

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
TAYNARA TUANNE LIMA PEREIRA

PESQUISA POR *Borrelia* spp. EM CARRAPATOS DE CÃES EM ÁREAS
DO
CERRADO E MATA ATLÂNTICA

UBERLÂNDIA
2017

TAYNARA TUANNE LIMA PEREIRA

PESQUISA POR *Borrelia* spp. ASSOCIADAS A CARRAPATOS DE CÃES
EM ÁREAS DO
CERRADO E MATA ATLÂNTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito parcial na obtenção de créditos na
disciplina GMV054 – Trabalho de Conclusão de
Curso 2.

Orientadora: Prof.º Matias Pablo Juan Szabó.

UBERLÂNDIA
2017

TAYNARA TUANNE LIMA PEREIRA

PESQUISA POR *Borrelia* spp. ASSOCIADAS A CARRAPATOS DE CÃES
EM ÁREAS DO
CERRADO E MATA ATLÂNTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Medicina Veterinária da
Universidade Federal de Uberlândia, como
requisito parcial na obtenção de créditos na
disciplina GMV054 – Trabalho de Conclusão de
Curso 2.

Uberlândia, 08 de dezembro de 2017.

Banca Examinadora

Prof.º Matias Pablo Juan Szabó - UFU
Orientador

Prof.^a Dr.^a. Alessandra Aparecida Medeiros - UFU

Mestre Lais Miguel Rezende

Dedico a DEUS pela vida e pelas
bênçãos recebidas no decorrer do
curso.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente, a DEUS pela minha vida e pela oportunidade de vivenciar momentos de conhecimento tão almejados.

À minha família, especialmente, minha mãe, que sempre me apoiou com tudo que eu precisava durante a minha vida e à minha tia Juliélise que sempre me ajudou em minhas dificuldades acadêmicas.

A todos os integrantes do laboratório de ixodologia da Universidade Federal de Uberlândia (LABIX - UFU) pelo auxílio e paciência.

Ao prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó, pela oportunidade, paciência e apoio durante todo o processo de construção deste TCC, aceitando orientá - lo.

Aos demais professores do Curso de Medicina Veterinária, que fizeram parte de minha formação nesta academia, os quais foram muito mais que simples professores, mas sim, mestres que serão lembrados cada um a seu modo, por toda minha vida.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os amigos que de alguma forma fizeram parte dessa jornada eu agradeço pelas experiências, pelos abraços e risadas.

“Toda felicidade ou infelicidade, reside só numa coisa, a saber, na qualidade do objeto ao qual nos prendemos pelo amor.” (SPINOZA, 2004, p. 8).

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- LABIX - Laboratório de Ixodologia
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico
- FAMEV - Faculdade de Medicina Veterinária
- GT - Guanidina-Fenol
- PCR - Cadeia da Polimerase
- TCC - Trabalho de Conclusão de Curso
- UFU - Universidade Federal de Uberlândia

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia anserina*, diluição 1:10 p. 15
- FIGURA 02: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos do município de Araguapaz, G.O p. 16
- FIGURA 03: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos do município de Araguapaz, G.O p. 16
- FIGURA 04: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos de cães em áreas adjacentes ao Parque Nacional do Iguaçu, no município de Foz do Iguaçu, P.R p. 17
- FIGURA 05: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos de cães em áreas adjacentes ao Parque Nacional do Iguaçu, no município de Foz do Iguaçu, P.R p. 17

