ou sorológicos adaptados ao ambiente/espécie (CDC, 2024b).

De acordo com CDC, o tratamento normalmente envolve o uso de, pelo menos, dois medicamentos prescritos de sete a dez dias, sendo atovaquona+ azitromicina, preferencialmente, e clindamicina+ quinina, para um tratamento alternativo (CDC, 2024b).

Em pacientes imunocomprometidos, a duração do período de medicação é maior, por pelo menos seis semanas consecutivas ou mais. Em adição, de forma geral, o tratamento pode variar de acordo com o estágio da doença, como pacientes com doença leve a moderada ou aguda grave (CDC, 2024b).

Estudos mostram que, além da transmissão pela picada do carrapato infectado, a babesiose também pode ser transmitida por transfusão de sangue contaminado e até mesmo de forma congênita, durante a gravidez (Antunes *et al.*, 2017).

As espécies de carrapatos envolvidas na disseminação desse agente infeccioso são, principalmente, espécies do gênero *Ixodes*, bem como *Ixodes scapularis*, *Ixodes persulcatus*, e *Ixodes ricinus* (Krause, 2019).

#### **2.1.8. Babesiose animal: Epidemiologia, sinais clínicos e vetores**

Em contrapartida, o protozoário *Babesia* (Gray; Estrada-Peña; Zintl, 2019) é o segundo parasita mais comumente encontrado no sangue de mamíferos, depois dos tripanossomas (YAO *et al.*, 2023). Os carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus*, até então, são os principais vetores desse patógeno (BOCK *et al.*, 2004; Antunes *et al.*, 2017; Gray; Estrada-Peña; Zintl, 2019).

A babesiose ocasionada em animais de produção é uma doença que vem se destacando nos últimos anos, devido ao grande impacto na medicina humana, na medicina veterinária e na área econômica (Zhou *et al.*, 2016; Bajer; Dwuznik-Szarek, 2021).

Dentre as diversas espécies de *Babesia* que afetam os animais de companhia, ressaltam-se *Babesia canis*, *Babesia rossi*, *Babesia vogeli*, *Babesia gibsoni*, *Babesia*

*conradae*, e *Babesia vulpes*, causadoras de graves problemas de saúde em cães. Já para equinos, a infecção por *Babesia caballi* e *Babesia equi* é comum, podendo levar esses animais a óbito (Antunes *et al.*, 2017; Laha; Das; Sen, 2015).

As espécies de *Babesia* que infectam bovinos, como *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, responsáveis pela babesiose bovina, resultam em perdas consideráveis na pecuária, incluindo redução na produção de leite e de carne, abortos, mortalidade e altos custos associados ao controle dos vetores, bem como ao manejo de animais doentes (Laha; Das; Sen, 2015).

No Brasil, os casos de babesiose provocados por *B. bovis* e *B. bigemina* são registrados desde o estado do Pará, no Norte do Brasil (Silva *et al.*, 2014), até a região Sul (Antoniassi *et al.*, 2009; Lucena *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2017a), passando pela região Nordeste (Barros *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2013; Santos *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2018), Sudeste (Cunha *et al.*, 2002; D' Andrea *et al.*, 2006), e Centro-Oeste (Kessler, 1983; Pupin *et al.*, 2019; Ramos *et al.*, 2020; Santos; Linhares; Madruga, 2001). Abrangem diversos biomas brasileiros, demonstrando ampla distribuição geográfica no Brasil.

Os sinais clínicos mais comuns que a Babesiose pode causar nos animais são: quadros febris, anemia aguda, icterícia, letargia e fraqueza, e perda de apetite, podendo levar a óbito, em alguns casos (Martins *et al.*, 2022).

Dentre as formas de diagnósticos, é comum o uso de teste sorológicos como RIFI e Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA), já que os anticorpos gerados durante a resposta imune ao parasita permanecem no soro dos bovinos por longos períodos (Madruga *et al.*, 2000; Juliano *et al.*, 2007).

No território brasileiro, o vetor conhecido desse patógeno é o carrapato *R. microplus*, popularmente chamado de carrapato-do-boi (Martins *et al.*, 2022), denominação decorrente da sua forte preferência por gado, causando grandes perdas econômicas na cadeia produtiva de bovinos (Grisi *et al.*, 2014).

Embora a *B. bigemina* afete preferencialmente os bovinos, estudos recentes demonstram a presença desse patógeno em cães, o que aponta que outros animais podem estar atuando como sentinelas desse agente infeccioso (Bravo-Ramos *et al.*, 2022).

Em contraste, novas descobertas acerca do protozoário *B. bigemina* vêm sendo consideradas. Há indícios moleculares da presença desse protozoário em seres humanos, em casos isolados na Colômbia e no Equador (Ríos; Alvarez; Blair, 2003;

Gonzalez *et al.*, 2018; Espinosa-Muñoz *et al.*, 2022; Calvopiña *et al.*, 2023). Ainda que esses estudos sejam preliminares ou inconclusivos, trouxeram informações alarmantes em relação a esse agente infeccioso.

Estudos recentes evidenciaram diferentes espécies de *Babesia* infectando carrapatos do gênero *Amblyomma*. A espécie *Babesia* sp. cepa capybara, por exemplo, foi encontrada nos carrapatos *A. sculptum* e *A. dubitatum* (Neves *et al.*, 2023), e a *Babesia goianiaensis* nov. sp. foi detectada em capivaras e carrapatos do gênero *Amblyomma* (Krawczak *et al.*, 2023).

Inúmeras descobertas estão sendo realizadas, principalmente a respeito de diferentes espécies de agentes infecciosos em carrapatos que não haviam sido reportados. Mas ainda é imprescindível que mais estudos sejam realizados nessa área, com o intuito de preencher lacunas a respeito da disseminação de agentes infecciosos e da sua interação com diferentes espécies de carrapatos, hospedeiros e ambiente, nos mais variados biomas brasileiros.

### **3. JUSTIFICATIVA**

Este estudo fornece um conhecimento abrangente sobre a distribuição da fauna de carrapatos do Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida (PNMLC), mostrando a importância de investigações que envolvam a coleta e a identificação desses ectoparasitas, já que estão intimamente associados à transmissão de patógenos, tanto pra os humanos quanto para os animais.

O PNMLC é motivo de grande preocupação para as autoridades competentes em saúde única, graças ao grande fluxo de pessoas que frequentam o local e que acabam tendo contato próximo com animais silvestres, como capivaras e pequenos mamíferos que transitam nas áreas dentro do parque. Devido à interface que o PNMLC tem com a área urbana do município de Aquidauana, a circulação de pessoas e animais domésticos dentro do parque é facilitada, o que pode resultar na propagação de carrapatos para o ambiente urbano e também, possivelmente, na disseminação de patógenos.

### **4. OBJETIVO**

#### **4.1. Objetivo geral**

- Descrever a composição da fauna de carrapatos e investigar a presença de patógenos associados a esses carrapatos no PNMLC.

#### **4.2. Objetivos específicos**

- Caracterizar os carrapatos coletados de vida livre presentes no PNMLC.
- Avaliar a abundância e a riqueza de diferentes espécies de carrapatos presentes no PNMLC.
- Investigar a possível presença de DNA dos agentes infecciosos *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., e *Babesia* spp. em carrapatos de vida livre no PNMLC.

## **5. METODOLOGIA**

### **5.1. Área de estudo**

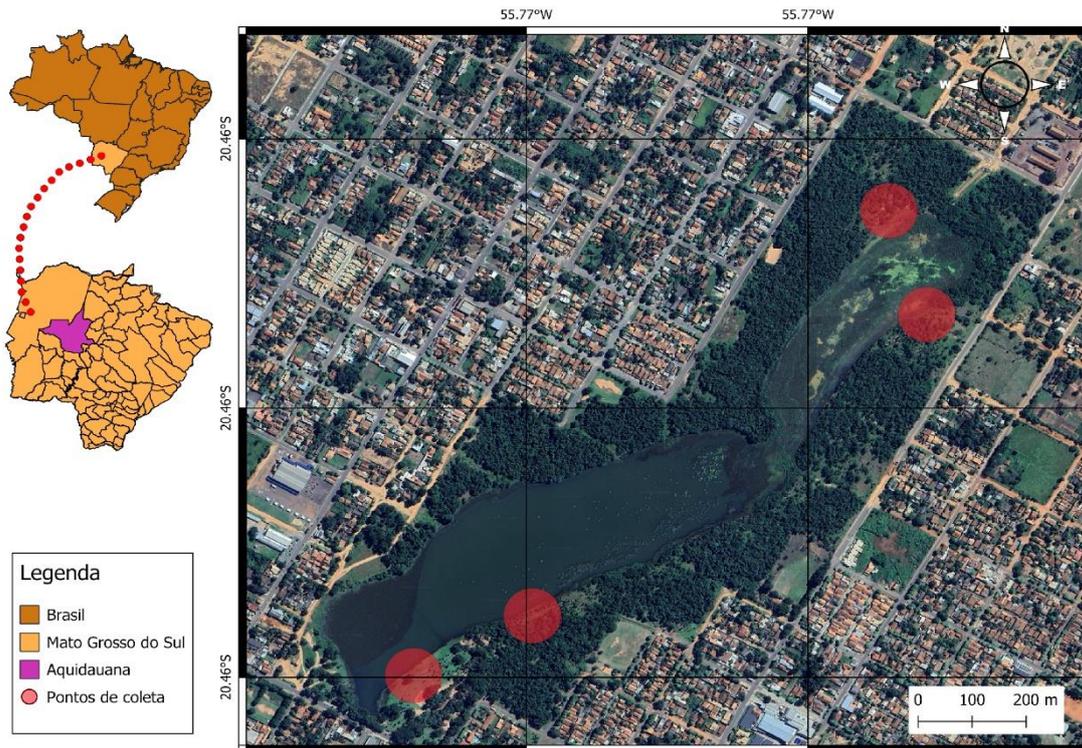
O município de Aquidauana, situado no estado de Mato Grosso do Sul (figura 2), assume uma posição estratégica como a porta de entrada para o Pantanal, uma região de imensa relevância ecológica (Sontag; Mello, 2013).

O Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida (PNMLC) (figura 2) ocupa uma área dentro da zona urbana de Aquidauana-MS. A localização urbana coloca o parque em estreita proximidade com muitas residências da comunidade local.

Quando se observa a extensão territorial do PNMLC, que abrange uma área de aproximadamente 74.000 hectares (Sontag; Mello, 2013), nota-se uma característica marcante: a presença limitada de vegetação natural, com predominância de pastagens, além de pequenos remanescentes de cerrado.

Esse cenário revela um grau marcante de influência humana e antropização sobre a paisagem do local. No ambiente, um espaço usado para lazer, também se verificam atividades como caça de animais de pequeno porte.

**Figura 2.** Mapa da localização do Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida



Fonte: Autoria própria. (Software QGIS)

## 5.2. Coleta de carrapatos

Foram realizadas coletas bimestrais ao longo do ano de 2023, totalizando seis coletas, distribuídas em quatro pontos distintos no PNMLC. As coletas foram realizadas de acordo com autorização do Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) N° A23A78E e da Secretaria de Meio Ambiente (SEMA) do município de Aquidauana.

A metodologia empregada para a coleta dos carrapatos incluiu duas técnicas principais: arraste de flanela e visualização.

Na técnica de arraste de flanela, um pano de flanela foi arrastado cuidadosamente sobre a vegetação, em áreas previamente determinadas, com o objetivo de capturar os carrapatos que se encontravam em contato com essas superfícies.

A técnica de visualização envolveu a inspeção minuciosa de áreas específicas da vegetação, examinando folhas, arbustos rasteiros, bosques e matas, nos quais os espécimes podem ser localizados sob ou no ápice das folhas. Com essa metodologia,

é possível capturar principalmente aglomerados de larvas (Andreotti; Koller; Garcia, 2016).

Após a coleta, os carrapatos foram cuidadosamente armazenados, para preservar a sua viabilidade, e transportados vivos para o Laboratório de Biologia dos Carrapatos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) Gado de Corte, localizado em Campo Grande - MS.

No laboratório, a identificação dos ectoparasitas foi realizada utilizando chaves dicotômicas de identificação para o estágio adulto das espécies do gênero *Amblyomma* koch (1844), que ocorrem no Brasil modificadas (Barros-Battesti; Aruza; Bechara, 2006 e Dantas-Torres *et al.*, 2019). Também foram usadas chaves dicotômicas de identificação para o instar ninfa (Martins *et al.*, 2010).

### 5.3. Extração de DNA

O procedimento de extração do DNA de carrapatos foi realizado de forma individual, seguindo protocolo adaptado (Regitano; Coutinho, 2001), (Anexo - A). As amostras foram quantificadas por espectrofotometria (NanoDrop One-Thermo Scientific) e diluídas a 100 ng para a realização da Polymerase Chain Reaction (PCR). Inicialmente, a PCR foi realizada com pool de amostras, otimizando o processo de análise genética.

### 5.4. Análise PCR

As amostras foram submetidas à análise molecular, visando à identificação de patógenos específicos, *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp., e *Babesia* spp. Para a detecção do gênero *Rickettsia*, empregaram-se os primers CS78F e CS323R (Labruna *et al.*, 2004), que amplificam uma região específica do gene do citrato sintase (*gltA*).

Os primers Rr190.70 e Rr190.602 (Regnery; Spruill; Plikaytis, 1991) amplificam um fragmento de 530 pb do gene *ompA* e essa região é usada para diferenciar e identificar espécies dentro do grupo da Febre Maculosa. Dessa forma, cada espécie de *Rickettsia* pode ter variações nessa região do gene *ompA*, propiciando uma análise mais detalhada (Regnery; Spruill; Plikaytis, 1991; Higa *et al.*, 2020).

No caso da *Borrelia* spp., foram usados os primers flgE-F e flgE-R, que amplificam uma região específica do gene *flgE*, que codifica a "flagellar hook" (gancho flagelar) em *Borrelia burgdorferi*, resultando em uma identificação específica da

espécie *Borrelia burgdorferi* (Sal *et al.*, 2008; Higa *et al.*, 2020). Foram também utilizados os primers FlaRL e FlaLL, para detecção do gênero *Borrelia*, para amplificação seletiva dos genes *flaB*, *glpQ*, *hpt* (Mccoy; Maïga; Schwan, 2014).

Quanto à *Babesia* spp., foram usados os primers KB-16 e KB-17, que amplificam inicialmente um fragmento do gene 18s, comum tanto na *Babesia bigemina* como na *Babesia bovis*, que produzem um produto de PCR de 600 pb (Guerrero *et al.*, 2007).

Para a realização da PCR, foi utilizada a seguinte concentração dos reagentes: tampão 1X (10X); 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 0,2 mM de dNTPs (Invitrogen by life technologies<sup>TM</sup>); 0,5 µM de primer forward e reverse (10 µM); 1,0 unidades de Taq DNA Polymerase (Cellco Biotech); 100 ng de DNA e água ultrapura para completar um volume final de 25 µl. As reações foram realizadas em termociclador T100 thermal cycler (Bio Rad); após amplificação, os produtos foram visualizados em gel de agarose a 1,5% corado com brometo de etídio (EtBr).

As amostras foram agrupadas em pools durante o processo de PCR. Posteriormente, os pools que resultaram positivos foram submetidos a uma nova rodada de PCR. Desta vez, as amostras foram analisadas individualmente. Ou seja, cada amostra contida nos pools positivos foi submetida a uma PCR independente, para uma confirmação mais precisa dos resultados.

As amostras que produziram o tamanho esperado do produto de PCR para *Babesia* spp. foram purificadas usando o kit PureLink Quick Gel Extraction (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific), de acordo com o protocolo.

As amostras de DNA foram encaminhadas para serem sequenciadas no centro de pesquisa René Rachou FIOCRUZ Minas Gerais, em um sequenciador automático (ABI 3730 DNA Analyzer, Applied Biosystems), com um sistema de análise de DNA de 48 capilares. As análises moleculares foram conduzidas com o uso do software MEGA versão 11 (Tamura; Stecher; Kumar, 2021).

### **5.5. Análise Filogenética**

As sequências utilizadas foram alinhadas utilizando a ferramenta Clustal W, com o software MEGA X versão 10.2.2. Uma árvore de máxima verossimilhança inferida no RAxML (Stamatakis, 2014) foi implementada, por meio do raxmlGUI 2.0 (EDLER *et al.*, 2021). A análise foi realizada utilizando ML + bootstrap rápido com o modelo de

substituição TrN + G4 e 1000 réplicas de bootstrap. O modelo de substituição foi testado com o Modeltest (Darriba *et al.*, 2020) no raxmlGUI 2.0.

A sequência do gene 18S rRNA (XR 001974445.1) do RNA ribossômico de *Toxoplasma gondii* ME49 foi usada como um grupo externo. Outras espécies foram incluídas para comparação, como: *Babesia goianiaensis* clone 51080.5 (GenBank: OR149999.1), *Babesia goianiaensis* clone 42680 (GenBank: OR149995.1), *Babesia* sp. isolado Capybara (GenBank: OP714347.1).

## 6. Resultados

Durante o período do estudo, foram coletados 1.216 carrapatos em seis coletas alternadas durante o ano de 2023. Após a identificação de cada espécime ao menor nível taxonômico possível, evidenciou-se a predominância de duas espécies, *Amblyomma sculptum*, e *Amblyomma dubitatum* (figura 3), embora em menor quantidade (tabela 2).

Com isso, foram identificadas 143 fêmeas, 127 machos e 353 ninfas, todos pertencentes à espécie *A. sculptum*. Adicionalmente, registrou-se a presença de 20 carrapatos da espécie *A. dubitatum* na área de estudo, contabilizando quatro fêmeas, dois machos e 14 ninfas dessa espécie (tabela 2).

Foram coletadas 541 larvas e 32 ninfas, cuja identificação foi possível apenas em termos do gênero, sendo agrupadas como *Amblyomma* spp. Essa restrição na identificação decorreu da complexidade inerente à distinção de carrapatos em suas fases juvenis e das condições morfológicas em que se encontravam os carrapatos. Apesar dessa complexidade na identificação, salienta-se que essas amostras foram igualmente incorporadas ao levantamento (tabela 2).

Durante as coletas, a predominância de adultos de *A. sculptum* foi observada no verão (figura 5), alcançando um total de 139 exemplares e, no outono, com o total de 109. Ainda no verão, foram coletados quatro adultos de *A. dubitatum*, enquanto que, no outono, encontrou-se um único espécime de *A. dubitatum* (tabela 2).

Em contraste, associada à estação de inverno, nos meses de junho e agosto, a presença de adultos foi menos expressiva, com apenas 13 espécimes de *A. sculptum*, juntamente com um exemplar de *A. dubitatum* (figura 4).

Marcando a estação primavera, nove espécimes adultos de carrapatos foram

coletados e identificados como *A. sculptum*; nenhum *A. dubitatum* adulto foi encontrado nessa estação (tabela 2). No verão, apenas duas ninfas foram coletadas e identificadas como *Amblyomma* spp; no outono, apenas uma ninfa foi encontrada e identificada como *Amblyomma* spp. (tabela 2).

