



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*  
MESTRADO EM MEDICINA E BEM-ESTAR ANIMAL**

**Ana Carolina Fernandes Carioca**

**DETECÇÃO MOLECULAR DE PATÓGENOS DOS GÊNEROS  
*EHRlichia* E *BABESIA* EM CÃES CAPTURADOS PELO  
CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES (CCZ) DA CIDADE  
DE MARABÁ-PA**

**São Paulo**

**2019**

**Ana Carolina Fernandes Carioca**

**DETECÇÃO MOLECULAR DE PATÓGENOS DOS GÊNEROS  
*EHRlichia* E *BABESIA* EM CÃES CAPTURADOS PELO  
CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES (CCZ) DA CIDADE  
DE MARABÁ-PA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Medicina e Bem-estar Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Valeria Castilho Onofrio

**São Paulo**

**2019**

## FICHA CATALOGRÁFICA

C348d Carioca, Ana Carolina Fernandes

Detecção molecular de patógenos dos gêneros *Ehrlichia* e *Babesia* em cães capturados pelo centro de controle de zoonoses (ccz) da cidade de Marabá-PA / Ana Carolina Fernandes Carioca. – São Paulo, 2019.

48 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal) – Universidade Santo Amaro, 2019.

Orientador (a): Prof<sup>ª</sup>. Dra. Valeria Castilho Onofrio

1. *Ehrlichia*. 2. *Babesia*. 3. Cães. I. Onofrio, Valeria Castilho, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

Ana Carolina Fernandes Carioca

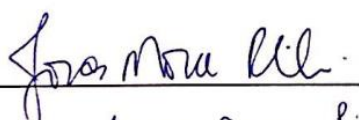
**DETECÇÃO DE PATÓGENOS DOS GÊNEROS *EHRlichia* E  
*BABESIA* EM CÃES CAPTURADOS PELO CENTRO DE CONTROLE  
DE ZONOSSES (CCZ) DA CIDADE DE MARABÁ-PA**


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
*Stricto Sensu* em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal da  
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Santo  
Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título  
de Mestre em Medicina Veterinária e Bem-Estar Animal.  
Orientadora: Profa. Dra. Valeria Castilho Onofrio

São Paulo, 27 de Junho de 2019

Banca Examinadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra Valeria Castilho Onofrio

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Jonas Moraes Filho

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. ADRIANA CORTEZ

Conceito Final: Aprovada

*Esse foi o trabalho mais importante que já fiz até hoje , com muito amor, prazer e satisfação. Uma mistura de sentimentos de um sonho profissional e liberdade para o crescimento.*

*Por isso, dedico as pessoas mais importante da minha vida. A minha filha **Isabella Maria Fernandes Maia Magon** criança que me apresentou o amor verdadeiro e supremo , valorizando e respeitando o próximo cada vez mais com a influência dela. E, a meu amado filho **Miguel Felipe Fernandes Carioca**, que está em meu ventre, mas aprendi que o amor por um filho não precisa ser tocado e nem visto, apenas sentido. São minhas inspirações, são pedaços de mim, as minhas melhores partes.*

## AGRADECIMENTOS

Existem coisas que não se pagam com dinheiro, e sim com um muito obrigado:

- A Deus o grandioso e bondoso e Nossa Senhora minha mãe misericordiosa
- Meu marido, Felipe Carioca pelo amor, por me acompanhar, apoiar e acreditar em mim para tudo que faço, além de inúmeras vezes abrir mão de seus próprios sonhos em favor dos meus
- A Prof<sup>o</sup> Dr<sup>a</sup> Valeria Castilho Onofrio, minha orientadora, por aceitar a participar de um dos momentos mais importantes de minha vida. Foram dois anos, e renderam ensinamentos valiosos e eternos. Manifesto minha gratidão por toda a colaboração, além da confiança em mim depositada.
- A todos os professores da UNISA, foram os melhores que já conheci, em especial prof<sup>o</sup> Dr Arlei Marcili e prof<sup>o</sup> Dr Jonas Moraes, pela colaboração intelectual, representando para mim a sabedoria, expresse admiração e respeito pelos senhores
- Minha querida Mãe Maria José Fernandes, meu ponto de equilíbrio e sustentação, além de seu exemplo de luta diária para minha formação e me ensinar a acreditar em mim
- Meu irmão Fernando Fernandes e minha cunhada querida Raíza pelo apoio e colaborações na escrita, me acompanhando em todas as minhas escolhas, tornaram-se molas para minha vitória
- Meu tio Genivaldo Marreiros pela prontidão e por sempre acreditar em mim e nos meus trabalhos, pela participação na minha vida como um pai e pelo amor por mim
- Ao saudoso Exército Brasileiro pelas liberações, em especial ao Cel. Alexandre Magno e Cel. Cordeiro por influenciar, apoiar e apostar nesse meu sonho
- Aos amigos do mestrado, compartilhando idéias, alegrias, emoções e incertezas nos tornamos amigos
- A todos do CCZ, em especial ao gerente do Centro Nagilvan Amoury que abriu as portas do Centro, ao veterinário Flávio pelos ensinamentos, sempre apoiando e dando informações e o Agente de endemias Higor que participou de forma grandiosa nas coletas
- Ao meu pai, amigos e familiares que ajudaram seja com palavras ou com atitudes e acreditaram nesse trabalho

## RESUMO

Os animais domésticos e silvestres estão frequentemente expostos a diferentes espécies de carrapatos. O interesse nos carrapatos de animais domésticos tem aumentado principalmente por causa das doenças causadas pelos patógenos por eles transmitidos. De ocorrência mundial, a Erliquiose Monocítica Canina (EMC) é uma doença infecciosa causada pela bactéria *Ehrlichia canis*. Considerada por muitos como uma das mais importantes doenças transmissíveis na clínica de pequenos animais. No Brasil, vem apresentando casuística crescente em hospitais e clínicas veterinárias. Já a babesiose canina é causada por hemoprotozoários do gênero *Babesia* que parasitam os eritrócitos. O principal vetor dos agentes patogênicos responsáveis por estas duas doenças, são carrapatos do grupo *Rhipicephalus sanguineus*. Tanto a erliquiose quanto a babesiose podem apresentar manifestações clínicas de fase aguda, subclínica e crônica, sem sinais específicos. No Estado do Pará, pode se dizer que não são conhecidos estudos sobre a ocorrência dos patógenos causadores destas duas doenças. O presente estudo teve como objetivo, investigar molecularmente cães capturados ou atendidos pelo Centro de Controle de Zoonoses deste município, para a presença de *Ehrlichia* e *Babesia*. Foram coletadas amostras sanguíneas de 94 cães, entre fêmeas e machos, em cinco dos seis distritos compreendidos pela cidade de Marabá, no período de julho a setembro de 2018. Os resultados mostraram que das 94 amostras testadas, três apresentaram positividade para *E. canis* e 23 para *B. canis vogeli*, na detecção molecular pela PCR em tempo real. Embora o número de animais investigados tenha sido pequeno, frente a população canina do município, este estudo confirma a ocorrência destes dois patógenos nos cães do município de Marabá e alerta para a necessidade de estudos mais abrangentes sobre estes dois agentes, causadores de graves doenças nos cães.

**Palavras-chave:** *Ehrlichia*, *Babesia*, cães, carrapatos, estado do Pará, Brasil.

## ABSTRACT

Domestic and wild animals are often exposed to different species of ticks. The interest in ticks of domestic animals has increased mainly because of the diseases caused by the pathogens transmitted by them. Worldwide, Canine Monocytic Ehrlichiosis (CME) is an infectious disease caused by the bacterium *Ehrlichia canis*. Considered by many to be one of the most important disease in the clinic of small animals. In Brazil, it has presented increasing casuistry in hospitals and veterinary clinics. However, canine babesiosis is caused by hemoprotezoans of the genus *Babesia* that parasitize erythrocytes. The main vector of the pathogens responsible for these two diseases are ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* group. Both ehrlichiosis and babesiosis may present clinical manifestations of the acute, subclinical and chronic phase, without specific signs. In the State of Pará, it can be said that no studies are known about the occurrence of the pathogens that cause these two diseases. The present study aimed to investigate molecularly the dogs captured or attended by the Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) of this municipality, for the presence of *Ehrlichia* and *Babesia*. Blood samples were collected from 94 dogs, between females and males, in five of the six districts comprised by the city of Marabá, from July to September 2018. The results showed that of the 94 samples tested, three of them showed positivity for *E. canis* and 23 for *B. canis vogeli*, in molecular detection by real-time PCR. Although the number of animals investigated in this study was small when compared to the canine population of the municipality, the results obtained confirms the occurrence of these two pathogens infecting in the dogs of the municipality of Marabá and warns of the need for more comprehensive studies on these two agents, responsible for causing serious diseases in dogs.

**Keywords:** *Ehrlichia*, *Babesia*, dogs, ticks, Pará state, Brazil.



## Sumário

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 Carrapatos .....	1
1.1.1 Complexo <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	2
1.2 Patógenos.....	3
1.2.1 <i>Ehrlichia</i> .....	3
1.2.1.1 Epidemiologia .....	4
1.2.1.2 Patogenia.....	5
1.2.1.3 Sintomatologia .....	6
1.2.1.4 Diagnóstico .....	7
1.2.2 <i>Babesia</i> .....	8
1.2.2.1 Epidemiologia .....	9
1.2.2.2 Patogenia.....	10
1.2.2.3 Sintomatologia .....	10
1.2.2.4. Diagnóstico .....	11
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	13
<b>3. OBJETIVO</b> .....	14
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	15
4.1 Local de estudo .....	15
4.2 Caracterização de amostras .....	21
4.3 Animais investigados .....	24
4.4 Coleta de amostras.....	27
4.5 Extração de DNA .....	28
4.6 PCR em tempo real .....	28
<b>5. RESULTADOS</b> .....	29
5.1 PCR em tempo real para <i>Ehrlichia canis</i> e <i>Babesia canis vogeli</i> .....	29
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	32
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	34
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	35

## 1. INTRODUÇÃO

*Ehrlichia canis* e *Babesia canis* são considerados os hemoparasitas mais comuns em cães, os quais influenciam e comprometem a saúde. Ambas são enfermidades clinicamente diagnosticadas na cidade de Marabá, mas a epidemiologia e técnicas de diagnóstico são pouco conhecidas e desenvolvidas em todo o Estado do Pará.

A identificação e controle das doenças são fundamentais para a manutenção da saúde coletiva, pois a interação homem-animal tem se intensificado ao decorrer dos anos e junto a esse processo, o aumento na transmissão dos patógenos responsáveis por algumas destas doenças

O número de abandonos de animais de estimação, principalmente de cães, ainda é muito maior que o de acolhimentos, o que leva a uma constante renovação das populações de animais soltos em vias e logradouros públicos. Como é o caso do município de Marabá-PA, onde a grande maioria dos cães acaba sendo recolhida pelo Centro de Controle de Zoonoses do município.

O conhecimento sobre a ocorrência destes hemoparasitas nos cães do município, associado a adequados métodos profiláticos deve ser utilizado para evitar sua disseminação. O presente estudo teve como proposta a investigação sobre a presença de patógenos dos gêneros *Ehrlichia* e *Babesia* na cidade de Marabá, PA, usando técnicas de diagnóstico moleculares.

### 1.1 Carrapatos

Os carrapatos são artrópodes ectoparasitas pertencentes à classe Arachnida, com distribuição mundial e podem parasitar uma ampla variedade de vertebrados terrestres, entre eles répteis, anfíbios, aves e mamíferos. São hematófagos obrigatórios, responsáveis pela transmissão de inúmeras doenças (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

No mundo, existem aproximadamente 900 espécies válidas de carrapatos, distribuídas em três famílias: Ixodidae com mais de 700 espécies, Argasidae com cerca de 190 e Nuttalliellidae, que é monoespecífica e ocorre somente na África do

Sul e Tanzânia (GUGLIELMONE et al., 2014). Para o Brasil, até o momento, foram registradas 70 espécies (DANTAS-TORRES et al., 2019), porém este número irá aumentar brevemente (V.C.O., comunicação pessoal).

Algumas espécies de carrapatos podem representar risco real ou potencial na transmissão de patógenos. As principais zoonoses cujos agentes causadores são transmitidos por carrapatos são rickettsioses, borrelioses, erlichioses e protozoonoses. As rickettsioses estão associadas principalmente ao gênero *Amblyomma*, as borrelioses aos gêneros *Ixodes* e *Ornithodoros*, enquanto as erlichioses e protozoonoses, em sua maioria, ao gênero *Rhipicephalus* (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

A maioria dos patógenos cujos vetores são os carrapatos, tem como responsáveis por sua transmissão, os estágios de ninfa e adulto. Destacam-se algumas exceções relevantes como: *Rickettsia rickettsii*, bactéria causadora da febre maculosa, e os protozoários do gênero *Babesia*, que podem ser transmitidos por via transovariana de fêmeas adultas aos ovos, possibilitando a transmissão aos hospedeiros vertebrados por estágios larvais de carrapatos. (GREENE et al., 2012).

O tempo entre a fixação do carrapato e a transmissão do patógeno pode variar dependendo de cada organismo ou espécie de carrapato. Outros fatores que também podem influenciar no tempo em que o carrapato precisa ficar fixado para efetivar a transmissão do patógeno, são: processo de reativação do organismo, o estágio de vida do carrapato, a temperatura ambiente e o tipo de hospedeiro vertebrado (KIDD & BREITSCHWERDT, 2003).

#### 1.1.1 Complexo *Rhipicephalus sanguineus*

As espécies pertencentes ao “grupo *R. sanguineus*” são carrapatos da família Ixodidae, sendo conhecidos popularmente no Brasil como “carrapato vermelho do cão” ou “carrapato marrom do cão”. Possui comportamento nidícola, seu ciclo é trioxênico e ocorre sempre próximo ao seu hospedeiro, podendo ser encontrado em camas, residência, quintal ou canis, sempre onde há maior indício da presença do cão (LABRUNA et al., 2001).