Resumo

Os carrapatos são ectoparasitas obrigatórios de vertebrados terrestres e necessitam de alimentação sanguínea em pelo menos uma etapa do seu ciclo de vida para completar o desenvolvimento. A maioria das espécies possui especificidade parasitária dependendo de qual espécie, estágio e ambiente onde se encontram. Além disso algumas espécies podem se deslocar de áreas florestais para áreas residenciais, facilitando a disseminação de agentes infecciosos. Os carrapatos coexistem naturalmente com seus hospedeiros, mas alterações ecológicas podem gerar desequilíbrios e aumentar o risco de exposição a humanos. Dentre as doenças transmitidas podemos citar doença de Lyme, causada pelo agente etiológico *Borrelia burgdorferi*. É uma doença emergente nos EUA, afetando uma média de 329.000 pessoas por ano. No Brasil existem humanos diagnosticados com doença de Lyme por sorologia, porém o agente ainda não foi isolado. Frente ao interesse das áreas da mata e o aumento do convívio com os animais o ser humano no Brasil tem ficado mais exposto à picada do carrapato. Essa exposição torna necessária uma maior investigação de agentes patogênicos no carrapato. Neste contexto cães na periferia do Cerrado e Mata Atlântica são expostos e carregam carrapatos de áreas naturais para convívio humano. Objetivou-se então com este trabalho identificar a ixodofauna parasitária de cães domésticos pertencentes aos biomas do cerrado e mata atlântica e pesquisar por *Borrelia* spp. em carrapatos parasitando cães domésticos de propriedades e áreas naturais pertencentes a esses biomas. Para tal utilizamos carrapatos coletados das cidades de Araguapaz - GO e Foz do Iguaçu - RS. Foram identificados em laboratório através de chaves dicotômicas, então o DNA foi extraído e a pesquisa por *Borrelia* feita através de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR). As amostras deste estudo não mostraram amplificação do DNA para *Borrelia* spp.

Palavras chaves: Doença de Lyme, Patógenos, Brasil, Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).

Abstract

Ticks are obligate ectoparasites of terrestrial vertebrates and require blood supply in at least one stage of their life cycle to complete development. Most species have parasitic specificity depending on which species, stage and environment they are in. In addition, some species can move from forest areas to residential areas, facilitating the spread of infectious agents. Ticks coexist naturally with their hosts, but ecological changes can generate imbalances and increase the risk of exposure to humans. Among the transmitted diseases we can mention Lyme disease, caused by the etiologic agent *Borrelia burgdorferi*. It is an emerging disease in the US, affecting an average of 329,000 people per year. In Brazil, there are humans diagnosed with Lyme disease by serology, but the agent has not yet been isolated. In the face of the interest of the forest areas and the increase in living with animals, the human being in Brazil has been more exposed to the tick bite. In this context dogs on the outskirts of the Cerrado and Atlantic Forest are exposed and carry ticks from natural areas for human conviviality. The objective of this work was to identify the parasitic ixodofauna of domestic dogs belonging to the cerrado and Atlantic forest biomes and to search for *Borrelia* spp. in ticks parasitizing domestic dogs of properties and natural areas belonging to these biomes. For this we used ticks collected from the cities of Araguapaz - GO and Foz do Iguaçu - RS. They were identified in the laboratory through dichotomous keys, then the DNA was extracted and

the search for *Borrelia* made through Polymerase Chain Reaction (PCR). The samples from this study did not show DNA amplification for *Borrelia* spp.

Keywords: Lyme disease, Pathogens, Brazil, Polymerase Chain Reaction (PCR).

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	09
OBJETIVOS	11
3. METODOLOGIA	12
3.1) Origem e número das amostras	12
3.2) Identificação dos carrapatos	12
3.3) Pesquisa de <i>Borrelia</i> spp nos carrapatos	12
3.3.1) Extração de DNA	13
3.3.2) Amplificação do DNA de <i>Borrelia</i>	13
4. RESULTADOS	15
4.1) Padronização da diluição do DNA	15
4.2) Identificação dos carrapatos e PCR das amostras de Araguapaz	15
4.3) Identificação dos carrapatos e PCR das amostras de Foz do Iguaçu	16
5. DISCUSSÃO	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19

INTRODUÇÃO

Os carrapatos são ectoparasitas obrigatórios de vertebrados terrestres (e.g. répteis, mamíferos e aves) (SONENSHINE, 2002; NAVA et al. 2009) que necessitam de alimentação sanguínea em pelo menos uma etapa do seu ciclo de vida para completar seu desenvolvimento (KLOMPEN et al. 1996; BRITO et al. 2006). Possuem um ciclo de vida de quatro estágios: ovo, larva, ninfa e adultos; e duas fases: uma parasitária e outra de vida livre (que inclui oviposição e entre mudas) podendo ou não haver mudança de hospedeiro (KLOMPEN et al. 1996; BRITO et al. 2006).