Nos meses de junho e agosto, referentes ao inverno, foi coletado um total de 315 ninfas de *A. sculptum*, além de 29 ninfas cuja identificação não foi possível em termos de espécie, uma vez que a integridade morfológica dos espécimes estava comprometida. Sendo assim, foram identificadas como *Amblyomma* spp.

Doze ninfas foram identificadas como *A. dubitatum*. Na primavera (novembro e dezembro), foram coletadas 38 ninfas de *A. sculptum* e duas ninfas de *A. dubitatum* (figura 4.). As larvas estiveram presentes somente durante as estações de outono (abril n: 125) e inverno (junho n: 416), somando um total de 541 larvas identificadas como *Amblyomma* spp.; nas demais estações, não foi encontrada nenhuma larva (figura 4).

**Tabela 2.** Total de carrapatos coletados por espécie, estação e instar, no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana-MS

Estação	<i>Amblyomma</i> spp.		<i>Amblyomma sculptum</i>			<i>Amblyomma dubitatum</i>			Total
	Larva	Ninfas	Ninfas	Macho	Fêmea	Ninfas	Macho	Fêmea	
Verão	0	2	0	69	70	0	2	2	145
Outono	125	1	0	42	67	0	0	1	236
Inverno	416	29	315	8	5	12	0	1	786
Primavera	0	0	38	8	1	2	0	0	49
Total	541	32	353	127	143	14	2	4	1216

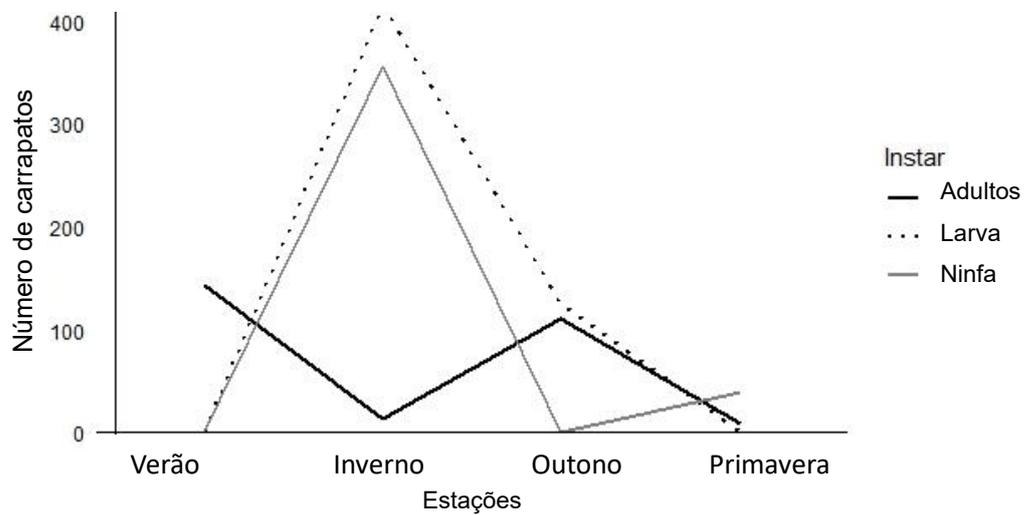
Fonte: Autoria própria.

**Figura 3.** (A) espécime macho de *A. sculptum*, (B) espécime fêmea de *A. sculptum*, (C) espécime fêmea de *A. dubitatum*, (D) Ninfas de *Amblyomma* spp.



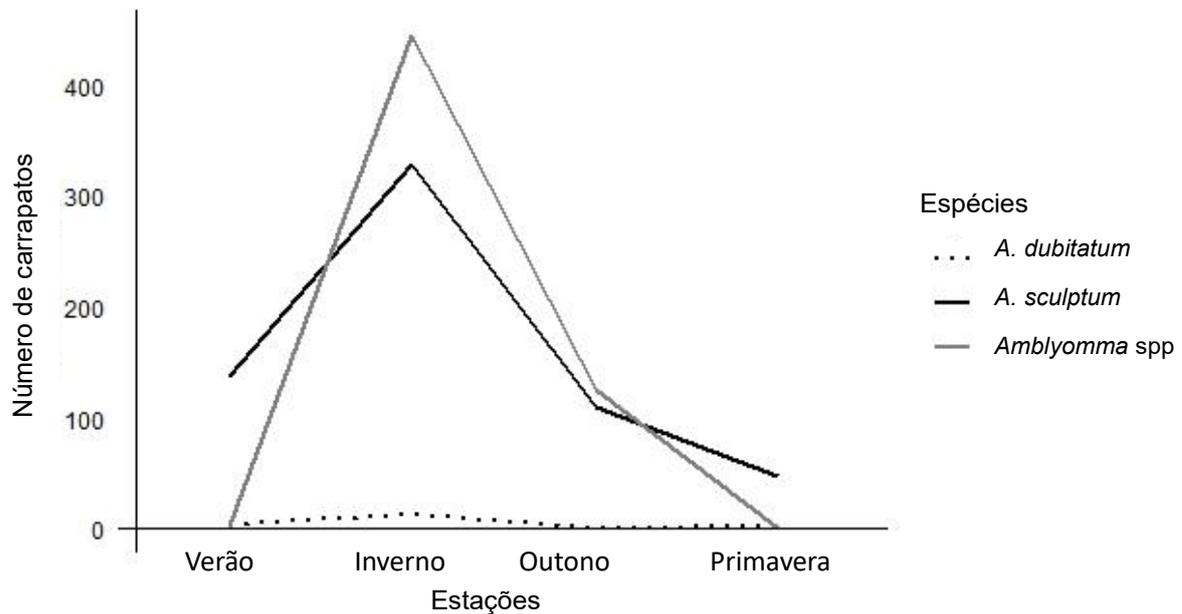
Fonte: Autoria própria.

**Figura 4.** Abundância de carrapatos coletados por estação no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana-MS.



Fonte: Autoria própria

**Figura 5.** Número de carrapatos coletados por espécie e estação no Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida, Aquidauana, MS



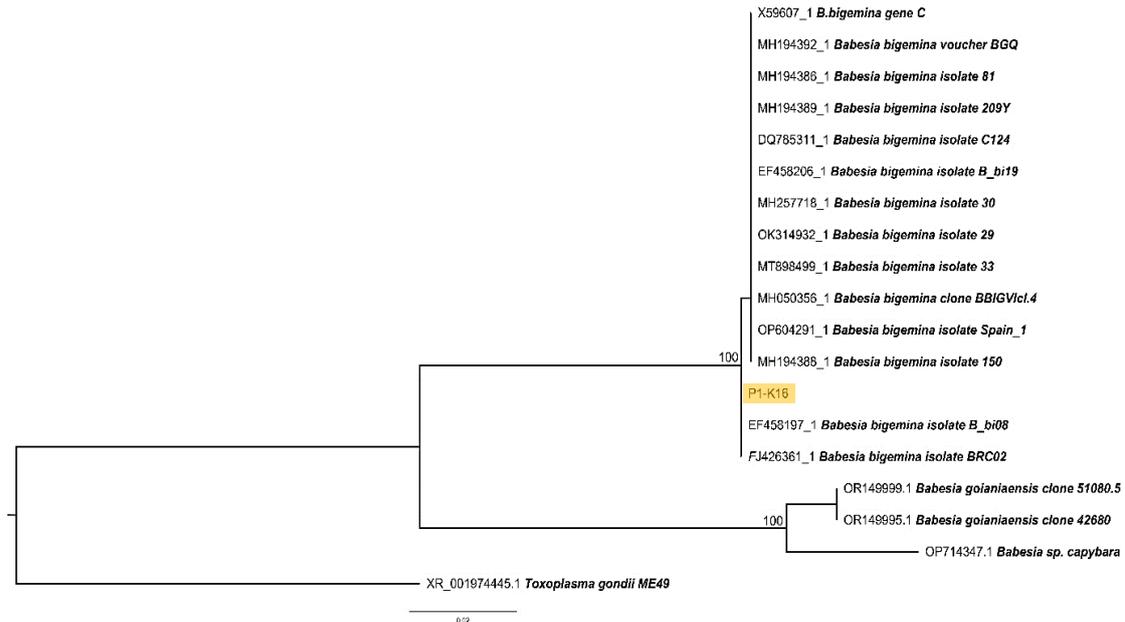
Fonte: Autoria própria

Após a realização das análises moleculares em 100% das amostras coletadas, determinou-se que, para os patógenos *Rickettsia* spp. e *Borrelia* spp., nenhuma amostra apresentou o DNA dos patógenos por PCR realizada. Entretanto, 31 (2,55%) das amostras coletadas apresentaram positividade para o gênero *Babesia* spp. Após sequenciamento, uma amostra exibiu correspondência de 100% com outras sequências da espécie *Babesia bigemina* já depositada no GenBank, a saber, F458197.1 e FJ426361.1.

A sequência de consenso das amostras analisadas foi depositada no GenBank, onde podem ser acessadas sob o número de acesso OR395408. Das 31 amostras positivas para o gênero *Babesia*, 30 são provenientes de carrapatos adultos de *A. sculptum*. Contudo, ao realizar o sequenciamento, identificou-se que a amostra contendo o patógeno *B. bigemina* é originária de um exemplar de *A. sculptum*.

A partir desses resultados, uma árvore filogenética da espécie *B. bigemina* encontrada neste estudo foi construída (figura 6).

**Figura 6.** Árvore filogenética da espécie *B. bigemina* (GenBank: OR395408) baseada em um alinhamento de 600 pares de bases do gene 18S rRNA. A árvore de máxima verossimilhança foi inferida usando RAxML. O suporte do ramo de 100% é exibido (com base em 1000 replicatas de bootstrap). A sequência gerada neste estudo está intitulada **P1-K16**. A sequência do gene 18S rRNA (XR 001974445.1) do RNA ribossômico de *Toxoplasma gondii* ME49 foi usada como um grupo externo, e outras espécies foram incluídas para comparação, como: *Babesia goianiaensis* clone 51080.5 (GenBank: OR149999.1), *Babesia goianiaensis* clone 42680 (GenBank: OR149995.1), *Babesia* sp. isolado Capybara (GenBank: OP714347.1).