Estudos realizados nos últimos anos, onde foram avaliados a morfologia, biologia e genética de diferentes populações de *R. sanguineus*, constataram que o

taxon *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.), considerado por alguns como “complexo *R. sanguineus*”, está representado por duas linhagens distintas, conhecidas como “tropical” e “temperada”. Na América Latina a “População tropical” está distribuída do México ao sul do Brasil (excluindo o estado do Rio Grande do Sul) e a “população temperada” na região compreendida pelo Cone-Sul (OLIVEIRA et al., 2005; MORAES-FILHO et al., 2011; DANTAS-TORRES et al., 2013; NAVA et al. 2012, 2015; ZEMTSOVA ET AL., 2016; LABRUNA et al. 2017).

Moraes-Filho et al. (2015), testaram a competência vetorial de quatro diferentes populações do grupo *R. sanguineus* da América do Sul, para transmissão de *Ehrlichia canis*, tendo comprovado que somente aquelas pertencentes à linhagem tropical, foram capazes de transmitir o patógeno para novos hospedeiros.

O complexo *Rhipicephalus sanguineus* se caracteriza por possuir hábitos nidícolas, estando bastante adaptado aos domicílios urbanos, o que faz com que ele permaneça no abrigo do hospedeiro durante as fases de vida livre, não tendo dificuldade em encontrá-lo novamente quando precisar de um novo repasto sanguíneo (ADRIANZÉN et al, 2003; MORAES, 2006; SHERDING, 2008).

Atualmente as espécies do grupo *R. sanguineus*, são consideradas de grande importância na Medicina Veterinária, uma vez que se encontram amplamente distribuídas pelo mundo, elevando assim a exposição dos cães aos patógenos carreados por eles (WALKER et al., 2000; FILHO, 2012).

No cão, são responsáveis pela transmissão de *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* (DANTAS-TORRES, 2008b; LABRUNA, 2006), podendo também servir como hospedeiros intermediários para diversos outros agentes patogênicos (PINTER et al., 2004). No Brasil são considerados como um dos principais ectoparasitas de cães, juntamente com as pulgas (LABRUNA, 2004; FILHO, 2012).

## 1.2 Patógenos

### 1.2.1 *Ehrlichia*

A *Ehrlichia* é uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória, que infecta animais e o homem em várias partes do mundo (DUMLER et al., 2001; SKOTARCZAK, 2003). No Brasil, são relatadas as espécies *E. canis* e *E. chaffeensis*

(ALMOSNY, 1998; MACHADO et al., 2006; LABRUNA et al., 2007), sendo a primeira de maior prevalência nos cães e, frequentemente encontrada em carrapatos do complexo *R. sanguineus* (ALMOSNY, 1998; TRAPP et al., 2006; AGUIAR et al., 2007; SOUZA et al., 2010).

Na América do Sul, a erliquiose humana, causada pelas espécies *E. canis* e *E. chaffeensis*, já foi constatada por diagnóstico molecular na Venezuela (PEREZ et al., 2006; MARTÍNEZ et al., 2008), e há evidências sorológicas de sua presença na Argentina e no Chile (RIPOLL et al., 1999; LÓPEZ et al., 2003). No Brasil, há relatos de seres humanos positivos em sorodiagnóstico nos estados de Minas Gerais (CALIC et al., 2004) e Espírito Santo (SPOLIDORIO et al., 2010).

A Erliquiose Monocítica Canina (EMC) é uma doença multissistêmica com quadro clínico inespecífico, caracterizada por sinais como febre, fraqueza, letargia, anorexia, linfadenomegalia, esplenomegalia, hepatomegalia e perda de peso (DUBIE et al., 2014). Causada por *E. canis*, com vasta distribuição mundial, apresenta alta morbidade e variada mortalidade em regiões de clima quente (BARR & BOWMAN, 2010).

É uma enfermidade que afeta cães em todo o mundo, sendo mais prevalente em populações caninas de regiões tropicais e subtropicais, onde seu vetor, carrapatos do “complexo *Rhipicephalus sanguineus*”, são abundantes (GROVES et al., 1975).

No Brasil, é uma doença amplamente distribuída em cães, com diversos estudos e diferentes casuísticas (0,7% a 92,3%), além dos diferentes métodos de diagnóstico (SPOLIDORIO et al., 2010; VIEIRA et al., 2011). No país, *R. sanguineus* é a espécie de carrapato que realiza a transmissão de *E. canis* entre os cães (WANER et al., 2001; AGUIAR et al., 2007; GRENNE, 2015).

#### 1.2.1.1 Epidemiologia

O primeiro registro de *E. canis* no Brasil, foi em 1973 no município de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais e, a partir de então, houve um aumento exponencial dos registros nos diferentes estados do Brasil, com uma positividade de 20 a 30% nos cães atendidos em hospitais e clínicas veterinárias (D'AGNONE et al., 2003; BULLA et al., 2004a; AGUIAR, 2006; D'AGNONE, 2006; CHAVES; LEITE; NAVECA, 2007).

Também foram feitos trabalhos com levantamentos soropidemiológicos no país, indicando uma situação preocupante. Isso devido à prevalência de anticorpos anti-*ehrlichia* em 70% das espécies caninas em algumas regiões do Brasil (VIEIRA et al., 2011). Entretanto, observou-se que nos levantamentos epidemiológicos que tem como base a sorologia, existem alguns limites. Um desses limites seria o tempo, pois pode haver um intervalo de tempo entre a exposição do patógeno e o desenvolvimento de anticorpos. Isso afeta a certeza dos dados epidemiológicos. Outro fator, são os testes sorológicos, pois presença de anticorpos na corrente sanguínea pode alterar a frequência de patógenos em uma população de cães. Altos títulos de anticorpos circulantes podem persistir no sangue desses animais por longos períodos de tempo (SOLANO-GALLEGO et al., 2016).

A prevalência da infecção por *E. canis* em cães varia de acordo com vários fatores, mas geralmente se correlaciona com o nível de exposição a vetores de carrapatos infectados (SAINZ et al, 2015). Não há predisposição quanto a faixa etária ou raça dos cães infectados (JERICÓ, 2015). Estudos realizados em diferentes regiões do Brasil indicam que a prevalência de cães infectados por *E. canis* varia de 0,7% a mais de 50% (Vieira et al., 2011; Goottlieb et al 2016) e é maior em cães sem tratamento antiparasitário externo (SAINZ et al, 2015).

Cães com *erlichiose* também podem estar infectados concomitantemente por *Babesia* spp. e *Hepatozoon* spp., uma vez que esses organismos também são transmitidos pela mesma espécie de carrapato (SOUSA et al. 2004; PEREIRA, 2006).

#### 1.2.1.2 Patogenia

O período de incubação da infecção por *E. canis* é de 8 a 20 dias. (HARRUS et al,1999; MACHADO, 2004; GREENE, 2006). De acordo com Olicheski (2003), o primeiro local de replicação na fase aguda acontece nas células mononucleares e linfócitos, caminhando para as células do sistema retículo endotelial do fígado, baço e linfonodos, resultando em hiperplasia linforreticular. Quando ocorre a junção de células infectadas e o endotélio vascular, ocorre uma vasculite nos pulmões, rins e meninges, podendo acometer em outros órgãos.

Em seguida ao processo de vasculite acontece a destruição periférica das células alvo, acentuando a trombocitopenia e leucopenia. Em decorrência da resposta

inflamatória ocorre uma estimulação dos sistemas imunológicos e coagulação diminuindo a meia vida das plaquetas e as destruindo, causando trombocitopenia (OLICHESKI, 2003).

Ainda na fase aguda observa-se uma alteração no tempo de coagulação, isso se dá pela inibição da agregação plaquetária. Poderá acontecer a recuperação do animal, adiantar a fase subclínica, ou ir a óbito, sendo a última, uma condição mais rara de ocorrer (OLICHESKI, 2003).

No caso da *E. canis*, podem passar por uma fase subclínica comprida, que pode se estender por anos e, sendo assim, podem manifestar os sintomas da doença em fase crônica. Assim, a maior parte das infecções por *E. canis* só é diagnosticada nesta fase (SHERDING, 2008). Caracteriza-se na fase crônica da erliquiose, o surgimento de hipoplasia medular, que leva a uma anemia aplásica, com monocitose, linfocitose e leucopenia (OLICHESKI, 2003).

#### 1.2.1.3 Sintomatologia

A EMC, apresenta três fases clínicas: aguda, subaguda e crônica. (BREITSCHWERDT, 2004). É caracterizada por febre alta, linfadenomegalia, hemorragia, depressão, letargia, anorexia e esplenomegalia (HARRUS et al ,2011). Em alguns casos pode-se observar glomerulonefrite, NELSON; COUTO, 2001; OLICHESKI, 2003; MENDONÇA et al., 2005; CHAVES; LEITE; NAVECA, 2007).

Na fase subclinica os animais podem ficar assintomáticos por 40 a 120 dias. Em alguns casos pode ocorrer poliúria, polidipsia, vômitos, hematúria e ulcerações na cavidade oral.

Em geral, esta fase termina com epistaxe, hemorragias generalizadas e insuficiência renal progressiva (NELSON; COUTO, 2001; ALMOSNY; MASSARD, 2002; OLICHESKI, 2003; SHERDING, 2008).

Na fase crônica, os animais se apresentam apáticos e caquéticos com diversas infecções secundárias. Também podem apresentar epistaxe, melena, hematúria, hematose, infecções oculares, pulmonares, do sistema nervoso, hepatomegalia, linfadenopatia, esplenomegalia, dor abdominal, arritmias e déficits de pulso, poliúria e

polidipsia, presença de articulações aumentadas e dolorosas a palpação, andar rígido e claudicação (NELSON; COUTO, 2001; CHAVES et al., 2007).

#### 1.2.1.4 Diagnóstico

No Brasil, a erliquiose é uma doença amplamente distribuída em cães, com diversos estudos e diferentes casuísticas (0,7% a 92,3%), além de métodos diagnósticos diversos (SPOLIDORIO et al., 2010; VIEIRA et al., 2011).

Os cães, quando infectados por *E. canis*, podem apresentar alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas bastante inespecíficas, e o diagnóstico presuntivo pode ser feito com a observação dos sinais clínicos e nos exames laboratoriais (SOUSA et al., 2010).

Para o diagnóstico laboratorial, poderá ser solicitado um hemograma, exames bioquímicos e urinálise. No exame hematológico destaca-se trombocitopenia, anemia normocítica, normocrômica, eosinopenia, linfopenia e desvio nuclear de neutrófilos para esquerda (NELSON; COUTO, 2001; MENDONÇA et al., 2005). Também pode ser realizado um esfregaço de sangue periférico de ponta de orelha, para a observação de mórulas (ALMONSY; MASSARD, 2002; LIBERATI et al., 2009).

Porém, poucas mórulas são visíveis na fase aguda da EMC (HARRUS; WANER; BARK, 1997), podendo ser encontradas em apenas 4% dos casos positivos ou em frequências ainda mais baixas, principalmente na fase subclínica (HARRUS; WANER, 2011), podendo gerar muitos falsos negativos por não encontrar o parasito (ALMOSNY; MASSARD, 2002; LIBERATI et al., 2009).

Hoje, existem no mercado, diversos “kits” sorológicos utilizados na detecção da erliquiose canina, como, por exemplo, o “kit” Immunocomb, baseado na técnica de “Dot-blot-ELISA”, que é capaz de determinar anticorpos da classe IgG específicos para o agente infectante (CASTRO, 1997; MACHADO, 2004). O dispositivo de detecção tem as vantagens de ser leve, descartável, altamente biodegradável e excelente quimicamente compatível (MARTINEZ et al, 2010; JOCKERTS et al, 2012).

Analísadores automáticos de ELISA podem realizar controle automático total usando software para adicionar as amostras, realizar a análise e interpretar os resultados, o que reduz erros acidentais de operação manual. Eles podem assim, usar ensaios de imunodeteção de enzima multi-amostra e é superior aos métodos



manuais em termos de estabilidade e precisão (BUSSE et al, 2013; WHITWORTH et al., 2014).

A RIFI é um teste para pesquisa de anticorpos IgG anti-*E. canis*, pois indica a exposição do hospedeiro ao agente (HARRUS & WANER, 2011). Para a interpretação final de um resultado de RIFI, tem que ser considerado o título de anticorpos anti-*E. canis*, e também observados os sinais clínicos e os parâmetros hematológicos do animal (WANER et al., 2001). Outra opção é a imunocromatografia, que serve como auxiliar na fase de triagem, pois detecta anticorpos específicos séricos (BORGES et al 2016; TIZARD, 2009).

Com o uso da biologia molecular através da detecção de *E. canis* por PCR, houve um aumento nos registros de ocorrência deste patógeno, tanto como resultados de estudos científicos, como diagnósticos relacionados a atendimentos clínicos (MACIEIRA et al.,2005; RAMOS et al., 2009; PIRES et al., 2011). A amplificação por PCR do DNA do parasita, seguida por sequenciamento, permite uma identificação mais confiável e precisa das espécies que infectam cães (SOLANO-GALLEGO et al., 2011). A PCR possibilita a detecção de sequências específicas do DNA do patógeno escolhido (HARRUS et al., 2004b). Porém, o diagnóstico ainda é difícil, devido às várias fases da doença e várias manifestações clínicas que acometem (ZANG. et al 2017).

### 1.2.2 *Babesia*

A *babesiose* é uma doença causada por hemoprotozoários do gênero *Babesia*, família *Babesiidae*, ordem *Piroplasmida* e filo *Apicomplexa* (IRWIN, 2009), que além de parasitar os glóbulos vermelhos, eles os destroem por causarem anemia hemolítica (MURASE et al., 1993; BIRCHARD, 2003; VALLI et al., 2017). A babesiose canina do Brasil é uma enfermidade cujo vetor são os carrapatos do complexo *Rhipicephalus sanguineus*.