A maioria das espécies de carrapatos possui especificidade parasitária (JONGEJAN AND UILENBERG 2004; KOLONIN 2007), no entanto, tal atributo varia de acordo com a espécie, estágio, e ambiente onde os carrapatos estão inseridos. Além disso, algumas espécies de carrapatos podem se deslocar de áreas florestais para áreas residenciais em hospedeiros. Especificamente nesse caso, a disseminação de agentes infecciosos antes restritos ao ambiente natural torna-se facilitada (SZABÓ et al. 2013).

Esses ectoparasitas possuem distribuição cosmopolita e são encontrados nos mais variados ambientes. Naturalmente os carrapatos coexistem com seus hospedeiros (CAMPOS PEREIRA et al., 2000), no entanto, alterações nos nichos ecológicos podem gerar desequilíbrios e aumentar as áreas de perigo e risco de exposição do ser humano. O aumento de exposição humana pode levar à transmissão de patógenos relevantes à saúde pública. Além disso, carrapatos são responsáveis por causar perdas econômicas devido à espoliação em animais domésticos.

Importantes vetores de doenças, durante a hematofagia os carrapatos podem transmitir zoonoses letais e outros agentes infecciosos (JONGEJAN & UILENBERG, 2004). Dentre as doenças transmitidas podemos citar a doença de Lyme e a Febre Maculosa, cujos agentes etiológicos são respectivamente, *Borrelia burgdorferi* sensu latu e *Rickettsia rickettsii*. Nos Estados Unidos, a emergência da doença de Lyme, normalmente transmitida pela picada de carrapatos do gênero *Ixodes*, está associada à expansão populacional do veado-da-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*) (responsável pela manutenção de carrapatos adultos) e do rato-da-pata-branca (*Peromyscus leucopus*) (hospedeiro das formas imaturas) (ALLAN et al. 2003; OSTFELD et al. 2006). Trata-se da principal doença transmitida por vetores no hemisfério norte, afetando uma média de 329.000 pessoas por ano nos Estados Unidos (MOYER 2015). Nesse país, a doença está associada a florestas altamente fragmentadas, o que favorece presença dos hospedeiros hábeis e conseqüentemente a alta densidade de

carrapatos e elevada prevalência da infecção nos vetores (ALLAN et al. 2003). Já a Febre Maculosa ocorre no Brasil, sobretudo na região sudeste, sendo os principais vetores os carrapatos *Amblyomma cajennense* e *A. aureolatum*, e as capivaras e cães, respectivamente, os principais hospedeiros destes parasitos em áreas endêmicas. No Brasil, aspectos ecológicos dessas espécies de carrapatos também têm sido favorecidos por fatores antropogênicos (SZABÓ et al. 2013).

Embora os relatos sejam raros, já foram descritos anticorpos contra a bactéria *B. burgdorferi* em humanos na América do Sul. Especificamente no Brasil têm sido diagnosticados casos humanos com doença de Lyme através de sorologia (MIRANDA et al. 2009; CARRANZA-TAMAYO et al. 2012). No entanto, o agente desta doença ainda não foi isolado o que levou os pesquisadores a designar a enfermidade como “Doença de Lyme-Símile” (YOSHINARI et al. 2010). No Brasil, a enfermidade seria transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma* e/ou *Rhipicephalus*, e causada por espiroquetas do complexo *Borrelia burgdorferi* sensu lato (YOSHINARI et al. 2010), mas de fato, o agente nunca foi detectado.

Recentemente foi publicada a primeira detecção molecular de *Borrelia burgdorferi* sensu lato no Hemisfério Sul, mais precisamente no Uruguai em carrapatos do complexo *Ixodes ricinus*, no caso *Ixodes pararicinus* (BARBIERI et al. 2013).

Frente ao crescente interesse por áreas de mata (conservação, atividades de lazer, moradia) e a convivência crescente com animais o ser humano no Brasil tem se tornado mais exposto à picada de carrapatos em áreas naturais. Essa maior exposição torna necessária a investigação de agentes patogênicos em carrapatos com maior probabilidade de contato com seres humanos. Neste contexto, cães na periferia de áreas de Cerrado e Mata Atlântica são expostos e carregam carrapatos das áreas naturais para o convívio humano, tornando os parasitos desses animais um alvo importante de pesquisa.