Fonte: Autoria própria.

## 7. Discussão

Neste estudo, a espécie *A. sculptum* destacou-se no tocante à quantidade de espécimes encontrados. Ressalta-se que o carrapato *A. sculptum* se encontra extensamente distribuído, na Bolívia, no Paraguai, na Argentina e no Brasil, com destaque para ocorrência nos biomas Cerrado e Pantanal, além de áreas consideravelmente degradadas da Mata Atlântica. Assim, a verificação desse carrapato no PNMLC no Município de Aquidauana reforça o fato de que tal espécie é comumente encontrada em ambientes de cerrado (Nava *et al.*, 2014; Paula *et al.*, 2022).

Devido à sua eminente capacidade de adaptação a ambientes influenciados pela atividade humana, *A. sculptum* é frequentemente encontrado em áreas próximas às habitações humanas (Paula *et al.*, 2022). Considerando que o PNMLC está localizado dentro da zona urbana do município de Aquidauana, onde existem não só

moradias, mas também escolas e áreas de recreação próximas ao parque, a interação humano-animal-vetor-ambiente pode aumentar, proporcionando um maior risco de exposição aos patógenos de caráter zoonótico (Gortazar *et al.*, 2014).

Embora *A. sculptum* prefira animais como cavalos (*Equus ferus caballus*), antas (*Tapirus terrestres*) e capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), é uma espécie relativamente generalista quanto aos seus hospedeiros. Esse comportamento é mais evidenciado nos estágios de larva e ninfa, e essa espécie de carrapato pode ser significativamente agressiva para os humanos (Aragão, 1936; Labruna *et al.*, 2001; Guglielmone *et al.*, 2006; Martins *et al.*, 2016; Paula *et al.*, 2022).

No PNMLC, é comum encontrar uma variedade de animais, incluindo capivaras, marsupiais (*Didelphis marsupialis*), tatus (*Euphractus sexcinctus*, *Dasyus novemcinctus*) e cutias (*Dasyprocta variegata*, *Dasyprocta leporina*).

A presença desses animais é fundamental na manutenção da população do carrapato *A. sculptum*, uma vez que eles podem atuar como hospedeiros da espécie. Isso, por sua vez, facilita a propagação e a persistência desses carrapatos no ambiente, e por isso os animais hospedeiros desempenham um papel crucial na dinâmica das populações de carrapatos dentro do PNMLC (Nava *et al.*, 2010; Matias *et al.*, 2015).

Em âmbito nacional, o carrapato *A. sculptum* assume um papel de extrema relevância em saúde pública. Isso se deve ao fato de que é reconhecido como o principal vetor da bactéria *R. rickettsii*, o agente causador da FMB (Labruna, 2009; Higa *et al.*, 2022; Lima *et al.*, 2023).

Considerando a alta ocorrência da espécie no PNMLC durante o ano de 2023, os picos de carrapatos de *A. sculptum* foram mais evidentes nas estações de inverno, para ninfas (n: 315). Com base nisso, esses resultados são semelhantes aos observados em outra pesquisa (Garcia *et al.*, 2022), assim como se registrou em outro estudo, na região de Mato Grosso do Sul, onde os picos mais elevados do estágio de ninfa também foram verificados durante a estação inverno (Matias *et al.*, 2018).

Em adição, os adultos foram encontrados em maior quantidade na estação verão (n: 139) e outono (n: 109). Neste estudo, o pico registrado no verão, difere de alguns estudos publicados (Garcia *et al.*, 2022; Matias *et al.*, 2018), onde o pico de

adultos foi registrado na primavera, embora outra investigação também tenha relatado alguns picos na estação outono (Matias *et al.*, 2018).

Foram encontrados espécimes adultos em todas as estações, embora em algumas em menor quantidade, Tal achado também corrobora outros estudos (Matias *et al.*, 2018; Garcia *et al.*, 2022) e demonstra que podem ocorrer variações entre os achados, dependendo de cada região.

Apesar dessas diferenças, os picos de adultos de *A. sculptum* estão dentro do padrão já publicado na literatura (Paula *et al.*, 2022). Dessa forma, os resultados deste estudo reforçam o fato de que, na região Centro-Oeste, *A. sculptum* apresenta um padrão de sazonalidade similar ao de outras regiões brasileiras; sugere-se que *A. sculptum* realiza uma geração por ano (Barbieri *et al.*, 2019; Dantas-Torres *et al.*, 2021).

A quantidade de larva encontrada foi maior no inverno, quando foi coletado um total de 416 larvas, seguido de 125 larvas no outono. Ambos os picos corroboram resultados anteriormente divulgados (Garcia *et al.*, 2022; Paula *et al.*, 2022), em que os aglomerados de larvas também foram encontrados apenas no outono e no inverno. Isso está intimamente ligado ao fato de que esse carrapato completa uma geração anual, fazendo com que ocorram padrões de sazonalidade como este.

A espécie *A. dubitatum*, embora encontrada em menor quantidade (n: 20), também é uma espécie de grande interesse. Tal espécie tem nas capivaras seu hospedeiro preferencial, em todas as fases de vida. Dessa forma, *A. dubitatum* está fortemente associado à presença desses animais, embora, em estágios mais imaturos, também se alimente de outros pequenos mamíferos (Coelho *et al.*, 2016; De Sá *et al.*, 2018; Szabó *et al.*, 2018).

No PNMLC, a presença de capivaras é notável, o que corrobora informações já publicadas a respeito da biologia comportamental dessa espécie e enfatiza o papel essencial das capivaras na manutenção do ciclo de vida de *A. dubitatum*.

*A. dubitatum* ganha relevância devido à sua proximidade com capivaras, que são potenciais amplificadores de *R. rickettsii*. Embora a capacidade vetorial desse carrapato ainda seja pouco conhecida, alguns estudos indicam evidências moleculares da presença de DNA de *Rickettsia* sp. em *A. dubitatum* infectado por espécies de *Rickettsia* pertencentes ao grupo da FM. Em um cenário experimental,

essa espécie pode ser demonstrada como vetor de *R. rickettsii* (Sakai *et al.*, 2014; Matias *et al.*, 2015).

No entanto, foi demonstrado que as fêmeas não possuem a capacidade de passar adiante a bactéria de forma transovariana. Sendo assim, não sustentam *R. rickettsii* por muitas gerações consecutivas (Sakai *et al.*, 2014; Matias *et al.*, 2015).

Ao contrário de *A. sculptum*, a presença de *A. dubitatum* é frequentemente observada em ambientes mais úmidos, em proximidade a áreas alagadas. Isso se deve ao fato de que essas regiões são locais frequentados por capivaras, o que, por sua vez, favorece a disseminação de carrapatos da espécie *A. dubitatum* (Szabó *et al.*, 2006; Queirogas *et al.*, 2012).

O PNMLC possui características tanto em condições climáticas e ambientais, como de disponibilidade de hospedeiros, que favorecem a disseminação e a coexistência de ambas as espécies de carrapatos.

Durante as estações do ano, não houve coleta de grandes quantidades de *A. dubitatum*. Essa espécie destacou-se discretamente no estágio de ninfa (n: 12), coletado nos períodos de inverno e primavera (n: 2). Um resultado semelhante foi encontrado em estudo recente (Garcia *et al.*, 2022), também conduzido em áreas do município de Aquidauana- MS, onde o número de ninfa de *A. dubitatum* encontrado foi extremamente baixo durante o inverno, porém sem registro na primavera.

Já os adultos desta espécie foram encontrados no verão (n: 4), inverno (n: 1) e outono (n:1). Esses achados corroboram outro estudo (Matias *et al.*, 2018), no qual também foram detectada baixas quantidades de *A. dubitatum* nessas estações (tabela 2).

A quantidade de *A. sculptum* sobressai-se em relação a *A. dubitatum*. Resultados semelhantes são vistos em estudos que indicam a prevalência de ambas as espécies (Luz *et al.*, 2019; Matias *et al.*, 2018).

Embora a razão exata para essa disparidade ainda seja pouco compreendida, alguns estudos relatam que tal diferença na quantidade de *A. sculptum* em relação a *A. dubitatum* em uma mesma área se deve à maior facilidade de adaptação de *A. sculptum* a diferentes ambientes, principalmente a locais urbanizados (Paula *et al.*, 2022), diferentemente de *A. dubitatum*, que pode ser considerado mais especificista e se destaca melhor em ambientes mais preservados (Dantas-Torres *et al.*, 2021;

Labruna , 2017). Esses resultados também são evidentes em outros estudos da região (Matias *et al.*, 2015, 2018).

As análises moleculares evidenciaram a presença do DNA do protozoário *Babesia bigemina* infectando carrapato adulto da espécie *A. sculptum*. A partir dessa evidência, uma análise filogenética (figura 6) apresentou similaridade de 100% com as amostras já depositadas no Genbank.

A *Babesia bigemina*, assim como *Babesia bovis* e *Babesia divergens*, é responsável por causar uma enfermidade chamada babesiose bovina, que acomete principalmente o gado, causando perdas econômicas significativas na indústria pecuária em todo o mundo (Hamšíková *et al.*, 2016; Gray; Estrada-Peña; Zintl, 2019).

Espécies do gênero *Amblyomma* não estão relacionadas á disseminação de *B. bigemina*, nem há registros na literatura que indiquem a presença destes protozoários infectando espécies como *A. sculptum* (Antunes *et al.*, 2017). Dessa forma, este estudo traz o primeiro registro de infecção por *B. bigemina* nessa espécie de carrapato, embora sua capacidade vetorial ainda seja desconhecida.

