



Detecção molecular de bactérias de importância médico-veterinária em carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)

ANDERSON DOS ANJOS SANT'ANA

, Anderson dos anjos Santana

Detecção molecular de bactérias de importância médico-veterinária em *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus* (Acari) Ixodidae / Anderson dos anjos Santana . – São Paulo : 2025. xiii, 94 f. : il. ; 29,7 cm.

Orientador: Márcia Cristina Mendes .

Dissertação para Obtenção do Grau de Mestre em Sanidade animal e vegetal do agronegócio – Programa de pós graduação em Sanidade e segurança alimentar animal e vegetal do agronegócio , 2025. Inclui Ilustrações e Bibliografias.

1. Detecção. 2. *Rhipicephalus sanguineus*. *Rhipicephalus microplus*. Biologia molecular. 3. Wolbachia. 4. Controle Biológico.. I. , Márcia Cristina Mendes. II. Programa de pós graduação em Sanidade e segurança alimentar animal e vegetal do agronegócio . III. Mestre.

SECRETARIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO ESTADO DE
SÃO PAULO
AGÊNCIA PAULISTA DE TECNOLOGIA DOS AGRONEGÓCIOS
INSTITUTO BIOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE, SEGURANÇA
ALIMENTAR E AMBIENTAL NO AGRONEGÓCIO

ANDERSON DOS ANJOS SANT'ANA

Dissertação apresentada
para a obtenção do título de
Mestre em Sanidade, Segurança
Alimentar e Ambiental no
Agronegócio. Área de
concentração: Segurança
Alimentar e Sanidade no Agro
ecossistema

SÃO PAULO
2025

ANDERSON DOS ANJOS SANT'ANA

**DETECÇÃO MOLECULAR DE BACTÉRIAS DE IMPORTANCIA
MÉDICO-VETRINÁRIA EM CARRAPATOS EM *RHIPICEPHAUS*
SANGUINEUS E *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* (ACARI: IXODIDAE)**

Dissertação apresentada para a
obtenção do título de Mestre em
Sanidade, Segurança Alimentar e
Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança
Alimentar e Sanidade no Agro
ecossistema.

Orientador(a): Professora Dra.
Márcia Cristina Mendes

SÃO PAULO

2025

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer a **Deus pai, filho e espírito santo** por cada milagre e sabedoria, me permitido e me ajudado a chegar até aqui.

Agradecer a oportunidade concebida pelo **Instituto Biológico**, pelo **Laboratório de Parasitologia Animal** e o auxílio recebido pela **CAPES** para financiar este projeto.

Agradeço a cada **colega** de trabalho que me ajudou e me deu forças quando eu precisava, principalmente aos que sempre estiveram ao meu lado e nunca me abandonaram foi um prazer trabalhar com vocês.

Agradeço aos meus pais e minha irmã, **Valdinea dos Anjos Sant'ana, Domingos Sant'ana e Beatriz dos Anjos Sant'ana** por for fazer o impossível e possível para me ajudar e sempre me colocarem em suas orações e estar ao meu lado e me levantar sempre que eu caí.

A minha **Psicóloga Ana Cristina Melo** que me auxiliou a passar por todo esse processo e não me deixar desistir, em cada crise de ansiedade, depressão, em cada gatilho, me erguer e me fazer continuar forte todos esses anos.

Aos meus irmãos em Cristo da **Igreja Jesus Razão da nossa Vitoria** por me colocarem em cada uma das suas orações.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Sant'ana, Anderson. **Detecção molecular de bactérias de importância médico-veterinária em carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)** (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2025.

Atualmente, o mercado pet no país é um dos mais dinâmicos do mundo, impulsionado pela humanização dos animais de estimação. Além disso, a pecuária é um setor crucial para a economia global, com o Brasil se destacando na criação de bovinos. Contudo, a infestação por carrapatos, especialmente as espécies *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus*, gera impactos econômicos e sanitários significativos. O controle de carrapatos por acaricidas sintéticos enfrenta problemas de resistência e impactos ambientais, levando à busca por métodos alternativos, como vacinas, óleos essenciais e controle biológico. Nesse contexto, a bactéria *Wolbachia* surge como uma ferramenta promissora no controle biológico de pragas. Este estudo visa identificar a presença da endossimbionte *Wolbachia* nesses carrapatos e investigar bactérias patogênicas associadas a essas espécies. Para isso, 100 carrapatos *R. sanguineus* coletados no centro de zoonoses no município Salto/SP e Piracicaba/SP e 100 *teleoginas de R. microplus* coletadas Polo Regional Vale do Paraíba/APTA, em Pindamonhangaba/SP foram submetidos a técnica de PCR para detecção do DNA de *Wolbachia* sp., *E. canis*, *B. henselae*, *B. burgdorferi* e *R. rickettsii*. Ainda as 100 amostras separadas de teleoginas do carrapato *R. microplus* foram submetidas a técnica de PCR para investigação da presença das bactérias *Babesia* spp. e *Anaplasma* spp. Nenhuma das amostras de *R. sanguineus* e *R. microplus* foi positiva para as bactérias investigadas. Apenas uma amostra de *R. sanguineus* macho de Salto amplificou um fragmento de DNA do gene 16S rRNA de *Wolbachia*, porém com uma deleção de 142 pares de base, sugerindo uma possível transferência horizontal de gene. As amostras passaram por uma análise molecular através da técnica de PCR para eliminar a possível contaminação secundária por nematoides filariais ou para vespa parasitoide *Ixodiphagus hookeri*, indivíduos que parasitam carrapatos e contém *wolbachia* como simbionte. Os resultados foram negativos, indicando que o DNA em *R. sanguineus* não foi por contaminação secundária. E para *R. microplus* 14 amostras foram positivas para *Anaplasma marginale* e 5 para *Babesia* spp alinhando com o conhecimento dessas bactérias serem endêmicas deste parasito, e após o sequenciamento também foram positivas para *E. canis*. Dessa forma, este trabalho apresenta resultados que demonstram a importância do controle desses parasitos e que a bactéria *Wolbachia* possa ter a capacidade de ser utilizada como controle biológico, pois não faz parte do microbioma destes carrapatos, podendo assim, interferir no seu funcionamento biológico e reprodutivo.

Palavras-chave: Detecção, *Rhipicephalus sanguineus*. *Rhipicephalus microplus*. Biologia molecular, *Wolbachia*, Controle Biológico.

ABSTRACT

Sant'ana, Anderson. **Deteção molecular de bactérias de importância médico-veterinária em carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae)** (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2025.

Currently, the pet market in the country is one of the most dynamic in the world, driven by the humanization of pets. Furthermore, livestock farming is a crucial sector for the global economy, with Brazil standing out in cattle raising. However, tick infestations, especially by *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus microplus*, generate significant economic and health impacts. The control of ticks with synthetic acaricides faces problems of resistance and environmental impacts, leading to the search for alternative methods, such as vaccines, essential oils, and biological control. In this context, the bacterium *Wolbachia* emerges as a promising tool in the biological control of pests.

This study aimed to identify the presence of the endosymbiont *Wolbachia* in these ticks and investigate pathogenic bacteria associated with these species. For this purpose, 100 *R. sanguineus* ticks collected from the Zoonoses Center in Salto/SP and Piracicaba/SP, and 100 *R. microplus* teleogynes collected from the Polo Regional Vale do Paraíba/APTA, in Pindamonhangaba/SP, were subjected to PCR for the detection of DNA from *Wolbachia* sp., *E. canis*, *B. henselae*, *B. burgdorferi*, and *R. rickettsii*. Additionally, the 100 separated samples of *R. microplus* teleogynes were subjected to PCR for the investigation of the presence of *Babesia* spp. and *Anaplasma* spp.

None of the *R. sanguineus* and *R. microplus* samples were positive for the investigated bacteria. Only one male *R. sanguineus* sample from Salto amplified a DNA fragment of the *Wolbachia* 16S rRNA gene, but with a 142 base pair deletion, suggesting a possible horizontal gene transfer. The samples underwent molecular analysis through PCR to eliminate possible secondary contamination by filarial nematodes or the parasitoid wasp *Ixodiphagus hookeri*, individuals that parasitize ticks and contain *Wolbachia* as a symbiont. The results were negative, indicating that the DNA in *R. sanguineus* was not due to secondary contamination. For *R. microplus*, 14 samples were positive for *Anaplasma marginale* and 5 for *Babesia* spp., aligning with the knowledge that these bacteria are endemic to this parasite. After sequencing, they were also positive for *E. canis*. Thus, this work presents results demonstrating the importance of controlling these parasites and that the bacterium *Wolbachia* may have the capacity to be used as a biological control, as it is not part of the microbiome of these ticks, and therefore could interfere with their biological and reproductive functioning.

Key-Words: Detection, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rhipicephalus microplus*, molecular biology *Wolbachia*, Biological control.

Lista de figuras

Figura 1 - Estágios imaturos e adultos de <i>Rhipicephalus sanguineu</i> . Fonte: DANTAS TORRES (2010).....	10
Figura 2 - Carrapato macho preso à pele do cachorro Fonte: DANTAS TORRES (2010).....	11
Figura 3 - Ciclo de vida do carrapato <i>Rhipicephalus sanguineus</i> Fonte: SCIENCEDIRECT (2011).....	11
Figura 4 - <i>Ehrlichia canis</i> Fonte: SCIENCEDIRECT (2011).	12
Figura 5 - <i>Bartonella henselae</i> Fonte: BULLETS. (2020).....	15
Figura 6 - <i>Borrelia burgdorferi</i> . Fonte: SOURCE: Carr, J. H., Molins, C. (2015).....	17
Figura 7- <i>Rickettsia rickettsii</i> Fonte: MICROBE NOTES. (2025).....	21
Figura 8 - Ciclo de vida de <i>R. microplus</i> Fonte: GARCÍA (2024).....	26
Figura 9 – <i>Babesia bovis</i> . Fonte: SCIELO (2018).....	29
Figura 10 - <i>Anaplasma marginale</i> Fonte: INFECTIUS DISEASE IMAGES (2025).....	32

Figura 11 - Bactéria <i>Wolbachia pipientis</i> (em verde) destacada através da técnica de FISH (Fluorescent In Situ Hybridization) Fonte: WORLD MOSQUITO PROGRAM (WMP) (2011).	35
Figura 12 - (A e B) Representação esquemática de (A) relações filogenéticas de <i>Wolbachia</i> e membros da família Anaplasmataceae Fonte KAUR <i>et al.</i> (2021).	36
Figura 13 - Tecidos somáticos e reprodutivos com a bactéria <i>Wolbachia</i> marcados no hospedeiro artrópode <i>Drosophila</i> e no hospedeiro nematoide <i>Brugia malayi</i> Fonte: KAUR <i>et al.</i> (2021).	38
Figura 14 - (A) A incompatibilidade citoplasmática (IC) causa morte embrionária em cruzamentos entre machos infectados e fêmeas não infectadas Fonte: KAUR <i>et al.</i> (2021).	39
Figura 15 - Feminização resulta em machos que fenotipicamente se desenvolvem como fêmeas Fonte: KAUR <i>et al.</i> (2021).	40
Figura 16 - Gel com Amostras amplificada de um fragmento de 226 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de <i>Rhipicephalus spp</i> Fonte: Autor.	47
Figura 17 - Resultados das amostras de DNA do carrapato <i>R. sanguineus</i> submetidas à PCR para a detecção do gene 16S rRNA de <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Bartonella henselae</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> . Fonte: Autor.	48
Figura 18 - Amostra amplificada de um fragmento de 296 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de <i>Wolbachia sp</i> em <i>Rhipicephalus sanguineus</i> . Fonte: Autor.	49

Figura 19 - Resultados das amostras de DNA do carrapato <i>R. microplus</i> submetidas à PCR para a detecção do gene 16S rRNA de <i>Wolbachia</i> spp., <i>Ehrlichia canis</i> , <i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Bartonella henselae</i> e <i>Borrelia burgdorferi</i> . Fonte:	
Autor.....	50
Figura 20 - Gel de agarose das reações de PCR para o gene 16S rRNA em <i>Rhipicephalus</i> spp. Fonte:	
Autor.....	51
Figura 21 - Amostras amplificada de um fragmento de 800 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de <i>Anaplasma</i> spp. em <i>Rhipicephalus microplus</i> . Fonte:	
Autor.....	51
Figura 22 - Cinco Amostras amplificada de um fragmento de 452 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de <i>Babesia</i> spp. em <i>Rhipicephalus microplus</i> . Fonte:	
Autor.....	52
Figura 23 - Gel de agarose das reações de PCR para Onchocercidae e <i>I. hookeri</i> em <i>Rhipicephalus</i> spp. Fonte:	
Autor.....	52

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Primers utilizados para amplificação de DNA das bactérias.....45

Tabela 2 - Primers utilizados para amplificação de DNA da bactéria e protozoário.....46

Tabela 3 - Primers utilizados para amplificação de DNA de *Onchocercidae* e *I. hookeri*.....46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACÕES

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APTA – Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios

DAG – Doença da arranhadura do gato

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DNA – Ácido desoxirribonucleico PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

EMC – Erliquiose monocítica canina

EUA – Estados Unidos da América

FAO – Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

FMB – Febre maculosa Brasileira

GF – Grupo do tifo

GFM - Grupo da febre maculosa

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Incompatibilidade citoplasmática

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MLST - Multilocus Sequencing Typing

PIB - Produto Interno Bruto

rRNA - Ácido ribossômico

TPB – Tristeza parasitaria bovina

TPB – Tristeza parasitária bovina

WHO – Organização Mundial da Saúde

WSP - Wolbachia Surface Protein

Sumário

Introdução.....	6
Objetivos.....	9
2.1. Geral	9
2.2. Específicos	9
Revisão de literatura	9
3.1. <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	9
3.2. Bactéria <i>Ehrlichia canis</i>	11
3.2.1. Ciclo biológico da erliquiose monocítica canina (EMC)	13
3.3. Bactéria <i>Bartonella henselae</i>	14
3.3.1. Doença da arranhadura do gato	15
3.4. Bactéria <i>Borrelia burgdorferi</i>	17
3.4.1. Doença de Lyme	18
3.5. Bactéria <i>Rickettsia rickettsii</i>	20
3.5.1. A febre maculosa brasileira	23
3.6. Carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	25
3.6.1. Tristeza parasitária bovina	27
3.6.2. Protozoário <i>Babesia spp.</i>	29
3.6.3. Ciclo de vida do protozoário <i>Babesia spp</i>	30
3.6.4. Bactéria <i>Anaplasma spp.</i>	31
3.6.5. Ciclo de vida da bactéria <i>Anaplasma marginalis</i>	31
3.7. Controle de carrapatos	32
3.8. Bactéria <i>Wolbachia</i>	33
3.9. Classificação e evolução da bactéria <i>Wolbachia</i>	34
3.10. Transmissão e tropismo da bactéria <i>Wolbachia</i>	36
3.11. Genoma da bactéria <i>Wolbachia</i>	38
3.12. Fenótipos da bactéria <i>Wolbachia</i> e sua utilização no biocontrole	38
3.13 A bactéria <i>Wolbachia</i> em carrapatos	40
MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1. Amostragem	42
4.2. Extração de DNA	42
4.3. Amplificação de DNA	42
5. RESULTADOS	44

5.1. Carrapato <i>Rhipicephalus sanguineus</i> :	44
5.2. Carrapato <i>Rhipicephalus microplus</i>	46
6. Discussão	50
7. Conclusão	53
8. Referências bibliográficas	53

1. INTRODUÇÃO

A relação simbiótica entre *Homo sapiens* e o reino animal tem raízes profundas na história da civilização, transcendendo a mera utilidade para se consolidar como um pilar da formação cultural e social. Desde a domesticação inicial de espécies como *Canis familiaris* e *Equus caballus*, até a utilização de *Bos taurus* na pecuária, a cooperação humano-animal tem sido uma constante, moldando a trajetória da humanidade (MOURA, 2016). Essa coexistência estabeleceu laços que ultrapassam a esfera econômica, tornando os animais componentes intrínsecos da identidade cultural e social humana.

A domesticação de animais estabeleceu uma relação de coevolução, influenciando tanto a biologia quanto o comportamento de ambas as espécies. Animais adquiriram valor simbólico, refletindo status e poder, como evidenciado pela presença de cães e cavalos em sociedades europeias e russas, especialmente entre a nobreza (CARVALHO, 2011).

A introdução das espécies *Equus caballus* e *Bos taurus* no século XVI desempenhou um papel crucial na colonização e formação territorial do Brasil. Essas espécies facilitaram a ocupação de terras, o estabelecimento de rotas e a criação de núcleos populacionais, consolidando o modelo cultural português (CARVALHO, 2011).

Ao longo da história, os animais não foram apenas utilizados para trabalho e alimentação, mas também como símbolos de poder e companheiros, mantendo sua relevância na sociedade contemporânea, onde são frequentemente considerados membros da família (BUENO, 2020).

O mercado pet brasileiro tem demonstrado um crescimento notável, consolidando-se como um dos setores mais dinâmicos da economia. Com o aumento do número de lares com animais de estimação, o Brasil se destaca no cenário global, ocupando a segunda posição no ranking de produtos e serviços voltados para pets, com uma participação de 6,4%, ficando atrás apenas dos Estados Unidos. Esse crescimento contínuo, mesmo durante períodos de crise econômica, reflete a importância dos animais de estimação na vida dos brasileiros e o impacto positivo desse setor na economia nacional (BUENO, 2020).

A relação humano-animal configura um fenômeno complexo e multifacetado, com profundas implicações históricas, culturais e econômicas. No contexto brasileiro, o mercado pet emerge como um setor dinâmico e relevante, refletindo a crescente importância dos animais de estimação na sociedade contemporânea.

O mercado pet brasileiro demonstra um crescimento econômico robusto, com um faturamento anual estimado em R\$ 20 bilhões, conforme dados da Euromonitor

International. Este desempenho é impulsionado pela demanda por produtos essenciais (ração, medicamentos, serviços veterinários) e pela crescente tendência de "humanização" dos animais de estimação. A percepção dos pets como membros da família tem impulsionado o consumo de bens e serviços voltados para o bem-estar animal (EXAME, 2016).

O setor pet transcende a mera comercialização de produtos, gerando empregos, fomentando empresas e contribuindo significativamente para a economia nacional. A crescente preocupação com a saúde e o bem-estar animal tem impulsionado o surgimento de novas oportunidades de negócios, como clínicas veterinárias e plataformas de e-commerce. Adicionalmente, o crescimento do setor promove benefícios sociais, como a conscientização sobre cuidados, adoção responsável e bem-estar animal. Dessa forma, o setor pet não apenas impulsiona o consumo, mas também reflete mudanças sociais, destacando sua importância econômica e cultural para o futuro da sociedade (BUENO, 2020).

A pecuária configura um dos setores agrícolas de maior crescimento global, impulsionado pelo aumento da demanda por produtos de origem animal. A produção pecuária desempenha um papel fundamental na socioeconomia mundial, garantindo o acesso à proteína animal e empregando mais de 1,3 bilhão de pessoas. Além de gerar renda, a pecuária contribui para a subsistência de comunidades rurais, fornecendo alimentação, insumos e meios de transporte, e representa 40% da economia agrícola global (FAO, 2018; AREDE et al., 2023).

A bovinocultura, com rebanhos das espécies *Bos taurus* e *Bos indicus*, é a atividade pecuária mais comum, com foco na produção de leite, carne e couro (FAO, 2023). O Brasil possui um dos maiores rebanhos bovinos do mundo, com 238,6 milhões de cabeças (IBGE, 2023), de um total global de 1,7 bilhão (KHADE, KHILLARE, DASTAGIRI, 2021). O país se destaca como um dos quatro maiores produtores de carne e leite (SYMINGTON, RAO, 2023).

A bovinocultura desempenha um papel crucial na economia brasileira, contribuindo com R\$ 1,41 Trilhões para o valor bruto da produção agropecuária e configurando-se como uma das principais commodities do país (IBGE, 2025;). Entretanto, a alta prevalência de carrapatos e doenças transmitidas por vetores representa um desafio significativo, com estimativas de perdas econômicas globais de 22 a 30 bilhões de dólares (BURROW et al., 2019).

Os carrapatos (Acari: Ixodida) são ectoparasitas hematófagos obrigatórios, classificados em três famílias: Ixodidae, Argasidae e Nuttalliellidae (TAYLOR, COOP, WALL, 2017). Esses parasitas são vetores primários de patógenos para animais (HUSSAIN *et al.*, 2022), incluindo bactérias, protozoários, helmintos e vírus, que impactam significativamente a saúde animal (GONDARD *et al.*, 2017; GIGLIOTI *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2018; GUO *et al.*, 2019).

A família Ixodidae, a mais abundante, compreende mais de 750 espécies caracterizadas por um escudo dorsal rígido (GUGLIELMONE, NAVA, ROBINS, 2021). *Rhipicephalus sanguineus* é um vetor importante da bactéria *Ehrlichia canis*, causadora da erliquiose em cães domésticos e rurais (SILVA *et al.*, 2011). *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, conhecido como carrapato-do-boi, causa efeitos negativos na pecuária, como perda de peso, diminuição da produção de leite, danos ao couro e transmissão de patógenos causadores da babesiose e anaplasmose bovina (CALVANO *et al.*, 2021).

O controle de carrapatos com acaricidas sintéticos é tradicional, mas apresenta limitações devido à resistência desenvolvida pelos carrapatos e aos impactos ambientais, como a contaminação de alimentos e do meio ambiente. No Brasil, os principais produtos utilizados incluem organofosforados, piretróides, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis, Deltametrina, Cipermetrina, Amitraz, Fipronil, Clorpirifós e Benzoilfeniluréia.

Diante dessas limitações, métodos alternativos estão sendo investigados, como vacinas, óleos essenciais e controle biológico. O controle biológico, que utiliza inimigos naturais como microrganismos, predadores e parasitas, oferece uma solução mais sustentável para a pecuária, reduzindo a dependência de produtos químicos e auxiliando na conservação do meio ambiente.

Neste contexto, *Wolbachia* é um gênero de bactérias gram-negativas, endossimbiontes e intracelulares obrigatórias, pertencentes à classe Alphaproteobacteria, a ordem Rickettsiales e a família Anaplasmataceae (DRISCOLL *et al.*, 2020). São altamente difundidas na natureza, estando presentes em mais de 50% das espécies de artrópodes terrestres e nematóides filariais (Onchocercidae) (WEINERT *et al.*, 2015; LEFOULON *et al.*, 2016). As características fenotípicas e a capacidade de manter interações ecológicas com seus hospedeiros faz com que a *Wolbachia* seja um agente muito valioso no controle biológico de pragas, vetores e de doenças (BI, WANG, 2020).

Dessa forma, este trabalho visa identificar a presença da bactéria endossimbionte *Wolbachia* sp. nos carrapatos *R. sanguineus* e *R. microplus*, além de investigar a presença de bactérias patogênicas para animais e seres humanos nessas amostras.

1. OBJETIVOS

Geral

Detectar e identificar as bactérias por meio de técnicas moleculares (PCR) bactérias de importância médico-veterinária em populações do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* e de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

2.2. Específicos

- Investigar a presença da bactéria *Wolbachia* sp. em *R. sanguineus* e *R. microplus*;
- Investigar a ocorrência de nematoides filariais e da vespa parasitoide *I. hookeri*, hospedeiros de *Wolbachia* em amostras de *R. sanguineus* e *R. microplus* positivos para essa bactéria.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 *Rhipicephalus sanguineus*

O *Rhipicephalus sanguineus* foi descrito pela primeira vez em 1806 por Latreille, como *Ixodes sanguineus*. Existe pouco conhecimento sobre a origem desse carrapato, alguns autores citam a sua origem como africana, outros, mediterrânea, porém o gênero *Rhipicephalus* é típico da África, mostrando que a melhor hipótese da origem dessa espécie é africana (DANTAS-TORRES, 2024).

A espécie *Rhipicephalus sanguineus sensu strictu* pertence à subfamília Rhipicephalinae, dentro da família Ixodidae, e faz parte do complexo *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* que abrange 12 espécies que são morfologicamente e filogeneticamente similares (HEKIMOĞLU *et al.*, 2016; COIMBRA-DORES *et al.*, 2016; SÁNCHEZ-MONTES *et al.*, 2021).

O carrapato *R. sanguineus s.s.* possui um ciclo de vida trioxeno, ou seja, depende de três hospedeiros para completar o seu ciclo de vida, possuindo quatro estágios de

desenvolvimento (ovo, larva, ninfa e adultos) (FIGURA 1) (COOLEY, 1946; DANTASTORRES, 2024). Os ovos são pequenos, esféricos e marrom-escuro, enquanto as larvas recém eclodidas são pequenas (comprimento, 0,54 mm; largura, 0,39mm) e possuem três pernas. As ninfas têm quatro pares de pernas e são parecidas com os adultos, apenas com dimensões menores (comprimento, de 1,14 a 1,3 mm; largura, de 0,57 a 0,66 mm) e sexualmente imaturos (DANTAS-TORRES, 2024). As larvas têm um período de alimentação que pode variar de 2 a 5 dias, as ninfas de 3 a 6 dias e as fêmeas durante 9 dias ou mais (FIGURA 3) (DANTAS-TORRES, 2024). Os machos se alimentam menos que as fêmeas, porém permanecem no mesmo hospedeiro por muitas semanas (Figura 3) (TROUGHTON, LEVIN, 2007; WYK *et al*, 2024). Para realizar essa alimentação, *R. sanguineus s.s.* usa suas quelíceras para perfurar a pele do hospedeiro (FIGURA 2), liberando uma substância chamada cimentícia, que forma um canal de alimentação. Nesse processo, muitos capilares e pequenos vasos sanguíneos são afetados e destruídos, liberando uma grande quantidade de sangue, que então é sugada pelo carrapato (WYK *et al*, 2024).

O carrapato *R. sanguineus s.s.* é um vetor importante de patógenos para sanidade animal, podendo transmitir bactérias como *Ehrlichia canis*, *Bartonella henselae*, *Borrelia burgdorferi* e *Rickettsia rickettsii*, causadoras das doenças erliquiose monocitotrófica canina (EMC) (HARRUS, WANER, 2011), doença da arranhadura do gato (DAG) (WECHTAISONG *et al.*, 2020), doença de Lyme (LD) (ELHELW *et al.*, 2021) e febre maculosa brasileira (FMB) (MORALES *et al.*, 2019), respectivamente.

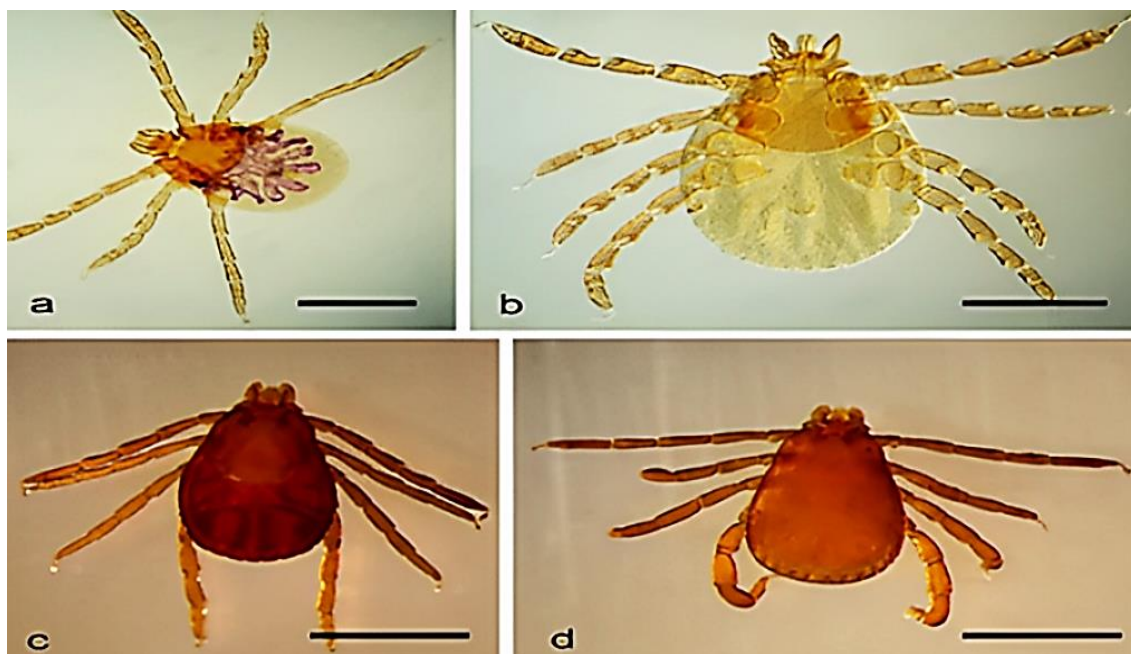


Figura 1. Estágios imaturos e adultos de *Rhipicephalus sanguineus*. A: larva (montada em meio de Hoyer; barra = 400 µm). B: ninfa (montada em meio de Hoyer; barra = 0,5 mm). C: fêmea (barra = 1 mm). D: macho (barra = 1 mm).
Fonte: DANTAS TORRES (2010).