2. OBJETIVOS

1. Identificar a Ixodofauna parasitária de cães domésticos oriundos de propriedades adjacentes a áreas naturais pertencentes aos Biomas do Cerrado e da Mata Atlântica.
2. Pesquisar a infecção por *Borrelia spp.* em carrapatos parasitando cães domésticos oriundos de propriedades adjacentes a áreas naturais pertencentes a esses biomas.

3. METODOLOGIA

3.1) Origem e número das amostras

O estudo foi realizado com espécimes de carrapatos de cães de propriedades adjacentes a áreas naturais do Cerrado e Mata Atlântica. Estas coletas foram realizadas pelo Laboratório de Ixodologia, FAMEV-UFU em projetos correlatos dos municípios de Araguapaz, G.O e Foz do Iguaçu, PR.

Foram testados 71 carrapatos de 14 cães de quatro propriedades distintas localizadas nas proximidades das áreas naturais de Araguapaz e 31 carrapatos de 11 cães de Foz do Iguaçu.

Os carrapatos coletados destes animais foram mantidos em álcool isopropílico até seu processamento.

3.2) Identificação dos carrapatos

A identificação dos carrapatos foi realizada no Laboratório de Ixodologia da Universidade Federal de Uberlândia. Ninfas e adultos foram identificadas através de lupa estereoscópica, segundo chaves dicotômicas (BARROS-BATTESTI et al., 2006; MARTINS et al., 2010), e através de comparações morfológicas com a coleção de referência do Museu de Carrapatos do Laboratório de Ixodologia. As larvas foram identificadas através de caracteres morfológicos até o nível genérico.

3.3) Pesquisa de *Borrelia* spp nos carrapatos

A detecção molecular de *Borrelia* spp. foi realizada pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de carrapatos adultos e ninfas. Os adultos (machos e fêmeas) dos carrapatos de Araguapaz foram processados individualmente e ninfas em grupos (“pools”) de no máximo 4 indivíduos. As amostras de Foz do Iguaçu foram processadas individualmente, excetuando um pool de duas fêmeas adultas.

3.3.1) Extração de DNA

O DNA dos carrapatos foi extraído utilizando isotiocianato de guanidina-fenol (GT) seguindo uma técnica adotada anteriormente (SANGIONI et al. 2005) para pesquisa de riquetsias em carrapatos. Em resumo, cada carrapato foi triturado em microtubo de 1,5 ml com auxílio de uma agulha 40x12 ou um micropistilo. A cada tubo foi adicionado 150 µl de tampão TE pH 8,0 (10 mM TRIS HCL pH 8,0; 1 mM) seguindo-se de homogeneização e centrifugação (Eppendorf® e Centrifuge 5415D) por seis segundos. Em seguida foi acrescentado em cada tubo 450 µl de GT (5,0 ml de TRIS HCL pH 7,5; 10 ml de EDTA 0,5 M, pH 8,0; 60g de isotiocianato de guanidina) e esta mistura foi homogeneizada a cada dois minutos e meio até o tempo total de 10 minutos. Foram acrescentados 10 µl de clorofórmio para cada amostra e os tubos foram centrifugados a 12.000 rpm, durante cinco minutos. Após a retirada da fase aquosa superior o líquido recolhido foi colocado em um novo microtubo ao qual se adicionou 400 µl de propanol. Os tubos foram então posicionados em freezer (-20o C) por no mínimo duas horas. Posteriormente a amostra foi centrifugada (Eppendorf® Centrifuge 5804R) a 4o C e 12.000 rpm, durante 15 minutos, o sobrenadante descartado e o sedimento ressuspenso em 800 µl de etanol 70% e centrifugado a 4oC e 12.000 rpm, durante 15 minutos. O líquido foi descartado e o sedimento ressuspenso em 40 µl de TEpH 8,0, colocado em banho-maria a 56 °C durante 15 minutos. O DNA assim extraído foi congelado (-20°C) até sua utilização no PCR.