Tal fato pode estar ocorrendo no PNMLC devido à interação de *A. sculptum* com bovinos que causalmente frequentam o ambiente, como foi visto durante a realização das coletas, quando vestígios de fezes de bovinos foram avistados. Dessa forma, em alguma fase de vida, esses carrapatos podem eventualmente estar parasitando esses animais, já que *A. sculptum* é considerado generalista quanto à sua lista de hospedeiros, podendo parasitar uma ampla diversidade de animais, como bovinos, e ter se infectado com o protozoário (Ramos *et al.*, 2016).

Diante do exposto, este estudo engloba novas perspectivas a respeito da ocorrência de *B. bigemina* em diferentes espécies de carrapatos, já que, até então, o vetor e os principais carrapatos associados à infecção por *B. bigemina* são *Rhipicephalus microplus* e *R. annulatus* e *R. geigy*, como assinalado em alguns estudos. (Martins *et al.*, 2022; Attia; Khalifa, 2023).

Não obstante, apesar de espécies do gênero *Amblyomma* não estarem relacionadas à transmissão de *B. bigemina*, estudos recentes revelam que outras espécies de *Babesia* estão circulando entre os carrapatos *Amblyomma* (Neves *et al.*, 2023). Nesse estudo, uma espécie de *Babesia* denominada *Babesia* sp. cepa capybara foi encontrada nas espécies *A. sculptum* e *A. dubitatum*,

Em adição, também foi reportada a presença de *Babesia goianiaensis* nov. sp. em capivaras, em estudo realizado na região Centro-Oeste (Krawczak *et al.*, 2023). Isso reforça mais ainda que pouco se sabe a respeito da disseminação desse agente infeccioso e menos ainda sobre a capacidade vetorial de espécies do gênero *Amblyomma* em relação a esse protozoário.

Apesar de ser conhecido que a *B. bigemina* afeta principalmente bovinos, um estudo recente realizado no México documentou um caso de babesiose em cães, por esse protozoário (Bravo-Ramos *et al.*, 2022). Esse achado contradiz as expectativas anteriores e sugere que a *B. bigemina* pode também representar um risco à saúde de outros animais, além dos bovinos.

Recentemente, tem-se evidenciado a ocorrência de casos de babesiose por *B. bigemina* em seres humanos, com registros específicos na Colômbia. (Espinosa-Muñoz *et al.*, 2022; Gonzalez *et al.*, 2018; Ríos; Alvarez; Blair, 2003). No Equador, pesquisas destacam uma descoberta preocupante em um relato de caso ocorrido na região amazônica daquele país, quando um paciente imunocomprometido foi diagnosticado com babesiose, tendo como agente causador o protozoário *B. bigemina* (Calvopiña *et al.*, 2023).

Em se tratando de uma doença que é amplamente disseminada em todo o mundo (Jacob *et al.*, 2020), torna-se crucial a realização de estudos adicionais, com o objetivo de aprofundar nossa compreensão não apenas sobre os mecanismos de transmissão, mas também sobre o surgimento de novas espécies de carrapatos que podem estar envolvidos na disseminação de *B. bigemina*.

## 8. Conclusão

Conclui-se que, durante o período de estudo, duas espécies de carrapatos foram encontradas no PNMLC, *A. sculptum* e *A. dubitatum*, com uma maior prevalência de *A. sculptum*, e que análises moleculares indicam a presença de *Babesia bigemina* no carrapato *A. sculptum*. Sendo assim, esta pesquisa firmou ainda mais a ocorrência de *A. sculptum* e *A. dubitatum* no estado do Mato Grosso Sul, trouxe novas informações sobre os agentes infecciosos que estão circulando entre os espécimes de *A. sculptum*, além de oferecer *insights* que instigam a continuidade de investigações para a melhor compreensão dessa temática.

## 9. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- ABEL, I. *et al.* *Borrelia-like* Spirochetes Recovered from Ticks and Small Mammals Collected in the Atlantic Forest Reserve, Cotia County, State of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, p. 621–4, 1 set. 2000.
- ACOSTA, I. DA C. L. *et al.* First molecular detection of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in *Amblyomma ovale* ticks from Espírito Santo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, p. 420–422, 24 maio 2018.
- ALECRIM, I. *et al.* Registro do primeiro caso de infecção humana por *babesia* spp no brasil. **Revista de Patologia Tropical**, 1983.
- ALMEIDA, R. F. C. *et al.* The first report of *Rickettsia* spp. in *Amblyomma nodosum* in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 4, n. 1–2, p. 156–159, 2013a.
- ALMEIDA, R. F. C. *et al.* Ixodid fauna and zoonotic agents in ticks from dogs: first report of *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus sanguineus* in the state of Mato Grosso do Sul, mid-western Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 60, n. 1, p. 63–72, 1 maio 2013b.
- ANDREOTTI, R.; KOLLER, W. W.; GARCIA, M. V. **Carrapatos: protocolos e técnicas para estudo**. 1. ed. [s.l: s.n.].
- ANTONIASSI, N. A. B. *et al.* Surto de babesiose cerebral em bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 39, p. 933–936, jun. 2009.
- ANTUNES, S. *et al.* Deciphering *Babesia*-Vector Interactions. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 7, p. 429, 29 set. 2017.
- ARAGÃO, H. DE B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759–843, 1936.
- ATTIA, M. M.; KHALIFA, M. M. Virulence of *Babesia bigemina* in infected cattle (*Bos taurus*): Molecular and immunological studies. **Research in Veterinary Science**, v. 156, p. 7–13, 1 mar. 2023.
- AZULAY, R. D. *et al.* Lyme disease in Rio de Janeiro, Brazil. **International Journal of Dermatology**, v. 30, n. 8, p. 569–571, ago. 1991.
- BAJER, A.; DWUŹNIK-SZAREK, D. The specificity of *Babesia*-tick vector interactions: recent advances and pitfalls in molecular and field studies. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 507, 28 set. 2021.
- BARBIERI, A. R. M. *et al.* Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 5, n. 6, p. 848–853, out. 2014.
- BARBIERI, A. R. M. *et al.* Species richness and seasonal dynamics of ticks with notes on rickettsial infection in a Natural Park of the Cerrado biome in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 2, p. 442–453, 2019.

BARROS, S. L. *et al.* 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, p. 513–517, out. 2005.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARUZA, M.; BECHARA, G. H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região Neotropical. Em: **Carrapatos de importância médico-veterinária da região Neotropical, um guia ilustrado para identificação de espécies**. [s.l.: s.n.]. p. 223.

BIGGS, H. M. *et al.* Diagnosis and Management of Tick borne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever and Other Spotted Fever Group Rickettsioses, Ehrlichioses, and Anaplasmosis - United States. **MMWR. Recommendations and reports: Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports**, v. 65, n. 2, p. 1–44, 13 maio 2016.

BITENCOURTH, K. *et al.* *Amblyomma aureolatum* Genetic Diversity and Population Dynamics Are Not Related to Spotted Fever Epidemiological Scenarios in Brazil. **Pathogens**, v. 10, n. 9, p. 1146, 6 set. 2021.

BOCK, R. *et al.* Babesiosis of cattle. **Parasitology**, v. 129 Suppl, p. S247-269, 2004.

BRAVO-RAMOS, J. L. *et al.* An atypical case of *Babesia bigemina* parasitising a dog from a rural area of eastern Mexico. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 31, p. e006622, 2022.

BREUNER, N. E. *et al.* Failure of the Asian longhorned tick, *Haemaphysalis longicornis*, to serve as an experimental vector of the Lyme disease spirochete, burgdorferi sensu stricto. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 11, n. 1, p. 101311, jan. 2020.

CALVOPIÑA, M. *et al.* Case report: First report on human infection by tick-borne *Babesia bigemina* in the Amazon region of Ecuador. **Frontiers in Public Health**, v. 11, 2023.

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

CDC. **Lyme disease data and surveillance | CDC**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/lyme/datasurveillance/index.html>>. Acesso em: 11 mar. 2024a.

CDC. **Clinical Care of Babesiosis**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/babesiosis/hcp/clinical-care/index.html>>. Acesso em: 24 jul. 2024b.

CDC. **Treatment and Intervention for Lyme Disease**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/lyme/treatment/index.html>>. Acesso em: 29 jul. 2024c.

CDC. **Babesiose**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dpdx/babesiosis/index.html>>. Acesso em: 29 jul. 2024d.

- CDC. **Signs and Symptoms of Untreated Lyme Disease**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/lyme/signs-symptoms/index.html>>. Acesso em: 29 jul. 2024e.
- CHITIMIA-DOBLER, L. *et al.* Nuttalliellidae in Burmese amber: implications for tick evolution. **Parasitology**, p. 1–17, 16 abr. 2024.
- COELHO, M. G. *et al.* Serologic evidence of the exposure of small mammals to spotted-fever *Rickettsia* and *Rickettsia bellii* in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 10, n. 3, p. 275–282, 31 mar. 2016.
- COIPAN, E. C. *et al.* Imbalanced presence of *Borrelia burgdorferi* s.l. multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v. 42, p. 66–76, ago. 2016.
- COLWELL, D. D.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Vector-borne parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. **Veterinary Parasitology**, v. 182, n. 1, p. 14–21, nov. 2011.
- COSTA, V. M. DE M. *et al.* Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, p. 207–213, 25 jun. 2013.
- CUNHA, G. N. *et al.* Títulos de Anticorpos de *Babesia bigemina* em Bovinos Leiteiros de Uberlândia-MG. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 5, n. 2, 2002.
- CUTLER, S. J.; RUZIC-SABLJIC, E.; POTKONJAK, A. Emerging *Borreliae* – Expanding beyond Lyme borreliosis. **Molecular and Cellular Probes**, SI: Vectors and Vector-Borne Diseases. v. 31, p. 22–27, 1 fev. 2017.
- DALL’AGNOL, B. *et al.* *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes longiscutatus* ticks from Brazilian Pampa. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 8, n. 6, p. 928–932, out. 2017.
- D’ANDREA, L. A. Z. *et al.* Condição imunológica de bovinos das raças Holandesa e Nelore frente a *Babesia bovis* e *B. bigemina* em duas regiões do Estado de São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, p. 74–78, jun. 2006.
- DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 7, n. 11, p. 724–732, nov. 2007.
- DANTAS-TORRES, F. Species Concepts: What about Ticks? **Trends in Parasitology**, v. 34, n. 12, p. 1017–1026, 1 dez. 2018.
- DANTAS-TORRES, F. *et al.* Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 6, p. 101252, 1 out. 2019.
- DANTAS-TORRES, F. *et al.* Seasonal dynamics and rickettsial infection in free-living *Amblyomma dubitatum* in the Atlantic forest biome in north-eastern Brazil. **Acta Tropica**, v. 217, p. 105854, 1 maio 2021.

- DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B. B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends in Parasitology**, v. 28, n. 10, p. 437–446, 1 out. 2012.
- DARRIBA, D. *et al.* ModelTest-NG: A New and Scalable Tool for the Selection of DNA and Protein Evolutionary Models. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 1, p. 291–294, 1 jan. 2020.
- DE LA FUENTE, J. The fossil record and the origin of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). **Experimental & Applied Acarology**, v. 29, n. 3–4, p. 331–344, 2003.
- DE SÁ, E. F. G. G. *et al.* Ticks on *Didelphis albiventris* from a Cerrado area in the Midwestern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 23, n. 5, p. 935, 23 maio 2018.
- DIUK-WASSER, M. A.; VANNIER, E.; KRAUSE, P. J. Coinfection by Ixodes Tick-Borne Pathogens: Ecological, Epidemiological, and Clinical Consequences. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 30–42, jan. 2016.
- DURÃES, L. S. *et al.* Biodiversity of Potential Vectors of Rickettsiae and Epidemiological Mosaic of Spotted Fever in the State of Paraná, Brazil. **Frontiers in Public Health**, v. 9, 2021.
- EDLER, D. *et al.* raxmlGUI 2.0: A graphical interface and toolkit for phylogenetic analyses using RAxML. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 373–377, 2021.
- ELHELW, R. *et al.* Evidence of the presence of *Borrelia burgdorferi* in dogs and associated ticks in Egypt. **BMC veterinary research**, v. 17, n. 1, p. 49, 25 jan. 2021.
- ESPINOSA-MUÑOZ, D. Y. *et al.* Detection of *Babesia* and the associated factors in cattle and humans from Magdalena Medio region, Colombia. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 90–91, p. 101900, 1 nov. 2022.
- ESTRADA-PEÑA, A.; DE LA FUENTE, J. The fossil record and the origin of ticks revisited. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 2, p. 255–261, 1 jun. 2018.
- FACCINI-MARTÍNEZ, Á. A. *et al.* Febre Maculosa por *Rickettsia parkeri* no Brasil: condutas de vigilância epidemiológica, diagnóstico e tratamento. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 6, n. 3, p. 299–312, 2 jul. 2018.
- GARCIA, M. V. *et al.* **Espécies de carrapatos relatadas no Estado de Mato Grosso do Sul**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2012. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/handle/doc/941830>>. Acesso em: 15 maio. 2023
- GARCIA, M. V. *et al.* Successful feeding of *Amblyomma coelebs* (Acari: Ixodidae) nymphs on humans in Brazil: Skin reactions to parasitism. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 2, p. 117–119, 2015.

- GARCIA, M. V. *et al.* Tick fauna in non-anthropogenic areas in Mato Grosso do Sul, Brazil, with the presence of the *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest in *Amblyomma ovale*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 13, n. 1, p. 101831, jan. 2022.
- GONÇALVES, D. *et al.* First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in *Dermacentor nitens* ticks in the northern region of Parana (Brazil). **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, p. 883–887, set. 2013.
- GONÇALVES, D. *et al.* First record of *Borrelia burgdorferi* sensu lato antibodies in stray dogs in the Northwest Region of Parana State, Brazil. **SEMINA: CIENCIAS AGRARIAS**, v. 36, p. 2641–2648, 1 ago. 2015.
- GONZALEZ, J. *et al.* Babesiosis prevalence in malaria-endemic regions of Colombia. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 55, n. 3, p. 222, 2018.
- GORTAZAR, C. *et al.* Crossing the Interspecies Barrier: Opening the Door to Zoonotic Pathogens. **PLOS Pathogens**, v. 10, n. 6, p. e1004129, 19 jun. 2014.
- GOUVEIA, E. A. *et al.* Profile of patients with Baggio-Yoshinari Syndrome admitted at “Instituto de Infectologia Emilio Ribas”. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, p. 297–303, 2010.
- GRAY, J. S.; ESTRADA-PEÑA, A.; ZINTL, A. Vectors of Babesiosis. **Annual Review of Entomology**, v. 64, n. 1, p. 149–165, 2019.
- GRISI, L. *et al.* Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 150–156, jun. 2014.
- GUEDES, E. *et al.* Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 841–845, dez. 2005.
- GUERRERO, F. D. *et al.* Detection of *Babesia bigemina* infection in strains of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* collected from outbreaks in South Texas. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 1, p. 156–163, 10 abr. 2007.
- GUGLIELMONE, A. A. *et al.* *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) e *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hospedeiros, distribuição e sequências de rDNA 16S. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 3, p. 273–288, 1 maio 2003.
- GUGLIELMONE, A. A. *et al.* Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental & Applied Acarology**, v. 40, n. 2, p. 83–100, 2006.
- HAMŠÍKOVÁ, Z. *et al.* *Babesia* spp. in ticks and wildlife in different habitat types of Slovakia. **Parasites & Vectors**, v. 9, p. 292, 20 maio 2016.
- HIGA, L. DE O. S. *et al.* Spotted fever group *Rickettsia* and *Borrelia* sp. cooccurrence in *Amblyomma sculptum* in the Midwest region of Brazil. **Experimental & Applied Acarology**, v. 81, n. 3, p. 441–455, jul. 2020.

HIGA, L. DE O. S. *et al.* **Doenças transmitidas por carrapatos: uma visão geral baseada em casos reportados entre 2017 - 2021 na plataforma PROMED.** , 2022. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1149229/doencas-transmitidas-por-carrapatos-uma-visao-geral-baseada-em-casos-reportados-entre-2017---2021-na-plataforma-promed>>. Acesso em: 14 ago. 2023

JACOB, S. S. *et al.* Bovine babesiosis: An insight into the global perspective on the disease distribution by systematic review and meta-analysis. **Veterinary Parasitology**, v. 283, p. 109136, 1 jul. 2020.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129 Suppl, p. S3-14, 2004.

JULIANO, R. S. *et al.* Soroepidemiologia da babesiose em rebanho de bovinos da raça Curraleiro. **Ciência Rural**, v. 37, p. 1387–1392, out. 2007.

KESSLER, R. H. Babesiose cerebral por *Babesia bovis* (Babês 1888 Starcovici 1893) em bezerros, no Estado de Mato Grosso do Sul. p. 931–935, 1983.

KOEDEL, U.; FINGERLE, V.; PFISTER, H.-W. Lyme neuroborreliosis-epidemiology, diagnosis and management. **Nature Reviews. Neurology**, v. 11, n. 8, p. 446–456, ago. 2015.

KOKA, H. *et al.* The Detection of Spotted Fever Group *Rickettsia* DNA in Tick Samples From Pastoral Communities in Kenya. **Journal of Medical Entomology**, v. 54, n. 3, p. 774–780, maio 2017.

KRAUSE, P. J. Human babesiosis. **International Journal for Parasitology, Babesiosis Special Issue**. v. 49, n. 2, p. 165–174, 1 fev. 2019.

KRAWCZAK, F. DA S. *et al.* Phylogenetic Inferences Based on Distinct Molecular Markers Confirm a Novel *Babesia* Species (*Babesia goianaensis* nov. sp.) in Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) and Associated Ticks. **Microorganisms**, v. 11, n. 8, p. 2022, ago. 2023.

KRAWCZAK, F. S. *et al.* Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 7, 5 jan. 2014.

KRAWCZAK, F. S. *et al.* Comparative evaluation of *Amblyomma ovale* ticks infected and noninfected by *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest, the agent of an emerging rickettsiosis in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 7, n. 3, p. 502–507, abr. 2016a.

KRAWCZAK, F. S. *et al.* *Rickettsia* sp. Strain Atlantic Rainforest Infection in a Patient from a Spotted Fever-Endemic Area in Southern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 3, p. 551–553, 7 set. 2016b.

KRAWCZAK, F. S.; LABRUNA, M. B. The rice rat *Euryoryzomys russatus*, a competent amplifying host of *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest for the tick

*Amblyomma ovale*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 9, n. 5, p. 1133–1136, jul. 2018.

LABRUNA, M. Capybaras, ticks, and spotted fever. p. 275–277, 2017.

LABRUNA, M. B. *et al.* Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 1, p. 1–14, 9 maio 2001.

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

LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1166, p. 156–166, maio 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, maio 2011.

LABRUNA, M. B. *et al.* Brazilian Spotted Fever: The Role of Capybaras. Em: **Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species**. New York, NY: Springer, 2013. p. 371–383.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. DE C. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 6, n. 30, p. 24–32, 2001.