Figura 2. Um macho firmemente preso à pele do cachorro. Observe que enquanto o carrapato é puxado suavemente com a ajuda de uma pinça, a pele é esticada. B: Uma fêmea exibindo um pedaço de pele de cachorro que permaneceu preso ao aparelho bucal após sua remoção forçada. **Fonte:** DANTAS TORRES (2010)

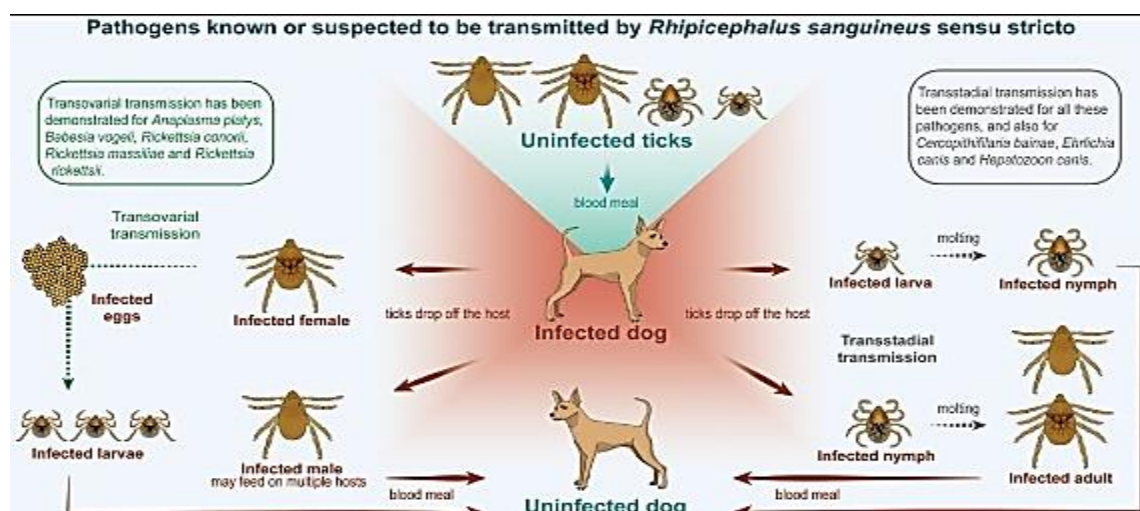


Figura 3. Ciclo de vida do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*. **Fonte:** SCIENCEDIRECT (2011).

3.2. *Ehrlichia canis*

A bactéria *Ehrlichia canis* é conhecida por causar a erliquiose monocítica canina (EMC) (NEER *et al.*, 2002, SAINZ *et al.*, 2015), doença que é encontrada em todos os continentes (SYKES, 2014). Essa bactéria tem como seu principal vetor o carrapato *R. sanguineus*, podendo ser transmitida transestadialmente (de larva para adultos) e do carrapato para o cão (BREMER *et al.*, 2005), principalmente nas regiões tropicais, pois

apresentam uma ampla distribuição do seu vetor (ANDEREG; PASSOS, 1999).

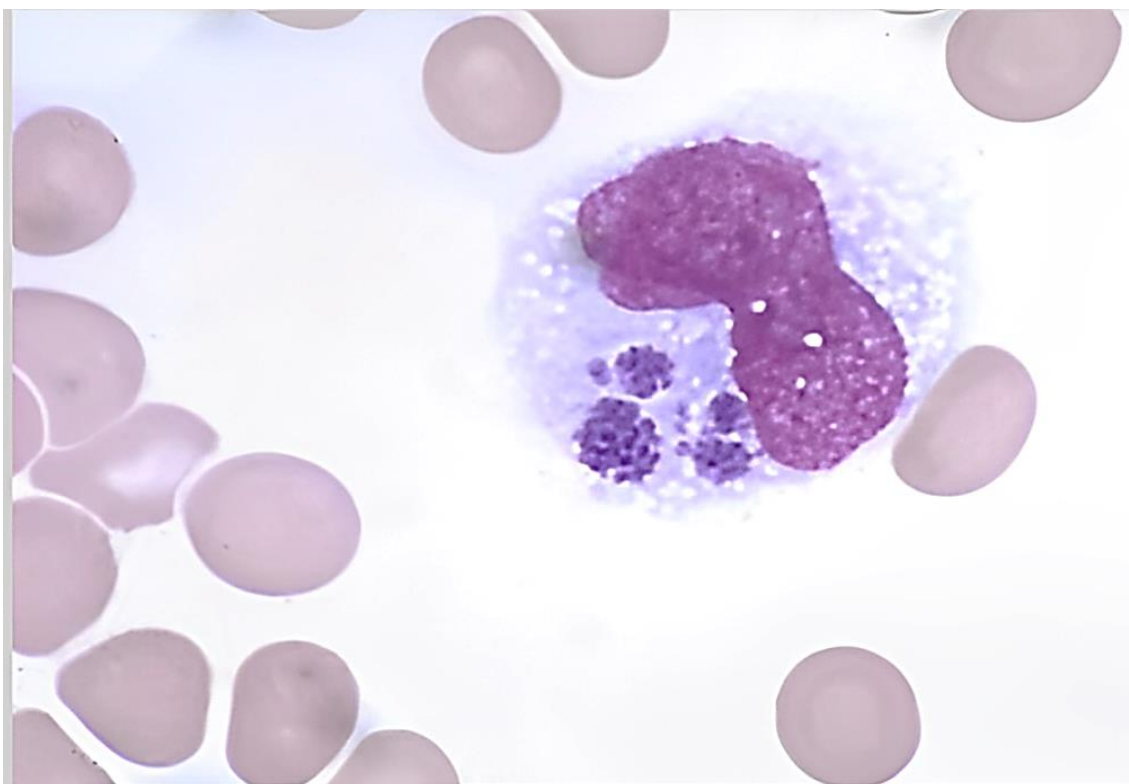


Figura 4. *Ehrlichia canis*: Fonte: DR. CAIO CATALANI (2024)

A primeira infecção por *Ehrlichia* ocorreu em 1935 na Argélia, depois de uma grande epizootia, que marcou a guerra do Vietnã como a fase da doença canina. No Brasil, a primeira infecção ocorreu na cidade de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, Sudeste do Brasil (VIEIRA *et al.*, 2010). Em uma análise experimental, após o tempo de incubação de 8 a 20 dias, o ciclo de infecção por *E. canis* feito por transfusão de sangue ou a própria fixação do carrapato, pode ser dividido em 3 fases: aguda (duração de 2 a 4 semanas), subclínica (meses a anos) e crônica (para o resto da vida) (HARRUS *et al.*, 2012).

Cães infectados de maneira natural podem apresentar sintomas como: febre (ou hipotermia em casos de pancitopenia profunda), depressão ou letargia, anorexia, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia, palidez das mucosas, tendência hemorrágica e anormalidades oculares como uveíte anterior ou posterior e cães que apresentam a fase aguda da doença, ficam susceptíveis à infestação de carrapatos e cães na fase crônica podem apresentar estomatite ulcerativa, glossite necrótica, edema escrotal e sinais de danos ao sistema nervoso central, como convulsões, ataxia, disfunção vestibular e dor cervical (MYLONAKIS *et al.*, 2019).

Os cães que apresentam evidências moleculares de infecção por *E. canis*, necessitam de uma terapia antimicrobiana, porém a decisão de tratar cães soropositivos que não apresentam sintomas ainda é uma controversa (NEER *et al.*, 2002; SYKES, 2014).

3.2.1. Ciclo biológico da erliquiose monocítica canina (EMC)

A EMC é uma doença crescente no Brasil que afeta as células mononucleares. O agente etiológico, a bactéria *E. canis*, é transmitida principalmente pelo carrapato *R. sanguineus* e pode ser disseminada por transfusões de sangue. A doença apresenta três fases: aguda, subclínica e crônica, com a fase aguda ocorrendo após um período de incubação de 5 a 15 dias. Os sintomas incluem febre e alterações hematológicas, como anemia e leucopenia. Cães imunocompetentes podem eliminar a infecção, enquanto outros podem desenvolver a forma crônica. A erliquiose é uma zoonose importante, com ampla distribuição, incluindo no Brasil, onde foi relatada pela primeira vez em Belo Horizonte. A doença tem sido reconhecida como uma causa significativa de morbidade e mortalidade tanto em animais quanto em humanos, especialmente em áreas onde carrapatos são comuns (MACEDO *et al.*, 2023).

A espécie *E. canis* é um microrganismo pequeno que se replica dentro dos leucócitos do hospedeiro, formando inclusões chamadas mórulas, observadas durante a fase aguda da infecção. Embora raras, essas estruturas intracelulares são visíveis por um curto período. A trombocitopenia, redução do número de plaquetas, é a alteração mais comum, ocorrendo em todas as fases da doença, mas com mecanismos diferentes nas fases aguda e crônica (SILVA *et al.*, 2011).

Estudos indicam que fêmeas de carrapato infectadas não transmite *E. canis* para sua progênie e o microrganismo não foi detectado nos ovários de carrapatos infectados. Isso sugere que o *R. sanguineus* é o vetor, mas não o reservatório da EMC, mantendo a infecção até a fase adulta. A frequência de carrapatos infectados no Brasil varia entre 2,3% e 6,2%. O microrganismo se multiplica nas células dos hematócitos e glândulas salivares do carrapato, que pode transmitir a doença aos cães por até 155 dias. Esse carrapato é encontrado em todo o Brasil, principalmente em áreas urbanas (SILVA *et al.*, 2011).

A presença da bactéria *E. canis* ocorre em diversas regiões de clima temperado, tropical e subtropical, como Ásia, África, Europa, Américas Central e do Norte, e sua prevalência está relacionada ao carrapato *R. sanguineus*, vetor da doença. No Brasil, a

prevalência aumentou em estados como Paraná, São Paulo, Minas Gerais e Distrito Federal, com até 65% de infecção em ambientes urbanos e rurais. A infecção pode ocorrer em qualquer estágio do carrapato, e há indícios de que gatos e roedores possam atuar como reservatórios. Cães da raça Pastor Alemão e Dobermans são mais suscetíveis à forma grave da doença, com maior gravidade em Pastor Alemão devido à depressão imunológica (SILVA *et al.*, 2011).

O diagnóstico da doença é complexo devido às suas características atípicas. Ele é baseado na combinação de sorologia, sinais clínicos e resultados laboratoriais, como trombocitopenia e anormalidades hematológicas. A imunofluorescência indireta é o teste sorológico mais utilizado, enquanto a PCR tem sido incorporada ao diagnóstico recentemente. Outra abordagem é a detecção de mórulas no citoplasma das células mononucleares do sangue. Para um diagnóstico definitivo, é essencial considerar os achados clínicos em conjunto com os exames laboratoriais e sorológicos (MACEDO *et al.*, 2023).

O tratamento da EMC visa eliminar a infecção e prevenir sua manutenção em portadores assintomáticos. Várias drogas estão disponíveis, incluindo tetraciclina, doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, imidocarb e cloranfenicol. A doxiciclina é a droga de escolha por sua alta eficácia, baixa taxa de recidiva e segurança em pacientes com insuficiência renal. Em casos graves, como anemia severa, pode ser necessária terapia de suporte. O diagnóstico precoce melhora as chances de recuperação, enquanto o diagnóstico tardio pode resultar em complicações graves, como aplasia de medula óssea (SILVA *et al.*, 2011).

A prevenção da EMC é crucial, especialmente em locais com grande concentração de cães, como canis e abrigos, onde o risco de propagação de doenças é maior. Como não existe uma vacina disponível no mercado contra a erliquiose, o controle de carrapatos e outros ectoparasitas é a principal medida preventiva (ARMANDO *et al.*, 2022).

3.3. *Bartonella henselae*

A espécie *Bartonella henselae* é uma bactéria gram-negativa exigente que infecta animais de estimação e é a causadora da doença da arranhadura do gato (DAG) em humanos. A prevalência global de infecção por *B. henselae* em gatos varia de 5% a 86%. (BOULOUIS *et al.*, 2005; CELEBI *et al.*, 2009; FABBI *et al.*, 2004). A transmissão entre gatos ocorre principalmente por meio de pulgas, e a infecção em humanos geralmente acontece após arranhões de gatos contaminados com fezes de pulgas contendo a bactéria.

Em humanos, a infecção tende a ser autolimitada, podendo variar de assintomática a apresentar inflamação na pele, febre e linfadenopatia. No entanto, a bactéria *B. henselae* tem sido cada vez mais associada a outras condições, como conjuntivite, encefalopatia e endocardite (WECHTAISONG *et al.*, 2020).

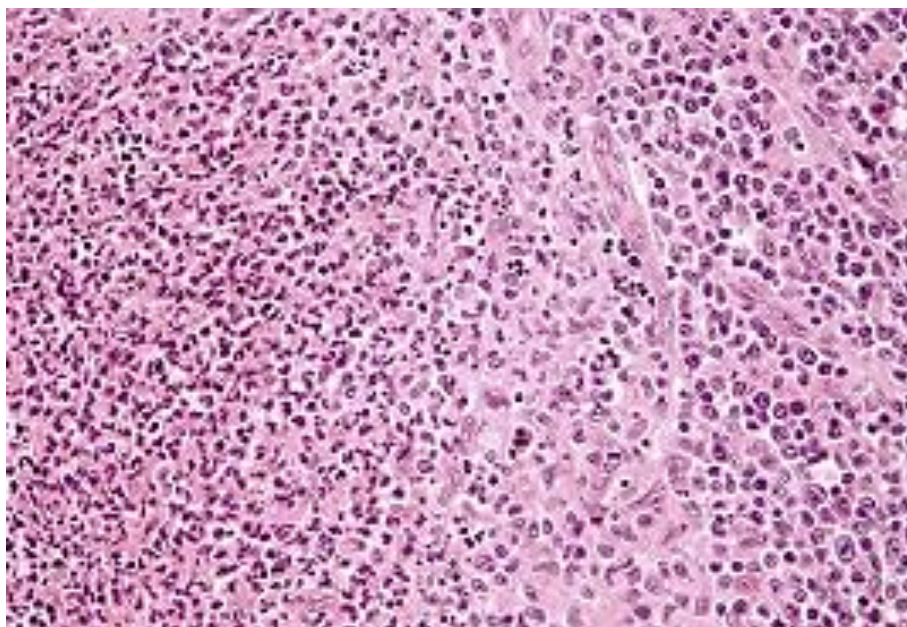


Figura 5. *Bartonella henselae*. Fonte: BULLETS. (2020).

Embora as pulgas dos gatos sejam o principal vetor comprovado para a bactéria *B. henselae*, há suspeitas que carrapatos também possam desempenhar um papel na transmissão da bactéria. O DNA da espécie *B. henselae* já foi detectado em diversas espécies de carrapatos, como *Ixodes pacificus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus* e *R. sanguineus*. Coinfecções da bactéria *B. henselae* com outros patógenos transmitidos por carrapatos, como *Anaplasma spp.*, *Borrelia spp.* e *Rickettsia spp.*, foram relatadas tanto em humanos quanto em animais, com base em evidências moleculares, o que sugere uma possível co-transmissão desses agentes patogênicos após uma picada de carrapato (WECHTAISONG *et al.*, 2020).

3.3.1 Doença da arranhadura do gato

A doença da arranhadura do gato (DAG) é causada principalmente pela bactéria *B. henselae* e, menos frequentemente, pela espécie *Bartonella quintana*. Trata-se de uma infecção bacteriana transmitida, principalmente, por meio de arranhaduras, mordidas ou lambeduras de gatos, sendo o ser humano um hospedeiro acidental. A espécie *B. henselae*

tem distribuição global, prevalecendo em áreas de clima quente e úmido. Embora seja mais comum em crianças, também pode ocorrer em adultos. Por não ser uma doença de notificação compulsória, sua real prevalência não é totalmente conhecida (SOUZA, 2011).

As manifestações clínicas da DAG incluem o surgimento de uma pápula ou pústula no local da inoculação entre três e dez dias após o contato com o animal infectado, com duração de até três semanas. Cerca de 40% a 65% dos pacientes não identificam o local de inoculação. A linfadenopatia regional, principalmente nas áreas da cabeça, pescoço e membros superiores, é uma das manifestações mais comuns, surgindo entre uma e sete semanas após a infecção. Além disso, pode haver sintomas inespecíficos como febre baixa, hiporexia e prostração (SOUZA, 2011).

O diagnóstico da DAG é baseado nos achados clínicos e epidemiológicos, sendo complementado por exames microbiológicos e sorológicos. No entanto, a *Bartonella* é de difícil cultivo nos métodos de rotina, necessitando de meios específicos e um longo tempo de incubação. A imunofluorescência indireta é uma das principais ferramentas diagnósticas, permitindo a detecção de anticorpos IgM e IgG, embora haja limitações em termos de sensibilidade e possibilidade de reações cruzadas com outras espécies (BARBOSA *et al*, 2023).

O diagnóstico diferencial é extenso, incluindo doenças infecciosas como tuberculose cutânea, leishmaniose e esporotricose, além de condições não infecciosas como linfomas. A cultura para fungos e os exames histopatológicos são fundamentais para excluir outras doenças. No caso descrito, a melhora clínica significativa após antibioticoterapia auxiliou no diagnóstico presuntivo de bartonelose (MENDES, 2022).

Quanto ao tratamento, há incertezas sobre a necessidade de antibióticos e a escolha da medicação ideal. A bactéria *B. henselae* é resistente a betalactâmicos como penicilinas e cefalosporinas, sendo os macrolídeos, como azitromicina e eritromicina, as principais drogas de escolha. Outras opções incluem doxiciclina, rifampicina e quinolonas, com casos mais graves exigindo terapias prolongadas (SOUZA, 2011).

A DAG parece ser comum em regiões de clima quente, favorecidas pela presença do reservatório animal, o gato. No entanto, a dificuldade de diagnóstico devido à necessidade de exames microbiológicos e histopatológicos, bem como a ausência de métodos diagnósticos mais ágeis, pode subestimar sua frequência. A complexidade no reconhecimento dessa doença reflete tanto a falta de conhecimento sobre sua prevalência quanto a limitação dos recursos diagnósticos disponíveis (SOUZA, 2011).

3.4. Bactéria *Borrelia burgdorferi*

A espécie *Borrelia burgdorferi* é responsável por causar a doença de Lyme (LD) (também conhecida como febre recorrente). A LD é uma enfermidade zoonótica multissistêmica transmitida por carrapatos, presente em várias regiões do mundo. Essa enfermidade é disseminada por carrapatos pertencentes ao complexo *I. ricinus*. A transmissão da bactéria ocorre de forma horizontal entre carrapatos e dentro de hospedeiros reservatórios, que são predominantemente pequenos mamíferos selvagens, enquanto os seres humanos são considerados hospedeiros acidentais. Os sinais clínicos diferem de acordo com as espécies do complexo *B. burgdorferi* predominante em cada região, mas em humanos, a manifestação mais comum é o eritema migratório (uma erupção cutânea), acompanhado por sintomas gripais. Animais de estimação, principalmente cães, são usados como indicadores da presença da doença de Lyme. Apenas 5 a 10% dos cães infectados exibem sintomas clínicos, o que leva à subestimação da prevalência da doença nesses animais, aumentando o risco de propagação. Pesquisas anteriores em animais domésticos identificaram DNA do gênero *Borrelia* principalmente em carrapatos adultos que infestavam ovelhas e gado (ELHELW *et al.*, 2021).

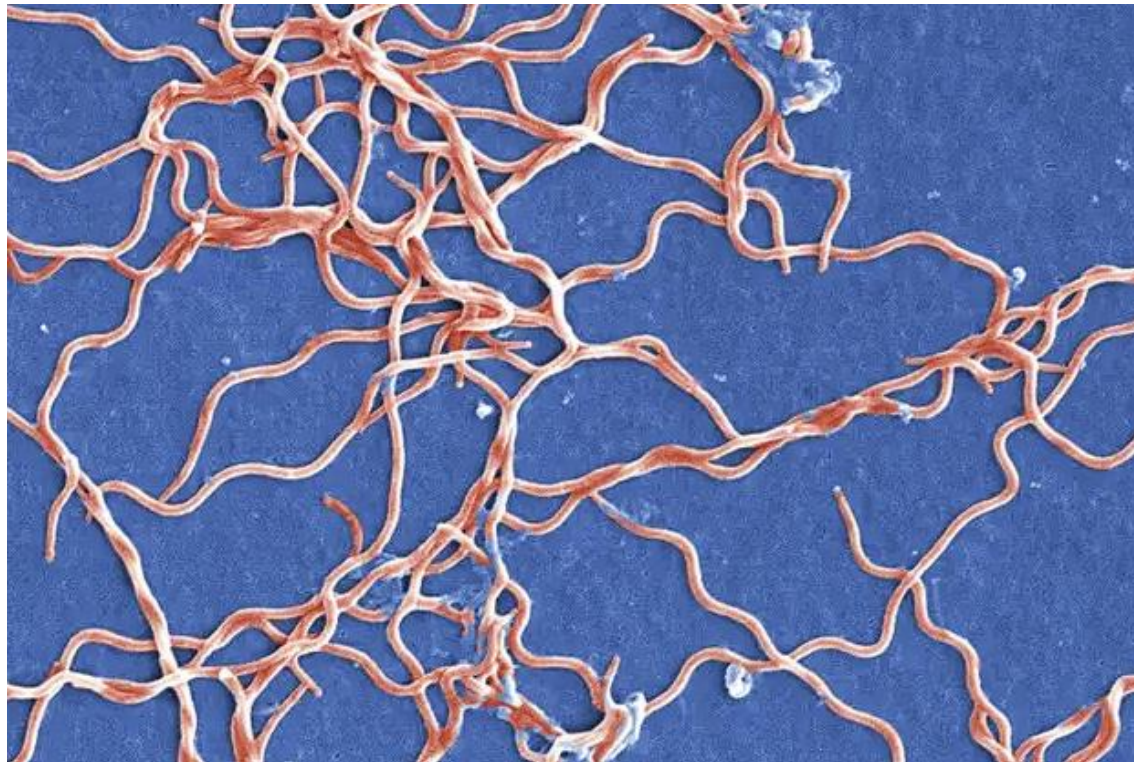


Figura 6. *Borrelia burgdorferi*. Fonte: SOURCE: Carr, J. H., Molins, C. (2015).

3.4.1. Doença de Lyme

A borreliose de Lyme é uma importante doença infecciosa emergente, comumente relatada na América do Norte e na Europa, mas também encontrada em partes da Ásia. Nos Estados Unidos, os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) estimam que cerca de 300.000 novos casos ocorrem anualmente, especialmente nos estados do nordeste (STEERE *et al.*, 2016).

A artrite de Lyme foi identificada pela primeira vez em 1976, quando um grupo de crianças em Lyme, Connecticut, apresentou casos de artrite. Após essa descoberta, ficou claro que a artrite de Lyme fazia parte de uma doença multissistêmica mais complexa, incluindo manifestações como o eritema migratório (lesão de pele que se expande lentamente), a síndrome de Bannwarth e a acrodermatite crônica atrófica, que já haviam sido descritas na Europa (STEERE *et al.*, 2016).

Essas diferentes manifestações foram associadas depois que a espiroqueta *B. burgdorferi* foi isolada do carrapato *I. scapularis*. Além disso, a *B. burgdorferi* foi identificada em pacientes com essas manifestações clínicas, e a doença, que afeta comumente a pele, as articulações, o coração ou o sistema nervoso, passou a ser conhecida como borreliose de Lyme (BERNARDES *et al.*, 2022).

O grupo *Borrelia burgdorferi sensu lato* é composto por 20 diferentes genoespécies. Três delas são as principais responsáveis pela borreliose de Lyme em humanos: *B. burgdorferi*, *Borrelia afzelii* e *Borrelia garinii*. Essas genoespécies são transmitidas por diferentes espécies de carrapatos e causam a doença em diferentes regiões. Por exemplo, a *B. burgdorferi sensu stricto* é a principal causadora da borreliose de Lyme nos Estados Unidos, enquanto *B. afzelii* e *B. garinii* (e, em menor escala, *B. burgdorferi*) causam a doença na Europa (DAVOGLIO *et al.*, 2024).

A diversidade entre as cepas de *B. burgdorferi sensu lato* parece ser um dos principais fatores para as variações regionais nas manifestações clínicas da borreliose de Lyme. Por exemplo, a bactéria *B. burgdorferi* encontrada no nordeste dos Estados Unidos é particularmente artritogênica, enquanto a espécie *B. afzelii* causa principalmente infecções de pele, e a bactéria *B. garinii* tem uma predileção pelo sistema nervoso, sendo especialmente neurotrópica (DAVOGLIO *et al.*, 2024).

Nos Estados Unidos, a distribuição etária da borreliose de Lyme apresenta um padrão bimodal, com dois picos de incidência: um em crianças de 5 a 15 anos e outro em adultos de 45 a 55 anos. A doença é mais comum entre homens do que entre mulheres em pessoas com menos de 60 anos, mas nas faixas etárias mais avançadas, a proporção de

casos entre homens e mulheres se iguala ou até inclina levemente a favor das mulheres. Em alguns países da Europa, como a Eslovênia e a Alemanha, a incidência da borreliose de Lyme é mais alta entre mulheres adultas (55%) do que entre homens (45%). Especialmente na região nordeste dos EUA, e em grande parte da Europa, a doença atinge seu pico de incidência nos meses de junho e julho, o que está relacionado aos hábitos alimentares dos carrapatos na fase ninfal (STEERE *et al.*, 2016).

A transmissão da bactéria *B. burgdorferi* está relacionada ao ciclo de vida de carrapatos do complexo *I. ricinus*, que variam geograficamente. Nos EUA, a espécie *I. scapularis* é o principal vetor, com roedores como camundongos e esquilos atuando como reservatórios da bactéria. O ciclo de vida do carrapato depende da transmissão entre ninfas infectadas e roedores, com os veados ajudando a manter as populações de carrapatos (SILVA *et al.*, 2022).

Na Europa, o *I. ricinus* se alimenta de diversas espécies, incluindo pássaros e mamíferos. As aves são reservatórios da espécie *B. garinii*, enquanto os roedores mantêm a bactéria *B. afzelii*. Aves migratórias ajudam a expandir a área de distribuição dos carrapatos. Essas interações ecológicas explicam a disseminação global da doença de Lyme e suas variações clínicas regionais (SILVA *et al.*, 2016).

Em áreas endêmicas de borreliose de Lyme, o risco de infecção pela bactéria *B. burgdorferi* s.l. depende de fatores ecológicos e comportamentais. A abundância de carrapatos infectados e os comportamentos humanos que aumentam a chance de exposição aos carrapatos são determinantes principais. Pessoas que têm ocupações ou hobbies que envolvem maior contato com ambientes florestais, como trabalhadores florestais, caçadores e caminhantes, correm um risco maior de infecção devido à maior exposição aos carrapatos (DAVOGLIO *et al.*, 2024).

Além disso, o ambiente peridoméstico, ou seja, áreas ao redor de residências situadas em regiões infestadas por carrapatos, representa um risco significativo de exposição. A probabilidade de encontrar carrapatos perto de casa é influenciada pela densidade de carrapatos e de veados nas proximidades, pelo tipo de paisagismo que pode favorecer a sobrevivência dos vetores e pelas atividades ao ar livre realizadas no quintal, como jardinagem. Ambientes com vegetação densa e mal manejada aumentam o risco de picadas de carrapato (STEERE *et al.*, 2016).

Apesar de ser uma preocupação relevante em áreas endêmicas, a transmissão da borreliose de Lyme por outras vias, como transfusões de sangue, contato sexual, sêmen, urina ou leite materno, não foi comprovada. Assim, a prevenção da doença deve focar na

redução da exposição direta aos carrapatos por meio de práticas seguras ao ar livre, controle de paisagismo e o uso de medidas de proteção pessoal, como roupas apropriadas e repelentes (STEERE *et al.*, 2016).

Diversos estudos sobre a presença da bactéria *Borrelia* spp. no Brasil foram publicados, revelando a detecção de genótipos da bactéria em diferentes espécies e regiões. Genótipos do gênero *Borrelia* foram identificados em cães nos estados de Minas Gerais e São Paulo (GONÇALVES *et al.*, 2022), em morcegos no Ceará (JORGE *et al.*, 2023), e em roedores e gambás de municípios paulistas (WECK *et al.*, 2022; WECK *et al.*, 2024). Além disso, a bactéria foi encontrada em vacas (PAULA *et al.*, 2022) e equinos na Bahia (COSTA *et al.*, 2021). Relatos de seres humanos soropositivos para bactéria *Borrelia* spp. também já foram registrados no Brasil (GONÇALVES *et al.*, 2015).

Bactérias do gênero *Borrelia* ou com genótipos similares a espécie *B. burgdorferi* também foram detectadas em carrapatos no Brasil. Por exemplo, menos de 1% das amostras do carrapato *Amblyomma sculptum* apresentaram a bactéria (HIGA *et al.*, 2020), assim como 6% das amostras do carrapato *Ornithodoros cavernicolous* (POLLI *et al.*, 2024). Em amostras do carrapato *Ixodes longiscutatus* do Rio Grande do Sul, a prevalência foi de apenas 5% (DALL'AGNOL *et al.*, 2017), enquanto no estado do Paraná menos de 1% das amostras de carrapatos, incluindo a espécie *Dermacentor nitens*, testaram positivo (SANTOS *et al.*, 2020; GONÇALVES *et al.*, 2013). Esses achados levantam preocupações quanto à real extensão da circulação e transmissão da borreliose no país (MANTOVANI *et al.*, 2007).