3.3.2) Amplificação do DNA de *Borrelia*

Para pesquisa do DNA de borrelíias, PCR foi realizada PCR –nested conforme descrito por Barbieri et al. (2013). Em resumo foi amplificado o gene flagelina (fla) de *Borrelia* spp. utilizando os FlaLL (5´-ACA TAT TCA GAT GCA GAC AGA GGT- 3´) e FLA RL (5´-GCA ATC ATA GCC ATT GCA GAT TGT-3´) para a primeira reação e os primers FlaLS (5´-AAC AGC TGA AGA GCT TGG AAT G-3´) e FLA RS (5´-CTT TGA TCA CTT ATC ATT CTA ATA GC-3´) para a reação nested. A primeira reação amplifica um fragmento com 665 pares de bases, e a reação nested, fragmento com 354 pares de bases. Para todas as reações água foi incluída como controle negativo e DNA de *Borrelia anserina*, um patógeno de aves, como controle positivo. Para visualização dos produtos amplificados, 5 µL das amostras

foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1 % em TBE 0,5x com Redview correspondente ao volume de TBE da cuba.

4. RESULTADOS

4.1) Padronização da diluição do DNA

Controle (*B. anserina*) foi testada nas diluições de 1:10, 1:100 e 1:1000 nas Reações em cadeia pela Polimerase. É possível ver que a diluição que melhor amplificou o DNA foi a de 1:10 (figura 01).

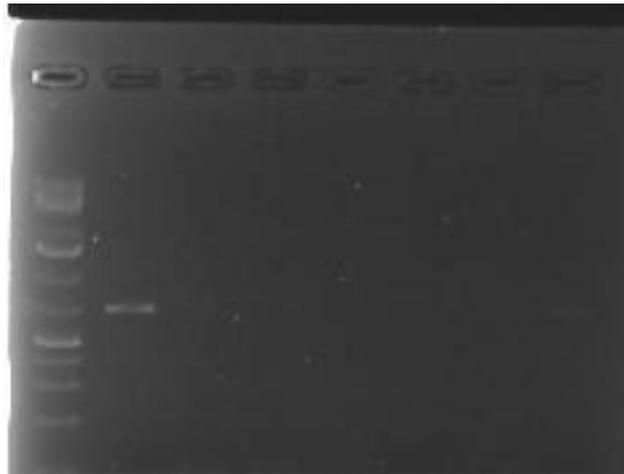


Figura 01: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia anserina*, diluição 1:10.

4.2) Identificação dos carrapatos e PCR das amostras de Araguapaz

Os 71 carrapatos de 14 cães de Araguapaz foram identificados em 24 *Amblyomma sculptum*, 45 *Rhipicephalus sanguineus*, 1 *Amblyomma parvum* e 1 *Amblyomma ovale*. Estes carrapatos foram agrupados de acordo com a espécie em pools de no máximo 4 carrapatos resultando em 35 pools. Não se observou amplificação do DNA de *Borrelia* em nenhuma das amostras. Imagens do gel de eletroforese com o DNA extraído e submetido ao PCR dos carrapatos estão apresentados nas figuras 02 e 03.