LAHA, R.; DAS, M.; SEN, A. Morphology, epidemiology, and phylogeny of *Babesia*: An overview. **Tropical Parasitology**, v. 5, n. 2, p. 94–100, 2015.

LIMA, F. R. DE *et al.* New records of *Amblyomma* ticks parasitizing neotropical primates in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 14, n. 4, p. 102169, 1 jul. 2023.

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

LUCENA, R. B. *et al.* Doenças de bovinos no Sul do Brasil: 6.706 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 428–434, maio 2010.

LUZ, H. R. *et al.* Epidemiology of capybara-associated Brazilian spotted fever. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 13, n. 9, p. e0007734, set. 2019.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; MCINTOSH, D. Molecular analyses reveal an abundant diversity of ticks and rickettsial agents associated with wild birds in two regions of primary Brazilian Atlantic Rainforest. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 8, n. 4, p. 657–665, jun. 2017.

MACKENZIE, J. S.; MCKINNON, M.; JEGGO, M. One Health: From Concept to Practice. **Confronting Emerging Zoonoses**, p. 163–189, 19 jul. 2014.

MADRUGA, C. R. *et al.* Desenvolvimento de uma prova de imunoadsorção enzimática para detecção de anticorpos contra *Babesia bovis*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, p. 167–170, dez. 2000.

MARTINS, K. R. *et al.* Seasonal fluctuations of *Babesia bigemina* and *Rhipicephalus microplus* in *Brangus* and *Nellore* cattle reared in the Cerrado biome, Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 395, 28 out. 2022.

MARTINS, T. F. *et al.* Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescriptions, and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, n. 2, p. 75–99, 1 jun. 2010.

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 & Vectors**, v. 9, p. 186, 2016.

MARTINS, T. F. *et al.* Uma nova espécie de *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) associada a macacos e passeriformes do bioma Mata Atlântica, Sudeste do Brasil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 6, p. 101259, 1 out. 2019.

MATIAS, J. *et al.* Spotted fever group *Rickettsia* in *Amblyomma dubitatum* tick from the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 6, n. 2, p. 107–110, mar. 2015.

MATIAS, J. *et al.* Free-living ticks in a cerrado fragment, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Biosci. j. (Online)**, p. 979–984, 2018.

MCCOY, B. N.; MAÏGA, O.; SCHWAN, T. G. Detection of *Borrelia theileri* in *Rhipicephalus geigy* from Mali. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 5, n. 4, p. 401–403, jun. 2014.

MEDEIROS, A. P. *et al.* Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 926–930, dez. 2011.

MELO, A. L. T. *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, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim Epidemiológico nº 23 - Volume 53 - Junho de 2022 — Ministério da Saúde**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-maculosa/situacao-epidemiologica/boletim-epidemiologico-no-23-volume-53-junho-de-2022/view>>. Acesso em: 23 jul. 2024.

MOERBECK, L. *et al.* *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) Vector Biodiversity in High Altitude Atlantic Forest Fragments Within a Semiarid Climate: A New Endemic Area of Spotted-Fever in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 53, n. 6, p. 1458–1466, 1 nov. 2016.

MONTANDON, C. E. *et al.* Evidence of *Borrelia* in wild and domestic mammals from the state of Minas Gerais, Brazil. 21 maio 2014.

MUÑOZ-LEAL, S. *et al.* *Ornithodoros cerradoensis* n. sp. (Acari: Argasidae), a member of the *Ornithodoros talaje* (Guérin-Méneville, 1849) group, parasite of rodents in the Brazilian Savannah. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 11, n. 5, p. 101497, set. 2020.

MUÑOZ-LEAL, S. *et al.* A new species of soft tick from dry tropical forests of Brazilian Caatinga. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 12, n. 5, p. 101748, 1 set. 2021.

NASCIMENTO, D. A. G. *et al.* Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. **Rev. bras. parasitol. vet.**, p. 418–422, 2016.

NAVA, S. *et al.* Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). **Experimental and Applied Acarology**, v. 51, n. 4, p. 335–351, 1 ago. 2010.

NAVA, S. *et al.* Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* 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*, and *Amblyomma sculptum* (Ixodida: Ixodidae). **Ticks 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.** [s.l.] Academic Press, 2017.

NEVES, L. C. *et al.* Detection of an Undescribed *Babesia* sp. in Capybaras and *Amblyomma* Ticks in Central-Western Brazil. **Animals : an Open Access Journal from MDPI**, v. 13, n. 1, p. 94, 2023.

NIERI-BASTOS, F. A. *et al.* Comparative Evaluation of Infected and Noninfected *Amblyomma triste* Ticks with *Rickettsia parkeri*, the Agent of an Emerging Rickettsiosis in the New World. **BioMed Research International**, v. 2013, p. e402737, 8 jul. 2013.

NIERI-BASTOS, F. A. *et al.* Isolation of the Pathogen *Rickettsia* sp. Strain Atlantic Rainforest From Its Presumed Tick Vector, *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), From Two Areas of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 53, n. 4, p. 977–981, jul. 2016.

NOGUEIRA, B. C. F. *et al.* Soft and hard ticks (Parasitiformes: Ixodida) on humans: A review of Brazilian biomes and the impact of environmental change. **Acta Tropica**, v. 234, p. 106598, out. 2022.

OGRZEWALSKA, M. *et al.* A *Rickettsia parkeri* -like agent infecting *Amblyomma calcaratum* nymphs from wild birds in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 4, n. 1–2, p. 145–147, 2013.

OLIVEIRA, P. A. DE *et al.* Doenças parasitárias em bovinos e ovinos no sul do Brasil: frequência e estimativa de perdas econômicas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 797–801, ago. 2017a.

OLIVEIRA, S. V. *et al.* Predictive Factors for Fatal Tick-Borne Spotted Fever in Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 64, n. 7, p. e44–e50, nov. 2017b.

OLIVEIRA, S. V. *et al.* Serological Evidence of Lyme disease And Possible Introduction of *Borrelia* along Migratory Bird Routes in Brazil. **Vector Biology Journal**, v. 2018, 11 jul. 2018.

PACHECO, A. *et al.* Frequência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Borrelia* spp. em cães domiciliados no município de Castanhal, estado do Pará. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 38, n. Supl. 3, p. 122–128, 10 nov. 2016.

PADDOCK, C. D. *et al.* *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain spotted fever. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 47, n. 9, p. 1188–1196, 1 nov. 2008.

PARKER, R. R. *et al.* Observations on an Infectious Agent from *Amblyomma maculatum*. **Public Health Reports (1896-1970)**, v. 54, n. 32, p. 1482–1484, 1939.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 4, p. 719–756, out. 2005.

PAULA, L. G. F. *et al.* Seasonal dynamics of *Amblyomma sculptum*: a review. **Parasites & Vectors**, v. 15, p. 193, 6 jun. 2022.

PIESMAN, J.; EISEN, L. Prevention of Tick-Borne Diseases. **Annual Review of Entomology**, v. 53, n. 1, p. 323–343, 1 jan. 2008.

PINTER, A. *et al.* Study of the Seasonal Dynamics, Life Cycle, and Host Specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 3, p. 324–332, 1 maio 2004.

PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 523–529, out. 2006.

PUPIN, R. C. *et al.* Retrospective study of epidemiological, clinical and pathological findings of bovine babesiosis in Mato Grosso do Sul, Brazil (1995 –2017). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 1, p. 36–42, 1 jan. 2019.

QUEIROGAS, V. L. *et al.* Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. **Experimental and Applied Acarology**, v. 57, n. 1, p. 75–82, 1 maio 2012.

RAMOS, I. A. DE S. *et al.* Serological occurrence for tick-borne agents in beef cattle in the Brazilian Pantanal. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, p. e014919, 6 abr. 2020.

RAMOS, V. N. *et al.* Ticks on humans in the Pantanal wetlands, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 5, p. 497–499, 1 set. 2014.

- RAMOS, V. N. *et al.* Nellore cattle (*Bos indicus*) and ticks within the Brazilian Pantanal: ecological relationships. **Experimental & Applied Acarology**, v. 68, n. 2, p. 227–240, fev. 2016.
- RECH, A. *et al.* Asymptomatic Babesiosis in a Child With Hepatoblastoma. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 26, n. 3, p. 213, mar. 2004.
- RECK, J. *et al.* Records of ticks on humans in Rio Grande do Sul state, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 9, n. 5, p. 1296–1301, jul. 2018.
- REGITANO, L. C. DE A.; COUTINHO, L. L. Extração de DNA para aplicação em reação em cadeia da polimerase (PCR). 2001.
- REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 5, p. 1576–1589, mar. 1991.
- REZENDE, J. *et al.* Detection of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato in Mato Grosso Do Sul, Brazil. **JSM Tropical Medicine and Research**, v. 1, p. 1003, 3 set. 2016.
- RÍOS, L.; ALVAREZ, G.; BLAIR, S. Serological and parasitological study and report of the first case of human babesiosis in Colombia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, p. 493–498, jul. 2003.
- RODRIGUES, B. D.; MEIRELES, V. M. DE B.; BRAZ, M. N. Borreliose de Lyme Símile - relato de caso. **Rev. para. med**, p. 63–67, 2007.
- SAKAI, R. K. *et al.* Experimental infection with *Rickettsia rickettsii* in an *Amblyomma dubitatum* tick colony, naturally infected by *Rickettsia bellii*. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, n. 6, p. 917–923, 1 out. 2014.
- SAL, M. S. *et al.* *Borrelia burgdorferi* uniquely regulates its motility genes and has an intricate flagellar hook-basal body structure. **Journal of Bacteriology**, v. 190, n. 6, p. 1912–1921, mar. 2008.
- SANCHEZ, J. L. Clinical Manifestations and Treatment of Lyme Disease. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 35, n. 4, p. 765–778, dez. 2015.
- SANTOS, G. B. *et al.* Tristeza Parasitária em bovinos do semiárido pernambucano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, p. 1–7, jan. 2017.
- SANTOS, H. Q.; LINHARES, G. F. C.; MADRUGA, C. L. Estudo da prevalência de anticorpos anti-*Babesia bovis* e anti-*Babesia bigemina* em bovinos de leite da microrregião de Goiânia determinada pelos testes de imunofluorescência indireta e elisa. **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, v. 2, n. 2, p. 133–137, 2001.
- SILVA, J. *et al.* Serological occurrence of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Anaplasma marginale* in cattle and water buffaloes of Pará, Brazil. **Semina**, v. 35, p. 2495–2500, 1 set. 2014.