3.5. Bactéria *Rickettsia rickettsii*

O gênero *Rickettsia* compreende bactérias intracelulares obrigatórias gram-negativas pertencentes ao grupo das alfa-proteobactérias, dentro da ordem Rickettsiales. Essas bactérias são consideradas endossimbiontes devido à sua estreita relação com hospedeiros invertebrados, mas também são agentes patogênicos significativos para vertebrados, incluindo os seres humanos, quando transmitidas por vetores hematófagos (MERHEJ *et al.*, 2014). A transmissão das bactérias do gênero *Rickettsia* pode ocorrer de forma vertical, horizontal ou mista, e essas bactérias são divididas em quatro grupos filogenéticos: o grupo da febre maculosa (GFM), o grupo do tifo (GF), e os grupos basais, espécies *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis* (LAUKAITIS, MACALUSO, 2021; IGOLKINA *et al.*, 2023).

As riquetisioses são zoonoses de grande importância médica, sendo o grupo da febre maculosa (GFM) responsável por algumas das doenças mais perigosas causadas por bactéria do genero *Rickettsia*. O GFM inclui mais de 25 espécies patogênicas em todo o mundo (WITTER *et al.*, 2016), destacando-se a espécie *Rickettsia rickettsii* como a mais virulenta. Essa espécie é particularmente preocupante nas Américas, onde é responsável por casos graves da febre maculosa, uma doença que pode levar à morte se não for diagnosticada e tratada a tempo. A bactéria *R. rickettsii* foi identificada em diversos países do continente americano, como Canadá, Estados Unidos, México, Costa Rica, Panamá, Colômbia, Brasil e Argentina (OGRZEWALSKA *et al.*, 2012).

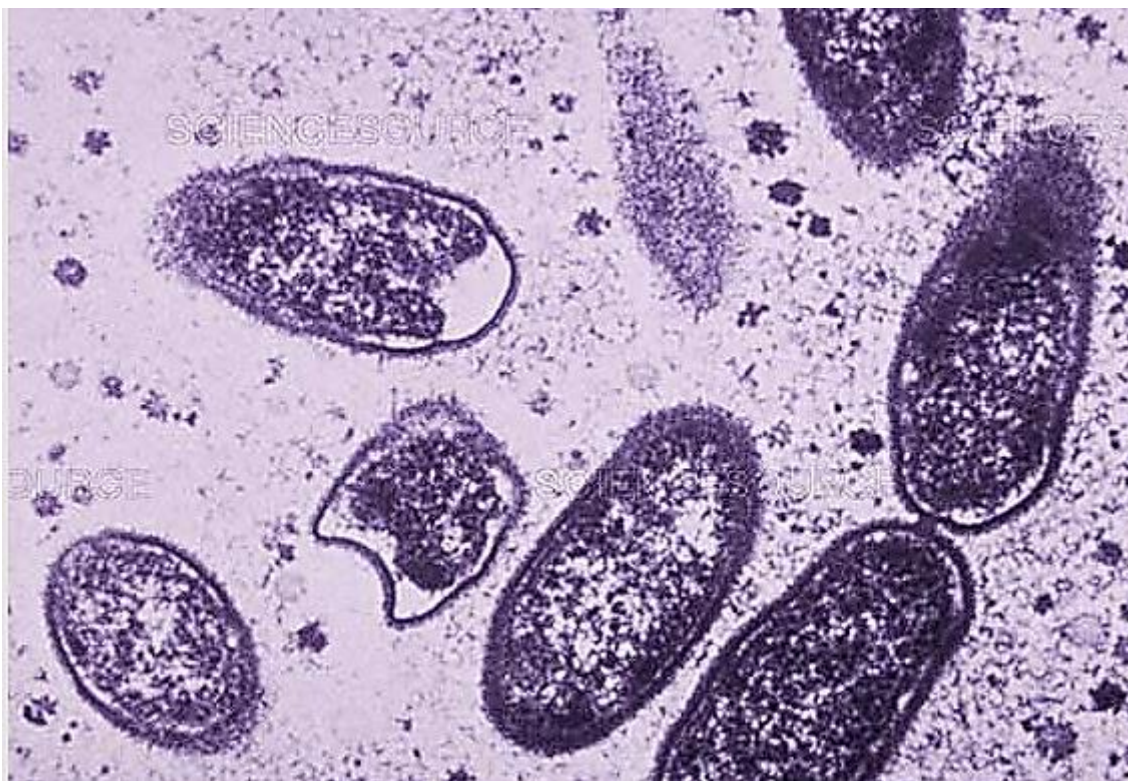


Figura 7. *Rickettsia rickettsii*. Fonte: MICROBE NOTES. (2025).

A capacidade do gênero *Rickettsia* de causar doenças está relacionada à sua transmissão por vetores hematófagos, como carrapatos, pulgas e piolhos. Esses vetores atuam como intermediários essenciais no ciclo de vida das bactérias, transferindo-as entre os invertebrados e os hospedeiros vertebrados. As formas de transmissão variam, sendo a transmissão vertical (ou transovariana) comum em muitos vetores, o que permite a perpetuação das bactérias dentro das populações de artrópodes. Já a transmissão

horizontal, que ocorre através da picada de um vetor infectado, é responsável pela infecção de vertebrados, incluindo humanos (LAUKAITIS, MACALUSO, 2021).

A febre maculosa causada pela bactéria *R. rickettsii* é uma zoonose de notificação obrigatória em muitos países devido à sua gravidade. No Brasil, essa doença é particularmente relevante em áreas rurais, onde o contato com carrapatos infectados é mais comum. Além disso, as condições climáticas e ambientais de muitas regiões favorecem a proliferação dos vetores, aumentando o risco de transmissão (LAUKAITIS, MACALUSO, 2021). A febre maculosa das Montanhas Rochosas, também conhecida como febre maculosa brasileira (FMB) no Brasil, resulta da infecção pela bactéria *Rickettsia rickettsii* (LABRUNA, 2009). O primeiro registro dessa doença ocorreu em 1896, no estado de Idaho, EUA. Três anos depois, a doença foi mencionada na literatura médica como febre maculosa de Idaho (THORNER, WALKER, PETRI Jr., 1998). Em 1902, Wilson e Chowning documentaram sete mortes no Vale do Bitterroot, em Montana. Em 1904, após estudarem 126 casos na parte oeste do rio Bitterroot, identificaram o carrapato da madeira (*Dermacentor spp.*) como o vetor da transmissão. Posteriormente, em 1906, Howard Ricketts, trabalhando na mesma região, conseguiu isolar o agente causador da doença a partir do sangue de pacientes infectados, inoculando porquinhos-da-índia, que apresentaram sintomas da febre maculosa (THORNER, WALKER, PETRI Jr., 1998; DANTAS-TORRES, 2007; FANG, BLANTON, WALKER, 2017).

Até o ano de 1910, Ricketts também isolou a bactéria em carrapatos e comprovou o papel vetorial desses artropodes, além de observar que a bactéria era transmitida de forma transovariana para os ovos dos carrapatos. Antes de falecer, Ricketts também identificou a bactéria *Rickettsia prowazekii*, o agente causador do tifo epidêmico, que é transmitido por piolhos (THORNER, WALKER, PETRI Jr., 1998; DANTAS-TORRES, 2007).

Seis anos depois, Wolbach publicou estudos detalhando a aparência da bactéria nos vasos sanguíneos e, no ano de 1919, descreveu-a como um patógeno intracelular, que infecta principalmente as células endoteliais. Ele denominou a bactéria como *Dermacentroxenus rickettsii*, mas posteriormente o gênero foi integrado ao gênero *Rickettsia*, e Brumpt propôs o nome *R. rickettsii* em 1922 (THORNER, WALKER, PETRI Jr., 1998; DANTAS-TORRES, 2007).

No Brasil, o primeiro relato da FMB foi registrado em 1929, na região metropolitana de São Paulo. No ano de 1932, Piza descreveu a doença como tifo exantemático paulista, atribuído à bactéria *R. brasiliensis*. No entanto, no ano seguinte,

ele observou uma imunidade cruzada entre o tifo exantemático e a febre maculosa das Montanhas Rochosas, concluindo que ambas as doenças eram causadas pelo mesmo agente, *R. rickettsii* (KATZ *et al.*, 2009; MORAES-FILHO, 2017).

Embora muitos casos tenham sido documentados até a década de 1940, os relatos de FMB diminuíram nas décadas seguintes. Contudo, a partir da década de 1980, houve um ressurgimento da doença no Brasil, e no ano de 1996 ela foi incluída na lista de doenças de notificação obrigatória (GRECA, LANGONI, SOUZA, 2008; LABRUNA, 2009; KATZ *et al.*, 2009). Desde 2007, os dados epidemiológicos sobre a FMB passaram a ser registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) (BARROS E SILVA *et al.*, 2014).

A FMB é uma infecção febril aguda com uma taxa de letalidade superior a 50% (MORAES-FILHO, 2017). Os primeiros sintomas são inespecíficos, incluindo febre alta, dores de cabeça, dores musculares, prostração, náuseas e vômitos. Um sintoma típico é o surgimento de exantema entre o segundo e o sexto dia da doença, começando nos punhos e tornozelos e se espalhando para as palmas das mãos, plantas dos pés e, eventualmente, por todo o corpo (PINTER *et al.*, 2016).

Devido à semelhança dos sintomas com doenças como a dengue e outras arboviroses, e a alteração nos exames laboratoriais (leucocitose e plaquetopenia), a FMB pode ser confundida com essas infecções. O atraso no diagnóstico e o atendimento médico tardio são as principais causas de óbitos (BORGES, 2023).

Atualmente, o estado de São Paulo é o que registra o maior número de casos de FMB no Brasil, com 413 casos confirmados e 237 mortes entre 2018 e 2022 (BRASIL, 2023). Até fevereiro de 2025, 70 casos foram confirmados no estado, resultando em 24 mortes (SES-SP, 2025).

3.5.1. A febre maculosa brasileira

Após a picada de um carrapato infectado, a bactéria *R. rickettsii* se espalha pelo corpo através dos vasos linfáticos e pequenos vasos sanguíneos, afetando tecidos como pele, cérebro, pulmões, coração, fígado, baço, pâncreas e trato gastrointestinal. Em todos esses tecidos, a bactéria invade o endotélio vascular, onde se multiplica e atinge as células musculares lisas. A bactéria se liga a receptores contendo colesterol, fixando-se às células endoteliais por meio de proteínas específicas (ompA e ompB) e interagindo com o receptor celular Ku70 (DEL FIO, 2010). A penetração nas células do hospedeiro ocorre

por fagocitose induzida e, após a ruptura do fagossoma, o microrganismo atinge o citoplasma, onde se replica por fissão binária a cada 10 minutos (DEL FIO, 2010).

A disseminação da infecção leva ao surgimento de sintomas como exantema macular, que aparece geralmente entre o primeiro e o quinto dia da doença. Esse exantema ocorre em 49% dos pacientes até o terceiro dia e em 91% até o quinto dia. O atraso no aparecimento desse sintoma pode dificultar o diagnóstico, levando a piora do quadro clínico devido à demora no início do tratamento. A ausência do exantema, que ocorre em 9 a 12% dos casos, é mais comum em idosos e pessoas com pele negra, dificultando ainda mais o diagnóstico clínico. As máculas que surgem têm bordas mal definidas, medindo entre 2 e 6 mm, e inicialmente aparecem em regiões como punhos e tornozelos, podendo também surgir no tórax. No início, as máculas desaparecem com pressão, mas essa característica se perde à medida que escurecem. Embora a variação no aparecimento do exantema nas palmas das mãos e plantas dos pés seja alta (40 a 80% dos pacientes), esse é considerado um sinal marcante da febre maculosa. Em casos graves, até 4% dos pacientes podem desenvolver necrose tecidual e gangrena, especialmente nos dedos e orelhas (DEL FIO, 2010).

Sem tratamento adequado, a doença pode progredir, levando ao comprometimento do sistema nervoso central. Isso pode resultar em encefalite severa, causando confusão mental (em 28% dos casos), delírios (20 a 26%), ataxia (5 a 18%), convulsões (8%) e até coma (9 a 10%). A presença da bactéria nos vasos sanguíneos do cérebro e das meninges resulta no aumento de leucócitos no líquido cefalorraquidiano e no aumento de proteínas em cerca de 35% dos pacientes (DEL FIO, 2010).

Aumento da permeabilidade vascular pode levar à desidratação, hipovolemia, insuficiência pré-renal e perda significativa de proteínas, causando edema generalizado. O comprometimento renal é um sinal de prognóstico grave. No sistema respiratório, o envolvimento pulmonar é evidenciado por tosse e achados radiológicos, como infiltrado alveolar e pneumonia intersticial. Em casos graves, o edema pulmonar pode causar insuficiência respiratória, exigindo ventilação mecânica e oxigenoterapia (DEL FIO, 2010).

Durante o curso da infecção, uma resposta inflamatória aguda ocorre devido à liberação de citocinas como TNF-alfa e IFN-gama, resultando em aumento da permeabilidade vascular e hipoalbuminemia (19, 20). Essa resposta inflamatória também contribui para a trombocitopenia em cerca de 40% dos pacientes, em razão do consumo excessivo de plaquetas (DEL FIO, 2010). A lesão endotelial generalizada leva à ativação

da cascata de coagulação, com liberação de trombina, agregação plaquetária e aumento de fatores antifibrinolíticos. O bloqueio dos pequenos vasos no coração, rins, pulmões e cérebro pode causar isquemia tecidual e necrose, além de lesão cerebral, especialmente no mesencéfalo e regiões dos núcleos (DEL FIO, 2010).

A resposta imune ao microrganismo é mediada por células fagocíticas e células NK, que, junto com linfócitos CD8, são encontradas no infiltrado perivascular, sugerindo seu papel no controle da infecção. A produção de citocinas associadas às respostas Th1 e Th2 também parece ser crucial para conter a infecção (DEL FIO, 2010).

O período de incubação da febre maculosa varia de 2 a 14 dias, com uma média de 7 dias para o aparecimento dos primeiros sintomas. Esse intervalo depende da quantidade de microrganismos inoculados durante a picada do carrapato (DEL FIO, 2010).

3.6. Carrapato *Rhipicephalus microplus*

A espécie *R. microplus*, popularmente conhecida como carrapato-do-boi por sua predileção por parasitar bovinos, é a espécie de carrapato mais comum no Brasil. Ele pertence ao filo Arthropoda, classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Ixodida, subordem Metastigmata e família Ixodidae (VERÍSSIMO, 2015). O ciclo de vida de *R. microplus* é monóxeno (MARTINS, 2019) e apresenta duas etapas: a fase de vida parasitária que ocorre no hospedeiro, onde o carrapato sofre ecdise de larva para ninfa e de ninfa para adultos (macho ou fêmea). Após cerca de 21 dias ocorre a fecundação das fêmeas que então se ingurgitam de sangue e se desprendem do hospedeiro, no solo realizam a postura dos ovos (MONTEIRO, 2017). Na fase de vida livre ocorre a incubação, eclosão e maturação das larvas, que migram para o topo da vegetação, aguardando que os seus hospedeiros passem para que assim se fixem neles, completando o ciclo Figura 4 (GARCIA *et al.*, 2019).

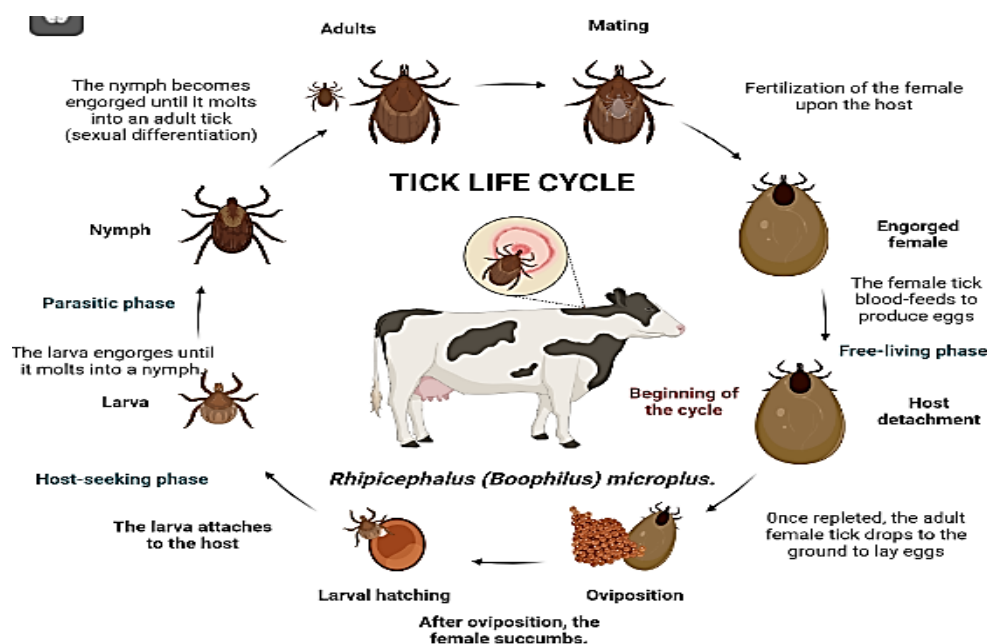


Figura 8. O carrapato *R. microplus* completa seu ciclo de vida passando por quatro estágios: ovo, larva, ninfa e adultos. As larvas recém-eclodidas buscam ativamente um hospedeiro bovino, ao qual se fixam e se alimentam de seu sangue por vários dias. Após a muda, elas se desenvolvem em ninfas, que repetem o processo de alimentação e muda até finalmente atingirem o estágio adulto. Fêmeas adultas e ingurgitadas (teleóginas) acasalam e põem ovos, iniciando um novo ciclo. Fonte: García (2024).

O clima tropical do Brasil favorece o desenvolvimento do carrapato *R. microplus*, fazendo com que as complicações e doenças causadas por esse carrapato se tornem endêmicas (MARTINS, FURLONG, LEITE, 2006). Estes efeitos reduzem os rendimentos agrícolas, além de gerar gastos com o manejo de carrapatos e cuidados veterinários (ALBUQUERQUE, SPAGNOL, PARANHOS, 2010), inflando os valores para os consumidores e ameaçando o comércio, o que consequentemente gera um impacto a economia brasileira em cerca de 3,24 bilhões de dólares anuais (GRISI *et al.*, 2014; TABOR *et al.*, 2017). Este carrapato é frequentemente encontrado em animais de criação, como bovinos, búfalos e cabras e está presente em países como Camboja, Laos, Mianmar, Vietnã, Tailândia, Malásia, Filipinas e Indonésia (TAN *et al.*, 2021).

Este carrapato é responsável pela transmissão dos patógenos da tristeza parasitária bovina (TPB), uma doença que está entre as hemoparasitoses de maior relevância dentro do setor pecuário, pois pode comprometer os lucros ou até mesmo inviabilizar a atividade pecuária (SILVA *et al.*, 2021).

3.6.1. Tristeza parasitária bovina

A tristeza parasitária bovina (TPB), é um conjunto de doenças parasitárias que afetam bovinos e outros ruminantes, e que causa grandes prejuízos econômicos, especialmente em regiões tropicais e subtropicais (SILVA *et al.*, 2021). A TPB é uma síndrome clínica que inclui a babesiose, causada pelos protozoários *Babesia bigemina* e *Babesia bovis*, e a anaplasmosse, originada pelas bactérias riquetsias *Anaplasma marginale* e *Anaplasma centrale* (SILVA *et al.*, 2021).

Esses patógenos são transmitidos principalmente por carrapatos, especialmente o *R. microplus*, um vetor amplamente disseminado nas regiões centro-sul do Brasil (SILVA *et al.*, 2021).

Os prejuízos decorrentes da TPB são significativos, afetando a produção de carne, leite e o bem-estar animal, além de aumentar os custos com controle, tratamento e profilaxia. Os impactos incluem infertilidade temporária, queda na qualidade do couro, redução do consumo de alimentos, perda de animais jovens e a necessidade de contratar mão de obra especializada. Além disso, a doença interfere diretamente no Produto Interno Bruto (PIB) de países afetados, sendo que as perdas econômicas globais podem chegar a 500 milhões de dólares por ano. No Brasil, as perdas relacionadas à TPB atingiram cerca de 3,5 milhões de dólares em 2019, e a infestação por carrapatos em vacas leiteiras causou uma perda nacional de aproximadamente 922,36 milhões de dólares (MENDES, 2019; FERREIRA, 2019).

A susceptibilidade dos animais à TPB é influenciada por fatores como raça, idade, nível de parasitemia e condições climáticas. Animais da espécie *Bos taurus taurus* (taurinos) são mais sensíveis à doença do que o gado zebuino (*Bos taurus indicus*), que possui maior resistência devido ao perfil genético. Além disso, animais jovens tendem a ser mais resistentes do que adultos, pois possuem anticorpos colostrais e uma resposta imunológica mais eficiente. Outros fatores que influenciam a susceptibilidade incluem o estado fisiológico e imunológico do animal, o manejo e o tipo de pastagem. Diante desse cenário, o controle da TPB é essencial para minimizar os impactos econômicos e sociais, sendo necessário o desenvolvimento de estratégias eficazes de manejo e controle dos vetores, como o carrapato *R. microplus* (SILVA *et al.*, 2021).

A infecção pode ocorrer de maneira mista ou isolada, estando associada a ciclos repetidos de invasão e multiplicação de babesias e anaplasmas nos eritrócitos dos bovinos (SANTOS, 2013). Os primeiros sinais clínicos surgem entre duas e três semanas após a

transmissão do agente pelo carrapato, sendo caracterizados por febre elevada entre 40°C e 41,5°C, que desaparece em 12 a 24 horas e retorna ao normal. Outros sintomas incluem anemia com redução do volume globular (VG), apatia, ataxia, palidez das mucosas, perda de apetite, desidratação, anorexia, tremores musculares, taquicardia, taquipneia, diminuição dos movimentos ruminais, prostração, rangido dos dentes, queda na produção de leite e hemoglobinemia (KIKUGAWA, 2009; GRIS *et al.*, 2016; SANTOS *et al.*, 2017; HERRERA, 2019; BAHIA *et al.*, 2020), além da possibilidade de cetose secundária (HERRERA, 2019).

No caso da infecção pelo protozoário *Babesia bovis*, o bovino também pode apresentar sintomas neurológicos, como falta de coordenação motora, hiperexcitabilidade, opistótono, cegueira, tremores musculares, paralisia dos membros traseiros, marcha descoordenada, movimentos em círculo, problemas de locomoção, quedas com movimentos de pedalagem, agressividade, convulsões e coma. A taxa de mortalidade é alta, com a doença evoluindo de forma aguda ou superaguda, podendo durar de minutos a até 24 ou 36 horas (KIKUGAWA, 2009; SANTOS, 2013; GRIS *et al.*, 2016; BAHIA *et al.*, 2020).

As infecções pela espécie *B. bovis* geralmente apresentam baixos níveis de parasitemia periférica, pois os eritrócitos infectados são fagocitados no endotélio capilar, resultando em reações alérgicas, danos a órgãos e edema pulmonar. Esta espécie é considerada a mais virulenta entre os patógenos da TPB. Por outro lado, a espécie *B. bigemina* provoca uma intensa hemólise intravascular, frequentemente manifestada por hemoglobinúria acentuada, anemia hemolítica progressiva e uma evolução mais lenta para a morte, sendo considerada a menos patogênica das três espécies causadoras da TPB no Brasil (SILVA *et al.*, 2021).

A anaplasmosse, por sua vez, apresenta sinais clínicos como anemia hemolítica, icterícia de moderada a grave, insuficiência cardiopulmonar, dispneia, taquicardia, febre, cansaço, lacrimejamento, sialorreia, diarreia, micção frequente e anorexia, levando à morte do animal 24 a 26 horas após o pico de bacteremia, quando cerca de 90% dos eritrócitos estão infectados. Os sinais agudos geralmente afetam bovinos com mais de um ano de idade, especialmente vacas de alta produção leiteira (TRINDADE *et al.*, 2011; SANTOS, 2013; HERRERA, 2019).

Os animais que sobrevivem à fase aguda tornam-se infectados de forma persistente, com baixos níveis de ricketsemias, que não são detectáveis microscopicamente ($<10^7$ eritrócitos infectados por mL). Esses animais atuam como

reservatórios da doença. A febre associada à alta parasitemia pode causar abortos em vacas e redução da fertilidade em touros. Os sinais clínicos de infecções subagudas são mais sutis e difíceis de identificar (GRIS *et al.*, 2016).

Além disso, os danos causados diretamente pela ação de carrapatos e dípteros hematófagos, devido à espoliação sanguínea, resultam em anemia, prurido, irritação, perda de peso e queda na produtividade dos animais, além de predisposição ao desenvolvimento de miíases e desvalorização do couro (SANTOS, 2013).

3.6.2. Protozoário *Babesia* spp.

Em 1888, na Romênia, Viktor Babés relatou a presença de um microorganismo dentro dos eritrócitos em bovinos com anemia hemolítica, que na época era chamada de hemoglobinúria enzoótica bovina. Babés acreditava que esse agente fosse uma bactéria e o denominou a espécie como *Haematococcus bovis*. No entanto, em 1893, os renomados pesquisadores americanos Theobald Smith e Frederick Kilborne descobriram que o microorganismo identificado por Babés era, na verdade, um protozoário transmitido pelo carrapato *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus*. A doença passou a ser conhecida como "Febre do Texas" e o protozoário recebeu o nome de *Pyrosoma bigemina* ou *Pyrosoma bigeminum*, em referência ao seu formato em forma de "pera" (SANTOS, 2013; FERREIRA, 2019).

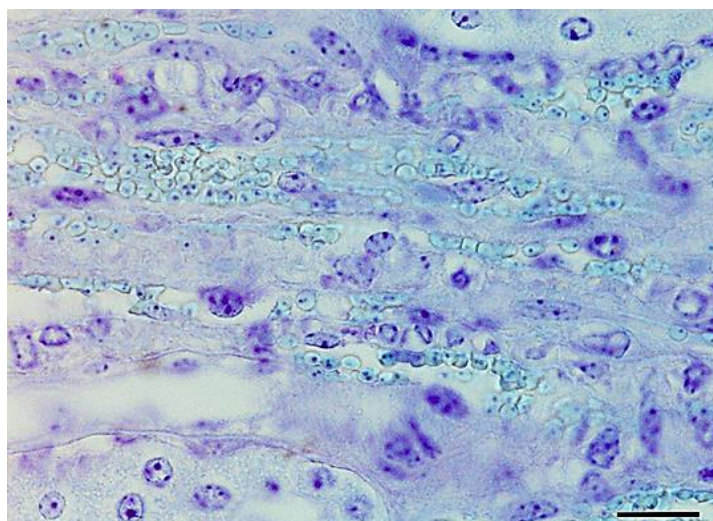


Figura 9. Numerosos eritrócitos (amarelo-esverdeados) parasitados por *Babesia bovis* (azul-escuro Encéfalo, congestão capilar com numerosos eritrócitos (azul-esverdeados) parasitados por *Babesia bovis* (azul-escuro). **Fonte:** SCIELO (2018)

Em 1943, nos Estados Unidos, foram implementadas medidas para erradicar o carrapato *R. annulatus*, o que também levou ao controle da babesiose (FERREIRA, 2019). Já em 1893, Starcovici verificou a semelhança entre o microorganismo descrito por Babés e os estudados por Smith e Kilborne, sugerindo a inclusão de ambos em um novo gênero. Em homenagem a Babés, o novo gênero foi chamado de *Babesia*, e as espécies passaram a ser conhecidas como *Babesia bovis* e *Babesia bigemina*, substituindo os antigos nomes *H. bovis* e *P. bigemina* (SANTOS, 2013).

Assim, os protozoários foram classificados no sub-reino Protozoa, filo Apicomplexa, classe Sporozoasida, ordem Eucoccidiorida, subordem Piroplasmorina, gênero *Babesia*, e pertencem à família Babesiidae (Santos, 2013; Ferreira, 2019). Existem mais de 100 espécies de *Babesia* (Santos, 2013), mas apenas as espécies *B. bovis* e *B. bigemina* são encontradas no Brasil e em outros países da América Latina (TRINDADE *et al.*, 2011).

3.6.3. Ciclo de vida do protozoário *Babesia*

Após a inoculação pela picada do carrapato, que atua como vetor invertebrado, a espécie *Babesia* spp. entra na corrente sanguínea na forma de esporozoítos, que são a forma infectante no hospedeiro definitivo (bovinos). Os esporozoítos então penetram nas membranas celulares dos eritrócitos do bovino (SANTOS, 2013; FERREIRA, 2019). Durante a fase de merogonia, esses esporozoítos se diferenciam em dois trofozoítos, e cada trofozoíto, através de fissão binária (assexuada), gera dois merozoítos inicialmente em formato piriforme. Após amadurecimento, os merozoítos se separam e saem dos eritrócitos, causando lise celular e liberando hemoglobina livre na corrente sanguínea (SANTOS, 2013; FERREIRA, 2019).