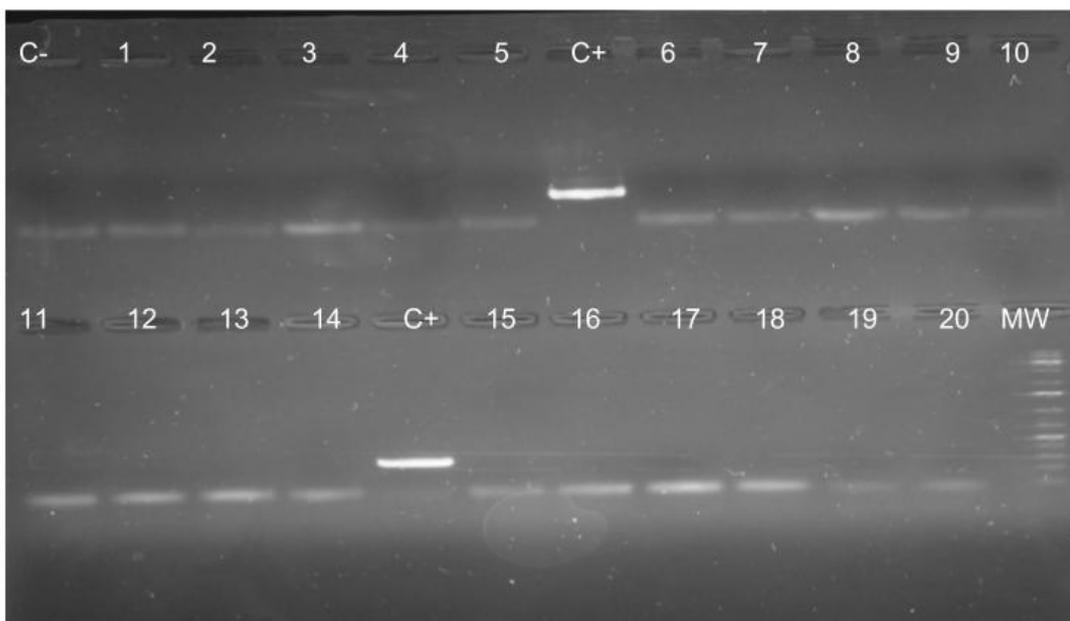


Figura 02: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos do município de Araguapaz, G.O.

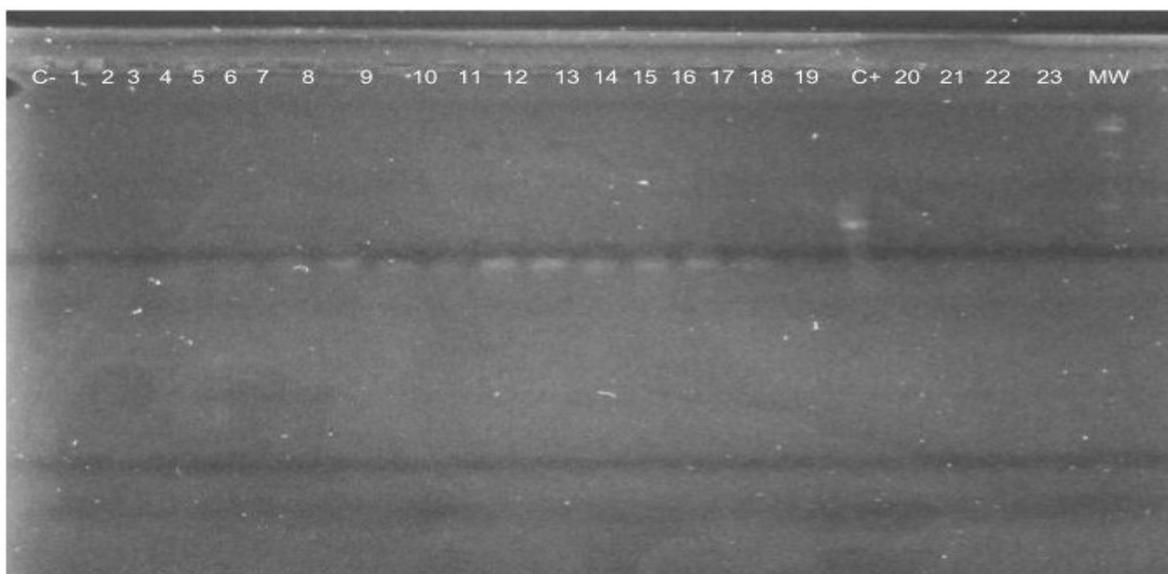


Figura 03: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos do município de Araguapaz, G.O.

4.3) Identificação dos carrapatos e PCR das amostras de Foz do Iguaçu

Os 31 carrapatos de cães de Foz do Iguaçu foram identificados em quatro *Rhipicephalus microplus*, um *Rhipicephalus sanguineus*, 23 *Amblyomma ovale* e três *Amblyomma spp.* Os carrapatos foram divididos de acordo com a espécie em pools de no máximo dois carrapatos, em um total de 30 pools. Não se observou amplificação do DNA de *Borrelia* em nenhuma das amostras. Imagens do gel de eletroforese com o DNA extraído e submetido ao PCR dos carrapatos estão apresentados nas figuras 04 à 06.