Cães podem ser acometidos pela *Babesia gibsoni* e *Babesia canis*, esta última podendo ser dividida em três subespécies: *B. canis canis*, encontrada na Europa e transmitida por *Dermacentor reticulatus*; *B. canis vogeli*, encontrada no Nordeste da África, norte da América e em regiões tropicais e subtropicais da maioria

dos continentes (LEWIS et al., 1996; TABOADA e LOBETTI , 2006), transmitida pelo complexo *Rhipicephalus sanguineus* e *B. canis rossi* encontrada no Sul da África e transmitida por *Haemaphysalis leachi* (LEWIS et al., 1996).

#### 1.2.2.1 Epidemiologia

O hematozoário causador da babesiose canina foi observado pela primeira vez na Itália. Logo depois, a doença foi diagnosticada em outros países da Europa, na América, Ásia e África (ANTONIO; OLIVEIRA; ZAPPA, 2009).

O primeiro relato de *B. canis vogeli* no Brasil, foi em 2005, por PCR em cães infectados espontaneamente (Passos et al, 2005). Esse agente também foi observado em 33,7% dos cães examinados por testes sorológicos e moleculares em um estudo realizado no norte do estado do Espírito Santo (SPOLIDORIO et al., 2010). Esta é a espécie mais frequentemente observada em cães no Brasil (SOUSA et al., 2013).

Também foram feitos no Brasil, em áreas edêmicas e não endêmicas, pesquisas epidemiológicas sobre a frequência e outros fatores relacionados à essa patologia. Alguns desses estudos defeniram a presença de anticorpos contra *Babesia* spp. por ensaios de imunofluorescência indireta (IFA) (MRLJAK et al., 2017)

Estudos epidemiológicos em técnicas sorológicas podem detectar a presença de anticorpos circulantes, porém isso não indica de fato uma infecção atual. (SOLANO-GALLEGO et al., 2016).

A maioria dos estudos epidemiológicos realizam análises de duas ou mais variáveis para determinar fatores relacionados à infecção (NALUMBA et al., 2011)

Estudos retrospectivos são bem usados na tentativa de identificar algumas características epidemiológicas, e assim usar para o diagnóstico precoce de doenças e até mesmo o controle. (LUCENA et al., 2010; RISSI et al., 2010). No Brasil, estudos de retrospectiva epidemiológica da babesiose foram realizados nos estados do Rio Grande do Sul no sul do Brasil (ALMEIDA et al., 2006).

A distribuição geográfica da doença causada por *B. canis*, vem de um espécie responsável por uma forma virulenta de *babesiose canina* na Europa e na Ásia Ocidental, e vem se estendendo, por um aumento de casos em áreas fora das regiões endêmicas (HALOS, 2014).

Em cães, a doença varia de subclínica a grave, (IRWIN 2009). A apresentação que domina nos cães infectados é a forma subclínica (LEISEWITZ et al., 2001) dependendo das espécies de patógenos, imunológica estado e idade do hospedeiro, (IRWIM 2009). Outro fator importante, que, é muito comum um hospedeiro ter a babesiose associada à erliquiose canina, fazendo com que agrava o quadro clínico e aumenta o risco de óbito (MILKEN et al., 2004; UNGAR DE SÁ et al., 2007).

#### 1.2.2.2 Patogenia

Dentro das hemácias, ocorre uma multiplicação de parasitas por divisão binária, dando resultado em dois indivíduos piriformes, com ligação das suas extremidades mais afiladas (ANTONIO et al, 2009).

A patogenia da babesia tem total relação com à hemólise provocada por esta multiplicação do parasita dentro dos eritrócitos. Logo ocorre o rompimento das células parasitadas, causando anemia, e posterior, uma liberação de hemoglobina, estabelecendo hemoglobinúria e bilirrubinemia. Uma grande quantidade de fração indireta da bilirrubina, leva a uma sobrecarga do fígado, provocando icterícia, congestão hepática e esplênica e hepatoesplenomegalia (ETTINGER & FELDMAN, 2004)

Nos casos em que cães estão com patógenos, tanto *B. canis* quanto *E. canis*, há uma severa anemia normocítica normocrômica, ocasionada pela destruição de eritrócitos maduros e como consequência um impedimento da eritropoiese, fazendo com que a doença se torne mais grave, principalmente em cães jovens (SÁ, 2007).

#### 1.2.2.3 Sintomatologia

O quadro agudo pode ser visto em cães infectados, com anorexia, apatia, diarreia, pneumonia, febre, hemoglobinúria, anemia branda a grave e talvez uma icterícia. Pode ocorrer morte se doença evoluir ou a lenta recuperação, que pode levar mais de um mês. Pode aparecer em alguns casos, sintomas neurológicos, com extrema apatia ou agressividade, paralisia, desequilíbrio e ataxia. (NELSON & COUTO, 2015).

Os sinais clínicos do paciente acometido pela babesiose em seus três quadros da doença são apresentados na tabela a seguir:

Hiperaguda	Aguda	Crônica
Acidose metabólica	Febre, hematúria e icterícia	Febre intermitente
Síndrome da resposta inflamatória sistêmica	Letargia e anorexia	Diminuição de rendimentos em cães atletas
Hipóxia	Letargia e anorexia	Diminuição de apetite
Choque	Esplenomegalia	
Estase vascular	Anemia hemolítica	

Nelson&Couto 2015

#### 1.2.2.4. Diagnóstico

O histórico associado à sintomatologia clínica, são, em geral suficientes para suspeitar de *babesiose*. Em regiões enzoóticas, um diagnóstico de *babesiose* canina pode ser justificado se o animal estiver caquético, anêmico, infestado por carrapatos e com febre intermitente (PINTO, 2009).

De maneira habitual, o diagnóstico de *Babesia* spp. baseia-se na detecção microscópica de intra-eritrócito sem esfregaços de sangue periférico. (SOLANO-GALLEGO & BANETH, 2011) As espécies de *Babesia* (*B. canis*, *B. vogeli* e *Babesia rossi*), mesmo com diferenças na genética, na patologia e na associação com vetores, são indistinguíveis morfológicamente (KRAUSE et al., 1996; SOLANO-GALLEGO & BANETH, 2011, SOLANO-GALLEGO et al., 2016).

A parasitemia intermitente ou baixa que pode ocorrer em cães infectados por *Babesia* em desenvolvimento no sangue periférico, pode ser prejudicial na detecção durante o exame citológico (CARDOSO et al., 2008). Mesmo com todo o avanço nos

métodos sorológicos para o diagnóstico de *Babesia* spp., são conhecidos anticorpos contra estes protozoários que podem reagir de forma cruzada com os de outros parasitas apicomplexos (IRWIN, 2009; SOLANO-GALLEGO et al., 2016).

Vários mecanismos moleculares, incluindo o ensaio de amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP), reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR), e análise de fusão de alta resolução (HRM), são usados para detectar diretamente o DNA de amostras de hemoparasitas, fornecendo testes moleculares rápidos (LYMBERY & THOMPSON, 2012).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) detecta fragmentos de DNA de *Babesia* spp. (PERSING et al., 1992), em praticamente qualquer material biológico (Brandão & Hagiwara, 2002), fechando o diagnóstico tanto em infecções agudas, subclínicas ou crônicas mesmo nos casos de baixa parasitemia (MACINTIRE et al., 2002). A PCR permite a visualização do ciclo de processo da reação por ciclo, encurtando o tempo para obtenção de resultados e evitando a contaminação pós-amplificação (NALUMBAMBA et al, 2011).

Além dos testes moleculares, os testes sorológicos, ensaio de imunoabsorção enzimático (ELISA) e a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), tem se mostrado capaz de detectar anticorpos em animais cronicamente infectados, sendo normalmente mais usados em estudos de levantamentos epidemiológicos (ARAÚJO et al. 1998).

## 2. JUSTIFICATIVA

Quando os animais adoecem pela infecção por *Ehrlichia* e *Babesia*, pode ocorrer a supressão do sistema imunológico, fazendo com que fiquem mais suscetíveis a infecções por outros patógenos, inclusive aqueles causadores das zoonoses. Isto evidencia a importância da correta identificação destes patógenos e do controle das doenças causadas por eles.

Outro fator de extrema importância é que são poucos os estudos ou informações sobre a ocorrência de protozoários dos gêneros *Babesia* e *Ehrlichia* no Estado do Pará e, praticamente inexistentes para a cidade de Marabá, principalmente quando relacionados à epidemiologia e caracterização molecular destes dois patógenos.

Apesar de a erliquiose e a babesiose caninas serem enfermidades clinicamente diagnosticadas na cidade de Marabá, o uso rotineiro de técnicas de diagnóstico mais precisas, é uma prática pouco utilizada não só neste município, como em todo o Estado do Pará.

### **3. OBJETIVO**

Investigar, através de métodos moleculares, a presença de hemoparasitas dos gêneros *Ehrlichia* e *Babesia* em cães recolhidos ou atendidos pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Marabá-PA.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pela CEUA-UNISA, N.41/2017 e as colheitas ocorreram somente após a concordância e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 1), pelo responsável do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município.

### 4.1 Local de estudo

O estudo foi realizado na área urbana do município de Marabá, que está situado na margem esquerda do rio Tocantins, sudeste do Estado do Pará, região esta pertencente ao bioma Amazônico. Com uma altitude média de 125m em relação ao nível do mar, o município possui uma área de 15.157,90 km<sup>2</sup>. Seus pontos extremos apresentam as seguintes coordenadas: ao norte, 04°56'24"S e 48°57'08"W; ao sul, 06°13'09" S e 51°08'40"W; a leste 05°52'23"S e 48°42'53"W; a oeste 06°03'15S e 51°24'01"W. (RAIOL,2010). População no último censo de 233.669 pessoas (IBGE, 2017).

O clima do município de Marabá caracteriza-se como equatorial, quente e úmido, segundo a classificação Koppen, apresentando temperaturas médias mensais entre 22,9°C e 32°C, com média anual de 26°C, de acordo com dados do Instituto Nacional de Meteorologia, obtidos na estação situada em Marabá com altitude de 95,00 m, entre o período de 1990 a 1994. (RAIOL, 2010)

A prefeitura da Cidade de Marabá, na lei 17.846, DE 29 DE MARÇO DE 2018 aprova a organização municipal, definida por 12 Distritos Administrativos, um Distrito Sede Municipal (Figura 1) e 11 distritos que abrangem a zona rural. São eles:

I - Distrito Sede Municipal (zona urbana), subdividido em:

- a) Núcleo Marabá Pioneira;
- b) Núcleo Cidade Nova;
- c) Núcleo Nova Marabá;
- d) Núcleo São Félix;
- e) Núcleo Morada Nova;



- f) Zona de Expansão Urbana Nova Marabá;
- g) Zona de Expansão Urbana Cidade Nova
- h) Distrito Industrial de Marabá - Fases I e II;
- i) Distrito Industrial - Fase III;

#### Zona Rural:

- II - Distrito de Murumuru com sede na Vila de Murumuru;
- III - Distrito de Brejo do Meio com sede na Vila Brejo do Meio;
- IV - Distrito de Santa Fé com sede na Vila Santa Fé;
- V - Distrito de Três Poderes com sede na Vila Trindade;
- VI - Distrito da Vila União com sede na Vila União;
- VII - Distrito de Capistrano de Abreu com sede na Vila Capistrano de Abreu;
- VIII - Distrito de Josinópolis com sede na Vila Josinópolis;
- IX - Distrito de Sororó com sede na Vila Sororó;
- X - Distrito de Alto Bonito com sede na Vila do Garimpo de Alto Bonito;
- XI - Distrito de Carimã com sede na Vila de Alto Bonito;
- XII - Distrito de Itainópolis com sede na Vila Itainópolis.

#### - NÚCLEO DA VELHA MARABÁ

Marabá teve sua origem na instalação de um núcleo agrícola, na margem esquerda do rio Tocantins, que foi organizado por Carlos Leitão. (FAPESPA, 2016). Encontra-se entre dois grandes rios, Itacaiúnas e Tocantins. Vista de cima, o núcleo da Velha Marabá tem o formato de “Y” (CÂMARA MUNICIPAL DE MARABÁ, 2019).

O setor Consolidado se caracteriza por predomínio da concentração de comércio e serviços e seu caráter histórico, presente no sistema de arruamentos, nas edificações e monumentos de interesse histórico e cultural. (PARÁ, 2018)

Em 1980 a cidade é arrasada pela maior enchente vista, com a elevação de 17,42 m do Rio Tocantins. Em consequência disto há um replanejamento urbano sobre o crescimento e expansão da cidade. Em 1984, entra em funcionamento a Estrada de Ferro Carajás, e em seguida no ano de 1988 dá início aos preparativos para a instalação de indústrias siderúrgicas, para produção de ferro-gusa, negócio que veio trazer grandes benefícios e expansão para o município (LINS, 2011).

As enchentes vinham de forma gradual e os moradores sabiam o momento em que se fazia necessário deixar a habitação e ir para outro local, geralmente o bairro Amapá, do outro lado do rio Itacaiúnas. Uma enchente anual dura, em média, de 2 a 4 meses, no período do “inverno” da Amazônia, entre os meses de janeiro e maio de cada ano (ALMEIDA, 2016).

#### - NÚCLEO NOVA MARABÁ

Setor Consolidado abrange as duas margens da Rodovia Transamazônica e da Via Preferencial 08, a Área Militar e as folhas 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, parte da 33, 34 e da 35 (os lotes situados na marginal da Rodovia Transamazônica). Caracteriza-se pela concentração de usos comerciais, de serviços e institucionais, além do habitacional (PARÁ,2018).