Alguns desses merozoítos invadem novos eritrócitos para continuar o ciclo de divisão, enquanto outros permanecem na circulação até serem ingeridos por carrapatos (FERREIRA, 2019). No intestino do carrapato, os merozoítos se diferenciam em gametócitos, que são as formas sexuais do parasita. Esses gametócitos, masculinos e femininos, fundem-se e formam um zigoto esférico, que se desenvolve em um cineto móvel. O cineto penetra as células epiteliais do intestino do carrapato, onde ocorre fissão por esporogonia, originando corpos cinéticos móveis que destroem as células intestinais

e migram para a hemolinfa, tecidos e ovários de fêmeas ingurgitadas (TRINDADE *et al.*, 2011; FERREIRA, 2019).

Nos ovários, esses corpos cinéticos infectam células embrionárias, possibilitando a transmissão transovariana do parasita. Assim, quando as fêmeas depositam seus ovos, eles já estão infectados. Após a muda para larva, os corpos cinéticos migram para as glândulas salivares do carrapato, onde se diferenciam em esporoblastos e dão origem a milhares de esporozoítos. Quando as larvas do carrapato se alimentam do sangue do hospedeiro, esses esporozoítos são liberados na corrente sanguínea dos bovinos (SANTOS, 2013; FERREIRA, 2019).

Dentro dos eritrócitos, o parasita se multiplica por fissão binária, originando trofozoítos, que se transformam em dois ou quatro merozoítos. Esses merozoítos rompem a célula hospedeira e invadem novos eritrócitos, continuando o ciclo de infecção (TRINDADE *et al.*, 2011; SANTOS, 2013).

A transmissão de *Babesia bovis* ocorre apenas nas formas larvais do carrapato, pois o ciclo do parasita nesse hospedeiro termina ao final da fase larval. Já *Babesia bigemina* pode ser transmitida desde o estágio de ninfa até parte do estágio adulto (TRINDADE *et al.*, 2011; SANTOS, 2013). A transmissão transovariana no carrapato é uma via crucial para a manutenção dos parasitas entre gerações de carrapatos, sendo um dos principais mecanismos de infecção biológica causadora da TPB (FERREIRA, 2019).

3.6.4. Bactéria *Anaplasma* spp.

Em 1910, Sir Arnold Theiler, na África do Sul, conduziu uma pesquisa utilizando esfregaços sanguíneos de bovinos doentes e observou pequenos "pontos" na borda das hemácias. Esses pontos eram responsáveis por sinais clínicos semelhantes aos da "Febre do Texas". Theiler nomeou o agente causador como pertencente ao gênero *Anaplasma* e à espécie *A. marginale*, classificando-o inicialmente como um protozoário. Ele também constatou que essa doença era distinta da babesiose, pois conseguiu isolar o *A. marginale* em infecções puras (SANTOS, 2013).

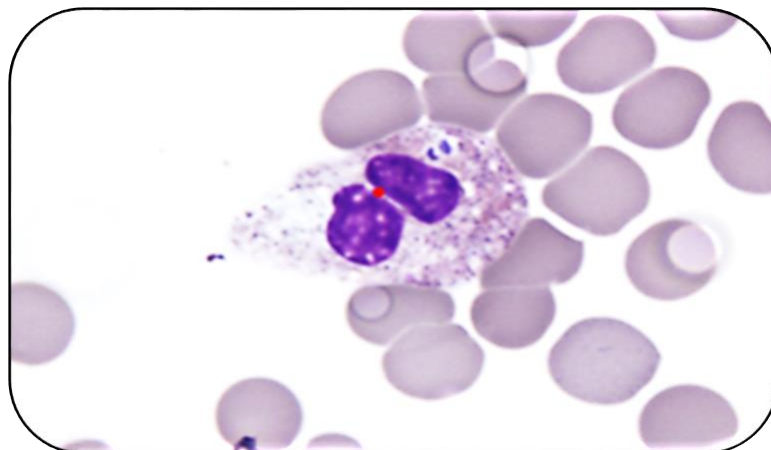


Figura 10. Esfregaço de sangue periférico. **Fonte:** INFECTIUS

Atualmente, sabe-se que a espécie *Anaplasma* é uma bactéria gram-negativa do filo *Proteobacteria*, classe *Alphaproteobacteria*, e ordem *Rickettsiales*, pertencente ao gênero *Anaplasma*. Sua classificação na família *Anaplasmataceae* ou *Rickettsiaceae* é baseada em análises genéticas de genes como o 16S rRNA e o *groESL*, que ajudam a identificar proteínas de superfície. Existem quatro espécies principais desse gênero: *Anaplasma marginale*, a mais comum e patogênica para bovinos no Brasil; *Anaplasma centrale*, usada em vacinas e com menor relevância veterinária atualmente; *Anaplasma ovis* e *Anaplasma phagocytophilum* (SCARIOT *et al.*, 2018; HERRERA, 2019). A espécie *A. marginale* é uma riquetsia obrigatoriamente intraeritrocitária (ALVIM *et al.*, 2019; HERRERA, 2019), caracterizada por seu formato pequeno e arredondado ou oval, com coloração púrpura quando corada com Giemsa. Aproximadamente 80-90% das vezes, essa bactéria é encontrada na periferia ou na borda das hemácias (FERREIRA, 2019; HERRERA, 2019).

3.6.5. Ciclo de vida da bactéria *Anaplasma marginalis*

A inoculação do patógeno *A. marginalis* no bovino ocorre através de vetores invertebrados, como carrapatos e dípteros hematófagos. A espécie *A. marginalis* é uma riquetsia que se multiplica nas células endoteliais do intestino dos carrapatos. Os corpúsculos iniciais aderem à superfície dos eritrócitos do hospedeiro e, por meio de um processo chamado invaginação (ou rofeocitose), penetram a membrana citoplasmática, formando um vacúolo parasitário. Nesse ambiente, ocorre a multiplicação do patógeno por fissão binária, gerando de quatro a oito corpúsculos iniciais, que posteriormente invadem novos eritrócitos (SANTOS, 2013; FERREIRA, 2019).

Os corpúsculos saem dos eritrócitos através de rofeocitose reversa, sem romper a membrana celular, e invadem outras hemácias. Quando o carrapato se alimenta de sangue de um bovino infectado, ele ingere esses eritrócitos contaminados. A bactéria *A. marginale* então migra para o lúmen intestinal do carrapato, onde se multiplica, e o ciclo se repete quando o carrapato se alimenta novamente (SANTOS, 2013; FERREIRA, 2019).

Os principais vetores da espécie *A. marginalis* incluem carrapatos, moscas, mosquitos e outros insetos hematófagos, como a mutuca (*Tabanidae*), a mosca-dos-estábulo (*Stomoxys calcitrans*) e a mosca-do-chifre (*Haematobia irritans*). A transmissão mecânica ocorre pela transferência de hemácias infectadas de um animal para outro através da probóscide do inseto, em questão de minutos (KIKUGAWA, 2009; SANTOS, 2013). No entanto, a transmissão biológica feita pelo carrapato é considerada duas vezes mais eficiente que a mecânica (SANTOS, 2013).

Além disso, *A. marginalis* pode ser transmitida de forma iatrogênica, por meio de fômites contaminados com sangue, ou ainda via transplacentária (SANTOS *et al.*, 2017; BRITO *et al.*, 2019; FERREIRA, 2019; HERRERA, 2019; BAHIA *et al.*, 2020). A transmissão transplacentária de babesiose é geralmente subestimada e não considerada epidemiologicamente relevante (BRITO *et al.*, 2019; FERREIRA, 2019). Contudo, no caso da anaplasmoze, a transmissão transplacentária ocorre com maior frequência e pode ter importância epidemiológica em certas regiões, especialmente no terço médio e final da gestação, podendo até provocar abortos (BRITO *et al.*, 2019; HERRERA, 2019).

3.7. Controle de carrapatos

A aplicação de acaricidas sintéticos é um método tradicional para controle de carrapatos (NICARETTA *et al.*, 2021). No Brasil, formulações comerciais à base de organofosforados, piretróides, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis, Deltametrina, Cipermetrina, Amitraz, Fipronil, Clorpirifós e Benzoilfeniluréia são as mais utilizadas (BORGES *et al.*, 2020). Apesar disso, o controle químico apresenta desvantagens e é considerado apenas parcialmente eficaz, uma vez que várias populações de carrapatos não são mais suscetíveis às principais classes acaricidas (BANUMATHI *et al.*, 2017). O uso indiscriminado desses produtos químicos favorece a seleção de cepas resistentes e está relacionado à contaminação do meio ambiente e a presença de resíduos na carne e no leite, gerando riscos à saúde humana (RODRÍGUEZ-VIVAS, JONSSON, BHUSHAN, 2017, PEREIRA *et al.*, 2022).

Métodos alternativos que visam maior controle e menor impacto ao meio ambiente, como o uso de vacinas, óleos essenciais, ecologia química e controle biológico são investigados como forma de diminuir o uso de acaricidas (CALVANO *et al.*, 2019; NICARETTA *et al.*, 2020). O controle biológico é uma estratégia eficaz que utiliza inimigos naturais, como microrganismos, predadores e parasitos para o combate de pragas. Em ambientes agrícolas, o manejo ou a introdução desses inimigos naturais pode suprimir populações em níveis prejudiciais, oferecendo uma alternativa ao uso dos químicos e contribuindo para a produção pecuária de forma mais sustentável, além de favorecer a conservação dos habitats naturais (FONTES, VALADARES-INGLIS, 2020).

3.8. Bactéria *Wolbachia*

A bactéria *Wolbachia pipientis* (FIGURA 4) é uma endossimbionte intracelular gram-negativa, com cerca 50% de prevalência em artrópodes terrestres e nematoides filariais (WEINERT *et al.*, 2015; LEFOULON *et al.*, 2016). Essa bactéria foi descoberta pela primeira vez em 1924 por Hertig e Wolbach no tecido germinativo do mosquito *Culex pipiens* (HERTIG, WOLBACH, 1924 *apud* WERREN, 1997). Contudo, essa descoberta foi inicialmente desconsiderada por não envolver uma bactéria patogênica para humanos (GUIMARÃES, 2017).

O gênero *Wolbachia* só foi oficialmente nomeado em 1936 (HERTIG, 1936 *apud* PIETRI, DEBRUHL, SULLIVAN, 2016), mas um dos mecanismos de manipulação reprodutiva da bactéria *Wolbachia* só foi observado em 1952 por Ghelelovitch (1952) e posteriormente denominado "incompatibilidade citoplasmática" em 1967 (LAVEN, 1967). Entretanto, foi apenas no início dos anos 1970 que esse mecanismo foi ligado à presença dessa bactéria (YEN, BAR, 1971).

Mais tarde, uma cepa virulenta, conhecida como "wMelPop", que ataca células do sistema nervoso central do hospedeiro e causa morte prematura, foi identificada em moscas *Drosophila melanogaster* (MIN, BENZER, 1997). Em 2004, o genoma dessa cepa foi sequenciado, sendo o primeiro genoma completo da bactéria *Wolbachia* disponibilizado (WU *et al.*, 2004).

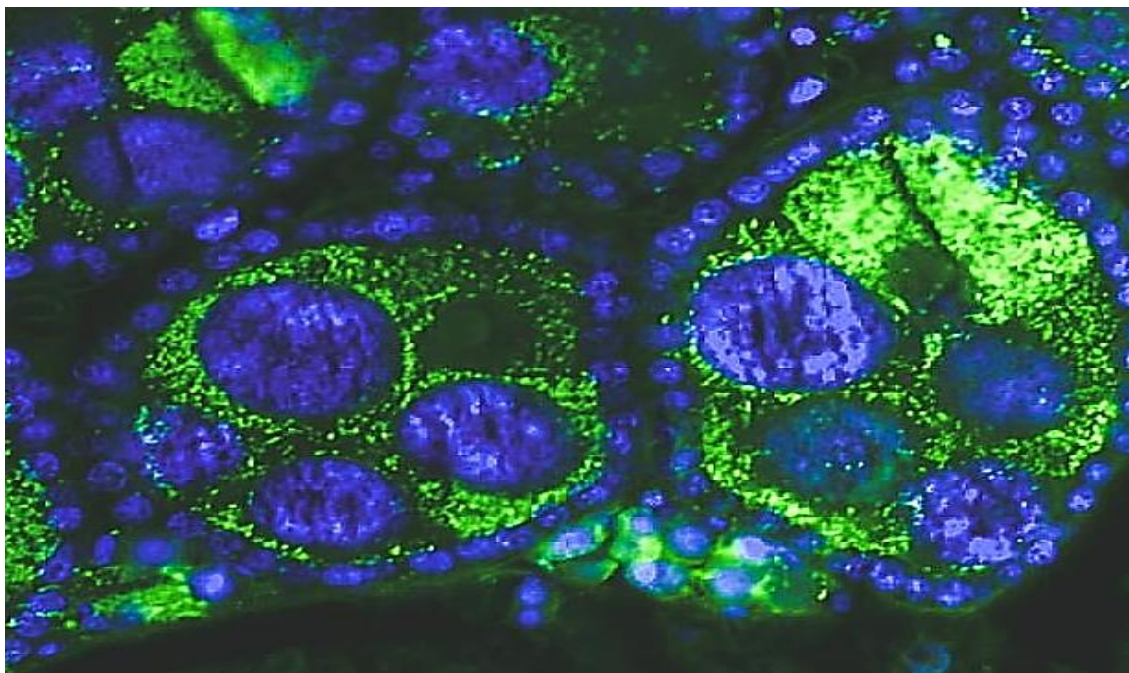


Figura 11. Bactéria *Wolbachia pipientis* (em verde) destacada através da técnica de FISH (Fluorescent In Situ Hybridization). Fonte: World Mosquito Program (WMP) (2011).

3.9. Classificação e evolução da bactéria *Wolbachia*

O gênero *Wolbachia* faz parte da classe *Alphaproteobacteria*, da ordem *Rickettsiales* e da família *Anaplasmataceae*. É bastante relacionada aos gêneros *Rickettsia*, *Ehrlichia* e *Anaplasma*, porém, ao contrário dessas, não infecta vertebrados (DRISCOLL *et al.*, 2020). Inicialmente, a caracterização do gênero *Wolbachia* era feita usando os genes 16S rRNA e *wsp* (Wolbachia Surface Protein), mas devido à baixa taxa evolutiva e alta recombinação desses marcadores, a investigação de sua filogenia era desafiadora. Para resolver esse problema, foi adotado o método de genotipagem *Multilocus Sequencing Typing* (MLST), que utiliza cinco genes housekeeping para classificar as cepas do gênero *Wolbachia* (BALDO *et al.*, 2006).

Devido à enorme diversidade dentro do gênero *Wolbachia*, não se sabe ao certo se trata de uma única espécie. Assim, a forma mais adequada de categorizar essa diversidade bacteriana é através de supergrupos (RAMALHO *et al.*, 2021). Esses supergrupos são clados monofiléticos que organizam as diversas linhagens evolutivas do gênero *Wolbachia*, sendo estimado que existam pelo menos 17 supergrupos diferentes (KAUR *et al.*, 2021).

Os supergrupos A e B são encontrados em artrópodes, onde muitas vezes funcionam como parasitas reprodutivos, manipulando a reprodução de seus hospedeiros

para garantir sua própria propagação (LO *et al.*, 2007). Em contrapartida, os supergrupos C e D são mutualistas obrigatórios de nematoides filariais, auxiliando na fertilidade e no desenvolvimento desses organismos (Figura 5) (BANDI *et al.*, 1998).

O supergrupo E é encontrado em artrópodes primitivos, como os colêmbolos (CZARNETZKI, TEBBE, 2004). Já o supergrupo F pode ser encontrado tanto em artrópodes quanto em nematoides filariais (CASIRAGHI *et al.*, 2005). Os supergrupos H, I, J e K estão presentes em cupins, pulgas, nematoides filariais e ácaros, respectivamente (GORHAM, FANG, DURDEN, 2003; CASIRAGHI *et al.*, 2004; BORDENSTEIN, ROSENGAUS, 2005; ROS *et al.*, 2009).

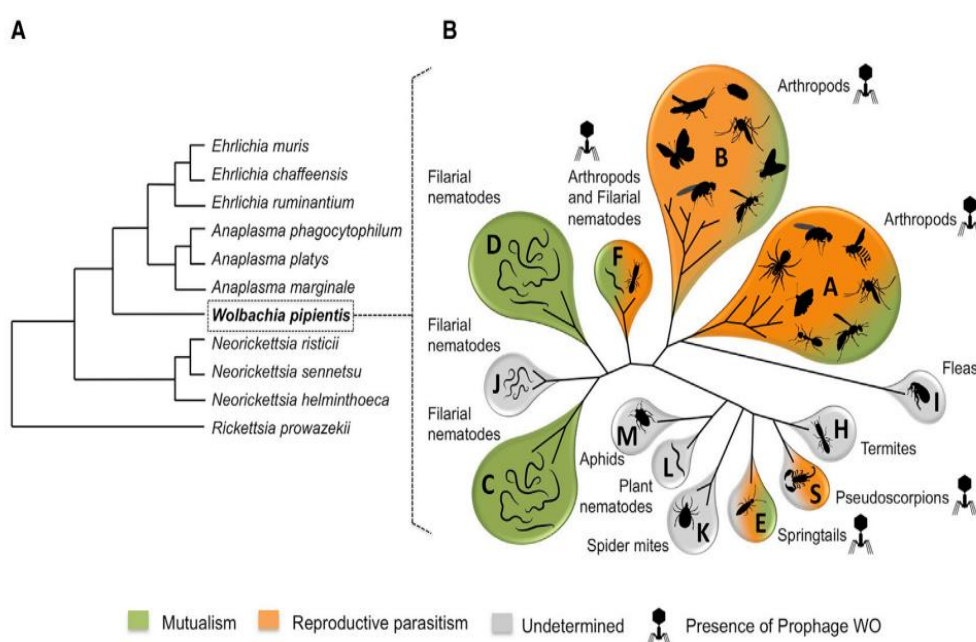


Figura 12. (A e B) Representação esquemática de (A) relações filogenéticas de Wolbachia e membros da família Anaplasmataceae, com Rickettsia mostrada como um grupo externo, e (B) uma árvore filogenética de consenso baseada em 16S rRNA não enraizada dos principais e bem estabelecidos supergrupos de Wolbachia. Fonte: KAUR *et al.* (2021).

No caso do nematoide parasita de plantas *Pratylenchus penetrans*, ele é hospedeiro do gênero *Wolbachia* do supergrupo L (HAEGEMAN *et al.*, 2009), enquanto os supergrupos M e N são encontrados em pulgões (WANG *et al.*, 2014). Ácaros de pena hospedam os supergrupos Q e P (GLOWSKA *et al.*, 2015), e o supergrupo O está presente em mosca-branca (BING *et al.*, 2014). O supergrupo S foi identificado em pseudoscorpídeos, e acredita-se que um supergrupo T possa infectar percevejos da espécie *Cimex hemipterus* (LAIDOUDI *et al.*, 2020).

Estudos genômicos e filogenéticos mostram que as bactérias do supergrupo L formam o grupo mais primitivo, dando origem a todas as outras cepas do gênero *Wolbachia*. Essas bactérias ancestrais provavelmente estavam presentes em plantas, sendo transmitidas por nematoides parasitas de plantas. Esses nematoides poderiam ter passado a bactéria para pulgões que se alimentavam de seiva de plantas infectadas, originando o supergrupo M. A melada dos pulgões, contaminada com o gênero *Wolbachia*, pode ter atraído colêmbolos e ácaros oribatídeos, o que originou o supergrupo E. A relação dos colêmbolos com insetos sociais, como cupins e pseudoescorpiões, pode ter dado origem ao supergrupo H (RODRIGUES *et al.*, 2023).

Os supergrupos A e B divergiram há cerca de 200 milhões de anos, e fatores como interações predador-presa, hospedeiro-parasitoide, proximidade física, acasalamento entre espécies e compartilhamento de nichos alimentares podem ter influenciado as mudanças de hospedeiros ao longo do tempo (GERTH, BLEIDORN, 2016).

3.10. Transmissão e tropismo da bactéria *Wolbachia*

A bactéria *Wolbachia* tem afinidade pelos tecidos reprodutivos de seus hospedeiros (FRYDMAN *et al.*, 2006; LANDMANN *et al.*, 2012; TOOMEY *et al.*, 2013). Esses são os locais onde a bactéria se multiplica mais intensamente, já que é transmitida de mãe para os descendentes por meio da linha germinativa feminina (FIGURA 6). De fato, uma parte significativa do sucesso da bactéria *Wolbachia* se deve a essa eficiente forma de transmissão (SERBUS *et al.*, 2008).

A transmissão vertical da bactéria *Wolbachia* ocorre por duas vias: a direta, que envolve a migração da bactéria das células-tronco da linhagem germinativa para o oócito em desenvolvimento e, posteriormente, para o oócito maduro do hospedeiro; e a indireta, onde, durante o desenvolvimento embrionário, a bactéria se acumula em células-tronco somáticas, deixando a linha germinativa livre de infecção, mas eventualmente reinvasa o tecido germinativo (FIGURA 6), (OTE, YAMAMOTO, 2019; PORTER, SULLIVAN, 2023).

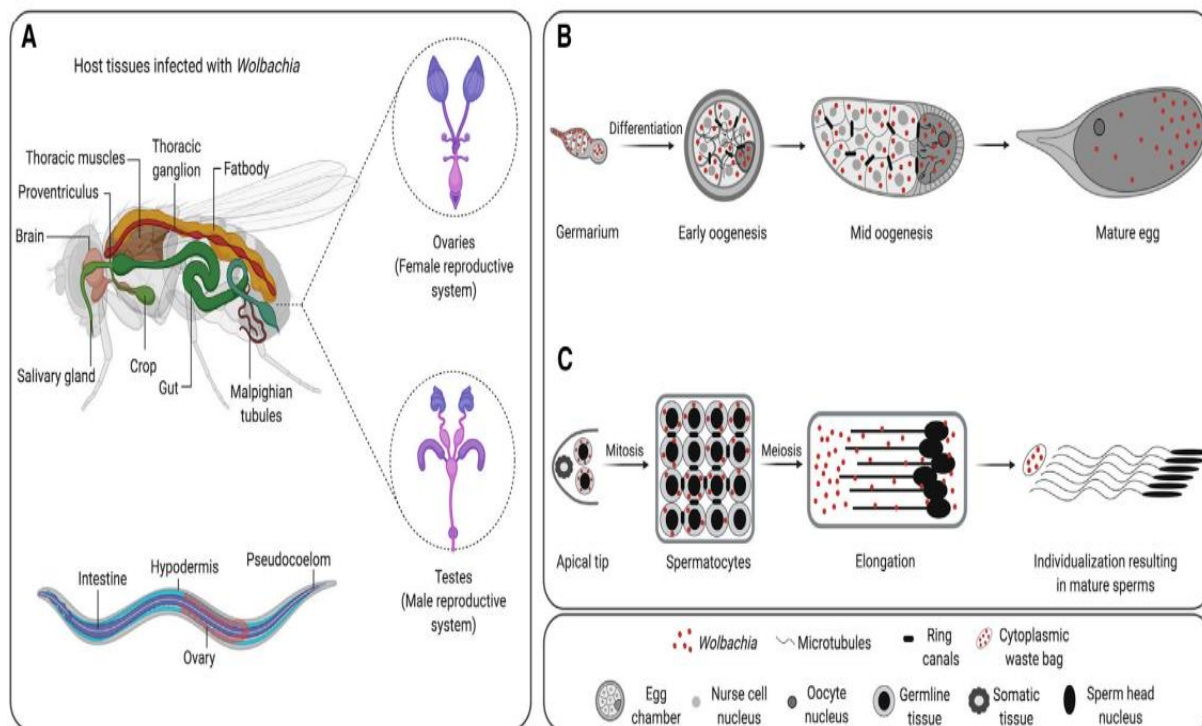


Figura 13. Tecidos somáticos e reprodutivos com a bactéria *Wolbachia* marcados no hospedeiro artrópode *Drosophila* e no hospedeiro nematoide *Brugia malayi*. Fonte: KAUR *et al.* (2021)

Além disso, a bactéria *Wolbachia* também pode estar presente em células somáticas, como as do sistema nervoso, intestino, glândulas salivares, hemócitos, túbulos de Malpighi, tecido muscular, hipoderme e outros tecidos, seja por linhagens embrionárias infectadas ou por migração de célula a célula (PIETRI, DEBRUHL, SULLIVAN, 2016). Nesses tecidos, a bactéria pode influenciar funções como regulação da imunidade, bioenergia, sono, aprendizado, memória, comportamento de acasalamento, alimentação, locomoção e até agressividade do hospedeiro (BI, WANG, 2020).

A presença da bactéria *Wolbachia* em células somáticas pode trazer vantagens para os hospedeiros e aumentar sua taxa de transmissão vertical, além de ser uma estratégia evolutiva que favorece sua transmissão horizontal (PIETRI, DEBRUHL, SULLIVAN, 2016).

A bactéria *Wolbachia* pode ser adquirida por meio de transmissão horizontal, seja pelo contato direto ou indireto com um indivíduo infectado, por meio de canibalismo, predação, parasitismo, introgressão híbrida ou interações ambientais (KAUR *et al.*, 2021; RAMALHO *et al.*, 2021). Embora os fatores que afetam essa rota de transmissão ainda não sejam completamente compreendidos, a transmissão horizontal explica a alta prevalência da bactéria *Wolbachia* entre diferentes espécies de invertebrados, bem como

a incongruência entre a filogenia dessa endossimbionte e a de seus hospedeiros (SANAEI, CHARLAT, ENGELSTÄDTER, 2020).

3.11. Genoma da bactéria *Wolbachia*

Fatores ecológicos como a coevolução com os hospedeiros, a transição para novos hospedeiros, a extinção de hospedeiros e a perda da simbiose parecem ter desempenhado um papel importante na evolução da bactéria *Wolbachia*. Esses fatores influenciaram o tamanho de seu genoma (podendo expandir ou reduzir), a diversidade de hospedeiros (abrangendo nematoides e artrópodes) e os fenótipos exibidos, que podem ser mutualistas ou parasitários (KAUR *et al.*, 2021; RODRIGUES *et al.*, 2023).

O genoma da bactéria *Wolbachia* em artrópodes é cerca de 30% maior do que o das bactérias presentes em oncocercídeos, variando de 1,2 a 1,6 Mb nos artrópodes e de 0,9 a 1,1 Mb nos oncocercídeos. Essa diferença se deve à presença de elementos móveis, como regiões repetitivas, transposons e profagos, que codificam proteínas associadas a estratégias de infecção. Mesmo com um genoma reduzido, as simbiontes de nematoides filariais preservam genes que codificam enzimas essenciais para a produção de nutrientes e metabólitos fundamentais para a sobrevivência dos seus hospedeiros, evidenciando uma relação mutualista (LANDMANN, 2019; KAUR *et al.*, 2021).

3.12. Fenótipos da bactéria *Wolbachia* e sua utilização no biocontrole

O sucesso da bactéria *Wolbachia* está amplamente ligado à sua habilidade de manipular a reprodução dos hospedeiros, o que favorece sua transmissão vertical e, consequentemente, aumenta sua prevalência. O fenótipo mais conhecido da bactéria *Wolbachia* é a incompatibilidade citoplasmática (IC). Nessa condição, machos infectados acasalam com fêmeas não infectadas (IC unidirecional) ou machos e fêmeas infectados com diferentes cepas incompatíveis se reproduzem (IC bidirecional), resultando em esterilidade por morte embrionária (FIGURA 7) (BAIÃO *et al.*, 2021).

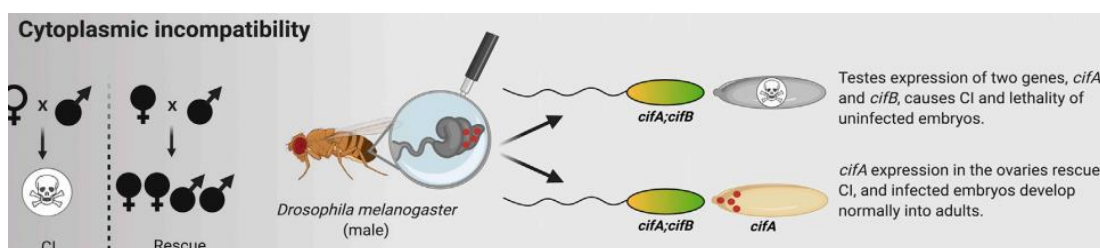


Figura 14. (A) A incompatibilidade citoplasmática (IC) causa morte embrionária em cruzamentos entre machos infectados e fêmeas não infectadas. Em machos de *D. melanogaster*, a expressão de genes WO do profago da bactéria *Wolbachia* (pontos vermelhos), fatores de incompatibilidade citoplasmática. Fonte: KAUR *et al.* (2021).