SILVA, N. *et al.* Eschar-associated Spotted Fever Rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 275–278, fev. 2011.

SKRABALO, Z.; DEANOVIC, Z. Piroplasmosis in man; report of a case. **Documenta De Medicina Geographica Et Tropica**, v. 9, n. 1, p. 11–16, mar. 1957.

SOARES, J. F. *et al.* Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 26, n. 2, p. 139–151, jun. 2012.

SOARES, J. F. *et al.* Description of *Amblyomma monteiroae* n. sp. (Acari: Ixodidae), a parasite of the great horned owl (Strigiformes: Strigidae) in southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 14, n. 6, p. 102239, 1 nov. 2023.

SOCOLOSKI, S. N. G. *et al.* Epidemiological investigation of *Borrelia burgdorferi* in horses in the municipality of Sinop—MT, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 50, n. 4, p. 831–836, 1 abr. 2018.

SOCOLOVSCHI, C. *et al.* The relationship between spotted fever group Rickettsiae and ixodid ticks. **Veterinary Research**, v. 40, n. 2, p. 34, 2009.

SONENSHINE, D. E.; ROE, R. M. **Biology of Ticks**. 2. ed. [s.l.] OUP USA, 2014. v. 2

SONTAG, R. B.; MELLO, I. S. Diagnóstico sanitário do Parque Natural Municipal da Lagoa Comprida: subsídios para o manejo e gestão. **Revista Gestão & Saúde**, v. 4, n. 1, p. 1248–1268, 2013.

SOUZA, C. E. *et al.* Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 1–2, p. 116–121, 6 abr. 2009.

SOUZA, F. DE A. L. *et al.* Dynamics of natural infection by *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in dairy cattle from an enzootic instability area in Northeastern Brazil. **Revista Brasileira De Parasitologia Veterinaria = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Orgao Oficial Do Colegio Brasileiro De Parasitologia Veterinaria**, v. 27, n. 1, p. 3–7, 2018.

SPOLIDORIO, M. G. *et al.* Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, p. 521–523, mar. 2010a.

SPOLIDORIO, M. G. *et al.* Survey for Tick-Borne Zoonoses in the State of Espírito Santo, Southeastern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, n. 1, p. 201–206, jul. 2010b.

STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, v. 30, n. 9, p. 1312–1313, 1 maio 2014.

STANEK, G.; REITER, M. The expanding Lyme *Borrelia* complex—clinical significance of genomic species? **Clinical Microbiology and Infection: The Official**

**Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 17, n. 4, p. 487–493, abr. 2011.

STEERE, A. C.; COBURN, J.; GLICKSTEIN, L. The emergence of Lyme disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 113, n. 8, p. 1093–1101, 15 abr. 2004.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in an Atlantic rainforest reserve of Southeastern Brazil with notes on host suitability. **Experimental & Applied Acarology**, v. 39, n. 3–4, p. 339–346, 2006.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest Rickettsia, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v. 140, n. 6, p. 719–728, maio 2013.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ticks (Acari: Ixodidae) in the Serra da Canastra National Park in Minas Gerais, Brazil: species, abundance, ecological and seasonal aspects with notes on rickettsial infection. **Experimental and Applied Acarology**, v. 76, n. 3, p. 381–397, 1 nov. 2018.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ticks and *Rickettsia* on anteaters from Southeast and Central-West Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 10, n. 3, p. 540–545, 2019.

SZABÓ, M. P. J. *et al.* Ticks biting humans in the Brazilian savannah: Attachment sites and exposure risk in relation to species, life stage and season. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 2, p. 101328, 1 mar. 2020.

SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 3, 12 jul. 2013.

TALHARI, S. *et al.* *Borrelia burgdorferi* “sensu lato” in Brazil: Occurrence confirmed by immunohistochemistry and focus floating microscopy. **Acta Tropica**, v. 115, n. 3, p. 200–204, 1 set. 2010.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. **Molecular Biology and Evolution**, v. 38, n. 7, p. 3022–3027, 23 abr. 2021.

TARRAGONA, E. L. *et al.* Seasonal dynamics, geographical range size, hosts, genetic diversity and phylogeography of *Amblyomma sculptum* in Argentina. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 9, n. 5, p. 1264–1274, jul. 2018.

THORNER, A. R.; WALKER, D. H.; PETRI, W. A. Rocky mountain spotted fever. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 27, n. 6, p. 1353–1359; quiz 1360, dez. 1998.

TRAVASSOS, J.; DIAS, E. Febre maculosa: identidade imunológica dos vírus de Minas Gerais, São Paulo e das Montanhas Rochosas. 1939.

VIZZONI, V. *et al.* Genetic identification of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in an endemic area of a mild spotted fever in Rio Grande do Sul State, Southern Brazil. **Acta tropica**, v. 162, 20 jun. 2016.

WEBER, K. Aspects of Lyme Borreliosis in Europe. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 20, n. 1, p. 6–13, 1 fev. 2001.

WORMSER, G. P. *et al.* The clinical assessment, treatment, and prevention of lyme disease, human granulocytic anaplasmosis, and babesiosis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 43, n. 9, p. 1089–1134, 1 nov. 2006.

YAO, X.-Y. *et al.* Nucleic Acid Prevalence of Zoonotic *Babesia* in Humans, Animals and Questing Ticks, a Systematic Review and Meta-Analysis. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 8, n. 3, p. 132, 22 fev. 2023.

YOSHINARI, N. H. *et al.* Coexistence of antibodies to tick-borne agents of babesiosis and Lyme borreliosis in patients from Cotia county, State of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, p. 311–318, abr. 2003.

ZHOU, M. *et al.* Molecular detection and genetic identification of *Babesia bigemina*, *Theileria annulata*, *Theileria orientalis* and *Anaplasma marginale* in Turkey. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, n. 1, p. 126–134, 1 fev. 2016.

ZINSSTAG, J. *et al.* From “one medicine” to “one health” and systemic approaches to health and well-being. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 101, n. 3–4, p. 148–156, 2011.

## 10. APÊNDICE

### 10.1. APÊNDICE A - ARTIGO PUBLICADO

*Babesia bigemina* (smith and Kilbourne, 1893) detection in *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) ticks in the Mato Grosso do Sul state, Brazil.

- Revista: Parasitology International
- Qualis A3
- Fator de impacto 1.5

<https://doi.org/10.1016/j.parint.2024.102912>



Parasitology International

Volume 102, October 2024, 102912



---

*Babesia bigemina* (smith and Kilbourne, 1893) detection in *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) ticks in the Mato Grosso do Sul state, Brazil.

Joelly Corrêa dos Santos<sup>a b</sup>, Marcos Valerio Garcia<sup>b</sup>, Pâmella Oliveira Duarte<sup>b</sup>,  
Leandra Marla Oshiro<sup>b</sup>, Fernando Ibanez Martins<sup>c</sup>, Leandro de Oliveira Souza Higa<sup>b</sup>,  
Álvaro Aragão de Lima<sup>a d</sup>, Renato Andreotti<sup>a b</sup>  

## 11. ANEXO

### 11.1. ANEXO A - PROTOCOLO UTILIZADO PARA A EXTRAÇÃO DE DNA DE CARRAPATOS

Aquecer a solução de SDS 10% em banho maria a 55° C.

Pulverizar 1 carrapato (100 a 200 mg de tecido muscular) em nitrogênio líquido ou macerar em tampão de lise BL.

Adicionar 800 uL de solução de lise BL previamente gelada.

Homogenizar a solução por inversão (10 a 15 vezes).

Adicionar 160 uL de SDS 10% pré-aquecido.

Homogenizar a solução por inversão (10 a 15 vezes).

Adicionar 20 ul de Proteinase K (20ug/uL).

Incubar os tubos em banho maria a 55°C por 2 horas. **(pode ser até 16 horas)**.

Centrifugar os tubos a 6.000g por 5 minutos para sedimentar os “debris” celulares.

Transferir 800 uL do sobrenadante para um novo tubo de 2 mL.

Adicionar 300 uL de NaCl 6M saturado.

Homogenizar bem a solução e vortexar por 10 segundos.

Centrifugar a máxima velocidade por 30 minutos a 4° C.

Transferir o sobrenadante (aproximadamente 900 uL) para um novo tubo de 2 mL.

Adicionar o mesmo volume de Isopropanol gelado (aproximadamente 900 uL).

Incubar a – 20° C de 1 a 2 horas.

Centrifugar a 10.000g por 10 minutos.

Descartar o sobrenadante e adicionar 1000 uL de etanol 70% gelado.

Lavar bem o pellet invertendo o tubo 10 vezes (descolar o pellet - **NÃO VORTEXAR**).

Centrifugar a 10.000g por 5 minutos a 4° C.

Descartar o sobrenadante

Secar o pellet na bancada por 1 hora ou a vácuo por 5 minutos.

Ressuspender o pellet em 60 a 100 ul de NaOH 8 mM ou T.E. ou água milli-q estéril.

Incubar em banho maria ou termobloco a 55° C por 40 minutos a 2 horas.

Quantificar as amostras

Armazenar a – 20° C.