Sob o pretexto de dar uma solução ao problema das enchentes dos rios Tocantins e Itacaiúnas, o Governo Federal planejou a construção de uma nova cidade em local seguro em relação às inundações: a Nova Marabá. Em função dos projetos governamentais, inclusive a perspectiva da exploração do minério de ferro na Serra dos Carajás, aumentou o fluxo migratório em direção ao município, sobretudo após a abertura da Transamazônica no início da década de 1970 e do projeto de colonização dirigida às margens dessa mesma rodovia. A sede municipal não dispunha de espaço para absorver esse fluxo, provocando o surgimento espontâneo de outros núcleos próximos à cidade, como a Vila Transamazônica, ao mesmo tempo em que o projeto da Nova Marabá sofria alterações na planta urbanística (ALMEIDA,2016).

A demora na implantação da Nova Marabá, as mudanças no projeto original e a lentidão no processo de assentamento no novo núcleo fizeram com que outras possibilidades surgissem para os moradores e também para a população migrante. Uma dessas possibilidades foi a manutenção do núcleo pioneiro ou Velha Marabá, apesar de estar situado em uma área de risco em relação às enchentes (ALMEIDA,2011).

Um novo projeto urbanístico cuja implantação aparentemente não ficaria tão custosa. De acordo com a arquiteta Helena Lucia Zagury Tourinho, o PEUM “buscou inspiração em modelos naturalistas e, mais especificamente, nas experiências de subúrbios norte-americanos”. Dessa forma teve por base o “conforto ambiental” e a topografia do solo como condicionantes do desenho urbano, prevendo baixas densidades demográficas (TOURINHO, 1991).

A concepção urbanística do PEUM baseou-se em uma estrutura vegetal, que lembrava uma árvore, onde os troncos seriam os “eixos viários periféricos”, os galhos “o sistema viário principal de penetração” e as “folhas” as comunidades localizadas, tal planta permitiria a expansão futura da cidade de modo “sistematizado”, sendo mantido o contato com a floresta por meio de áreas de preservação (ALMEIDA, 2011).

O esperado esvaziamento da Velha Marabá não ocorreu e nem mesmo uma desvalorização dos imóveis, uma vez que as antigas famílias e grande parte da elite lá permaneceram. A atividade comercial também se manteve, as agências bancárias, os escritórios e a Câmara Municipal, apesar da mudança da Prefeitura (ALMEIDA, 2011).

#### - NÚCLEO CIDADE NOVA

O mesmo documento cita ainda que a necessidade de espaço por parte da população, sobretudo após a construção da Transamazônica, fez com que surgisse um terceiro núcleo, Cidade Nova (na mesma área onde se encontrava a antiga Vila Transamazônica) e que este “têm sido sistematicamente ignorado”. Constatou-se o que já poderia ter sido observado desde a fase inicial do processo de planejamento da Nova Marabá, isto é, que a cidade já apresentava uma tendência natural de expansão em direção à área onde hoje se encontra o Complexo Integrado Cidade Nova (ALMEIDA, 2011).

O Setor Consolidado corresponde aos bairros Cidade Nova, Agrópolis do Incra, Novo Horizonte, Liberdade, caracterizados pelo predomínio dos usos de comércio, serviços e institucional (PARÁ, 2018).

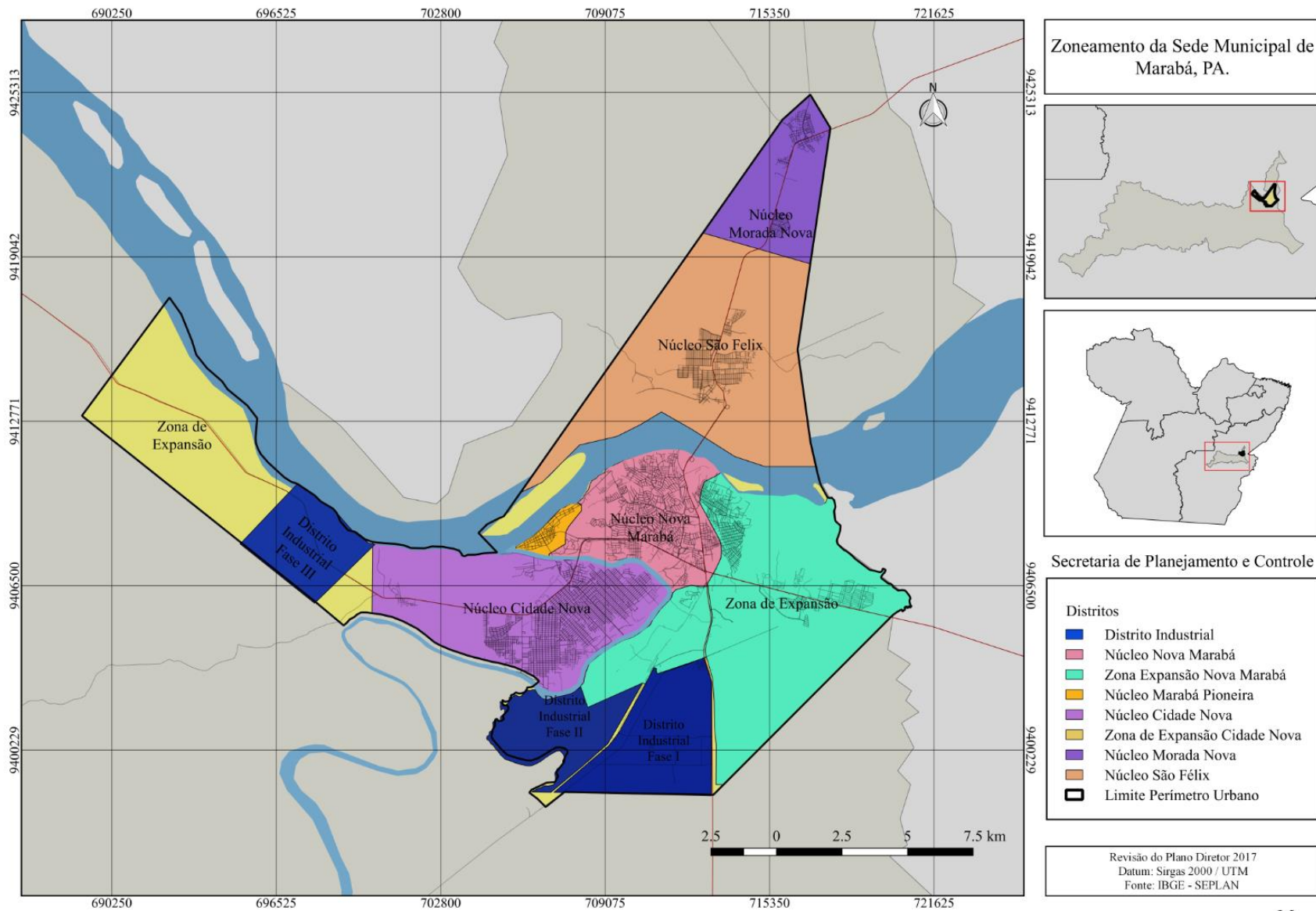
A Rodovia Transamazônica chega a Marabá em 1971, atravessando a cidade e ocupando as áreas da Cidade Nova e Nova Marabá (ONU-HABITAT, 2010).

#### - NÚCLEO SÃO FÉLIX E MORADA NOVA

Em 1981, com a implantação do programa Grande Carajás, houve a demanda pela construção de duas pontes, uma sobre o rio Itacaiúnas que fazia ligação com o núcleo Cidade Nova e outra sobre o rio Tocantins, mista com a ferrovia Carajás-Itaqui que ligava ao núcleo São Felix. Com a construção da ponte sobre o Rio Tocantins, onde seguem a PA-150 e a ferrovia Carajás, os núcleos de São Félix e Morada Nova foram consolidados como área de expansão urbana (CARDOSO & LIMA, 2009).

Para os núcleos São Félix e Morada Nova, o Setor de Recuperação e Qualificação se caracteriza pela presença de assentamentos precários (ocupações irregulares), alguns ocupando áreas alagáveis e de proteção ambiental (PARÁ, 2018). Nestas localidades, não apenas do ponto de vista habitacional, mas também da não existência de equipamentos públicos, como fonte de renda e a informalidade, determinam a necessidade da existência de outros núcleos mais consolidados (ONU-HABITAT, 2010).

Figura 1: Mapa da cidade de MARABÁ, com a divisão dos distritos municipais.



FONTE: Secretaria de Obras da Cidade, 2019

## 4.2 Caracterização de amostras

Neste estudo foram coletadas amostras de sangue de 400 cães recebidos ou atendidos no Centro de Controle de Zoonoses do município, provenientes de diferentes bairros, pertencentes a cinco núcleos urbanos que fazem parte do Distrito Sede Municipal. Os animais foram selecionados aleatoriamente, independente do sexo, raça e idade, ou de apresentarem ou não sintomatologia condizente com erliquiose ou babesiose.

Além da entrada diária dos animais apreendidos pela carrocinha do CCZ, uma quantidade média de 15 animais também eram recolhidos, seja com consentimento ou por abandono nas dependências da instituição, ou ainda pelo recolhimento de animais por solicitação da população, além de algumas denúncias de maus tratos. Logo, o número de animais que davam entrada no CCZ por dia, era considerado alto, o que resultava em uma superlotação, além de inviabilizar o trabalho rotineiro com os animais.

O Centro de Controle de Zoonoses é regido pela lei 15.725 DE 30 DE DEZEMBRO DE 1998. Nela consta as diretrizes e procedimentos dos animais que dão entrada no centro. De acordo com parágrafo único do artigo 8:

“Os animais que forem apreendidos em desobediência ao estabelecimento nesta lei, serão:

Mantidos, por até 3 (três) dias, em canil público à disposição de seu proprietário”

Após, de acordo com artigo 11:

“Os animais apreendidos poderão sofrer as seguintes destinações, à critério do Órgão Sanitário responsável: resgate, leilão em hasta pública, adoção, doação, sacrifício”.

Devido ao grande número de animais que entravam diariamente no CCZ, o Ministério Público do Estado do Pará fez uma parceria com aquela instituição, na tentativa de diminuir o número de animais recebidos, além da participação de ONG's para ajudar na conscientização da população, no recebimento e na administração dos animais dentro do Centro. Tudo isto, com o intuito de diminuir

o número de eutanásias realizadas e, ao mesmo tempo, tornar viável o trabalho realizado pelo CCZ.

Com isso, novas políticas internas foram adotadas, como diminuição na frequência do recolhimento de animais pelas carrocinhas (passando a ter duas saídas semanais para cães), recebimento de animais entregues somente por adultos com RG e CPF, realização de campanhas de castração e de conscientização, para redução do número de abandonos. Isso fez com que a entrada de animais diminuísse consideravelmente, melhorando o manejo dentro do CCZ.

Porém, com estas mudanças, não foi possível coletar o número de amostras necessárias dentro do prazo inicialmente estabelecido no cronograma de trabalho. Para ajudar a completar este número, foram colhidas amostras de cães que compareceram ao CCZ durante as campanhas de combate a leishmaniose e erliquiose. Durante este período, houve um aumento considerável no número de animais que passaram pelo CCZ (Figura 1).

Figura 1: Animais nas dependências do Centro de Controle de Zoonoses durante uma das campanhas realizadas no local.



FONTE: Autor

Após algum tempo, foi constatado que a quase totalidade dos animais recebidos durante as campanhas foram provenientes do núcleo Cidade Nova, quase não havendo representatividade de animais de locais dentro da área urbana. Uma possível explicação para isso, é que o CCZ está localizado neste mesmo núcleo, o que teria gerado uma maior concentração de animais dessa localidade.

Foram também aproveitadas campanhas específicas do CCZ realizadas em outros núcleos urbanos do município (Figuras 2). Como no caso das localidades de São Félix e Morada Nova, núcleos mais afastados e de difícil acesso, e em Nova Marabá, que fica mais próximo ao centro. Além disso, durante uma das campanhas de vacinação contra raiva, que o CCZ realiza de casa em casa, também foram amostrados alguns animais.

Figura 2: Campanhas realizadas fora das dependências do CCZ.



FONTE: Autor

Durante a execução do projeto houveram alguns imprevistos tanto no período de coletas (vide parágrafos acima) quanto das investigações moleculares, que inviabilizaram a finalização da análise de todas as amostras

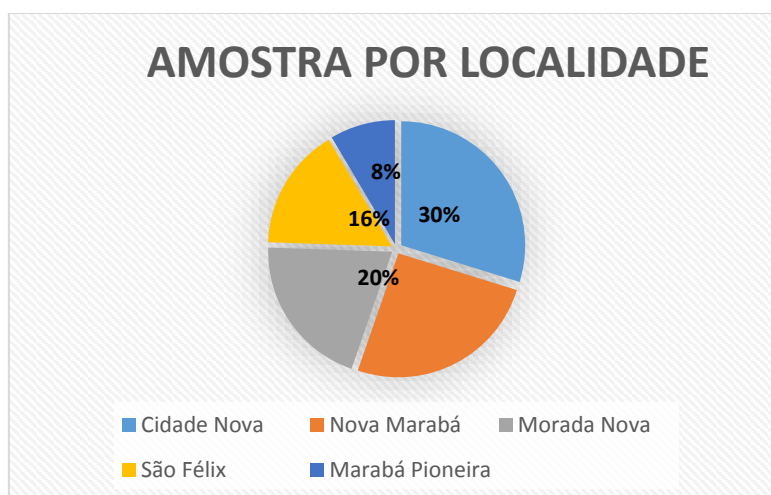


dentro do prazo inicialmente previsto. Assim, como não haveria tempo hábil para testar todas as amostras até a data final para entrega da dissertação, foram incluídas somente as 94 amostras que já haviam sido testadas até aquele momento. Os estudos para os patógenos investigados, continuarão a ser realizados com as demais amostras coletas.

#### 4.3 Animais investigados

Dos 94 animais amostrados, 41 (43,6%) eram fêmeas e 53 (56,4%) eram machos. Dos cães, cujas amostras foram utilizadas neste estudo, 28 (30%) foram provenientes de Cidade Nova, 24 (26%) de Nova Marabá, 19 (20%) de Morada Nova, 15 (16%) de São Félix e 8 (8%) de Marabá Pioneira (Gráfico 1).