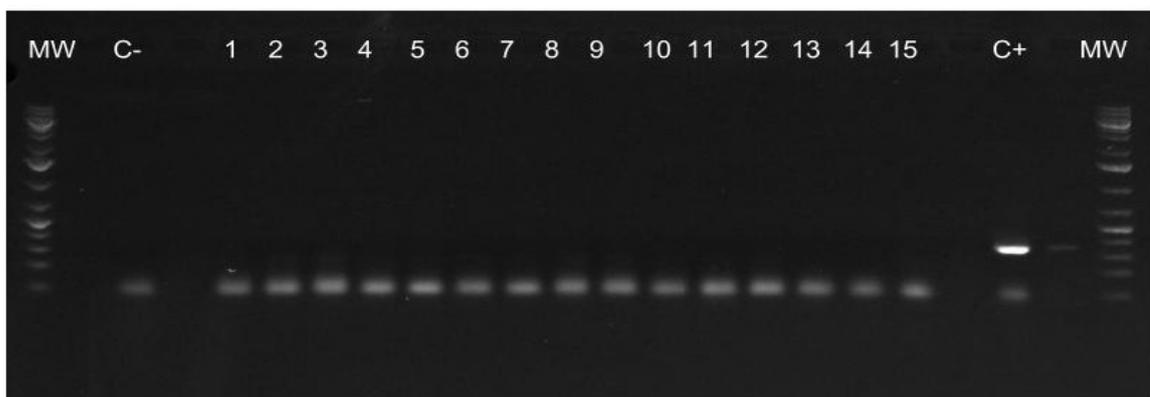


Figura 04: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos de cães em áreas adjacentes ao Parque nacional do Iguaçu, no município de Foz do Iguaçu, PR.

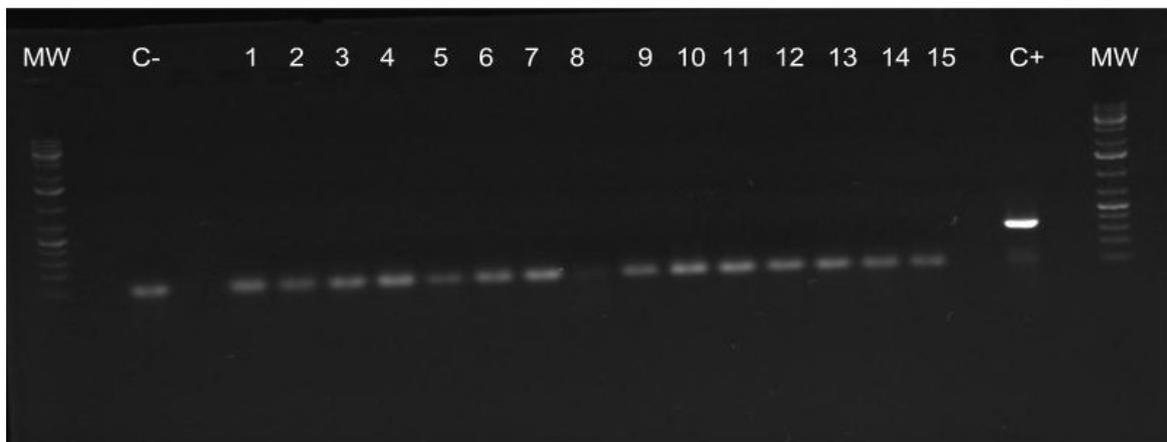


Figura 05: Eletroforese em gel de agarose com produtos de PCR para amplificação de DNA de *Borrelia spp.* em carrapatos de cães em áreas adjacentes ao Parque nacional do Iguaçu, no município de Foz do Iguaçu, PR.

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os carrapatos encontrados são frequentemente relatados parasitando cães (Szabó et al., 2001; 2013). As espécies *R. sanguineus* e *R. microplus* são parasitos de respectivamente cães e bovinos, e foram introduzidos com a colonização (Barros-Battesti et al., 2006). As espécies *A. ovale*, *A. parvum* e *A. sculptum* são neotropicais e parasitas comuns de carnívoros selvagens (Labruna et al., 2005). Estas espécies neotropicais demonstram a sobreposição de nichos naturais e antrópicos e o papel que o cão possa ter na difusão de vetores e patógenos associados.