Além da IC, outras formas de manipulação reprodutiva incluem a feminilização, na qual a bactéria *Wolbachia* interfere nos hormônios masculinos do hospedeiro (FIGURA 8), convertendo indivíduos geneticamente machos em fêmeas funcionais; a indução de partenogênese, em que algumas cepas da bactéria interrompem o ciclo celular do hospedeiro no estágio embrionário inicial, fazendo com que óvulos haploides não fertilizados se transformem em gametas diploides, resultando em uma prole feminina; e a morte seletiva de machos, onde os indivíduos masculinos morrem durante a embriogênese, deixando apenas fêmeas, que não competem com machos por recursos (WERREN, BALDO, CLARK, 2008).

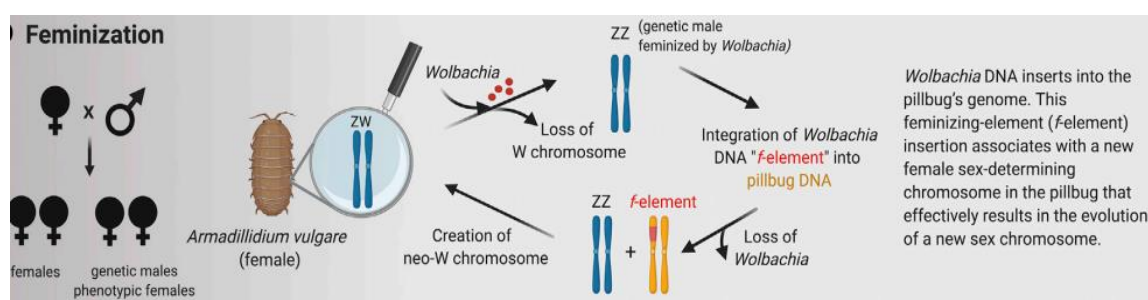


Figura 15. Feminização resulta em machos que fenotipicamente se desenvolvem como fêmeas. Fonte: KAUR *et al.* (2021).

Esses fenótipos ocorrem em linhagens parasitas de artrópodes e são mecanismos adaptativos que beneficiam fêmeas portadoras da bactéria *Wolbachia*, uma vez que elas transmitem essa bactéria (LANDMANN, 2019). Esses mecanismos de manipulação têm sido investigados como estratégias de controle biológico, tanto de pragas agrícolas quanto de vetores de doenças (GONG *et al.*, 2023). Um exemplo é o uso da incompatibilidade citoplasmática na redução das populações das espécies *Aedes aegypti* e *Culex quinquefasciatus* por meio da Técnica do Inseto Incompatível (TII), onde machos infectados são liberados para acasalar com fêmeas não infectadas, resultando na redução populacional (CRAWFORD *et al.*, 2020; McCLURE *et al.*, 2020).

Certas cepas da bactéria *Wolbachia* também têm um papel mutualista com seus hospedeiros, sendo capazes de sintetizar heme, vitaminas e cofatores, como CoA, NADH, ubiquinona, folato, ácido lipóico e vitaminas B2, B6 e B7. Isso é essencial para a sobrevivência, fertilidade e longevidade de diversas espécies de nematoides filariais, que dependem da bactéria para a produção de nutrientes essenciais (ZUG, HAMMERSTEIN, 2014; KAUR *et al.*, 2021). Em artrópodes, essa associação pode ser opcional, com

benefícios nutricionais e proteção contra o estresse oxidativo, sem que o hospedeiro dependa diretamente da bactéria para manter seus processos biológicos.

Além disso, a bactéria *Wolbachia* pode modular a expressão gênica do sistema imunológico de artrópodes, induzir microRNAs e interferir na replicação de vírus de RNA, competindo por recursos como colesterol com patógenos. A bactéria, por sua vez, depende de seu hospedeiro para obter aminoácidos e lipídios, devido à ausência de vias metabólicas completas (ROSS, TURELLI, HOFFMANN, 2019; LANDMANN, 2019).

No controle de doenças, a presença da bactéria *Wolbachia* em nematoides filariais levou à mudança de abordagem no tratamento de pacientes parasitados, substituindo antiparasitários, que podem ser tóxicos, por bactericidas direcionados à eliminação da bactéria simbiote (JOHNSTON *et al.*, 2017). A bactéria também mostrou capacidade de reduzir a infecção e transmissão de vírus como dengue, febre amarela, chikungunya, zika e malária (MOREIRA *et al.*, 2009; KAMBRIS *et al.*, 2009; CARAGATA, DUTRA, MOREIRA, 2016; JOUBERT *et al.*, 2016; ROCHA *et al.*, 2019; HOFFMANN, 2020; GONG *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2021).

A habilidade da bactéria *Wolbachia* em bloquear patógenos tem grande potencial para o controle de arboviroses (PAN *et al.*, 2018). Por exemplo, a substituição de populações da espécie *Aedes aegypti* por fêmeas infectadas com a bactéria *Wolbachia* reduziu os casos de dengue e hospitalizações nas áreas estudadas (UTARINI *et al.*, 2021). Atualmente, o *World Mosquito Program* utiliza essa tecnologia em diversos países, incluindo o Brasil (CARAGATA *et al.*, 2021; FIOCRUZ, 2023).

3.13 A bactéria *Wolbachia* em carrapatos

A presença da bactéria *Wolbachia* já foi registrada em diversas espécies de carrapatos ao redor do mundo. Cepas do supergrupo A foram identificadas na espécie *R. microplus* em pesquisas realizadas nos Estados Unidos e Tailândia (ANDREOTTI *et al.*, 2011; HIRUNKANOKPUN *et al.*, 2018), e em *Rhipicephalus annulatus* no Irã (POURALI *et al.*, 2009). Além disso, *Ixodes ricinus* apresentou infecções na Itália, França, Alemanha, Marrocos e Eslováquia (BENSON *et al.*, 2004; HARTELT *et al.*, 2004; SARIH *et al.*, 2005; van OVERBEEK *et al.*, 2008; CARPI *et al.*, 2011; REIS *et al.*, 2011; SUBRAMANIAN *et al.*, 2012; PLANTARD *et al.*, 2012; MOUTAILLER *et al.*, 2016). Já na espécie *R. sanguineus*, foram detectados os supergrupos A e B no Japão, Irã e China (INOKUMA, RAOULT, BROUQUI, 2000; POURALI *et al.*, 2009; CHAO, CASTILLO, SHIH, 2020), e o supergrupo F foi encontrado na espécie *Amblyomma*

americanum nos EUA (ZHANG, NORRIS, RASGON, 2011; WILLIAMS-NEWKIRK et al., 2014).

Outras amostras, como as das espécies *R. microplus*, *Hyalomma anatolicum* e *Ixodes scapularis* dos EUA, assim como as espécies *Haemaphysalis bispinosa*, *Haemaphysalis hystricis* e *Haemaphysalis wellingtoni* da Malásia, também testaram positivo para bactéria *Wolbachia*, sem especificação do supergrupo (BENSON et al., 2004; KHOO et al., 2016; BOBO, 2020). No Brasil, a bactéria *Wolbachia* foi identificada em alguns exemplares de *Amblyomma aureolatum* e *Ornithodoros rietcorreai* (MUÑOZ-LEAL et al., 2019; DALL'AGNOL et al., 2021).

BOBO (2020) constatou que o microbioma de carrapatos infectados pela bactéria *Wolbachia* é menos rico e diversificado em comparação com aqueles que não possuem a bactéria. Além disso, células de ixodídeos conseguem manter diferentes cepas da bactéria *Wolbachia* *in vitro* por várias passagens (KHOO et al., 2020). No entanto, Andreotti et al. (2011) não detectaram a bactéria no tecido germinativo de fêmeas de *R. microplus* infectadas, sugerindo que esses carrapatos não seriam capazes de sustentar a transmissão vertical da bactéria *Wolbachia*.

Em linhas gerais, a maioria das infecções da bactéria *Wolbachia* em carrapatos é considerada secundária ou temporária (MADHAV et al., 2020), principalmente devido à alta taxa de infecção (99,2%) do endoparasitoide hemíptero *Ixodiphagus hookeri* por essas bactérias simbiotes (PLANTARD et al., 2012). Além disso, os carrapatos também podem abrigar nematoides filariais, que frequentemente são hospedeiros da bactéria *Wolbachia* (ZHANG, NORRIS, RASGON, 2011; TAYLOR et al., 2012; NAMRATA et al., 2014; LEFOULON et al., 2016; SANTOS et al., 2017; BINETRUY, DURON, 2023), sendo outra possível via de contaminação.

Portanto, mais investigações são necessárias para entender melhor a capacidade dos carrapatos em sustentar infecções da bactéria *Wolbachia*, bem como a possível relação simbiótica entre eles. Além disso, é importante esclarecer os efeitos dessa bactéria na biologia dos carrapatos e suas interações com o microbioma desses ectoparasitas (MADHAV et al., 2020).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem

Foram realizadas análises em 100 amostras de carrapatos da espécie *R. sanguineus*, incluindo fêmeas semi ingurgitadas e machos, coletadas de cães naturalmente parasitados no centro de zoonoses, nos municípios de Salto/SP (23° 12' 10" S, 47° 17' 11" O) e Piracicaba/SP (22° 43' 30" S, 47° 38' 51" O). Similarmente, foram examinadas 100 teleógenas da espécie *R. microplus*, após a postura de ovos, coletadas de bovinos naturalmente parasitados situados no Polo Regional Vale do Paraíba/APTA, em Pindamonhangaba/SP (22° 55' 25" S, 45° 27' 35" O).

No laboratório, as amostras passaram por um processo de identificação morfológica, que é realizada principalmente através da análise do escudo dorsal que nos **machos**, o escudo é completo e cobre todo o dorso. Nas **fêmeas, ninfas e larvas**, o escudo é incompleto, cobrindo apenas uma parte da região anterior do corpo, e pelo aparelho bucal. O aparelho bucal (que inclui palpos, quelíceras e hipostômio) é projetado para frente e visível dorsalmente. Após a identificação morfológica, os carrapatos passaram por um processo de higienização, sendo submetidas a um banho de 1 min em etanol 70%, seguido de um banho de 30s em solução de hipoclorito de sódio comercial e duas lavagens em água destilada. Após a secagem, as amostras foram seccionadas em quatro com lâminas estéreis, para aumentar a superfície de contato das amostras com os reagentes de lise celular.

4.2. Extração de DNA

O processo de extração de DNA foi iniciado utilizando o reagente DNAzol (Invitrogen® Thermo Fisher Scientific®), de acordo com Romano *et al.*, 2023. De forma resumida, 995µl do reagente e 5µl de Proteinase K foram adicionados a cada amostra, que então foram incubadas a 56°C por 18h. Após esse período, o DNA dessas amostras foi precipitado com 500µl de etanol absoluto e os pellets produzidos foram lavados duas vezes com etanol 75%. Por fim, os pellets foram eluídos em 43,1µl de NaOH 8mm e 6,9µl de HEPES 0,1M para atingir um volume final de 50µl.

4.3. Amplificação de DNA

As amostras de DNA extraídas foram submetidas à técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do gene 16S rRNA de *Rhipicephalus* spp e *R. microplus*. Essa reação teve como objetivo confirmar a eficiência da extração do material genético das amostras, utilizando este gene alvo como marcador de DNA endógeno. As amostras positivas para o DNA dos carrapatos foram submetidas à amplificação dos genes 16S rRNA das bactérias *Wolbachia* sp., *dsb* de *Ehrlichia* spp., *oamB* de *Rickettsia* spp., *nuoG* de *Bartonella* spp. e *flaB* de *Borrelia* spp. (Tabela 1). E amplificação dos genes 16S rRNA de *Babesia* spp. e *Anaplasma* spp. Apenas para *R. microplus* (Tabela 2).

Para evitar falsos positivos em relação a bactéria *Wolbachia*, foi realizada a amplificação de DNA para nematoide filarial *Onchocercidae* e a vespa *I. hookeri* simbiontes dessa bactéria, que são indivíduos parasitas naturais desses carrapatos, podendo gerar uma contaminação secundária e assim falsos positivos (Tabela 3).

A PCR foi realizada em um volume final de 10µL contendo 2,5µL de DNA molde e 0,3µM de cada oligonucleotídeo. Em seguida, 5µL do reagente KOD One™ PCR Master Mix (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) e 1,9µL de água ultrapura foram adicionados à reação. As configurações de ciclagem utilizadas foram: 40 ciclos de desnaturação a 98°C por 10s, anelamento (Tabela 1) por 5s e extensão a 68°C por 1s.

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1,8% para análise do padrão de migração de bandas dos fragmentos amplificados, de acordo com o esperado (Tabela 1 e 2), junto com o marcador molecular Mid Range DNA Ladder (Cellco Biotech, São Carlos, São Paulo). As amostras que geraram amplicons foram para os patógenos testados foram submetidas ao sequenciamento de Sanger

4.4 Sequenciamento de Sanger

Os DNA dos amplicons foram purificados e submetidos a técnica de sequenciamento de Sanger, utilizando os primers que foram usados no PCR apresentados na tabela 1. No mesmo tubo, foram misturados o DNA molde, o primer, a DNA polimerase, os dNTPs em grande quantidade e uma pequena quantidade de cada um dos quatro ddNTPs fluorescentes. Após a reação, os fragmentos de DNA foram separados por tamanho usando eletroforese capilar. Um laser na parte inferior do capilar detecta a fluorescência de cada fragmento à medida que ele passa. Os fragmentos menores migram mais rapidamente através do capilar. Após isso a leitura da sequência foi realizada através de um detector que registra a cor do corante fluorescente para cada fragmento à medida

que eles passam. Essa informação é então convertida em um **eletroferograma**, um gráfico que mostra picos de cores diferentes correspondendo à ordem dos nucleotídeos. A sequência é lida do fragmento menor para o maior, revelando a sequência de nucleotídeos do DNA molde.

Tabela 1. Primers utilizados para amplificação de DNA das bactérias

Organismo	Gene alvo	Nome	Sequencia (5' - 3')	Temperatura de anelamento (°C)	Fragmento esperado (pb)	Referência
<i>Rhipicephalus</i> spp.	16S rRNA mitocondrial	RhipF	ATTAAAGACAAGAAGACCCTAWG	58	226	Não publicado
		RhipR	GTATCCTAATCCAACATCGAG			
<i>Wolbachia</i>	16S rRNA	wspecF	YATACCTATTCTGAAGGGATAG	54	438	Doudounis <i>et al.</i> (2012)
		wspecR	AGCTTCGAGTGAAACCAATTC			
<i>Rickettsia</i> spp.	oam B	RicF	CAGCAAGGTAATAAGTTTAATAC	62	800	Hirunkanokpun <i>et al.</i> (2022)
		RicR	GCTATACCGCCTGTAGTAACAG			
<i>Ehrlichia</i> spp.	dsb	EHL dsb-330	GATGATGTCTGAAGATATGAAACAAAT	57	409	Labruna <i>et al.</i> (2007)
		EHL dsb-728	CTGCTCGTCTATTTTACTTCTTAAAGT			
<i>Borrelia</i> spp.	fla B	FlaLL	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT	60	664	Barbour <i>et al.</i> (1996)
		FlaLR	GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT			
<i>Bartonella</i> spp.	nuo G	NuoGL	GGCGTGATTGTTCTCGTTA	60	346	Colborn <i>et al.</i> (2010)
		NuoGR	CACGACCACGGCTATCAAT			

Tabela 2. Primers utilizados para amplificação de DNA da bactéria e protozoário

Organismo	gene alvo	nome	Sequência	Temperatura de anelamento	Fragmento esperado (pb)	Referência
<i>Anaplasma spp</i>	16S rRNA	ECA9	TACCTTGTTACGACTT	52	800	Kawahara <i>et al</i> (2006)
		EC12A	TGATCCTGGCTCAGAACGAACG			
<i>Babesia spp</i>	16S rRNA	BabF	GTCTTGTAATTGGAATGATGG	55	452	Faraj <i>et al</i> (2019)
		BabR	TAGTTTATGGTTAGGACTACG			

Tabela 3. Primers utilizados para amplificação de DNA de *Onchocercidae* e *I. hookeri*

Organismo	gene alvo	nome	Sequência	Temperatura de anelamento	Fragmento esperado (pb)	Referência
<i>Onchocercidae</i>	28S rDNA	COIntF	TGATTGGTGGTTTTGGTAA	55	650	Binkiene et al 2021
		COIntR	ATAAGTACGAGTATCAATATC			
<i>I. hookeri</i>	16S rRNA	16S-F1	CACCTGTTTATCAAAAACAT	65	824	Klasen <i>et al</i> (2011)
		16S-R1	CTTAATTCAACATCGAGGTCGC			

5. RESULTADOS

5.1 Carrapato *Rhipicephalus sanguineus*:

Este estudo investigou a presença de patógenos em carrapatos coletados em duas localidades distintas. Das 100 amostras de carrapatos analisadas, todas foram positivas para o gene mitocondrial 16S rRNA de *Rhipicephalus* spp (fig. 14).

As amostras de DNA submetidas à PCR para a detecção do gene 16S rRNA dos patógenos *Wolbachia* spp., *Ehrlichia* spp., *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp. e *Borrelia* spp. não apresentaram amplificação dos fragmentos dos genes-alvo correspondentes a essas bactérias (fig. 15).

Entretanto, uma única amostra (identificada como M16S) de *R. sanguineus* amplificou um fragmento durante a PCR com primer para o gene 16S rRNA de *Wolbachia* sp, porém com um fragmento com tamanho diferente do esperado, isto é, menor que 438pb (fig 16).

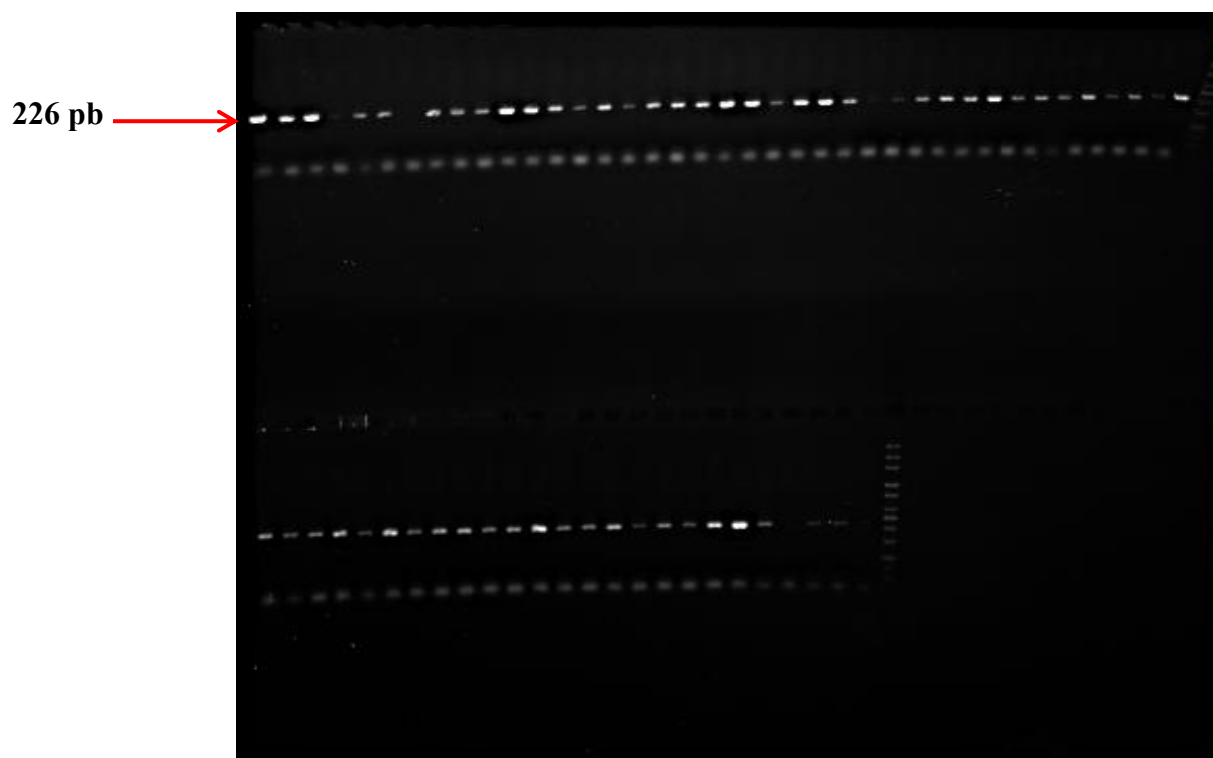


Figura 16. Gel com Amostras amplificada de um fragmento de 226 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de *Rhipicephalus* spp. Fonte: Autor.

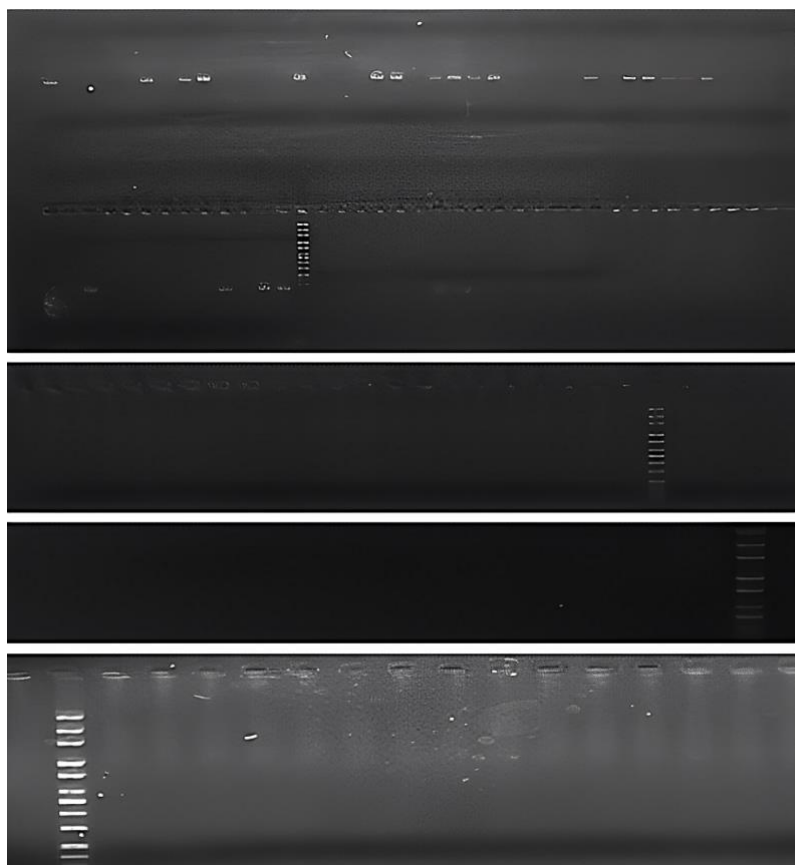


Figura 17. Resultados das amostras de DNA do carrapato *R. sanguineus* submetidas à PCR para a detecção do gene 16S rRNA de *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii*, *Bartonella henselae* e *Borrelia burgdorferi* respectivamente que não apresentaram amplificação dos fragmentos dos genes-alvo correspondentes a essas bactérias. Fonte: Autor.

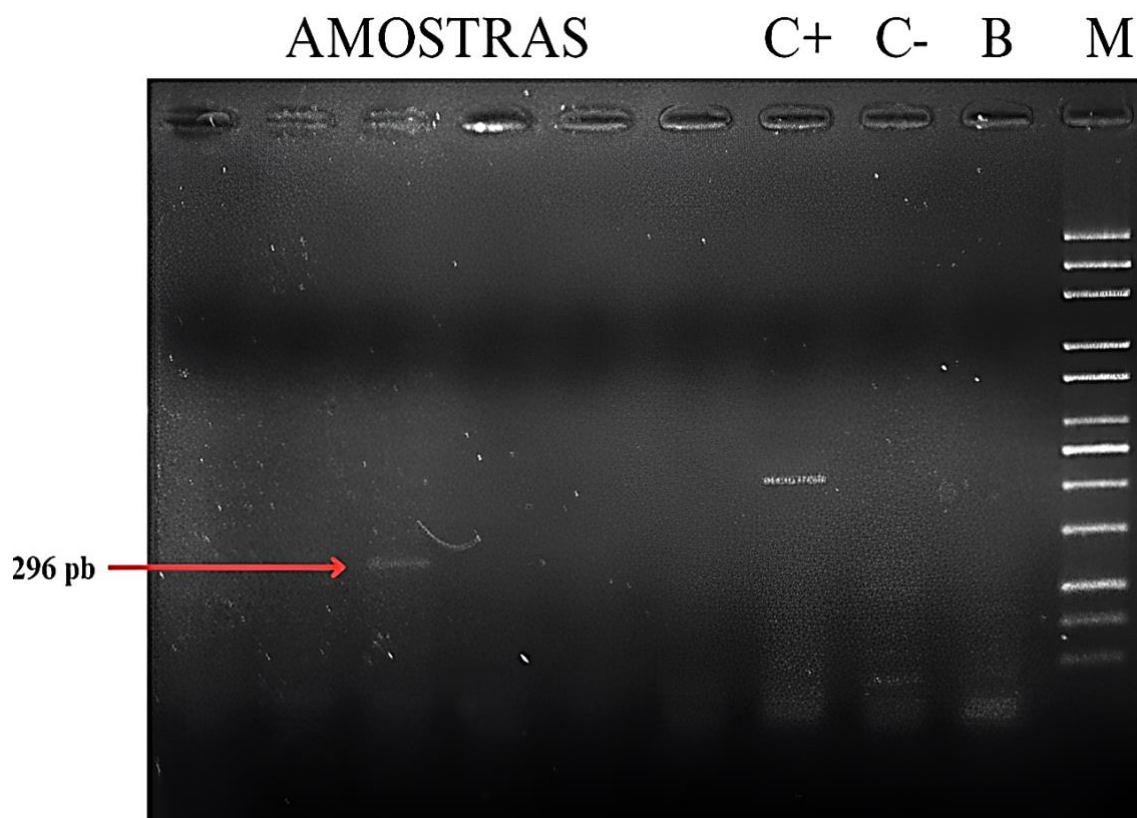


Figura 18. Amostra amplificada de um fragmento de 296 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de *Wolbachia* sp em *Rhipicephalus sanguineus*. Fonte: Autor.

5.2 Carrapato *Rhipicephalus microplus*

Das 100 amostras de *R. microplus* todas foram positivas para o gene mitocondrial 16S rRNA de teleóginas pós-postura (Fig. 18).

Os resultados das amostras de DNA do carrapato *R. microplus* submetidas à PCR (Fig. 18) para a detecção do gene 16S rRNA de *Wolbachia* spp., *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii*, *Bartonella henselae* e *Borrelia burgdorferi* não apresentaram amplificação dos fragmentos dos genes-alvo correspondentes a essas bactérias (Fig. 17). Entretanto, 14 amostras amplificaram um fragmento de 800 pares de base (pb) para o gene 16S rRNA de *Anaplasma* spp (Fig. 19) e 5 amostras amplificaram um fragmento de 452 pares de base (pb) para o gene 16S rRNA de *Babesia* spp (Fig. 20).

Assim como em *R. sanguineus* nenhuma das amostras do carrapato *R. microplus* geraram amplicons para Onchocercidae (nematóides filariais) e nem para vespa parasitoide *I. hookeri*, comprovando que não houve contaminação cruzada (Fig. 21).

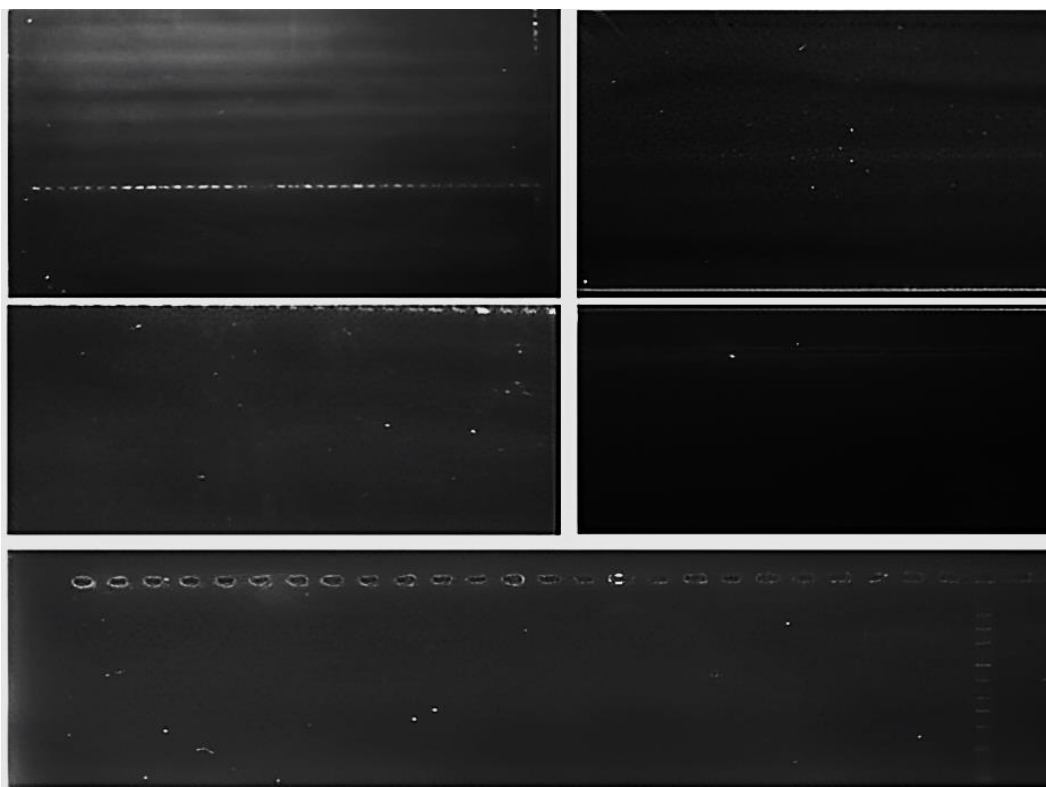


Figura 19. Resultados das amostras de DNA do carrapato *R. microplus* submetidas à PCR para a detecção do gene 16S rRNA de *Wolbachia* spp., *Ehrlichia canis*, *Rickettsia rickettsii*, *Bartonella henselae* e *Borrelia burgdorferi* respectivamente que não apresentaram amplificação dos fragmentos dos genes-alvo correspondentes a essas bactérias. Fonte: Autor.