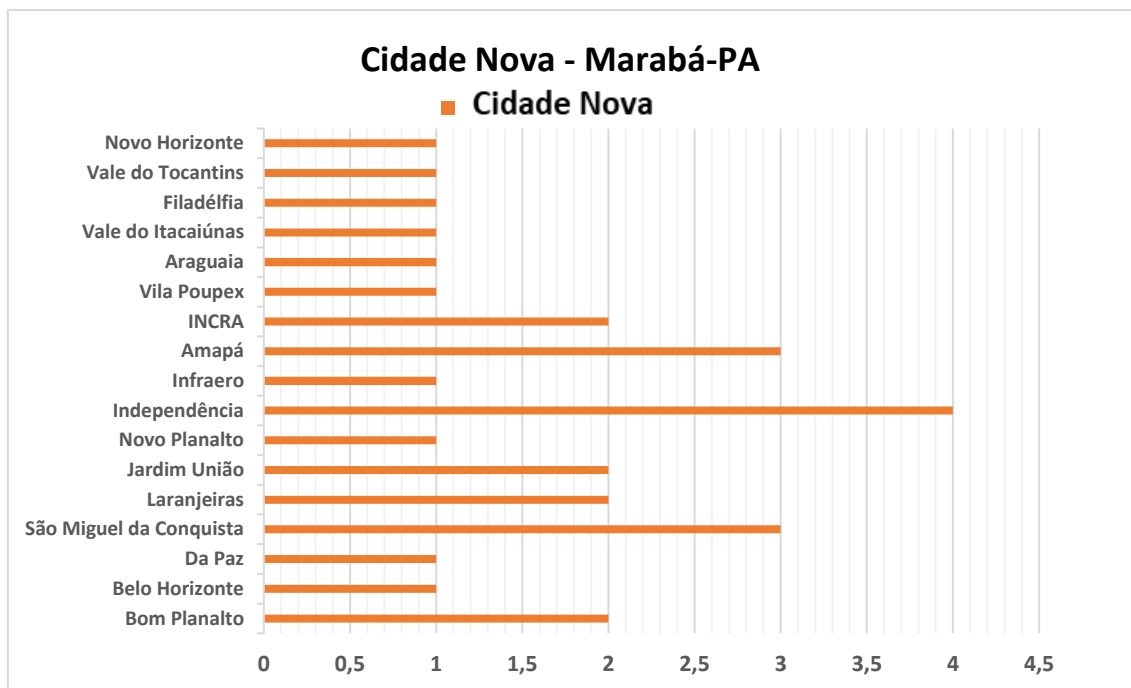
Gráfico 1: Porcentagem de animais investigados por Núcleo.



Fonte: Autor

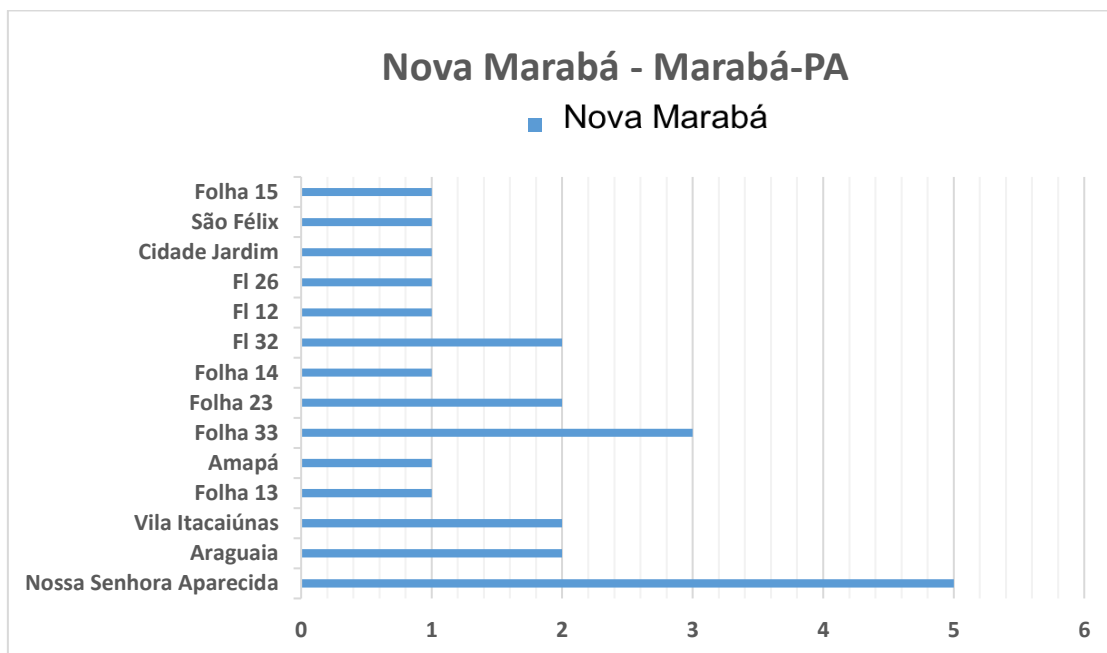
Ainda com relação à proveniência dos animais estudados, os distritos de Cidade Nova e Nova Marabá foram os que apresentaram maior número de bairros com representatividade de amostras, sendo respectivamente 17 e 14 bairros em cada um dos distritos (Gráficos 2, 3). Já nos outros três núcleos, São Félix, Morada Nova e Marabá Pioneira, o número de bairros representados foi de cinco, dois e um, respectivamente (Gráficos 4, 5, 6).

Gráfico 2: Quantidade de amostras coletadas por bairro no núcleo de Cidade Nova, município de Marabá-PA.



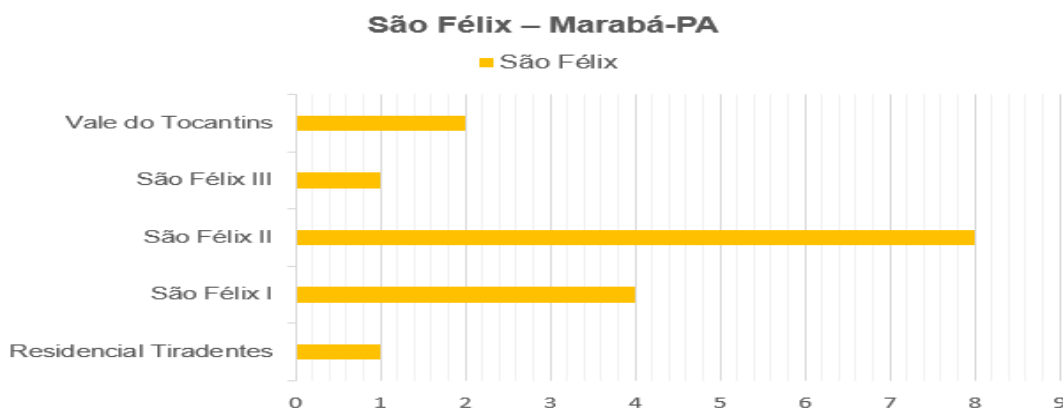
Fonte: Autor

Gráfico 3: Quantidade de amostras coletadas por bairro no distrito de Nova Marabá, município de Marabá-PA.



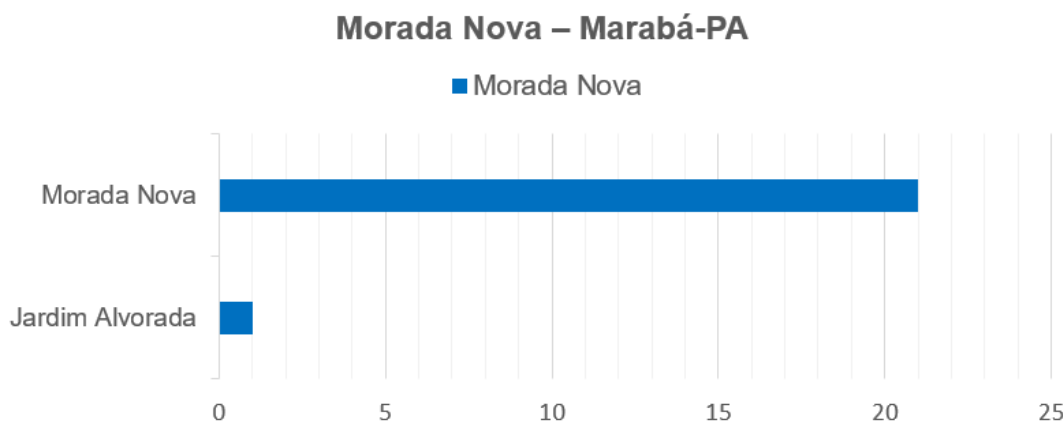
Fonte: Autor

Gráfico 4: Quantidade de amostras coletadas por bairro no distrito São Félix, município de Marabá-PA.



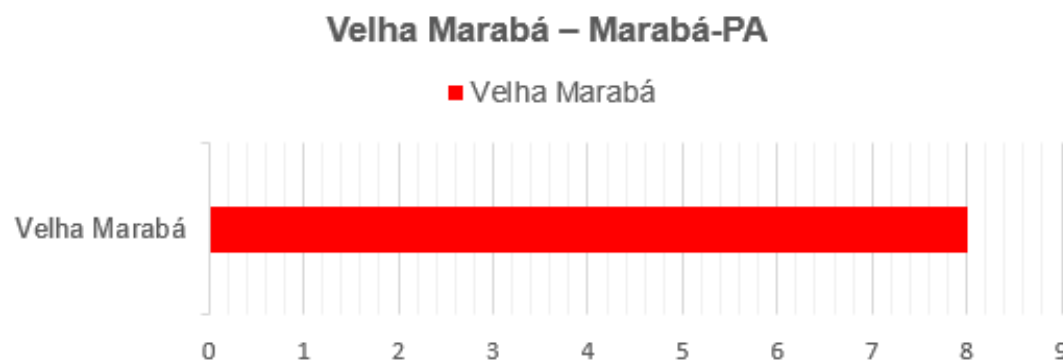
Fonte: Autor

Gráfico 5: Quantidade de amostras coletadas por bairro no distrito de Morada Nova, município de Marabá-PA.



Fonte: Autor

Gráfico 6: Quantidade de amostras coletadas por bairro, no distrito de Marabá Pioneira (=Velha Marabá), município de Marabá-PA.



Fonte: autor

#### 4.4 Coleta de amostras

As amostras de sangue total foram colhidas dos cães, independente de apresentarem ou não sintomatologia sugestiva para erliquiose e babesiose. O sangue foi obtido assepticamente por venopunção da veia cefálica (Figura 3), utilizando-se seringa e agulha descartáveis, sendo em seguida transferido para microtubos plásticos (1,5ml) contendo etanol absoluto (Figura 4). Em seguida estes tubos foram etiquetados e acondicionados em temperatura ambiente até o momento da utilização.

Figura 3: Coleta de sangue total nos cães.



FONTE: Autor

Figura 4: Transferência do sangue para o microtubo com etanol e numeração.



FONTE: Autor

#### 4.5 Extração de DNA

As amostras de sangue total foram processadas individualmente, utilizando-se o kit PureLink™ Genomic DNA Minikit (Invitrogen), de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA resultante foi armazenado em freezer a -20°C até o momento de sua utilização. As extrações foram realizadas no Laboratório de Pesquisas Veterinárias – LabVet da Universidade Santo Amaro.

#### 4.6 PCR em tempo real

Esta etapa do estudo foi realizada no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMVZ-USP.

##### *Ehrlichia canis*

O material obtido da extração de DNA do sangue dos cães, foi analisado para *E. canis* pela determinação da seqüência de nucleotídeos amplificados do gene *dsb*, utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores denominados Dsb-321 (5'- TTGCAAAATGATGTCTGAAGATATGAAACA - 3'), Dsb-671 (5' - GCTGCTCCACCAATAAATGTATCYCCTA - 3'), e a sonda TaqMan (5'-

AGCTAGTGCTGCTTGGGCAACTTTGAGTGAA - 3') 5' FAM/BHQ - 1 3', específica para a espécie *E. canis*, conforme previamente padronizado (DOYLE et al., 2005). A reação foi realizada em placas de 96 poços submetidas a variações térmicas correspondentes a um ciclo inicial de 95°C por 5 minutos, seguido por 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por minuto, conforme descrito por Doyle et al. (2005). A amplificação, aquisição e análise de dados foram realizadas em um sistema de detecção multicolor para Real-Time PCR (7500 Real-Time PCR Systems – Applied BioSystems, Foster City, CA, EUA).

### *Babesia canis vogeli*

O DNA obtido do sangue dos cães foi analisado para *Babesia canis vogeli* pela determinação da sequência de nucleotídeos amplificados do gene *hsp70*, utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores denominados senso *hsp70-F* (5'-GTCATCACTGTGCCTGCGTACT-3) e antisenso *hsp70-R* (5'-GCATGACGTTGAGACCGGCAAT -3), associado a uma sonda interna fluorogênica (5'-Hex/AGCGCCAGGCCACCAAGGACGCT-3'-IABIkFQ). Este par de primers corresponde a amplificação de um fragmento de 84-pb (pares de base) do gene *hsp70* de *Babesia canis vogeli* (PELEG et al. 2010).

## 5.RESULTADOS

### 5.1 PCR em tempo real para *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli*

Das 94 amostras analisadas pela técnica de PCR em tempo real, 23 foram positivas para *B. canis vogeli* e três para *E. canis*, representando 24,4% e 3,3%, respectivamente, do total de amostras testadas. Dos 23 cães cujas amostras foram positivas para *B. canis vogeli*, 13 (24,5%) eram machos e 10 (24,3%) eram fêmeas, enquanto dos três positivos para *E. canis*, um (1,8%) era macho e duas (4,8%) eram fêmeas (Tabela 1).

Com relação aos cinco núcleos de onde foram provenientes os animais amostrados, para cada um deles houve pelo menos um caso de positividade para algum dos dois patógenos investigados. Porém, em nenhum dos núcleos, houve registro de coinfeção nos cães investigados (Tabela 1).