A ausência de *Borrelia burgdorferi* nas amostras avaliadas pode ser explicada pela ausência de carrapatos do gênero *Ixodes*, mais especificamente do complexo *Ixodes ricinus* que sabidamente albergam e transmitem esse patógeno para humanos (Barbieri et al., 2013). De fato, no Brasil a única espécie desse grupo é o *Ixodes aragoi*, com distribuição mais restrita a Sul e Sudeste (Onofrio et al., 2014) e uma espécie não avaliada neste trabalho. Por outro lado, outras espécies de *Borrelia* poderiam ter sido detectadas, como é o caso de uma *Borrelia*, filogeneticamente relacionada à *Borrelia turicatae*, do grupo da febre recorrente, encontrada em carrapatos argásídeos da espécie *Ornithodoros rudis* no Cerrado do Maranhão (Muñoz-Leal et al., 2018). Para esse fim, um número superior de carrapatos de cada espécie e de espécies adicionais precisará ser avaliado, trabalho este que demandará vários anos de pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLAN, Brian F.; KEESING, Felicia; OSTFELD, Richard S. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. **Conservation Biology**, v. 17, n. 1, p. 267-272, 2003.
- BARBIERI, Amalia M. et al. *Borrelia burgdorferi sensu lato* infecting ticks of the *Ixodes ricinus* complex in Uruguay: first report for the Southern Hemisphere. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 13, n. 3, p. 147-153, 2013.
- BARROS-BATTESTI, Darci Moraes et al. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. ICTTD-3/Instituto Butantan, 2006.
- BRITO, L. G. et al. **Bio-ecologia, importância médico veterinária e controle de carrapatos, com ênfase no carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. Embrapa Rondônia. Documentos, 2006.
- CARRANZA-TAMAYO, César Omar; COSTA, José Nilton Gomes da; BASTOS, Whislley Maciel. Lyme disease in the state of Tocantins, Brazil: report of the first cases. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 6, p. 586-589, 2012.
- DE CAMPOS PEREIRA, Marcelo et al. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with wild animals in the Pantanal region of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 6, p. 979-983, 2000.
- JONGEJAN, Frans; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, n. S1, p. S3-S14, 2004.7
- KLOMPEN, J. S. H. et al. **Evolution of ticks**. Annual review of entomology, v. 41, n. 1, p. 141-161, 1996.
- KOLONIN, G. V. Mammals as hosts of Ixodid ticks (Acarina, Ixodidae). **Entomological Review**, v. 87, n. 4, p. 401-412, 2007.
- Labruna, M.B. et al. 2005. Ticks (Acari:Ixodidae) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, 36: 149-163.
- MARTINS, Thiago F. et al. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescriptions, and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, n. 2, p. 75-99, 2010.
- MIRANDA, Jorge et al. Seroprevalence of Lyme borreliosis in workers from Cordoba, Colombia. **Revista de Salud Pública**, v. 11, n. 3, p. 480-489, 2009.
- MOYER, Melinda Wenner. Tick trouble. **Nature**, v. 524, n. 7566, p. 406, 2015.
- Muñoz-Leal, S.; Faccini-Martínez, A.A.; Costa, F.B.; Marcili, A.; Mesquita, E.T.K.C.; Marques Jr. E.P.; Labruna, M.B., 2018. Isolation and molecular characterization of a

relapsing fever *Borrelia* recovered from *Ornithodoros rudi*s in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases** 9: 864–871. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.03.008>

NAVA, Santiago; GUGLIELMONE, Alberto A.; MANGOLD, Atilio J. An overview of systematics and evolution of ticks. **Front Biosci**, v. 14, n. 8, p. 2857-2877, 2009.

ONOFRIO, Valeria C. et al. Validation of the taxon *Ixodes aragaoi* Fonseca (Acari: Ixodidae) based on morphological and molecular data. **Zootaxa**, v. 3860, n. 4, p. 361-370, 2014.

OSTFELD, Richard S. et al. Climate, deer, rodents, and acorns as determinants of variation in Lyme-disease risk. **PLoS biology**, v. 4, n. 6, p. e145, 2006.

SONENSHINE, D.E.; Lane, R.S.; Nicholson, W.L. **Ticks (Ixodida)**. In: Mullen, G., Durden, L. A. *Medical and Veterinary Entomology*. Nova York: Academic Press, p. 517-558, 2002.

SZABÓ, M.P.J.; Cunha, T.M.; Pinter, A.; Vicentini, F., 2001. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, 25 (10-11): 909-916.

SZABÓ, Matias Pablo Juan; PINTER, Adriano; LABRUNA, Marcelo Bahia. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 3, p. 27, 2013.

YOSHINARI, Natalino Hajime et al. Doença de lyme-símile brasileira ou síndrome baggoyoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 3, p. 363-369, 2010.