226 pb

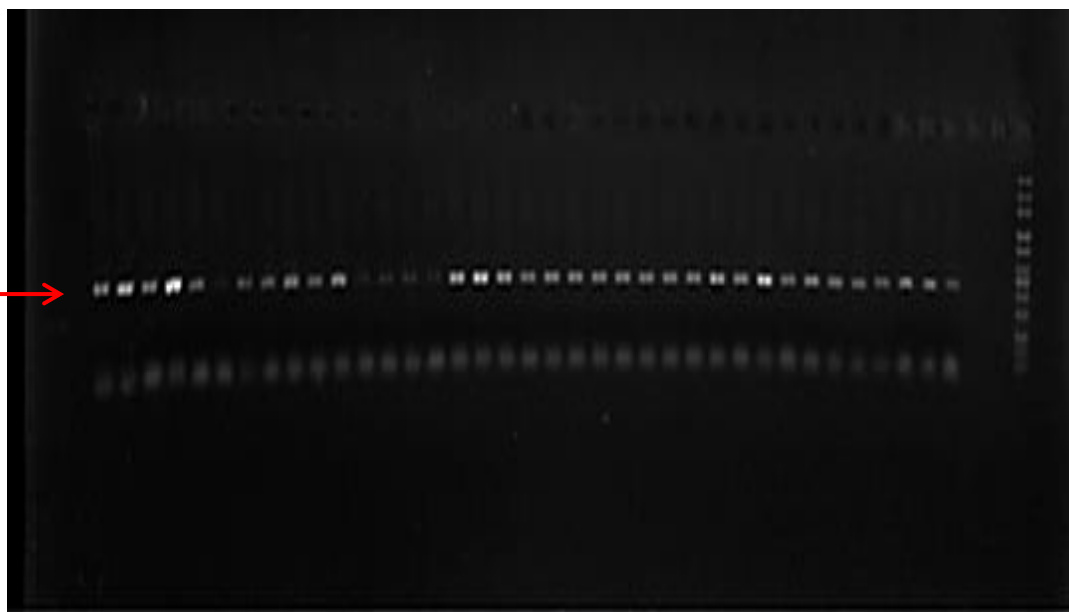


Figura 20. Gel de agarose das reações de PCR para o gene 16S rRNA em teleógenas pós-postura de *Rhipicephalus microplus*. Fonte: Autor.

800 pb

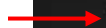


Figura 21. Amostras amplificadas de um fragmento de 800 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de *Anaplasma spp.* em *Rhipicephalus microplus*. Fonte: Autor.

452 pb

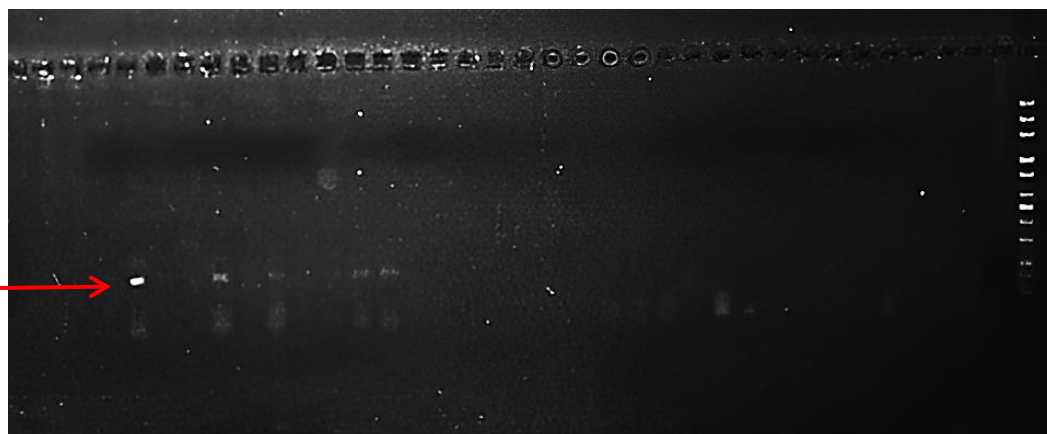


Figura 22. Cinco Amostras amplificada de um fragmento de 452 pares de bases (pb) na reação para o gene 16S rRNA de *Babesia spp.* em *Rhipicephalus microplus*. Fonte: Autor

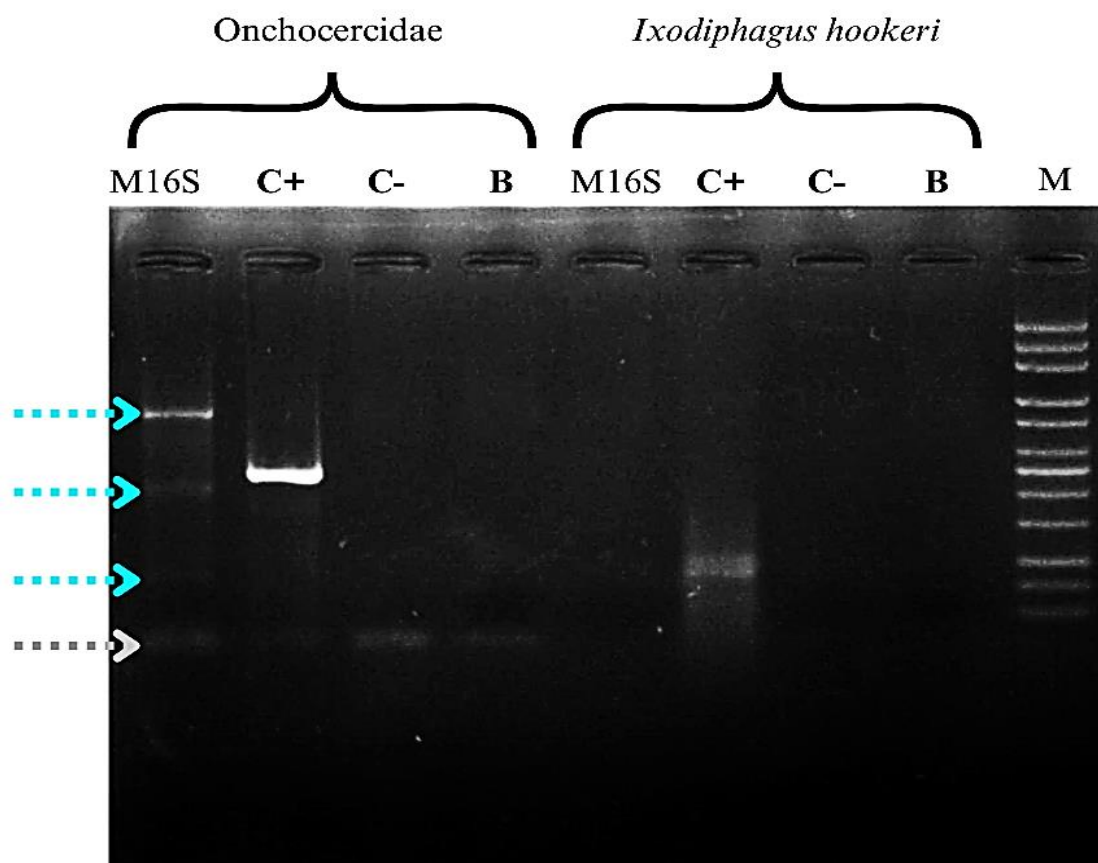


Figura 23. Gel de agarose das reações de PCR para Onchocercidae e *I. hookeri* em *Rhipicephalus spp.* As setas azuis tracejadas mostram bandas inespecíficas e a seta cinza tracejada indica a formação de dímeros de primers. Fonte: Autor.

6. DISCUSSÃO

Este estudo fornece *insights* valiosos sobre a presença de bactérias patogênicas e da endossimbionte *Wolbachia* em populações de *Rhipicephalus sanguineus* e *Rhipicephalus microplus* no Brasil. Os resultados, embora desafiadores em alguns aspectos quando comparados com a literatura, destacam a complexidade das interações entre carrapatos, hospedeiros e microrganismos. metodologia de amostragem diferenciada entre as duas espécies de carrapatos, **fêmeas semi-ingurgitadas de *R. sanguineus* e teleóginas pós-postura de *R. microplus***, para a detecção dos agentes patogênicos e da *Wolbachia*, é um ponto crucial a ser explorado.

Para fêmeas semi-ingurgitadas de *R. sanguineus*, este estágio de vida é significativo porque as fêmeas estão ativamente se alimentando no hospedeiro e, teoricamente, teriam uma maior probabilidade de adquirir patógenos durante o repasto sanguíneo. No entanto, a semi-ingurgitação pode significar que a infecção ainda está em um estágio inicial ou que a carga bacteriana ainda não atingiu níveis detectáveis. Além disso, a detecção do gene mitocondrial nesse contexto visa mais a identificação da espécie do carrapato do que a amplificação de patógenos, embora a presença do patógeno no carrapato seja o foco principal.

Para **teleóginas pós-postura de *R. microplus***, a análise de teleóginas (fêmeas repletas após o desprendimento do hospedeiro e que já realizaram a postura de ovos) é particularmente interessante para investigar a **transmissão transovariana** dos patógenos (ou seja, a passagem do patógeno da fêmea para seus ovos). No entanto, a ausência de detecção para alguns patógenos nesse estágio pode sugerir que, após a oviposição, a carga bacteriana na fêmea diminui significativamente. Isso ocorre porque o organismo do carrapato direciona uma grande quantidade de energia e recursos para a reprodução, o que pode impactar a manutenção e a detectabilidade das bactérias, como *R. rickettsii*, *B. henselae*, *B. burgdorferi*, *Anaplasma* spp. e *Babesia* spp., nesse estágio específico. Se a infecção estiver concentrada em outros tecidos ou se a bactéria for eliminada após a postura, a análise de teleóginas pode subestimar a prevalência real na população de carrapatos em outros estágios.

A **Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)** foi a técnica empregada para a detecção do DNA bacteriano. A escolha da PCR para este tipo de trabalho é

justificada por diversas vantagens: **Sensibilidade e Especificidade:** A PCR é altamente sensível, capaz de detectar pequenas quantidades de DNA patogênico, e específica, amplificando sequências de DNA-alvo mesmo em amostras complexas. **Rapidez e Praticidade:** Comparada a outros métodos de diagnóstico, a PCR é relativamente rápida e fácil de executar, permitindo a análise de um grande número de amostras em um curto período. **Custo-benefício:** Embora o investimento inicial em equipamentos possa ser relevante, o custo por amostra analisada é relativamente baixo, tornando-a acessível para estudos em larga escala. **Versatilidade:** Permite a detecção de múltiplos patógenos em uma única amostra (PCR multiplex) e é adaptável a diferentes tipos de amostras biológicas.

No entanto, a PCR também possui **limitações**, como a necessidade de DNA de boa qualidade e a possibilidade de resultados falso-negativos devido a inibidores da reação ou falso-positivos por contaminação. Além disso, a PCR detecta a presença do DNA do patógeno, não necessariamente a sua viabilidade ou capacidade de causar doença. ***Ehrlichia canis* em *R. microplus*: Um Achado Relevante**

Um dos pontos mais interessantes deste estudo é a **detecção de fragmentos de DNA de *E. canis*** em teleóginas pós-postura de *R. microplus* através do sequenciamento de amostras inicialmente positivas para *Anaplasma* spp. e *Babesia* spp. Este achado é um **ponto forte** do trabalho, pois adiciona uma nova camada de complexidade à epidemiologia da erliquiose, tradicionalmente associada a *R. sanguineus*. A corroboração com o estudo de Bohai Wen *et al.* (2002) no Tibete, que também identificou DNA de *Ehrlichia* em *R. microplus*, e com o trabalho de Cruz *et al.* (2012), que descreveu uma espécie de *Ehrlichia* distinta, sugere que *R. microplus* pode ser um hospedeiro ou vetor de *Ehrlichia* spp. com maior frequência do que se pensava. Isso abre novas linhas de investigação sobre a transmissão e o papel desse carrapato na manutenção do ciclo de *Ehrlichia* no ambiente.

Ausência de Patógenos em *R. sanguineus*: Discrepâncias e Limitações

A ausência de *E. canis*, *R. rickettsii*, *B. henselae* e *B. burgdorferi* nas amostras de *R. sanguineus* analisadas contrasta com a prevalência relatada em outros estudos, como os de Oliveira *et al.* (2019) e Pad-Nah *et al.* (2015) para *E. canis*. Essa discrepância pode ser atribuída a várias limitações e variáveis: **Diferenças na Amostragem:** A coleta de **fêmeas semi-ingurgitadas** pode não

ser o estágio ideal para a detecção de todos os patógenos, caso a infecção se concentre em outros estágios de vida (larvas, ninfas, machos) ou em órgãos específicos. Além disso, a carga bacteriana em fêmeas semi-ingurgitadas pode ser mais baixa do que em carrapatos repletos ou em outros tecidos. **Localização Geográfica:** A prevalência de patógenos pode variar significativamente entre regiões devido a fatores climáticos, tipo de hospedeiro disponível e densidade populacional dos carrapatos. Os estudos citados foram realizados em diferentes localidades (São Paulo, Mato Grosso do Sul, Tibete, México, África etc.), o que pode justificar as diferenças nos resultados. **Sensibilidade da Técnica de PCR:** Embora a PCR seja sensível, sua capacidade de detecção está ligada à carga bacteriana mínima na amostra. Se a infecção for muito baixa, a PCR pode resultar em falso-negativos. **Variações de Primers e Alvos Gênicos:** Diferenças nos **primers** utilizados para a amplificação dos genes-alvo podem influenciar a sensibilidade e especificidade da detecção. Se os primers não forem ideais para as linhagens específicas dos patógenos presentes na região de estudo, a detecção pode ser comprometida. **Número de Amostras:** Embora 100 amostras por espécie seja um número razoável, em populações onde a prevalência de um patógeno é muito baixa (como *R. rickettsii*, *B. henselae* e *B. burgdorferi*), um número maior de amostras pode ser necessário para detectá-lo.

***Anaplasma* spp. e *Babesia* spp. em *R. microplus*: Endemicidade Confirmada**

A detecção de *Anaplasma* spp. e *Babesia* spp. em teleóginas pós-postura de *R. microplus* reforça a endemicidade dessas doenças no Brasil, como esperado. A concordância com o estudo de Marluce *et al.* (2015) para bovinos em Minas Gerais, onde *R. microplus* também estava presente, é um **ponto positivo** que mostra a presença desses patógenos nas populações de carrapatos estudadas. A presença desses patógenos nas teleóginas sugere a **potencial transmissão transovariana**, crucial para a manutenção do ciclo de vida das doenças na natureza. A diferença na prevalência percentual pode ser, novamente, atribuída à amostragem e à localização geográfica. **O Resultado para *Wolbachia* e o Controle Biológico**

A ausência da bactéria *Wolbachia* na maioria das amostras de *R. sanguineus* e *R. microplus* é um **resultado significativo e promissor para o controle biológico**. A detecção de *Wolbachia* em apenas uma amostra de *R.*

sanguineus macho, com uma deleção de 142 pares de bases e a confirmação de que não foi por contaminação secundária (nematóides filariais ou vespa parasitóide *Ixodiphagus hookeri*), levanta a possibilidade de uma **transferência horizontal de gene**, como descrito por Doudoumis *et al.* (2012). Isso sugere que o carrapato pode ter incorporado material genético de *Wolbachia* em seu próprio genoma em algum momento.

A principal premissa para o uso de *Wolbachia* como agente de controle biológico é que ela **não faz parte do microbioma natural** de certas populações de carrapatos. Se um vetor (como o carrapato) não está naturalmente infectado com *Wolbachia*, é possível introduzir cepas específicas dessa bactéria que podem:

Induzir incompatibilidade citoplasmática (IC): Um dos mecanismos mais estudados, onde fêmeas não infectadas ou infectadas com uma cepa diferente de *Wolbachia* que se acasalam com machos infectados não produzem prole viável. Isso pode levar à supressão da população do vetor ao longo do tempo.

Reduzir a competência vetorial: Algumas cepas de *Wolbachia* podem interferir na replicação de patógenos no vetor, tornando-o menos capaz de transmitir doenças.

Diminuir a longevidade do vetor: Certas infecções por *Wolbachia* podem encurtar a vida útil do carrapato, reduzindo a janela de tempo para a transmissão de patógenos.

A ausência generalizada de *Wolbachia* neste estudo sugere que as populações de *R. sanguineus* e *R. microplus* analisadas **não possuem infecção natural por essa endossimbionte**. Isso indica que a introdução de cepas de *Wolbachia* nesses carrapatos poderia ser uma **estratégia viável e eficaz para o controle biológico**, pois não haveria uma infecção preexistente para competir ou para a qual o carrapato já estaria adaptado. A variabilidade na prevalência de *Wolbachia* observada em diferentes estudos ressalta a importância de se realizar mapeamentos da presença dessa bactéria em diversas populações de carrapatos antes de planejar estratégias de controle.

Em resumo, este trabalho, apesar das limitações inerentes à amostragem e à técnica de PCR, fornece dados importantes sobre a microbiota de carrapatos de importância médico-veterinária no Brasil e, crucialmente, abre portas para a utilização de *Wolbachia* como uma ferramenta promissora no manejo sustentável das populações desses parasitas.

7. CONCLUSÃO

Os achados desta pesquisa oferecem diversas contribuições significativas:

- **Melhora no controle de doenças transmitidas por carrapatos:** A detecção de *Babesia spp* e *Anaplasma marginale* em *R. microplus*, e a presença de *Ehrlichia canis* no mesmo carrapato, são cruciais para a **saúde animal e humana**. Essas bactérias e protozoários são agentes causadores de doenças graves em animais de produção (como a Tristeza Parasitária Bovina) e em cães, podendo ser zoonoses. Ao identificar a presença desses patógenos, a pesquisa contribui para:
- **Diagnóstico mais preciso:** Ajuda a direcionar os esforços de diagnóstico em áreas onde *R. microplus* é prevalente.
- **Desenvolvimento de estratégias de controle:** Permite o planejamento de medidas mais eficazes para o controle de carrapatos e a prevenção das doenças que eles transmitem, como o uso de acaricidas específicos ou o desenvolvimento de vacinas.
- **Vigilância epidemiológica:** Fornece dados importantes para mapear a distribuição desses patógenos e monitorar surtos.
- **Novas perspectivas sobre a ecologia de *Wolbachia*:** A detecção de um fragmento menor do gene 16S rRNA de *Wolbachia* em *R. sanguineus* e a ausência em *R. microplus* são intrigantes. Essa informação é vital para entender a distribuição e as interações dessa bactéria em diferentes espécies de carrapatos, o que pode abrir caminho para:
- **Estudos mais aprofundados sobre a relação parasita-hospedeiro:** Investigar o porquê da diferença no tamanho do fragmento e a ausência em *R. microplus* pode revelar aspectos da coevolução entre *Wolbachia* e seus hospedeiros.
- **Potencial para novas ferramentas de controle:** Como veremos a seguir, a *Wolbachia* é uma candidata promissora para controle biológico de vetores, e compreender sua presença (ou ausência) em carrapatos é um primeiro passo crucial.

- **Exclusão de patógenos importantes:** A ausência das bactérias patogênicas *E. canis*, *B. henselae*, *B. burgdorferi*, e *R. rickettsii* em *R. sanguineus*, e de *B. henselae*, *B. burgdorferi*, e *R. rickettsii* em *R. microplus*, é um resultado positivo. Isso ajuda a:
- **Direcionar a pesquisa e o controle:** Ao descartar a presença desses patógenos em amostras específicas, os esforços podem ser concentrados naqueles que foram detectados, otimizando recursos.
- **Avaliar o risco de transmissão:** A ausência desses patógenos em determinadas populações de carrapatos pode indicar um menor risco de transmissão dessas doenças específicas em certas regiões.
- **Descarte de outros vetores/patógenos:** A negatividade para nematóides filariais e a vespa parasitoide *I. hookeri* também é importante, pois ajuda a refinar o foco da pesquisa e do controle de vetores, indicando que esses não são os principais agentes envolvidos nas amostras analisadas.

Limitações da pesquisa e recomendações para trabalhos futuros:

- **Tamanho da amostra e representatividade:** Não é especificado o número de carrapatos analisados, nem se as amostras são representativas de uma população maior. Um número limitado de amostras pode não refletir a diversidade de patógenos em uma região.
- **Sensibilidade da técnica:** A ausência de detecção de um patógeno não garante sua completa ausência, apenas que não foi detectado pelas técnicas utilizadas. A sensibilidade dos métodos de PCR pode variar.
- **Fragmento menor de *Wolbachia*:** A detecção de um fragmento menor do gene 16S rRNA de *Wolbachia* em *R. sanguineus* necessita de maior investigação para entender o motivo (mutação, deleção, sensibilidade da técnica).
- **Local de coleta:** Não é mencionado se os carrapatos foram coletados em diferentes locais geográficos, o que poderia influenciar a diversidade de patógenos.
- **Viabilidade dos patógenos:** A detecção de DNA não significa necessariamente que os patógenos estão viáveis e aptos a serem transmitidos.

Recomendações para trabalhos futuros:

- **Aumento da amostragem:** Expandir o número de amostras e a diversidade geográfica da coleta para obter uma visão mais abrangente da distribuição dos patógenos.
- **Sequenciamento completo do 16S rRNA de *Wolbachia*:** Investigar o fragmento menor de *Wolbachia* em *R. sanguineus* através do sequenciamento completo do gene 16S rRNA (ou até mesmo genômico) para caracterizar essa cepa e entender a variação detectada.
- **Estudos de viabilidade:** Realizar ensaios para verificar a viabilidade dos patógenos detectados (por exemplo, cultura celular ou infecção experimental) para confirmar o potencial de transmissão.
- **Análise de múltiplos genes:** Utilizar múltiplos marcadores genéticos para a detecção de patógenos para aumentar a sensibilidade e especificidade.
- **Estudos de infecção natural e experimental:** Investigar a taxa de infecção natural dos carrapatos e realizar estudos experimentais para determinar a competência vetorial dos carrapatos para os patógenos detectados.
- **Caracterização molecular dos patógenos:** O sequenciamento das regiões variáveis dos genes dos patógenos detectados (por exemplo, 16S rRNA para bactérias) pode ajudar a identificar as espécies e cepas presentes, o que é importante para estudos epidemiológicos e filogenéticos.

Com base nos seus resultados, podemos comentar sobre a possibilidade da *Wolbachia* ser utilizada como controle biológico:

- **Potencial para o controle de *R. microplus*:** A ausência de *Wolbachia* em *R. microplus* (ou a incapacidade de detectá-la) é um ponto crucial. Se *R. microplus* não possui uma infecção natural por *Wolbachia*, isso significa que ele é um alvo potencial para a introdução da bactéria. A introdução de cepas de *Wolbachia* que induzam incompatibilidade citoplasmática em *R. microplus* poderia levar à supressão da população desse carrapato, que é um vetor de doenças de grande importância econômica e sanitária.
- **Estratégia:** Seria necessário desenvolver métodos para infectar laboratorialmente *R. microplus* com cepas de *Wolbachia* que induzam IC. Uma vez estabelecida a infecção em laboratório, poderiam ser feitos testes de liberação para avaliar o impacto na população natural.

Possibilidade da *Wolbachia* ser utilizada como controle biológico:

- Os resultados desta pesquisa trazem uma perspectiva interessante sobre a possibilidade de usar *Wolbachia* como controle biológico, especialmente ao contrastar a sua presença em *R. sanguineus* com sua ausência em *R. microplus*.
- A *Wolbachia* é uma bactéria intracelular que infecta uma vasta gama de artrópodes, incluindo insetos e ácaros. Ela é conhecida por manipular a reprodução de seus hospedeiros de várias maneiras, como:
- **Incompatibilidade citoplasmática (IC):** É o mecanismo mais comum, onde o cruzamento entre indivíduos infectados e não infectados (ou infectados por cepas diferentes de *Wolbachia*) resulta em prole inviável ou reduzida.
- **Feminilização:** Transformação de machos genéticos em fêmeas funcionais.
- **Partenogênese:** Indução da reprodução assexuada.
- **Supressão de patógenos:** Em alguns casos, a *Wolbachia* pode conferir resistência ao seu hospedeiro contra certos vírus e parasitas.

Com base nos seus resultados, podemos comentar sobre a possibilidade da *Wolbachia* ser utilizada como controle biológico:

- **Desafios em *R. sanguineus*:** A detecção de um fragmento menor do gene 16S rRNA de *Wolbachia* em *R. sanguineus* sugere que esta espécie já pode ter uma infecção natural.
- **Implicações:** Isso pode complicar o uso de *Wolbachia* para controle de *R. sanguineus* através da incompatibilidade citoplasmática, pois a população já estaria "protegida" pela infecção existente. Provavelmente pelo sistema imunológico do parasito, onde, técnicas como nocaute de genes do sistema imunológico do carrapato serão necessárias para conseguir desenvolver a infecção por *Wolbachia*, e assim permitir a sua utilização como controle biológico ou se a *Wolbachia* em *R. sanguineus* não confere proteção contra patógenos ou não induz IC, poderia ser estudada a introdução de uma cepa diferente de *Wolbachia* que induza um efeito de controle mais pronunciado.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AKSOY, E.; DALAPERAS, S.; ABDALLA, A.; OUMA, J.; TAKAC, P.; AKSOY, S.; and natural populations of different species of tsetse flies (genus *Glossina*). BMC ANDEREG, P. I.; PASSOS, L. M. F. Erliquiose canina – Revisão. Clínica Veterinária, v. 4, n. 19, p. 31-38, 1999.

ALMEIDA, ISABELLA BARBOZA DE; DUARTE, FERNANDA CALVO; CASSIANO, LUARA LUCENA; FIORINI, LEONARDO COSTA; MORÁN, LUCAS MELLO; MARTINS, ANA MARIA CRISTINA R.F.; ALMEIDA, JOSÉ EDUARDO MARCONDES DE; MENDES, MÁRCIA CRISTINA. New field technique to evaluate the action of the fungus *Metarhizium anisopliae* on *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* tick. Biological Control, [S.L.], v. 171, p. 104934, 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104934>.

ANDREOTTI R, PEREZ DE LEON AA, DOWD SE, GUERRERO FD, BENDELE KG, SCOLES GA (2011) Assessment of bacterial diversity in the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* through tag-encoded pyrosequencing. BMC Microbiol 11(1):6

ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; KOLLER, W. W. IN: ANDREOTTI, R.; GARCIA, M. V.; GARCIA, MARCOS VALÉRIO; RODRIGUES, VINICIUS DA SILVA; KOLLER, WILSON WERNER; ANDREOTTI, RENATO. Biologia e importância do carrapato *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*. In: GARCIA. Carrapatos na cadeia produtiva de bovinos. Brasília: Embrapa, 2019. p. 240.

ANDREOTTI, RENATO; LEÓN, ADALBERTO A PÉREZ DE; DOWD, SCOT E; GUERRERO, FELIX D; BENDELE, KYLIE G; A SCOLES, GLEN. Assessment of bacterial diversity in the cattle tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* through tag-encoded pyrosequencing. BMC Microbiology, [S.L.], v. 11, n. 1, 6 jan. 2011. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-11-6>.

Ankara, Turkey. Zoonoses Public Health. 2009; 56(4):169–75. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378>.

AREDE, MARGARIDA; BELTRÁN-ALCRUDO, DANIEL; ALIYEV, JEYHUN; CHALIGAVA, TENGIZ; KESKIN, IPEK; MARKOSYAN, TIGRAN; MOROZOV, DMITRY; OSTE, SARAH; PAVLENKO, ANDRII; PONEA, MIHAI. Examination of critical factors influencing ruminant disease dynamics in the Black Sea Basin. *Frontiers In Veterinary Science*, [S.L.], v. 10, 2023. <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2023.1174560>.

ARMANDO, C. Erliquiose canina: revisão de literatura. **repositorio.butantan.gov.br**, 2022.