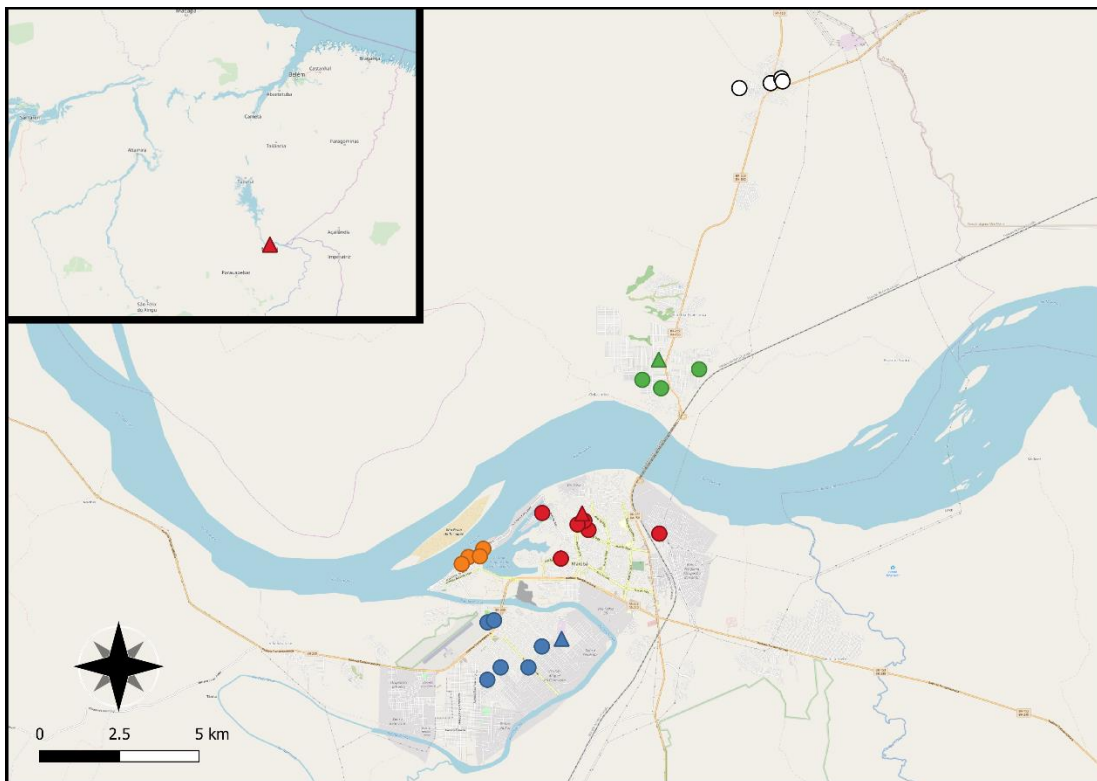
Tabela 1: Amostras positivas para *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli*, coletadas de cães provenientes de cinco núcleos urbanos do município de Marabá - PA, diagnosticadas molecularmente através da PCR em tempo real.

	rt-PCR positivo/total (%)	
	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Babesia canis vogeli</i>
	3/94 (3.2)	23/94 (24.4)
Sexo		
Macho	1/53 (1.8)	13/53 (24.5)
Fêmea	2/41 (4.8)	10/41 (24.3)
Núcleo		
Morada Nova	0/19	4/19 (21)
São Félix	1/15 (6.6)	3/15 (20)
Marabá		
Pioneira	0/8	4/8 (50)
Cidade Nova	1/28 (3.5)	6/28 (21.4)
Nova Marabá	1/24 (4.1)	6/24 (25)

Fonte: Autor, 2019

Para *B. canis vogeli*, os núcleos de Cidade Nova e Nova Marabá foram os mais representativos, com seis animais positivos cada, seguidos por Morada Nova e Marabá Pioneira com quatro animais cada, e São Félix com três. Enquanto para *E. canis*, Cidade Nova, Nova Marabá e São Félix apresentaram um animal positivo cada, não havendo casos de positividade para as amostras dos cães provenientes de Morada Nova e Marabá Pioneira (Figura 7).

Figura 7: Mapa de distribuição dos cães positivos para *Ehrlichia canis* e *Babesia canis vogeli* em cinco núcleos urbanos pertencentes ao município de Marabá, PA.



Legenda: Os triângulos representam os animais positivos para *E.canis* e os círculos aqueles positivos para *Babesia canis vogeli*. Cada cor indica um dos núcleos com amostras positivas. Branco - Morada Nova; Verde - São Félix; Vermelho - Nova Marabá; Laranja - Marabá Pioneira; Azul - Cidade Nova.



## 6. DISCUSSÃO

Nossos resultados moleculares indicaram que 3,2% do total de animais investigados foram positivos para *E. canis* e 24,4 % para *B. canis vogeli*. Com relação ao primeiro agente, esta é uma porcentagem pequena quando comparada a estudos com cães de área urbana de outras regiões do país, principalmente a Sudeste. (UENO et al., 2008).

Porém, o encontro de baixa positividade para *E. canis*, também foi observado por SOARES et al. (2014), que investigaram cães de um município do estado do Amazonas, e por ARAES-SANTOS et al. (2015) e DANTAS-TORRES et al. (2018), em estudos com animais da região semi-árida nordestina do estado de Pernambuco. No primeiro estudo, todas as amostras testadas foram negativas para *E. canis*, enquanto no segundo 8,3% foram positivas e no terceiro houve apenas 1,7% de positividade.

Com relação aos locais onde estes cães viviam, foram investigados animais de áreas urbanas e rurais (SOARES et al., 2014; ARAES-SANTOS et al., 2015), e também de aldeias indígenas (DANTAS-TORRES et al., 2018). No presente estudo somente cães de área urbana foram amostrados. Nos três estudos citados acima, a detecção molecular de *E. canis* foi realizada através da PCR convencional, diferente do nosso, onde foi utilizada a PCR em tempo real.

Cães procedentes de seis diferentes municípios do estado do Espírito Santo, foram investigados quanto a presença de agentes transmitidos por carrapatos. Das 378 amostras de sangue analisadas pela PCR convencional, 5 (1,32%) foram positivas para *B. canis vogeli* e 10 (2,64%) para *E. canis* (VIEIRA et al., 2018). Estes autores, também testaram o mesmo total de amostras para *E. canis*, utilizando a PCR em tempo real, o que resultou em 28 (7.40%) amostras positivas.

Quando comparado com os resultados obtidos por Vieira et al. (2018), especificamente para *B. canis vogeli*, a porcentagem de animais positivos encontrada neste estudo foi bem maior que a daqueles autores. Porém, o fato de uma investigação ter sido realizada na região Sudeste e outra na região Norte do país, além de terem sido utilizadas diferentes técnicas moleculares para

detecção do agente, não nos permite comparar os valores encontrados em cada um dos estudos, sem discutir as diferenças apontadas acima.

O mesmo acontecendo com Spolidorio et al. (2011), que além dos dois fatores diferenciais apontados acima, onde o estudo foi conduzido em cães da cidade de Cuiabá, região Centro-Oeste do país, e a técnica utilizada foi a PCR convencional, o número de animais investigados naquele estudo foi bem menor, pois foram analisadas amostras de sangue de somente 10 cães.

Em vários estudos onde as amostras de sangue dos animais investigados foram testadas para ambos os patógenos *E. canis* e *B. canis vogeli*, a porcentagem de positividade para o primeiro agente foi maior que para o segundo (SPOLIDORIO et al., 2011; COSTA et al., 2015; VIEIRA et al., 2018). O mesmo não acontecendo neste estudo, onde a porcentagem de amostras positivas para *B. canis vogeli* foi quase oito vezes maior que para *E. canis*.

## 7. CONCLUSÃO

Existe a circulação de patógenos dos gêneros *Ehrlichia* e *Babesia* em cães de área urbana da cidade de Marabá, PA.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANZÉN, J.G., CHAVES, A.V., CASAS, E.A., LI, O.E. **Seroprevalencia de la dirofilariosis y ehrlichiosis canina em tres distritos de Lima**. Revista de Investigaciones Veterinárias del Peru, n.14, p.43-48.2003.

AGUIAR, D.M. **Aspectos epidemiológicos da erliquiose canina no Brasil**. Tese de Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses, Universidade de São Paulo, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 95p.2006.

AGUIAR, D.M., CAVALCANTE, G., PINTER, A., GENNARI, S.M., CAMARGO, L.M.A., LABRUNA, M.B. **Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil**. Journal of Medical Entomology, v. 44, n. 1, p. 126-132.2007.

AIMEIDA, J.J. **Políticas públicas e comunidades da amazônia: o caso da Velha Marabá (1970-2000)**. Urbana: Revista Eletrônica do Centro Interdisciplinar de Estudos da Cidade, v.8, n.2 [13] p.44-59 ISSN 1982-0569. 2016.

AIMEIDA, M.B., TORTELLI, F.P., RIET-CORREA, B., FERREIRA, J.L.M., SOARES, M.P., FARIAS, N.A.R., SHILD, A.L. **Tick fever in southern Brazil: a retrospective study of 1978-2005**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 26, p.237–242.2006.

AIMEIDA, A.P., SOUZA, T.D., MARCILI, A., LABRUNA, M.B. **Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in Southeastern Brazil**. Journal of Medical Entomology, v. 50, p.640-646.2013.

ALMOSNY, N.R.P. ***Ehrlichia canis* (DONATIEN & LESTOQUARD, 1935): Avaliação parasitológica, hematológica e bioquímica sérica da fase aguda de cães e gatos experimentalmente infectados**. 1998. 202 p. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica – RJ.1998.

ALMOSNY, N.R.P., MASSARD, C.L. **Erliquiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses**. In: ALMOSNY, N.R.P. Hemoparasitose em pequenos animais domésticos e como zoonose. Rio de Janeiro: L F. Livros de Veterinária, p.14-56.2002.

ANTONIO, N.S., OLIVEIRA, A.C., ZAPPA, V. ***Babesia canis*: relato de caso**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária, ano VII, n.12.2009.

ARAUJO, F.R., MADRUGA, C.R., LEAL, C.R., SCHENK, M.A., KESSLER, R.H., MARQUES, A.P., LEMAIRE D.C. **Comparison between enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent antibody and rapid agglutination test in detecting antibodies against *Babesia bovis***. Veterinary Parasitology, v. 74, p.101-108.1998

BARKER, S.C., MURRELL, A. **Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names.** In, Ticks: Biology, Disease and Control. Eds. A.S. Bowman, P.A. Nuttall. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. p.1–39.2014.

BARR, C.S., BOWMAN, D.D. **Doenças infecciosas e parasitárias em cães e gatos.** Consulta em 5 minutos. Revinter: Rio de Janeiro, 618p.2010.

BEERNTSEN. B.T, JAMES, A. A. CHRISTENSEN. B. M. **Genetics of mosquito vector competence.** Microbiology and Molecular Biology Review, v. 64, p.115–137. doi: 10.1128/MMBR.64.1.115-137.2000.

BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. **Clínica de Pequenos Animais** (Manual Saunders). São Paulo: Editora Roca. 1793p.2003.

BORGES. F.V., SANTOS. J.P., JÚNIOR. A.F. **Imunocromatografia indireta auxilia na triagem de cães para realização de tratamento contra *Ehrlichia canis*: Relato de caso.** Ciência & Tecnologia: Fatec-JB, Jaboticabal, v. 8, n.1.Número especial 2.2016.

BRANDÃO, J.A., ROSENBERG, E.S. ***Borrelia miyamotoi*: a lesson in disease discovery.** Annals of Internal Medicine, v. 159, n. 1, p.61-62.2013.

BRANDÃO, L., HAGIWARA, M.K. **Babesiose canina: revisão.** Clínica Veterinária, n. 41, p.50-59, 2002.

BREITSCHERDT, E.B. **Riquetsioses.** In: ETTINGER, S.J., FELDMAN, E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária. Doenças do Cão e do Gato. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.422-429.2004.

BULLA, C., TAKAHIRA, R.K., ARAUJO JR, J.P., TRINCA, L.A., LOPES, R.S., WEIDMEYER, C.E. **The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic área.** Veterinary Research, v.35, p.141-146.2004a.

BULLA, C., TAKAHIRA, R.K., PAPANOTTO, T., LANGRAFE, L., PAES, P.R.O., LOPES, R.S. **Fase aguda da Erliquiose canina: um estudo retrospectivo de 10 anos.** Revista Científica de Medicina Veterinária, v.2, n.6, p.83-85.2004b.

BURLINI, L., TEIXEIRA, K.R., SZABO, M.P., FAMADAS, K.M. **Molecular dissimilarities of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Brazil and its relation with samples throughout the world: Is there a geographical pattern?** Experimental and Applied Acarology, v. 50, p.361–374.2010.

BUSSE, C., NAVID, M.H., STRUBEL, A., SCHNITZLER, P. **Evaluation of a new recombinant antigen-based Virotech *Treponema pallidum* screen ELISA for diagnosis of syphilis.** Clinical Laboratory, v. 59, p.523–529.2013.

CABEZAS-CRUZ, A., ZWEYGART, E., VANCOVÁ, M., BRONISZEWSKA, M., GRUBHOFFER, L., PASSOS, L., RIBEIRO, M.B., ALBERDI, P., DE LA FUENTE, J. ***Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus***. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, v. 66, p.1423-1430.2016.

CAETANO, R.L., VIZZONI, V.F., BITENCOURTH, K., CARRIÇO, C., SATO, T.P., PINTO, Z.T., OLIVEIRA, S.V., AMORIM, M., VOLOCH, C.M., GAZETA, G.S. **Ultrastructural morphology and molecular analyses of tropical and temperate “Species” of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Acari: Ixodidae) in Brazil**. Journal of Medical Entomology, v. 54, n. 5, p.1201–1212.2017.

CÂMARA MUNICIPAL DE MARABÁ. **História do Município de Marabá**. Disponível em: < <http://www.maraba.pa.leg.br/institucional/maraba/historia>> Acesso em 05 de setembro de 2019.

CARDOSO, L., COSTA, A., TUNA, J., VIEIRA, L., EYAL, O., YISACHAR-MEKUSAS, Y., BANETH, G. ***Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli* infections in dogs from northern Portugal**. Veterinary Parasitology, v. 156, p.199-204.2008.

CARDOSO, A.C.D., LIMA, J.J.F. **A influência do governo federal nas cidades da Amazônia: Os casos de Marabá e Medicilândia**. Novos cadernos NAEA, v. 12, n. 1, p 161-192, ISSN 1516- 6481.2009.

CASTRO, M.B., MACHADO, R.Z., AQUINO, L.P.C.T., ALESSI, A.C., COSTA, M.T. **Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings**. Veterinary Parasitology, v. 119, n. 1, p.73-86.2004.

CHAVES, L.A., LEITE, R.A.C., NAVECA, S.A. **Erlíquiose canina**. Monografia de Especialização em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais, Qualittas Instituto de Pós-Graduação, Manaus.2007.

COSTA, A.P., COSTA, F.B., LABRUNA, M.B., SILVEIRA, I., MORAES-FILHO, J., SOARES, J.F., SPOLIDORIO, M.G., GUERRABRAZ, R.M.S.N.C. **A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil** Journal of Veterinary Parasitology, v. 24, n. 1, p.28-35.2015.

DAGNONE, A.S., DE MORAIS, H.A., VIDOTTO, O., JOJIMA, F.S., VIDOTTO, O. **Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in south Brazil**. Veterinary Parasitology, v. 117, p.285–290.2003.

DAGNONE, A.S. **Caracterização molecular de espécies da família Anaplasmataceae em leucócitos e plaquetas de cães de Jaboticabal-SP e de Campo Grande-MS**. Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 118p.2006.

DANTAS-TORRES, F. **Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Paulista, Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. 2006b. 94 f.** Dissertação (Mestrado). Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife.2006c.

DANTAS-TORRES, F. **The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control.** Veterinary Parasitology, vol. 152, n. 3-4, p. 73-185.2008a.

DANTAS-TORRES, F. **The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. In: Latreille, 1806. (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control.** Veterinary Parasitology, vol. 152, n. 3-4, p.173-185.2008b.

DANTAS-TORRES, F., MARTINS, T.F., MUÑOZ-LEAL, S., ONOFRIO, V.C., BARROS-BATTESTI, D.M. **Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Updated species checklist and taxonomic keys.** Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 10, n. 6, 101252, 2019.

DAVOUST, B., PARZY, D., VIDOR, E., HASSELOT, N., MARTET, G. **Ehrlichiose canine experimentale: étude clinique et thérapeutique.** Revue de Médecine Vétérinaire, vol. 167, p.33-40.1991.

DE LA FUENTE, J., ESTRADA-PEÑA, A., CABEZA-CRUZ, A., KOCAN, K.M. **Anaplasma phagocytophilum uses common strategies for infection of ticks and vertebrate hosts.** Trends in Microbiology, v. 24, p.173–180. doi: 10.1186/s13071-015-1154-1.2016

DE LA FUENTE.J,ANTUNES.A,BONNET.S,CABEZAS-CRUZ.A,DOMINGOS.A.G,ESTRADA PEÑA.A,JOHNSON.N,KOCAN.K.M,MANSFIELD.K.L, NIJHOF.A.M,PAPA.A,RUDENKO.N,VILAR.M,ALBERDI.P,TORINA.A,AYLLON. N,VANCOVA.M,GOLOVCHENKO.M,GRUBHOFFER.L,CARACAPPA.S,FOOK S.A.R,GORTAZAR.c, REGO.R.O.M. **Tick-Pathogen Interactions and Vector Competence: Identification of Molecular Drivers for Tick-Borne Diseases.** Front. Cell. Infect. Microbiol. 7:114. doi: 10.3389/fcimb.2017.00114.2017.

DES VIGNES, F., PIESMAN, J., HEFFERNAN, R., SCHUIZE, T.L., Stafford, K.C., Fish, D. **Effect of tick removal on transmission of *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia phagocytophila* by *Ixodes scularis* nymphs.** Journal of Infectious Disease, v. 183, p.773-778.2001.

DOYLE, C.K., LABRUNA, M.B., BREITSCHWERDT, E.B., TANG, Y.W., CORSTVET, R.E., HEGARTY, B.C., BLOCH, K.C., LI, P., WALKER, D.H., MCBRIDE, J.W. **Detection of medically important *Ehrlichia* by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene.** The Journal of Molecular Diagnostics, v. 7, p.504-510.2005.

DUBIE, T., MOHAMMED, Y., TEREFE, G., MUKTAR, Y. **An insight review on canine ehrlichiosis with emphasis on its epidemiology and pathogenesis**

**importance.** Global Journal of Veterinary Medicine and Research, v. 2, p.059-067.2014.

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

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato.** 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

FUNDAÇÃO AMAZÔNIA DE AMPARO A ESTUDOS E PESQUISAS (FAPESPA). **Estatísticas Municipais Paraenses: Marabá/Diretoria de Estatística e de Tecnologia e Gestão da Informação – Belém, 60f.: il. Semestral, n. 1, jul. / dez.2016.**

FIGUEIREDO, L.A., SALES, K.G.S., DEUSTER, K., POLLMEIER, M., OTRANTO, D, DANTAS-TORRES, F. **Exposure to vector-borne pathogens in privately owned dogs living in different socioeconomic settings in Brazil.** Veterinary Parasitology, v. 243, p.18-23.2017.

FOURIE, J.J., STANNEK, D., LUUS, H.G. **Transmission of *Ehrlichia canis* by *Rhipicephalus sanguineus* ticks feeding on dogs and on artificial membranes.** Veterinary Parasitology, v. 197, p.595-603.2013.

GERKE, F.S., GAZETA, G.S., SOUZA, E.R., RIBEIRO, A., MARRELLI, M.T., SCHUMAKER, T.T. ***Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the state of Rio de Janeiro/Brazil.** Clinical Microbiology and Infection, v. 2, p.267-268.2009.

GOTTILIEB, J., ANDRÉ, M.R., SOARES, J.F., GONÇALVES, L.R. TONIAL DE OLIVEIRA, M., COSTA, M.M. et al. ***Rangelia vitalii*, *Babesia* spp. and *Ehrlichia* spp. in dogs in Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul, Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 25, p.172-8.2016.

GRAY, J., DANTAS-TORES, F., ESTRADA-PEÑA, A., LEVIN, M. **Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*.** Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 4, p.171-180.2013.

GREENE, C.E. **Ehrlichiosis, Neorickettsiosis, Anaplasmosis and Wolbachia Infection.** In: \_\_\_\_. Infectious diseases of the dog and cat. 3rd ed. St. Louis: Saunders, p. 203 -231.2006.

GREENE, C.E., KIDD, L., BREITSCWERDT, E.B. **Rocky Mountain and Mediterranean Spotted Fevers, Cat-Flea Typhuslike Illness, Rickettsial pox**



**and Typhus.** In Greene, C.E., editor: Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th ed. St Louis, Elsevier Saunders, pp 259-262.2012.

GREENE, C.E. **Doenças Infecciosas em Cães e Gatos.** 4ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2015.

GROVES, M.G., DENNIS, G.L., AMYX, H.L., HUXSOLL, D.L. **Transmission of *Ehrlichia canis* to dogs by ticks *Rhipicephalus sanguineus*.** American Journal of Veterinary Research, v. 36, n. 7, p.937-940.1975.

GUGLIELMONE, A.A. et al. The hard ticks of the world. **Springer, Dordrecht.** doi, v. 10, p. 978-94.2014.

HALOS, L., LEBERT, I., ABRIEL, D., DANLOIS, F., GARZIK, K., RODES, D., SCHILLMEIER, M., DUCROT, C., GUILLOT, J. **Questionnaire-based survey on the distribution and incidence of canine babesiosis in countries of Western Europe.** Parasite, v. 21, p.13.2014.

HARRUS, S., WANER, T., BARK, H., JONGEJAN, F., CORNELISSEN, A.W.C.A. **Recent advances in determining the pathogenesis of canine monocytic ehrlichiosis.** Journal of Clinical Microbiology, v.37, n.9, p.2745-2749.1999.

HARRUS, S. et al. **Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental *Ehrlichia canis* infection.** Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 48, p.4488-4490. 2004.

HARRUS, S., WANER, T. **Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis 172 (*Ehrlichia canis*): an overview.** The Veterinary Journal, v. 187, p.292-296.2011.

HEGARTY, B.C., MAGGI, R.G., KOSKINEN, P., BEALL, M.J., EBERTS, M., CHANDRASHEKAR, R., BREITSCHWERDT, E.B. ***Ehrlichia muris* infection in a dog from Minnesota.** Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 26, n. 5, p.1217-1220.2012.

HEILE, C., HOFFMANN, K. P., WEIMANN, A., SCHEIN, E. **Transmission time of tick-borne disease agents in dogs: *Borrelia*, *Anaplasma/Ehrlichia* and *Babesia*.** Praktische Tierarzt, v. 88, n. 8, p.584-590.2007.

HORAK, I.G., CAMICAS, J., KEIRANS, J.E. **The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names.** Experimental and Applied Acarology, v. 28, p.27–54.2002.

IRWIN, P.J. **Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control.** Parasites and Vectors, v. 26, 1-4.

JEFFERIES, R., RYAN, U.M., MUHLNICKEL, C.J., IRWIN, P.J. 2003. Two species of canine *Babesia* in Australia: detection and characterization by PCR. Journal of Parasitology, v. 89, p.409-412.2009.

JERICÓ, M.M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 2 v. 1ed. São Paulo: Roca, 2464p.2015.

JOKERST, J.C., ADKINS, J.A., BISHA, B., MENTELE, M.M., GOODRIDGE, L.D., HENRY, C.S. **Development of a paper-based analytical device for colorimetric detection of select foodborne pathogens**. Analytical Chemistry, v. 84, p.2900-2907.2012.

KEIRANS, J.E. **Systematics of the Ixodida (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae): An overview and some problems**. In **Tick Vector Biology. Medical and Veterinary Aspects** (B. H. Fivaz, T.N. Petney, and I.G. Horak,) ed. Springer- Verlag, Berlin, p.1-21.1992.

KEIRANS, J.E, ROBBINS, R.G. **A world checklist of genera, subgenera, and species of ticks (Acari: Ixodida) published from 1973- 1997**. Journal of Vector Ecology, v. 24, p.115-129.1999.

KIDD, L., BREITSCHWERDT, E.B. **Transmission time and prevention of tick-borne diseases in dogs**. Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian, v. 25, n. 10, p.742-751.2003.

KRAUSE, P.J., TELFORD, S., SPIELMAN, A., RYAN, R., MAGERA, J., RAJAN, T.V., CHRISTIANSON, D., ALBERGHINI, T.V., BOW, L., PERSING, D. **Comparison of PCR with blood smear and inoculation of small animals for diagnosis of *Babesia microti* parasitemia**. Journal of Clinical Microbiology, v. 34, p.2791-2794.1996.

KLOMPEN, H. **Ticks, the Ixodida**. In: Marquardt, W.C., Black, W.C., Freier, J.E., Hagedorn, H.H., Hemingway, J., Higgs, S., James, A.A., Kondratieff, B., Moore, C.G. **Biology of Disease Vectors**. 2<sup>o</sup>ed Colorado: Elsevier Academic Presss, p. 45-55.2005.

LABRUNA, M.B., McBRIDE, B.J.W., CAMARGO, L.M.A., AGUIAR, D.M., YABSLEY, M.J., DAVIDSON, W.R., STROMDAHL, E.Y., WILIAMSON, P.C., STICH, R.W., LONG, S.W., CAMARGO, E.F.P.A., WALKER, D.H. **A preliminary investigation of *Ehrlichia* species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil**. Veterinary Parasitology, v. 143, p.189-195.2007.

LABRUNA, M.B., GERARDI, M., KRAWCZAK, F.S., MORAES-FILHO, J. **Comparative biology of the tropical and temperate species of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) under different laboratory conditions**. Ticks and Tick-Borne Diseases, v. 8, p.146–156.2017.

LEISEWITZ, A.L., JACOBSON, L.S., DE MORAIS, H.S., REYERS, F. **The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis**. Journal of Veterinary Internal Medicine, v. 15, n. 5, p.445-52.2001.

LYMBERG, A.J., THOMPSON, R.C.A. **The molecular epidemiology of parasite infections: Tools and applications.** Molecular and Biochemical Parasitology, v. 181, p.102–116.2012.

LEWIS, B.D., PENZHORN, B.L., LOPEZ-REBOLLAR, L.M., DE WAAL, D.T. **Isolation of South African vector - specific strain of *Babesia canis*.** Veterinary Parasitology, v.63, p.9-16.1996.

LIBERATI, M.N.; ALVARES, A.A.A.; BETTINI, C.M. **Eficácia do diagnóstico laboratorial na erliquiose canina.** Anais do VI EPCC-Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, 27 a 30 de outubro de 2009.

LINS, W. **História10x.** Disponível em: < <http://historia10x.blogspot.com/2011/03/historia-de-maraba.html>. Acesso em: 04 de set 2019.

LUCENA, R.B., PIEREZAN, F., KOMMERS, G.D., IRIGOYEN, L.F., FIGHERA, R.A., BARROD, C.S.L. **Diseases of cattle in southern Brazil: 6.706 cases.** Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 30, p.428–434.2010.

MARTINEZ, A.W, PHILLIPS, S.T., WHITESIDES, G.M., CARRILHO, E. **Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices.** Analytical Chemistry, v. 82, p.3-10.2010.

MACIEIRA, D.B., MESSICK, J.B., CERQUEIRA, A.M., FREIRE, I.M., LINHARES, G.F., ALMEIDA, N.K., ALMOSNY, N.R. **Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brasil.** Veterinary Clinical Pathology, v.34, p.44-48.2005.