AUGUSTINE, S.; SABU, L.; LAKSHMANAN, B. Molecular identification of Babesia spp. in naturally infected dogs of Kerala, South India. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 41, n. 2, p. 459–462, 22 ago. 2016.

BAHIA M, SILVA JS, GONTIJO IS, CORDEIRO MD, SANTOS PN, SILVA CB, *et al*. Characterization of cattle tick fever in calves from the northwestern region of Minas Gerais, Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2020; 29(1): e017119. <http://doi.org/10.1590/S1984-29612020011>

BAHIA, M., SILVA, J. S., GONTIJO, I. S., CORDEIRO, M. D., SANTOS, P. N., SILVA, C. B., NICOLINO, R. R., MOTA, D. A., SILVA, J B3. Futuro de Boi Gordo com Liquidação Financeira. 2023. Disponível em: https://www.b3.com.br/pt_br/produtos-e-servicos/negociacao/commodities/ficha-do-produto-8AE490CA6D41D4C7016D45F3CA183814.htm. Acesso em: 30 nov. 2023.

BANUMATHI, BALAN; VASEEHARAN, BASKARALINGAM; RAJASEKAR, PERIYANNAN; PRABHU, NARAYANAN MARIMUTHU; RAMASAMY, PALANIAPPAN; MURUGAN, KADARKARAI; CANALE, ANGELO; BENELLI, GIOVANNI. Exploitation of chemical, herbal and nanoformulated acaricides to control the cattle tick, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* – A review. *Veterinary Parasitology*, [S.L.], v. 244, p. 102-110, set. 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.07.021>.

BARROS-SILVA, P. M. R.; PEREIRA, S. V. C.; FONSECA, L. X.; MANIGLIA, F. V. P.; OLIVEIRA, S. V.; CALDAS, E. P. Febre maculosa: Uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. *Scientia Plena*, v. 10, n. 4(a), 2014.

BENSON MJ, GAWRONSKI JD, EVELEIGH DE, BENSON DR (2004) Intracellular symbionts and other bacteria associated with deer ticks (*Ixodes scapularis*) from Nantucket and Wellfleet, Cape Cod, Massachusetts. *Appl Environ Microbiol* 70(1):616–620.

BERMUDEZ, S.E., EREMEEVA, M.L., KARPATY, S.E., SAMUDIO, F., ZAMBRANO, M.L., ZALDIVAR, Y., MOTTA, J.A., DASCH, G.A., 2009. Detection and identification of rickettsial agents in ticks from domestic mammals in eastern Panama. *J. Med. Entomol.* 46, 856–861.

BI, JIE; WANG, YU-FENG. The effect of the endosymbiont *Wolbachia* on the behavior of insect hosts. *Insect Science*, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 846-858, 11 nov. 2019. <http://dx.doi.org/10.1111/1744-7917.12731>.

BING XL, XIA WQ, GUI JD, YAN GH, WANG XW, LIU SS (2014) Diversity and evolution of the *Wolbachia* endosymbionts of *Bemisia* (Hemiptera: Aleyrodidae) whiteflies. *Ecol Evol* 4(13):2714–2737.

BLACK, W C; PIESMAN, J. Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16s rDNA sequences. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, [S.L.], v. 91, n. 21, p. 10034-10038, 1994. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.91.21.10034>.

BOBO, CAILYN G., "Molecular Characterization of *Wolbachia* and its Impact on the Microbiome of Exotic and United States Ticks" (2020). *Honors Theses*. 702.

BOHACSOVA, Monika; MEDIANNIKOV, Oleg; KAZIMIROVA, Maria; RAOULT, Didier; SEKEYOVA, ZUZANA. *Arsenophonus nasoniae* and *Rickettsia* Infection of *Ixodes ricinus* Due to Parasitic Wasp *Ixodiphagus hookeri*. *Plos One*, [S.L.], v. 11, n. 2, p. e0149950, 2016. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0149950>.

BORDENSTEIN S, ROSENGAUS RB (2005) Discovery of a novel *Wolbachia* super group in Isoptera. *Curr Microbiol* 51(6):393–398.

BORGES, D. A. Fluazuron no Controle do Carrapato *Amblyomma sculptum*: Eficácia, Farmacocinética e Palatabilidade Utilizando *Cavia porcellus* (Cobaio) Como Modelo Experimental. 2023. 131 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2023.

BORGES, DEBORA AZEVEDO; CID, YARA PELUSO; AVELAR, BARBARA RAUTA DE; FERREIRA, THAIS PAES; CAMPOS, DIEFREY RIBEIRO; SANTOS, GABRIELA CARMELINDA MARTINS DOS; ALVES, MELINA CARDILO CAMPOS; SCOTT, FABIO BARBOUR. In vitro acaricidal activity of different ectoparasiticide classes against *Amblyomma sculptum* larvae. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, [S.L.], v. 29, n. 3, 2020. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612020052>.

BOULOUIS HJ, CHANG CC, HENN JB, KASTEN RW, CHOMEL BB. Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections. *Vet Res.* 2005; 36(3):383–410. <https://doi.org/10.1051/>

BOURTZIS, B. Detection and characterization of *Wolbachia* infections in laboratory Breeuwer JAJ, Werren JH. 1990. Microorganisms associated with chromosome destruction and reproductive isolation between two insect species. *Nature* 346:558–60.

BRASIL. Ministério da Saúde/SVS - Sistema de Informação de Agravos de Notificação Sinan Net. 2023. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/febremaculosasp.def>. Acesso em: 08 de agosto de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde/SVS. Óbitos confirmados de febre maculosa. Brasil, Regiões e Unidades Federadas (Infecção) - 2007-2023, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-maculosa/situacao>

BREMER, W.G., SCHAEFER, J.J., WAGNER, E.R., EWING, S.A., RIKIHISA, Y., NEEDHAM, G.R., JITTAPALAPONG, S., MOORE, D.L., STICH, R.W., 2005. Transstadial and intrastadial experimental transmission of *Ehrlichia canis* by male *Rhipicephalus sanguineus*. *Vet. Parasitol.* 131, 95–105.

BRITO, L. G.; BARBIERI, F. da S.; FERREIRA, T. A. A.; CARNEIRO, D. de S.; AMARAL, T. M.; FIGUEIRO, M. R.; OLIVEIRA, M. C. Transmissão congênita de *Babesia bovis* e *Anaplasma marginale* na epidemiologia da tristeza parasitária bovina. - Portal Embrapa. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1113867/transmissao-congenita-de-babesia-bovis-e-anaplasma-marginale-na-epidemiologia-da-tristeza-parasitaria-bovina>>. Acesso em: 1 out. 2024.

BUENO, C. Relação entre homens e animais transforma comportamentos dos humanos e dos bichos. **Ciência e Cultura**, v. 72, n. 1, p. 09-11, jan. 2020.

BURROW, HEATHER M.; MANS, BEN J.; CARDOSO, FERNANDO F.; BIRKETT, MICHAEL A.; KOTZE, ANDREW C.; HAYES, BEN J.; MAPHOLI, NTANGANEDZENI; DZAMA, KENNEDY; MARUFU, MUNYARADZI C.; GITHAKA, NAFTALY W. Towards a new phenotype for tick resistance in beef and dairy cattle: a review. *Animal Production Science*, [S.L.], v. 59, n. 8, p. 1401, 2019. <http://dx.doi.org/10.1071/an1848>.

CABEZAS-CRUZ, A. *et al.* New species of *Ehrlichia* isolated from *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* shows an ortholog of the *E. canis* major immunogenic glycoprotein gp36 with a new sequence of tandem repeats. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, 1 dez. 2012.

CALVANO, MARIA PAULA CAVUTO ABRÃO; BRUMATTI, RICARDO CARNEIRO; BARROS, JACQUELINE CAVALCANTE; GARCIA, MARCOS VALÉRIO; MARTINS, KAUÊ RODRIGUEZ; ANDREOTTI, RENATO. Bioeconomic simulation of *Rhipicephalus microplus* infestation in different beef cattle production systems in the Brazilian Cerrado. *Agricultural Systems*, [S.L.], v. 194, p. 103247-0, dez. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agsy.2021.103247>.

CALVANO, MARIA PAULA CAVUTO ABRÃO; BRUMATTI, RICARDO CARNEIRO; GARCIA, MARCOS VALÉRIO; BARROS, JACQUELINE CAVALCANTE; ANDREOTTI, RENATO. Economic efficiency of *Rhipicephalus microplus* control and effect on beef cattle performance in the Brazilian Cerrado.

Experimental And Applied Acarology, [S.L.], v. 79, n. 3-4, p. 459-471, 30 nov. 2019.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10493-019-00446-5>.

CARAGATA, ERIC P.; DUTRA, HEVERTON L.C.; SUCUPIRA, PEDRO H.F.; FERREIRA, ALVARO G.A.; MOREIRA, LUCIANO A. Wolbachia as translational science: controlling mosquito-borne pathogens. Trends In Parasitology, [S.L.], v. 37, n. 12, p. 1050-1067, dez. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2021.06.007>.

CARPI G, CAGNACCI F, WITTEKINDT NE, ZHAO F, QI J, TOMSHO LP, DRAUTZ DI, RIZZOLI A, SCHUSTER SC (2011) Metagenomic profile of the bacterial communities associated with Ixodes ricinus ticks. PLoS ONE 6(10):e25604.

CASIRAGHI, MAURIZIO; BAIN, ODILE; GUERRERO, RICARDO; MARTIN, CORALIE; POCACQUA, VANESSA; GARDNER, SCOTT L; FRANCESCHI, ALBERTO; BANDI, CLAUDIO. Mapping the presence of Wolbachia pipientis on the phylogeny of filarial nematodes: evidence for symbiont loss during evolution. International Journal For Parasitology, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 191-203, 2004.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2003.10.004>.

CELEBI B, KILIC S, AYDIN N, TARHAN G, CARHAN A, BABUR C. Investigation of Bartonella henselae in cats in Characterization of cattle tick fever in calves from the northwestern region of Minas Gerais, Brazil. Clin Microbiol. 2004; 42(1):264–8.
<https://doi.org/10.1128/jcm.42.1.264-268.2004> PMID: 14715763.

CHAI HN, DU YZ, QIU BL, ZHAI BP (2011) Detection and phylogenetic analysis of Wolbachia in the Asiatic rice leafroller, Cnaphalocrocis medinalis, in Chinese populations. J Insect Sci 11:123.

CLANCY DJ, HOFFMANN AA. 1996. Cytoplasmic incompatibility in Drosophila simulans: evolving complexity. Trends Ecol. Syst. 11:145–46 COSTA, J. O. *et al.* Ehrlichia canis infection in a dog in Belo Horizonte Brazil. Arquivos Escola Veterinária UFMG, v. 25, p. 199-200, 1973.

COYNE JA. 1992. Genetics and speciation. *Nature* 355:511–15 DNA extraction from ticks. *Vet. Res.* 35, 709–713, 2004.

CRAWFORD, JACOB E.; CLARKE, DAVID W.; CRISWELL, VICTOR; DESNOYER, MARK; CORNEL, DEVON; DEEGAN, BRITTANY; GONG, KYLE; HOPKINS, KAYCIE C.; HOWELL, PAUL; HYDE, JUSTIN S. Efficient production of male *Wolbachia*-infected *Aedes aegypti* mosquitoes enables large-scale suppression of wild populations. *Nature Biotechnology*, [S.L.], v. 38, n. 4, p. 482-492, 1 abr. 2020. <http://dx.doi.org/10.1038/s41587-020-0471-x>.

DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & Vectors**, v. 3, n. 1, p. 26, 2010.

DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 7, n. 11, p. 724-732, 2007. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(07\)70261-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(07)70261-x).

DEL FIOLE FS, JUNQUEIRA FM, ROCHA MCP, TOLEDO MI, BARBERATO FILHO S. A febre maculosa no Brasil. *Rev Panam Salud Publica*. 2010;27(6):461–6.

DOENÇA DE LYME EM CANINOS: REVISÃO DE LITERATURA | Revista Ibero-Americana de Humanidades, Ciências e Educação. **periodicorease.pro.br**, 12 jul. 2022.

DOUDOUMIS, V.; TSIAMIS, G.; WAMWIRI, F.; BRELSFOARD, C.; ALAM, U.; DUTRA HL, ROCHA MN, DIAS FB, MANSUR SB, CARAGATA EP, MOREIRA LA (2016) *Wolbachia* blocks currently circulating zika virus isolates in Brazilian *Aedes aegypti* mosquitoes. *Cell Host Microbe* 19(6):771– 774.

DOUDOUMIS, VANGELIS; TSIAMIS, GEORGE; WAMWIRI, FLORENCE; BRELSFOARD, COREY; ALAM, UZMA; AKSOY, EMRE; DALAPERAS, STELIOS; ABD-ALLA, ADLY; OUMA, JOHNSON; TAKAC, PETER. Detection and characterization of *Wolbachia* infections in laboratory and natural populations of different species of tsetse flies (genus *Glossina*). *Bmc Microbiology*, [S.L.], v. 12, n. 1, 2012. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-12-s1-s3>.

DRISCOLL, TIMOTHY P.; VERHOEVE, VICTORIA I.; BROCKWAY, CASSIA; SHREWSBERRY, DARIN L.; PLUMER, MARIAH; SEVDALIS, SPIRIDON E.; BECKMANN, JOHN F.; KRUEGER, LAURA M.; MACALUSO, KEVIN R.; AZAD, ABDU F. Evolution of Wolbachia mutualism and reproductive parasitism: insight from two novel strains that co-infect cat fleas. *Peerj*, [S.L.], v. 8, p. e10646, 17 dez. 2020. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.10646>.

EHRENS, ALEXANDRA; HOERAUF, ACHIM; HÜBNER, MARC P. Current perspective of new anti-Wolbachia and direct-acting macrofilaricidal drugs as treatment strategies for human filariasis. *Gms Infect Dis.*, [S.L.], 30 mar. 2022. <http://dx.doi.org/10.3205/ID000079>.

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, 25 jan. 2021.

EXAME. Como o brasileiro cuida e quanto gasta com seus pets. [2012]. Disponível em: Acesso em: 01 ago 2016.

FABBI M, DE GIULI L, TRANQUILLO M, BRAGONI R, CASIRAGHI M, GENCHI C. PREVALENCE of *Bartonella henselae* Epidemiologica/obitos-confirmados-de-febre-maculosa-brasil-regioes-e-unidades-federadas infeccao-2007-2023/view. Acesso em 29 de agosto de 2023.

FANG, R.; BLANTON, L. S.; WALKER, D. H. *Rickettsiae* as Emerging Infectious Agents. *Clinics in Laboratory Medicine*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2017.01.009> v. 37, n. 2, p. 383-400, 2017.

FAO. Livestock Systems. Global Distribution: Cattle. 2023. Disponível em: <https://www.fao.org/livestock-systems/global-distributions/cattle/en/>. Acesso em: 29 nov. 2023.

FERREIRA, T. A. A. (2019). Diagnóstico molecular e taxas de infecção de *Anaplasma marginale* e *Babesia bovis* em rebanhos bovídeos e artrópodes parasitas na Amazônia. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia Aplicada a Agropecuária. Belém: Universidade Federal Rural da Amazônia.

FOLEY J, TINOCO-GRACIA L, RODRIGUEZ-LOMELÍ M, ESTRADA-GUZMÁN J, FIERRO M, MATTAR-LOPEZ E, PETERSON A, PASCOE E, GONZALEZ Y, HORIOHISHIMA S, ARMSTRONG PA, LOPEZ G, JACOME-IBARRA M, PADDOCK CD, ZAZUETA OE. Unbiased Assessment of Abundance of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato Ticks, Canine Exposure to Spotted Fever Group *Rickettsia*, and Risk Factors in Mexicali, México. Am J Trop Med Hyg. 2019 Jul;101(1):22-32. doi: 10.4269/ajtmh.18-0878. PMID: 31094313; PMCID: PMC6609199.

FONTES, E.M.G. & VALADARES-INGLIS, M.C. (2020) Controle biológico de pragas da agricultura. Editoras técnicas. Brasília, DF, Embrapa, 510 pp. Disponível em <**Embrapa.br**>, 25 abr. 2020.

GARCIA, A. Biological cycle of the Rhipicephalus (Boophilus) microplus tick | BioRender Science Templates. Disponível em: <<https://www.biorender.com/template/biological-cycle-of-the-rhipicephalus-boophilus-microplus-tick>>. Acesso em: 25 set. 2024.

GERTH M, GANSAUGE MT, WEIGERT A, BLEIDORN C (2014) Phylogenomic analyses uncover origin and spread of the Wolbachia pandemic. Nat Commun 5:5117. <https://doi.org/10.1038/ncomms6117>.

GESTO, JOÃO SILVEIRA MOLEDO; PINTO, SOFIA B.; DIAS, FERNANDO BRAGA STEHLING; PEIXOTO, JULIA; COSTA, GUILHERME; KUTCHER, SIMON; MONTGOMERY, JACQUI; GREEN, BENJAMIN R.; ANDERS, KATHERINE L.; RYAN, PETER A. Large-Scale Deployment and Establishment of Wolbachia into the Aedes aegypti Population in Rio de Janeiro, Brazil. Frontiers In Microbiology, [S.L.], v. 12, 29 jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2021.711107>.

GLOVER DM, RAFF J, KARR TL, O'NEIL SL, LIN H, WOLFNER MF. 1990. Parasites in Drosophila embryos. Nature 348:117

GONDARD, MATHILDE; CABEZAS-CRUZ, ALEJANDRO; CHARLES, ROXANNE A.; VAYSSIER-TAUSSAT, MURIEL; ALBINA, EMMANUEL; MOUTAILLER, SARA. Ticks and Tick-Borne Pathogens of the Caribbean: current understanding and

future directions for more comprehensive surveillance. **Frontiers In Cellular And Infection Microbiology**, [S.L.], v. 7, 2017. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2017.00490>.

GONG, JUN-TAO; LI, TONG-PU; WANG, MENG-KE; HONG, XIAO-YUE. Wolbachia-based strategies for control of agricultural pests. *Current Opinion In Insect Science*, [S.L.], v. 57, p. 101039, jun. 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2023.101039>.

GONG, JUN-TAO; LI, YONGJUN; LI, TONG-PU; LIANG, YONGKANG; HU, LINCHAO; ZHANG, DONGJING; ZHOU, CHUN-YING; YANG, CUI; ZHANG, XU; ZHA, SI-SI. Stable Introduction of Plant-Virus-Inhibiting Wolbachia into Planthoppers for Rice Protection. *Current Biology*, [S.L.], v. 30, n. 24, p. 4837-4845, dez. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.033>.

GRECA, H.; LANGONI, H.; SOUZA, L.C. Brazilian spotted fever: a reemergent zoonosis. *Journal Of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, v. 14, n. 1, 2008. <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-91992008000100002>.

GRISI, LAERTE; LEITE, ROMÁRIO CERQUEIRA; MARTINS, JOÃO RICARDO DE SOUZA; BARROS, ANTONIO THADEU MEDEIROS DE; ANDREOTTI, RENATO; CANÇADO, PAULO HENRIQUE DUARTE; LEÓN, ADALBERTO ANGEL PÉREZ DE; PEREIRA, JAIRO BARROS; VILLELA, HUMBERTO SILVA. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, [S.L.], v. 23, n. 2, p. 150-156, jun. 2014. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612014042>.

GUGLIELMONE, ALBERTO A.; NAVA, SANTIAGO; ROBBINS, RICHARD G. NEOTROPICAL HARD TICKS (ACARI: IXODIDA). SPRINGER CHAM, [S.L.], p. 0-0, 2021. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-72353-8>.

GUO, WEN-PING; ZHANG, BING; WANG, YI-HAN; XU, GANG; WANG, XIAOQUAN; NI, XUEBING; ZHOU, EN-MIN. Molecular identification and characterization of *Anaplasma capra* and *Anaplasma platys*-like in *Rhipicephalus microplus* in Ankang, Northwest China. *Bmc Infectious Diseases*, [S.L.], v. 19, n. 1, 2019. <http://dx.doi.org/10.1186/s12879-019-4075-3>

H. (1967) Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility. *Nature* 216(5113):383– 384.

HALOS L, JAMAL T, VIAL L, MAILLARD R, SUAUA A, LE MENACH A, BOULOUIS HJ, VAYSSIER-TAUSSAT M. Determination of an efficient and reliable method for DNA extraction from ticks. *Vet Res.* 2004 Nov-Dec;35(6):709-13. doi: 10.1051/vetres:2004038. PMID: 15535960.

HALOS, L.; JAMAL, T.; VIAL, L.; MAILLARD, R.; SUAUA, A.; LE MENACH, A.; BOULOUIS, HARRUS A, Shimon; WANER B, Trevor. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *The Veterinary Journal*, A Koret School of Veterinary Medicine, The Hebrew University of Jerusalem, P.O. Box 12, Rehovot 76100, Israel b Israel Institute for Biological Research, P.O. Box 19, Ness Ziona 74100, Israel, v. 187, p. 293-295, 3 mar. 2011.

HALOS, L.; JAMAL, T.; VIAL, L.; MAILLARD, R.; SUAUA, A.; LE MENACH, A.; BOULOUIS, H. J.; VAYSSIER-TAUSSAT, M. Determination of an efficient and reliable method for DNA extraction from ticks. *Vet. Res.* 35, 709–713, 2004.

HAN, YIXING; GAO, SHOUGUO; MUEGGE, KATHRIN; ZHANG, WEI; ZHOU, Bing. Advanced Applications of RNA Sequencing and Challenges. *Bioinformatics And Biology Insights*, [S.L.], v. 91, BBI.S28991, 2015. <http://dx.doi.org/10.4137/bbi.s28991>.

HARRUS, S., WANER, T., NEER, M., 2012. *Ehrlichia canis* infection, *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Fourth edn. Elsevier Saunders, St. Louis, MI, USA, pp. 227–238 Hertig M, Wolbach SB (1924) Studies on Rickettsia-like micro-organisms in insects. *J Med Res* 44(3):329–374

HERRERA, A. N. (2019). Anaplasmosis bovina hiperaguda: reporte de caso *Anaplasma marginale*. Trabajo de Conclusão de Curso (TCC) em Medicina Veterinária. Bogotá: Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales

HERTIG, M.; WOLBACH, S. B. Studies on Rickettsia-Like Micro-Organisms in Insects. *J. Med. Res.* 44, 329-374.7., 1924.

HILGENBOECKER K, HAMMERSTEIN P, SCHLATTMANN P, TELSCHOW A, WERREN JH (2008) How many species are infected with Wolbachia? A statistical analysis of current data. *FEMS Microbiol Lett* 281(2):215–220

HILL, C. A.; GUTIERREZ, A. A method for extraction and analysis of high-quality genomic DNA from ixodid ticks. *Medical and Veterinary Entomology* 17, 224–227, 2003.

HIRUNKANOKPUN, SUPANEE; AHANTARIG, ARUNEE; BAIMAI, VISUT; TRINACHARTVANIT, WACHAREEPORN. A new record of Wolbachia in the elephant ticks from Thailand. *Scienceasia*, [S.L.], v. 44, n. 1, p. 44, 2018. <http://dx.doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2018.44s.044>.

HOFFMANN AA, CLANCY DJ, MERTON E. Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1994 Mar;136(3):993-9. doi: 10.1093/genetics/136.3.993. PMID: 8005448; PMCID: PMC1205902.

HOFFMANN, A. Wolbachia. *Current Biology*, 30(19), R1113–R1114, 2020. *Current Biology* | Vol 30, Issue 19, Pages R1063-R1232, 3703-3896 (5 October 2020) | ScienceDirect.com by Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/journal/current-biology/vol/30/issue/19>>. Acesso em: 1 out. 2024.

HUSSAIN, SABIR; PERVEEN, NIGHAT; HUSSAIN, ABRAR; SONG, BAOLIN; AZIZ, MUHAMMAD UMAIR; ZEB, JEHAN; LI, JUN; GEORGE, DAVID; CABEZAS-CRUZ, ALEJANDRO; SPARAGANO, Olivier. The Symbiotic Continuum Within Ticks: opportunities for disease control. *Frontiers In Microbiology*, [S.L.], v. 13, 17 mar. 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2022.854803>.

HUXSOLL, D. L. *et al.* Tropical canine pancytopenia. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, v. 157, n. 11, p. 1627-1632, 1970. Johanowicz DL, Hoy MA. 1995. Molecular evidence for A-Wolbachia endocytobiont in the predatory mite *Metaseiulus occidentalis*. *J. Cell. Biochem.* 21A:198

IBGE. Tamanho do rebanho bovinos (Cabeças). 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>. Acesso em: 30 nov. 2023.

IGLIOTI, RODRIGO; OLIVEIRA, HENRIQUE NUNES DE; OKINO, CINTIA HIROMI; OLIVEIRA, MÁRCIA CRISTINA DE SENA. QPCR estimates of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection levels in beef cattle and *Rhipicephalus microplus* larvae. *Experimental And Applied Acarology*, [S.L.], v. 75, n. 2, p. 235-240, 4 maio 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-018-0260-0>.

IGOLKINA, Y.; NIKITIN, A.; VERZHUTSKAYA, Y.; GORDEYKO, N.; TIKUNOV, A.; EPIKHINA, T.; TIKUNOVA, N.; RAR, V. Multilocus genetic analysis indicates taxonomic status of “*Candidatus Rickettsia mendelii*” as a separate basal group. *Ticks And Tick-Borne Diseases*, v. 14, n. 2, p. 102104, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102104>

JOHN H. WERREN. 1997. BIOLOGY OF WOLBACHI. BIOLOGY DEPARTMENT, UNIVERSITY OF ROCHESTER, ROCHESTER, NEW YORK. LABRUNA, M. B. *et al.* Risk factors for tick infestations and their occurrence in horses in the state of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 97, 2001.

JOHNSTON, KELLY L.; COOK, DARREN A. N.; BERRY, NEIL G.; HONG, W. DAVID; CLARE, RACHEL H.; GODDARD, MEGAN; FORD, LOUISE; NIXON, GEMMA L.; O’NEILL, PAUL M.; WARD, STEPHEN A. Identification and prioritization of novel anti- *Wolbachia* chemotypes from screening a 10,000-compound diversity library. *Science Advances*, [S.L.], v. 3, n. 9, set. 2017. <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.aao1551>.

KAMANI, J. *et al.* Prevalence and Diversity of *Bartonella* Species in Commensal Rodents and Ectoparasites from Nigeria, West Africa. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 5, p. e2246, 30 maio 2013.

KATZ, G.; NEVES, V. L. F. C.; ANGERAMI, R. N.; NASCIMENTO, E. M. M.; COLOMBO, S. Situação epidemiológica e importância da febre maculosa no Estado de São Paulo. *Bepa*, v. 6, n. 69, p. 4-13, 2009.

KAUR, R. *et al.* Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: A centennial review. *Cell Host & Microbe*, v. 29, n. 6, p. 879–893, 9 jun. 2021.

KAUR, RUPINDER; SHROPSHIRE, J. DYLAN; CROSS, KARISSA L.; LEIGH, BRITTANY; MANSUETO, ALEXANDER J.; STEWART, VICTORIA; BORDENSTEIN, SARAH R.; BORDENSTEIN, SETH R. Living in the endosymbiotic world of Wolbachia: a centennial review. *Cell Host & Microbe*, [S.L.], v. 29, n. 6, p. 879-893, jun. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2021.03.006>.

KHADE, SHRIKANT BHIMRAO; KHILLARE, R S.; DASTAGIRI, M B. Global livestock development: Policies and vision: m b dastagiri. *Indian Journal of Animal Sciences*, [s. l], v. 9, n. 91, p. 770-779, 2021.

KHOO, Jing Jing; KURTTI, Timothy J.; HUSIN, Nurul Aini; BELIAVSKAIA, Alexandra; LIM, Fang Shiang; ZULKIFLI, Mulya Mustika Sari; AL-KHAFAJI, Alaa M.; HARTLEY, Catherine; DARBY, Alistair C.; HUGHES, Grant L. Isolation and Propagation of Laboratory Strains and a Novel Flea-Derived Field Strain of Wolbachia in Tick Cell Lines. *Microorganisms*, [S.L.], v. 8, n. 7, p. 988, 1 jul. 2020. <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8070988>.

KIKUGAWA, MANOELA MIEKO. Tristeza parasitária bovina (Babesiose x Anaplasmosse). **Faculdade Metropolitana Unidas–FMU. São Paulo**, 2009.

KOVALCHUK, SVETLANA N.; BABII, ANNA V.; ARKHIPOVA, ANNA L. Real-time PCR assay with an endogenous internal amplification control for detection and quantification of *Anaplasma marginale* in bovine blood. *Ticks And Tick-Borne Diseases*, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 101334, 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.101334>.

L. C., CHRIST, R., PIVA, M. M., SCHWERTZ, C. I., LUCCA, N. J., BROLL, F., MEDEIROS, D. S., POZZO, I. D., MORI, A. M., & MENDES, R. E. (2016). Estudo Retrospectivo dos Diagnósticos de Tristeza Parasitária Bovina no Oeste Catarinense.

LABRUNA, M.B., KASAI, N., FERREIRA, F., FACCINI, J.L.H., GENNARI, S.M., 2002. Seasonal dynamics of ticks (Acari Ixodidae) on horses in the state of São Paulo. Brazil. Vet. Parasitol. 105, 65–77.

LABRUNA, M.B., LEITE, R.C., FACCINI, J.L.H., FERREIRA, F., 2000. Life cycle of the tick *Haemaphysalis leporis-palustris* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. Exp. Appl. Acarol. 24, 683–694.

LABRUNA, MARCELO B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Annals Of The New York Academy of Sciences, v. 1166, n. 1, p. 156-166, 2009. <http://dx.doi.org/10.1111/j.17496632.2009.04516.x>

LANDMANN, Frédéric. The *Wolbachia* Endosymbionts. Microbiology Spectrum, [S.L.], v. 7, n. 2, 12 abr. 2019. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.bai-0018-2019>.

LASSY CW, KARR TL. 1996. Cytological analysis of fertilization and early embryonic development in incompatible crosses of *Drosophila simulans*. Mech. Dev. In press Laven LAUKAITIS, H. J.; MACALUSO, K. R. Unpacking the intricacies of *Rickettsia* vector interactions. **Trends in Parasitology**, v. 37, n. 8, p. 734–746, 1 ago. 2021.

LAUKAITIS, H. J.; MACALUSO, K. R. Unpacking the intricacies of *Rickettsia*–vector interactions. Trends In Parasitology, <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2021.05.008> v. 37, n. 8, p.734-746, 2021.

LAVEN H (1967) Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility. Nature 216(5113):383– 384.

LAVEN H. 1959. Speciation by cytoplasmic isolation in the *Culex pipiens* complex. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 24:166–73.

LAVEN H. 1967. Speciation and evolution in *Culex pipiens*. In Genetics of Insect Vectors of Disease, ed. JW Wright, R Pal, pp. 251– 75. Holland: Elsevier livestock ectoparasite control. Veterinary Parasitology, 109297, 2020.

LEFOULON, EMILIE; BAIN, ODILE; MAKEPEACE, BENJAMIN L.; D'HAESE, CYRILLE; UNI, SHIGEHICO; MARTIN, CORALIE; GAVOTTE, LAURENT. Breakdown of coevolution between symbiotic bacteria Wolbachia and their filarial hosts. PeerJ, [S.L.], v. 4, p. e1840, 28 mar. 2016. PeerJ. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.1840>.

LUAN, S. Doença de Lyme - Revisão. **REVISTA DE TRABALHOS ACADÊMICOS – UNIVERSO BELO HORIZONTE**, v. 1, n. 7, 2022.

MACEDO, L. P. F.; LIMA, M. F. ERLICHIOSE CANINA: UMA REVISÃO DE LITERATURA. **Revista Científica Mais Pontal**, v. 2, n. 1, p. 118–127, 8 fev. 2023.

MADHAV, M.; BAKER, D.; MORGAN, J.; ASGARI, S.; JAMES, P. Wolbachia: a tool for Microbiol. 12(Suppl. 1):S3, 2012.

MADHAV, MUKUND; BAKER, DALTON; MORGAN, JESS A.T; ASGARI, SASSAN; JAMES, PETER. Wolbachia: a tool for livestock ectoparasite control. Veterinary Parasitology, [S.L.], v. 288, p. 109297 dez. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109297>.

MANOJ, RANJU RAVINDRAN SANTHAKUMARI; LATROFA, MARIA STEFANIA; EPIS, SARA; OTRANTO, DOMENICO. Wolbachia: endosymbiont of onchocercid nematodes and their vectors. Parasites & Vectors, [S.L.], v. 14, n. 1, 7 maio 2021. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-021-04742-1>.

MAPA. Agropecuária brasileira em números. Brasil: Coordenação-Geral de Planos e Cenários, 2022. 14 p.

MARTINS, I. V. F. Parasitologia Veterinária. 2. ed. Espírito Santo: Editora filiada à Associação Brasileira das Editoras Universitárias (Abeu), p. 1-320, 2019.

MARTINS, J. R. S.; FURLONG, J.; LEITE, R. C. Controle de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M. B.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Org). Carrapatos de importância médico-veterinário da Região Neotropical. Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Instituto Butantan, 2006. p. 145-153.

MARTINS, LARISSA ALMEIDA; BENSAOUD, CHAIMA; KOTÁL, JAN; CHMELAR, JINDŘICH; KOTSYFAKIS, MICHAIL. Tick salivary gland transcriptomics and proteomics. **Parasite Immunology**, [S.L.], v. 43, n. 5, 2020. <http://dx.doi.org/10.1111/pim.12807>.

MATEOS, MARIANA; MONTOYA, HUMBERTO MARTINEZ; LANZAVECCHIA, SILVIA B.; CONTE, CLAUDIA; GUILLÉN, KARINA; MORÁN-ACEVES, BRENDA M.; TOLEDO, JORGE; LIEDO, PABLO; ASIMAKIS, ELIAS D.; DOUDOUMIS, VANGELIS. Wolbachia pipientis Associated with Tephritid Fruit Fly Pests: from basic research to applications. *Frontiers In Microbiology*, [S.L.], v. 11, 3 jun. 2020. <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.01080>.

MAZZUCCO PANIZZA, M. *et al.* Assays to evaluate the transovarial transmission of *Anaplasma marginale* by *Rhipicephalus microplus*. **Veterinary Parasitology**, v. 311, p. 109808, 14 set. 2022.

MENDES, C. C. *et al.* DOENÇA DA ARRANHADURA DO GATO COMO CAUSA DA SÍNDROME OCULOGLANDULAR DE PARINAUD: UM RELATO DE CASO. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 26, p. 102282, 10 fev. 2022.

MENDES, N. S. (2019). Ocorrência e diversidade genética de babesia bovis em bovinos de corte amostrados no pantanal sul mato-grossense. Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agropecuária. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista.

MERHEJ, V.; ANGELAKIS, E.; SOCOLOVSCHI, C.; RAOULT, D. Genotyping, evolution, and epidemiological findings of *Rickettsia* species. *Infection, Genetics and Evolution*, [S.L.], v. 25, p. 122-137, 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.03.014>.

MICHELET, LORRAINE; BONNET, SARAH; MADANI, NORA; MOUTAILLER, SARA. Discriminating *Francisella tularensis* and *Francisella*-like endosymbionts in *Dermacentor reticulatus* ticks: evaluation of current molecular techniques. *Veterinary Microbiology*, [S.L.], v. 163, n. 3-4, p. 399-403, 2013. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.014>.

MIRABALLES, C.; RIET-CORREA, F. A review of the history of research and control of *Rhipicephalus* (Boophilus) microplus, babesiosis and anaplasmosis in Uruguay. **Experimental and Applied Acarology**, v. 75, n. 4, p. 383–398, ago. 2018.

MONTEIRO, S.G. 2017. Parasitologia na medicina veterinária. 2º edição. Editora Roca, Rio de Janeiro, Brasil.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do Crmv-Sp, <http://dx.doi.org/10.36440/recmvz.v15i1.36765> v.15, n.1, p. 38-45, 2017.

MOREIRA LA, ITURBE-ORMAETXE I, JEFERY JA, LU G, PYKE AT, HEDGES LM, ROCHA BC, HALL-MENDELIN S, DAY A, RIEGLER M, HUGO LE, JOHNSON KN, KAY BH, MCGRAW EA, VAN DEN HURK AF, RYAN PA, O'NEILL SL (2009).

A Wolbachia symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. Cell 139(7):1268–1278 NANTES, J. & ZAPPA, V. Nutaliose: revisão de literatura. Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária, v. 6, 2008.

MOURA, R. S.; ARAUJO, R. G. **EVOLUÇÃO DO MERCADO PET E AS EXPORTAÇÕES BRASILEIRAS NO SETOR.** Disponível em: <<http://www.jornacitec.fatecbt.edu.br/index.php/VJTC/VJTC/paper/view/657>>. Acesso em: 17 fev. 2025.

MOURAO, V. *et al.* NEURORRETINITE POR BARTONELLA HENSELAE: RELATO DE CASO DE UMA MANIFESTAÇÃO INFREQUENTE DA DOENÇA DA ARRANHADURA DO GATO. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 27, p. 103560–103560, 1 out. 2023.

N, N. Y. *et al.* CONSIDERAÇÕES SOBRE O USO DAS TECNOLOGIAS DIGITAIS NA EDUCAÇÃO BÁSICA. **Editoracientifica.com.br**, v. 1, p. 13–23, 2022.

NEER, T.M., BREITSCHWERDT, E.B., GREENE, R.T., LAPPIN, M.R., 2002. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease

study group of the ACVIM: American College of Veterinary Internal Medicine. *J. Vet. Intern. Med.* 16, 309–315

NICARETTA, JOÃO EDUARDO; COUTO, LUIZ FELLIPE MONTEIRO; HELLER, LUCIANA MAFFINI; FERREIRA, LORENA LOPES; CAVALCANTE, ALLINY SOUZA DE ASSIS; ZAPA, DINA MARÍA BELTRÁN; CRUVINEL, LEONARDO BUENO; MELO JÚNIOR, RUBENS DIAS DE; GONTIJO, LIDIA MENDES DE AQUINO; SOARES, VANDO EDESIO. Evaluation of different strategic control protocols for *Rhipicephalus microplus* on cattle according to tick burden. *Ticks And Tick-Borne Diseases*, [S.L.], v. 12, n. 4, jul. 2021. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101737>.

NICARETTA, JOÃO EDUARDO; SANTOS, JORDANA BELOS DOS; COUTO, LUIZ FELLIPE MONTEIRO; HELLER, LUCIANA MAFFINI; CRUVINEL, LEONARDO BUENO; MELO JÚNIOR, RUBENS DIAS DE; CAVALCANTE, ALLINY SOUZA DE ASSIS; ZAPA, DINA MARÍA BELTRÁN; FERREIRA, LORENA LOPES; MONTEIRO, CAIO MÁRCIO DE OLIVEIRA. Evaluation of rotational grazing as a control strategy for *Rhipicephalus microplus* in a tropical region. *Research In Veterinary Science*, [S.L.], v. 131, p. 92-97, ago. 2020. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.006>. of Minas Gerais, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29

O'NEILL SL, GIORDANO R, COLBERT AME, KARR TL, ROBERTSON HM. 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2699–702

O'NEILL SL, GIORDANO R, COLBERT AME, KARR TL, ROBERTSON HM. 1992. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:2699–702

O'NEILL SL, KARR TL. 1990. Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans*. *Nature* 348:178–80 of Exotic and United States Ticks. Honors Theses, 702, 2020.

OGRZEWAŁSKA, M.; LITERAK, I.; CARDENAS-CALLIRGOS, J. M.; CAPEK, M.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia bellii* in ticks *Amblyomma varium* Koch, 1844, from birds in Peru. *Ticks And Tick-Borne Diseases*, v. 3, n. 4, p. 254-256, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.05.003>.

OKEYO, M.; HARTBERGER, C.; MARGOS, G.; STRAUBINGER, R. K.; SING, A.; FINGERLE, V. Comparison of Methods for Economic and Efficient Tick and *Borrelia* DNA Purification. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10 1041-1045, 2019.

OLIVEIRA, B. C. M. et al. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) DNA in Tissues From *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) Ticks in Areas Endemic for Canine Monocytic Ehrlichiosis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 56, n. 3, p. 828–831, 19 dez. 2018.

OUBERT, D. Albert; WALKER, Thomas; CARRINGTON, Lauren B.; BRUYNE, Jyotika Taneja de; KIEN, Duong Hue T.; HOANG, Nhat Le Thanh; CHAU, Nguyen van Vinh; ITURBE-ORMAETXE, Iñaki; SIMMONS, Cameron P.; O'NEILL, Scott L. Establishment of a *Wolbachia* Superinfection in *Aedes aegypti* Mosquitoes as a Potential Approach for Future Resistance Management. *Plos Pathogens*, [S.L.], v. 12, n. 2, p. 1005434, 18 fev. 2016. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1005434>.

PAT-NAH, H. et al. Molecular Diagnosis of *Ehrlichia canis* in Dogs and Ticks *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Yucatan, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 1, p. 101–104, 1 jan. 2015.

PEREIRA, DIOGO FONSECA SOARES; RIBEIRO, HELEN SILVA; GONÇALVES, ANA ALICE MAIA; SILVA, AUGUSTO VENTURA DA; LAIR, DANIEL FERREIRA; OLIVEIRA, DIANA SOUZA DE; BOAS, DIEGO FERNANDES VILAS; CONRADO, INGRID DOS SANTOS SOARES; LEITE, JAQUELINE COSTA; BARATA, LUCCAS MIRANDA. *Rhipicephalus microplus*: an overview of vaccine antigens against the cattle tick. *Ticks And Tick-Borne Diseases*, [S.L.], v. 13, n. 1, jan. 2022. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101828>.

PEREIRA, T. N.; VIRGINIO, F.; SOUZA, J.I.; MOREIRA, L.A. EMERGENT ARBOVIRUSES: QABLAN, M.A. *et al.* Infections by *Babesia caballi* and *Theileria equi* in Jordanian equids: Epidemiology and genetic diversity. *Parasitology*, v. 140, p. 1096, 2013.

PEREIRA, THIAGO NUNES; CARVALHO, FABIANO DUARTE; RUGANI, JERÔNIMO NUNES; CARVALHO, VANESSA RAFAELA DE; JARUSEVICIUS, JAQUELINE; SOUZA-NETO, JAYME A.; MOREIRA, LUCIANO ANDRADE. Mayaro Virus: the potential role of microbiota and wolbachia. *Pathogens*, [S.L.], v. 10, n. 5, p. 525 <http://dx.doi.org/10.3390/pathogens10050525>.

PEREIRA, THIAGO NUNES; ROCHA, MARCELE NEVES; SUCUPIRA, PEDRO HENRIQUE FERREIRA; CARVALHO, FABIANO DUARTE; MOREIRA, LUCIANO ANDRADE. Wolbachia significantly impacts the vector competence of *Aedes aegypti* for Mayaro virus. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 8, n. 1, 2018. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-25236-8>.

PÉREZ-TANOIRA, R. *et al.* Molecular Survey of *Rickettsia* spp., *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., *Bartonella* spp., and *Borrelia* spp. in Fleas and Lice in Ethiopia. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 20, n. 1, p. 10–14, 1 jan. 2020.

PINTER, A.; COSTAI, C. S.; HOLCMAN, M. M.; CAMARA, M.; LEITE, R. M. A Febre Maculosa Brasileira na Região Metropolitana de São Paulo. *Bepa*, v. 151, n. 13, p. 1-45, 2016.

PLANTARD, OLIVIER; BOUJU-ALBERT, AGNÈS; MALARD, MARIE-ASTRID; HERMOUET, AXELLE; CAPRON, GILLES; VERHEYDEN, HÉLÈNE. Detection of Wolbachia in the Tick *Ixodes ricinus* is Due to the Presence of the Hymenoptera Endoparasitoid *Ixodiphagus hookeri*. *Plos One*, [S.L.], v. 7, n. 1, p. 30692, 26 jan. 2012. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0030692>.

PORTER, JILLIAN; SULLIVAN, WILLIAM. The cellular lives of Wolbachia. *Nature Reviews Microbiology*, [S.L.], v. 21, n. 11, p. 750-766, 10 jul. 2023. Springer Science and <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-023-00918-x>.

RAMALHO, MANUELA OLIVEIRA; VIEIRA, ALEXSANDRO SANTANA; PEREIRA, MAYARA CRISTINA; MOREAU, CORRIE SAUX; BUENO, ODAIR CORREA. Transovarian Transmission of Blochmannia and Wolbachia Endosymbionts in the Neotropical Weaver Ant *Camponotus textor* (Hymenoptera, Formicidae). *Current Microbiology*, [S.L.], v. 75, n. 7, p. 866-873, 2018. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-018-1459-3>.

REED KM, WERREN JH. 1995. Induction of paternal genome loss by the paternal-sexratio chromosome and cytoplasmic incompatibility bacteria (Wolbachia): a comparative study of early embryonic events. *Mol. Reprod. Dev.* 40:408–18
RHIPICEPHALUS SANGUINEUS - an overview | **ScienceDirect Topics**. Disponível em <<https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/rhipicephalus-sanguineus>>.

ROBY, T.O., ANTHONY, D.W., 1963. Transmission of equine piroplasmiasis by *Dermacentor nitens* Neumann. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 142, 768–769.

RODRIGUES, JULES; LEFOULON, EMILIE; GAVOTTE, LAURENT; PERILLAT-SANGUINET, MARCO; MAKEPEACE, BENJAMIN; MARTIN, CORALIE; D'HAESE, CYRILLE A. Wolbachia springs eternal: symbiosis in collembola is associated with host ecology. *Royal Society Open Science*, [S.L.], v. 10, n. 5, maio 2023. <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.230288>.

RODRIGUEZ-VIVAS, ROGER I.; JONSSON, NICHOLAS N.; BHUSHAN, CHANDRA. Strategies for the control of *Rhipicephalus microplus* ticks in a world of conventional acaricide and macrocyclic lactone resistance. *Parasitology Research*, [S.L.], v. 117, n. 1, p. 3-29, 20 nov. 2017. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-017-5677-6>.

ROMANO, D. M. M.; PEREIRA, T. N.; ALMEIDA, I. B.; COELHO, C. S. G.; DUARTE, F. C., HARAKAVA, R.; CASSIANO, L. L.; MENDES, M. C. (2023). First

molecular evidence of Wolbachia occurrence in *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 317, 109907.

ROSS, PERRAN A.; TURELLI, MICHAEL; HOFFMANN, ARY A. Evolutionary Ecology of Wolbachia Releases for Disease Control. *Annual Review of Genetics*, [S.L.], v. 53, n. 1, p. 93-116, 3 dez. 2019. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-genet-112618-043609>.

ROUSSET F, BOUCHON D, PINTUREAU B, JUCHAULT P, SOLIGNAC M. 1992. Wolbachia endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proc. R. Soc. London Ser. B* 250:91–98.

S., AMARAL, T. M., FIGUEIRÓ, M. R., & OLIVEIRA, M. C. S. (2019). Transmissão congênita de Babesia de Babesia.

SALIBA, ANTOINE-EMMANUEL; SANTOS, SARA C; VOGEL, JÖRG. New RNA-seq approaches for the study of bacterial pathogens. *Current Opinion in Microbiology*, [S.L.], v. 35, p. 78-87, fev. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2017.01.001>.

SANAEI, EHSAN; CHARLAT, SYLVAIN; ENGELSTÄDTER, JAN. Wolbachia host shifts: routes, mechanisms, constraints and evolutionary consequences. *Biological Reviews*, [S.L.], v. 96, n. 2, p. 433-453, 30 out. 2020. <http://dx.doi.org/10.1111/brv.12663>.

SÁNCHEZ-MONTES, S. *et al.* Rhipicephalus sanguineus Complex in the Americas: Systematic, Genetic Diversity, and Geographic Insights. **Pathogens**, v. 10, n. 9, p. 1118, 1 set. 2021.

SANTOS, G. B. (2013). Estudo epidemiológico da tristeza parasitária bovina em rebanhos dos municípios de Petrolina e Ouricuri, estado de Pernambuco. Dissertação de Mestrado em Ciência Animal. Petrolina: Universidade Federal Vale do São Francisco.

SCARIOT, C. A., SCARIOT, J., SCHERER, I. F., COSTA, M., VIEIRA, M. I. B., & KREUTZ, L. C. (2018). Ocorrência de anticorpos de Anaplasma marginalena

bovinocultura leiteira do Rio Grande do Sul, Brasil. Anais do 10º Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão –SIEPE. Santana do Livramento: Universidade Federal do Pampa.

SCHICHT, SABINE; SCHNIEDER, THOMAS; STRUBE, CHRISTINA. Rickettsiaspp. and Coinfections with Other Pathogenic Microorganisms in Hard Ticks from Northern Germany. Journal Of Medical Entomology, [S.L.], v. 49, n. 3, p. 766-771, 2012. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1603/me11204>.

SILVA, Marcos Vinícius Mendes; FERNANDES, Renata Avancini; NOGUEIRA, José Luiz; AMBRÓSIO, Carlos Eduardo. ERLIQUIOSE CANINA: REVISÃO DE LITERATURA. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, [S. l.], v. 14, n. 2, 2013. Disponível em: <https://revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/4149>. Acesso em: 1 out. 2024.

SIRONI M, BANDI C, SACCHI L, DI SACCO B, DAMIANI G, GENCHI C. 1995. Molecular evidence for a close relative of the arthropod endosymbiont Wolbachia in a filarial worm. Mol. Biochem. Parasitol. 74:223– 27.

SOUZA, WILLIAM MARCIEL DE; FUMAGALLI, MARCÍLIO JORGE; CARRASCO, ADRIANO DE OLIVEIRA TORRES; ROMEIRO, MARILIA FARIGNOLI; MODHA, SEJAL; SEKI, MEIRE CHRISTINA; GHELLER, JANAÍNA MENEGAZZO; DAFFRE, SIRLEI; NUNES, MÁRCIO ROBERTO TEIXEIRA; MURCIA, PABLO RAMIRO. Viral diversity of Rhipicephalus microplus parasitizing cattle in southern Brazil. Scientific Reports, [S.L.], v. 8, n. 1, 2018. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-34630-1>

SPARAGANO, O.A.E.; ALLSOPP, M.T.E.P.; MANK, R.A.; RIJPKEMA, S.G.T.; FIGUEROA, J.V.; JONGEJAN, F. Molecular detection of pathogen DNA in ticks (Acari: Ixodidae): A review. Experimental and Applied Acarology 23: 929–960, 1999.

STAŃCZAK, JOANNA; CIENIUCH, STELLA; LASS, ANNA; BIERNAT, BEATA; RACEWICZ, MARIA. Detection and quantification of Anaplasma phagocytophilum and

Babesia spp. in *Ixodes ricinus* ticks from urban and rural environment, northern Poland, by real-time polymerase chain reaction. *Experimental And Applied Acarology*, [S.L.], v. 66, n. 1, p. 63-81, 2015. <http://dx.doi.org/10.1007/s10493-015-9887-2>.

STEERE, A. C. *et al.* Lyme borreliosis. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, n. 1, dez. 2016.

STOUTHAMER R, BREEUWER JAJ, LUCK RF, WERREN JH. 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature* 361:66–68

STOUTHAMER R, KAZMER DJ. 1994. Cytogenetics of microbe-associated parthenogenesis and its consequences for gene flow in *Trichogramma* wasps. *Heredity* 73:317–27.

SYKES, J.E., 2014. Ehrlichiosis, Canine and Feline Infectious Diseases. First edn Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri, USA, pp. 278–289.

SYMINGTON, ADAM; RAO, PALLAVI. MAPPED: GLOBAL LIVESTOCK DISTRIBUTION AND DENSITY. 2023. Disponível em: https://www.visualcapitalist.com/cp/mapped-global-livestock-distribution-and-density/#google_vignette. Acesso em: 30 nov. 2023.

TABOR, ALA E.; ALI, ABID; REHMAN, GAUHAR; GARCIA, GUSTAVO ROCHA; ZANGIROLAMO, AMANDA FONSECA; MALARDO, THIAGO; JONSSON, NICHOLAS N. Cattle Tick *Rhipicephalus microplus*-Host Interface: a review of resistant and susceptible host responses. *Frontiers In Cellular And Infection Microbiology*, [S.L.], v. 7, 11 dez. 2017. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2017.00506>.

TAYLOR, M. A., COOP, R. L., WALL, R. L. *Parasitologia Veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: GUANABARA KOOGAN, p. 1-945, 2017.

THORNER, A. R.; WALKER, D. H.; PETRI Jr., W. A. Rocky Mountain Spotted Fever. *Clinical Infectious Diseases*, v. 27, n. 6, p. 1353-1359, 1998. Transmissão congênita de

Babesia bovis e *Anaplasma marginale* na epidemiologia da tristeza parasitária bovina. Embrapa Amazônia Oriental, Circular Técnica 48.

TRINDADE, H. I., ALMEIDA, K. S., FREITAS, & F. L. C. (2011). Tristeza Parasitária Bovina –Revisão de Literatura. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, 16, 1-21 Tristeza Parasitária Bovina (Babesiose x Anaplasmose). Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) em Medicina Veterinária. São Paulo: Faculdades Metropolitanas Unidas vetres:2005009 PMID: 15845231.

TURELLI M. 1994. Evolution of incompatibility-inducing microbes and their hosts. *Evolution* 48:1500–13

Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports | Journal | ScienceDirect.com by Elsevier. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/journal/veterinary-parasitology-regional-studies-and-reports>>. Acesso em: 2 abr. 2025.

WEINERT, LUCY A.; ARAUJO-JNR, ELI V.; AHMED, MUHAMMAD Z.; WELCH, JOHN J. The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods. *Proceedings Of the Royal Society B: Biological Sciences*, [S.L.], v. 282, n. 1807, p. 20150249, 22 maio 2015. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2015.0249>.

WEN, B. *et al.* Simultaneous Detection of *Anaplasma marginale* and a New *Ehrlichia* Species Closely Related to *Ehrlichia chaffeensis* by Sequence Analyses of 16S Ribosomal DNA in *Boophilus microplus* Ticks from Tibet. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 9, p. 3286–3290, 29 ago. 2002.

WERREN JH, BALDO L, CLARK ME (2008) Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol* 6(10):741–751.

WERREN JH, GUO L, WINDSOR DW. 1995. Distribution of Wolbachia in neotropical arthropods. *Proc. R. Soc. London Ser. B* 262:147–204.

WERREN JH, JAENIKE J. 1995. Wolbachia and cytoplasmic incompatibility in mycophagous *Drosophila* and their relatives. *Heredity* 75:320–26.

WERREN JH, ZHANG W, GUO LR (1995) Evolution and phylogeny of Wolbachia: reproductive parasites of arthropods. *Proc Biol Sci* 261(1360):55–63.

WERREN JH, ZHANG W, GUO LR. 1995. Evolution and phylogeny of Wolbachia: reproductive parasites of arthropods. *Proc. R. Soc. London Ser. B* 251:55–71 2:737436, 2021.

WERREN, J.H. Biology of Wolbachia. *Annu. Rev. Entomol*, 42:587–609. 1997.

WIKSWO, M. E. *et al.* Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Bartonella henselae* in *Rhipicephalus sanguineus* Ticks from California. **Journal of Medical Entomology**, v. 44, n. 1, p. 158–162, 1 jan. 2007.

XIANG, XUEYAN; POLI, DAVIDE; DEGNAN, BERNARD M.; DEGNAN, SANDIE M. Ribosomal RNA-Depletion Provides an Efficient Method for Successful Dual RNA-Seq Expression Profiling of a Marine Sponge Holobiont. *Marine Biotechnology*, [S.L.], v. 24, n. 4, p. 722-732, 2022. <http://dx.doi.org/10.1007/s10126-022-10138-8>.

XU, J. *et al.* Pathogenic *Rickettsia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* in *Rhipicephalus microplus* ticks collected from cattle and laboratory hatched tick larvae. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 17, n. 8, p. e0011546–e0011546, 30 ago. 2023.

YANG, TZUSHAN S.; LADOUCEUR, ELISE E.B.; BAUMGARTNER, WES A.; MARR, HENRY S.; KAROUNOS, MICHAEL; ROBERTSON, JAMES; WHITEHURST, NATHAN; MILLER, LAURA S.; BIRKENHEUER, ADAM J. A practical protocol to prepare paraffin-embedded whole tick histology sections. *Ticks And Tick-Borne Diseases*, [S.L.], v. 14, n. 4, p. 102162, 2023. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2023.102162>.

YU, SHASHA; WANG, JING; LUO, XUE; ZHENG, HONG; WANG, LUHAN; YANG, XUESEN; WANG, YING. Transmission-Blocking Strategies Against Malaria Parasites During Their Mosquito Stages. *Frontiers In Cellular and Infection Microbiology*, [S.L.], v. 12, p. 0-0, 16 fev. 2022. <http://dx.doi.org/10.3389/fcimb.2022.820650>.

ZHANG X, NORRIS DE RASGON JL (2011) Distribution and molecular characterization of Wolbachia endosymbionts and filarial nematodes in Maryland populations of the lone star tick (*Amblyomma americanum*). FEMS Microbiol Ecol 77(1):50–56.

ZHANG, XING; NORRIS, DOUGLAS E.; RASGON, JASON L. Distribution and molecular characterization of Wolbachia endosymbionts and filarial nematodes in Maryland populations of the lone star tick (*Amblyomma americanum*). Fems Microbiology Ecology, [S.L.], v. 77, n. 1, p. 50-56, 21 abr. 2011. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6941.2011.01089.x>.

ZHOU W, ROUSSET F, O'NEIL S (1998) Phylogeny and PCR-based classification of Wolbachia strains using wsp gene sequences. Proc Biol Sci 265(1395):509– 515 Zug R, Hammerstein P (2012) Still a host of hosts for Wolbachia: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthr **View of Prevalence of Babesia spp. and Anaplasma marginale in cattle in the municipality of Palma, MG | Brazilian Journal of Veterinary Medicine.** Disponível em: <<https://bjvm.org.br/BJVM/article/view/427/318>>. Acesso em: 2 abr. 2025.