MACINTIRE, D.K., BOUDREAUX, M.K., WEST, G.D., BOURNE, WRIGHT, C.J.C., CONRAD, P.A. ***Babesia gibsoni* infection among dogs in the southeastern United States.** Journal of the American Veterinary Medicine Association, v. 220, n. 3, p.325-329.2002.

MACHADO, R.Z. **Ehlichiose canina.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, p.5-57.2004.

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

MENDONÇA, C.S., MUNDIM, A.V., COSTA, A.S., MORO, T.V. **Erliquiose canina: alterações hematológicas em cães domésticos naturalmente infectados.** Bioscience Journal, v. 21, p.167-174.2005.

MILKEN, V.M.F., CABRAL, D.D., FIGUEIREDO, J.F., GONÇALVES, C.L. **Ocorrência de babesiose canina no município de Uberlândia, Minas Gerais.** Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR, v. 7, n. 1, p.19-22.2004.

MORAES, A.P.G. **Erliquiose canina**. Monografia de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais, Universidade Castelo Branco, Ribeirão Preto, 2006. 52p.

MORAES-FILHO, J. et al. **New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil**. Vector Borne and Zoonotic Diseases, v. 9, n. 1, p.73-78.2009.

MORAES-FILHO, J., MARCILI, A., NIERI-BASTOS, F.A., RICHTZENHAIN, L.J., LABRUNA, M.B. **Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America**. Acta Tropica, v. 117, p.51–55.2011.

MORAES-FILHO, J., KRAWCZAK, F.S., COSTA, F.B., SOARES, J.F., LABRUNA, M.B. **Comparative evaluation of the vector competence of four South American populations of the *Rhipicephalus sanguineus* group for the bacterium *Ehrlichia canis*, the agent of caninemonocytic ehrlichiosis**. PLoSONE, v. 10, e0139386.2015.

MRLJAK, V., KULES, J., MIHALJEIC, Ž., TORTI, M., GOTIC, J., CRNOGAJ M., ŽIVICNAJAK, T., MAYER, I., ŠMIT, I., BHIDE, M., BARICRAFAJ, R. **Prevalence and geographic distribution of vector-borne pathogens in apparently healthy dogs in Croatia**. Vector-Borne Zoonotic Diseases, v. 17, p.398–408.2017.

MURASE, T., IWAI, M., MAEDE, Y. **Direct evidence for preferential multiplication of *Babesia gibsoni* in young erythrocytes**. Parasitological Research, v. 79, n. 4, p.269-71.1993.

NALUMBA, K.S., HANKANGA, C., MUDENDA, N.B., MASUKU, M. **The epidemiology of canine *Babesia* infections in Zambia** Prevent. Veterinary Medicine, v. 99, p.240–244.2011.

NAVA, S., MASTROPAOLO, M., VENZAL, J.M., MANGOLD, A.J., GUGLIELMONE, A.A. **Mitochondrial DNA analysis of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) in the Southern Cone of South America**. Veterinary Parasitology, vol. 21, n. 3-4, p.547-555.2012.

NAVA, S., ESTRADA-PEÑA, A., PETNEY, T., BEATI, L., LABRUNA, M.B., SZABO, M.P., GUGLIELMONE, A.A. **The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)**. Veterinary Parasitology, v. 208, p.2–8.2015.

NELSON, R.W., COUTO, C.G. **Medicina interna de pequenos animais**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 324p.2001.

NELSON, R.W., COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 5ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

NUTTALL, P.A. **Tick-borne viroses**. In: Biology of Ticks, ed D.E. Sonenshine and R.M. Roe, Oxford: Oxford University Press, p.180-210.2014.

OLIVEIRA, P.R., BECHARA, G.H., DENARDI, S.E., SAITO, K.C., NUNES, E., SZABO, M.P., MATHIAS, M. **Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) ticks from Brazil and Argentina.** *Veterinary Parasitology*, v. 129, p.139–147.2005.

OLICHESKI, A.T. **Comparação entre os métodos de coloração panótico rápido e Giemsa para diagnóstico de protozoários do gênero *Babesia* (Starcovici, 1893) e de riquetsias do gênero *Ehrlichia* (Ehrlich, 1888) em cães (*Canis familiaris*) no município de Porto Alegre, RS, Brasil.** Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 30p.2003.

ONU-HABITAT. **Perspectiva para o meio ambiente urbano.** GEO- Marabá/ coordenando por José de Andrade Raiol. Pará, Belém: [s.n],2010.

PARÁ. LEI Nº 17.846, DE 29 DE MARÇO DE 2018. **Dispõe sobre a revisão do plano diretor participativo do município de Marabá, instituído pela Lei Municipal no 17.213 de 09 de outubro de 2006, e dá outras providências.** Prefeitura Municipal de Marabá, Marabá,29 MarSeção 1, p.1.2018.

PARÁ. LEI Nº 15.725, DE 30 DE DEZEMBRO DE 1998. **Dispõe sobre o controle de animais, bem como sobre a prevenção e o controle das zoonoses no município de Marabá e dá outras providências.** Prefeitura Municipal de Marabá, Marabá, 30 Dez Seção 1, p.1. 1998.

PASSOS, L.M.F., GEIGER, S.M., RIBEIRO, M.F.B., PFISTER, K., ZAHLER-RINDER, M. **First molecular detection of *Babesia vogeli* in dogs from Brazil.** *Veterinary Parasitology*, v. 127, p.81-85.2005.

PELEG, O., BANETH, G., EYAL, O., INBAR, J., HARRUS, S. **Multiplex real-time qPCR for the detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia canis vogeli*.** *Veterinary Parasitology*, v. 173, n. 3-4, p.292-299.2010.

PEREIRA, J.C. **Erlichiose canina.** Monografia de Especialização em Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais, Universidade Castelo Branco, São José do Rio Preto, São Paulo, 20p.2006.

PIESMAN, J., MATHER, T.N., SINSKY, R.J., SPILMAN, A. **Duration of tick attachment and *Borrelia burgdorferi* transmission.** *Journal of Clinical Microbiology*, v. 25, p.557-558.1987.

PINTER, A., DIAS, R.A., GENNARI, S.M., LABRUNA, M.B. **Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae).** *Journal of Medical Entomology*, vol. 41, n. 3, p.324-332.2004.

PINTO, R.L. **Babesiose canina – relato de caso.** Monografia de Especialização em Clínica Médica de Pequenos Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Departamento de Ciências Animais, Porto Alegre, 26p.2009.

PEGRAM, R.G., CLIFFORD, C.M., WALKER, J.B., KEIRANS, J.E. **Classification of the *Rhipicephalus sanguineus* group I *Rhipicephalus sulcatus* and *Rhipicephalus turanicus***. Systematic Parasitology, v. 10, p.3-26.1987.

PERSING, D.H., MATHIESEN, D., MARSHALL, W.F., TELFORD, S.R., SPIELMAN, A., THOMFORD, J.W., CONRAD, P. A. **Detection of *Babesia microti* by polymerase chain reaction**. Journal of Clinical Microbiology, v. 30, n. 8, p.2097-103.1992.

PIRES, D.R., PEREIRA, B.B.N., AZEVEDO, L.A., FRECHETTE, M.F., COELHO, P.S.J., ABOUD, L.C.S. **Hemoparasitosis occurrence in dogs and cats assisted in unidade de diagnóstico, vigilância, fiscalização sanitária e medicina veterinária**. Disponível em: <[www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/342.pdf](http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/342.pdf)>. Acesso em 07 de janeiro de 2019.

RAIOL, J.A. **Perspectivas para o meio ambiente urbano: GEO Marabá**. Pará, Belém: [s.n.], 2010.

RAMAMOORTI, N., NARASIMHAN, S., PAL, U., BAO, F., YANG, X.F., FISH, D. et al. **The Lyme disease agent exploits a tick protein to infect the mammalian host**. Nature, v. 436, p.573–577. doi: 10.1038/nature03812.2005

RAMOS, C.A.N., RAMOS, R.A.N., ARAÚJO, F.R., GUEDES-JÚNIOR, D.S., SOUZA, I.I.F., ONO, T.M., VIEIRA, A.S., PIMENTE, D.S., ROSAS, E.O., FAUSTINO, M.A.G., ALVES, L.C. **Comparison of nested-PCR with blood smears examination in detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 18, supl. 1, p.58-62.2009.

RAMOS, R., RAMOS, C., ARAUJO, F., OLIVEIRA, I., PIETEL, D., GALINDO, M., SANTANA, M., ROSAS, E., FAUSTINO, M., ALVES, L. **Molecular survey and genetic characterization of tick-borne pathogens in dogs in metropolitan Recife (northeastern Brazil)**. Parasitology Research, v. 107, p.1115–1120.2010.

RISSI, D.R., PIEREZAN, F., OLIVEIRA-FILHO, J.C., LUCENA, R.B., CARMO, P.M.S., BARROS, C.S.L. **Diagnostic approaches for the main neurological diseases of ruminant and horses in Brazil**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 30, p.958–967.2010.

ROSA, F., CRESPO, M. V., FERREIRINHA, D., MORGADO, M., MADEIRA, M., SANTOS-SILVA, M., SANTOS, A., SOUSA, R. **Ticks on dogs and its role as vectors/ intermediate hosts Ribatejo and Oeste/Vale do Tejo, Portugal**. In: Proccidings of International Congress of Parasitology, Glasgow, Scotland, Medimond S.r.l. pp. 567–570.2006.

ROSA. F., CRESPO, M.V., ALMEIDA, J.P. 2010. **Ixodídeos em cães do concelho de Obidos. XIV Congresso Ibérico de Entomologia, Lugo**,

**Espanha, 2-5 Setembro.** (<http://hdl.handle.net/10400.15/179>) (accessed 24 mai 2019).

SÁ, A.G. **Babesiose canina.** Monografia de Especialização em Patologia Clínica Veterinária, Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, 48p.2007.

SAINZ, Á., ROURA, X., MIRÓ, G., ESTRADA-PEÑA, A., KOHN, B., HARRUS, S. **Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe.** Parasitology Vectors, v. 8, p.75.2015.

SAVAGE, H.M., GODSEY JR, M.S., LAMBERT. A., PANELLA, N.A., BURKHALTER, K.L., HARMON, J.R., LASH, R.R., ASHLEY, D.C., NICHOLSON, W.L. **First detection of heartland virus (Bunyaviridae: Phlebovirus) from field collected arthropods.** American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 89, n. 3, p.445-452.2013.

SHERDING, R.G. **Riquetsiose, erliquiose, anaplasmosose e neorriquetsiose.** In: BIRCHARD, S.J., SHERDING, R.G. Manual Saunders, clínica de pequenos animais. 3ªed. São Paulo: Roca. cap.17, p.182-189.2008.

SOLANO-GALLEGO, L., SAINZ, Á., ROURA, X., ESTRADA-PEÑA, A., MIRÓ, G. **A review of canine babesiosis: The European perspective.** Parasites and Vectors, v. 9, p.336-354.2016.

SOLANO-GALLEGO, L., BANETH. G. Babesiosis in dogs and cats - expanding parasitological and clinical spectra. Veterinary Parasitology, v. 181, p.48-60.2011.

SONENSHINE, D., ANDERSON, J. **Mouthparts and digestive system.** In: Biology of Ticks, 2nd Edn., eds. D. E. Sonenshine and R. Michael Roe, New York, NY: Oxford University Press, 122–162.2014.

SOUSA, M.G., HIGA, A.C., GERARDI, D.G., TINUCCI-COSTA, M., MACHADO, R.Z. **Tratamento da erliquiose canina de ocorrência natural com doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb.** Revista de Ciências Agroveterinárias, v. 3, n. 2, p.126-130.2004.

SOUZA, B.M.P.S., LEAL, D.C., BARBOZA, D.C.P.M., UZÊDA, R.S., ALCÂNTARA, A.C., FERREIRA, F., LABRUNA, M.B., GONDIM, L.F.G., FRANKE, C.R. **Prevalence of Ehrlichial infection among dogs and ticks in Northeastern Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 19, n. 2, p.89-93.2010.

SOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z.; MORAES-FILHO, J.; ZAGO, A.M.; DONATELE, D.M.; PINHEIRO, S.R.; SILVEIRA, I.; CALIARI, K.M.; YOSHINARI, N.H. **Survey for Tick-borne zoonoses in the State of Espírito Santo, Southeastern Brazil.** The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, v. 83, n. 1, p. 201-206, 2010.

SPOLIDORIO, M.G., TORRES, M.M., CAMPOS, W.N., MELO, A.L., IGARASHI, M., AMUDE, A.M., **Molecular detection of *Hepatozoon canis* and *Babesia canis vogeli* in domesticated dogs from Cuiabá. Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 20, n. 3, p.253-255.2011.

SHIBATA, S.I., KAWAHARA, M., RIKIHISA, Y., FUJITA, H., WATANABE, Y., SUTO, C., ITO, T. **New *Ehrlichia* species closely related to *Ehrlichia chaffeensis* isolated from *Ixodes ovatus* ticks in Japan.** Journal of Clinical Microbiology, v.38, p.1331-1338.2000.

SZABO, M.P.J., MANGOLD, A.J., JOÃO, C.F., BECHARA, G.H., GUGLIELMONE, A.A. **Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America.** Veterinary Parasitology, v. 130, p.131-140.2005.

TABOADA, J. LOBETTI, R. **Babesiosis.** In: GREENE, E.C. Infectious Diseases of the dog and cat. 3<sup>o</sup> ed. Elsevier, p.722-736.2006.

TANIKAWA, A., LABRUNA, M.B., COSTA, A., AGUIAR, D.M., JUSTINIANO, S.V., MENDES, R.S., MELO, A.L.T., ALVES, S.J., AZEVEDO, S.S. ***Ehrlichia canis* in dogs in a semiarid region of Northeastern Brazil: Serology, molecular detection and associated factors.** Research Veterinary Science, v. 94, p.474-477.2013.

TIZARD, I.R. **Imunologia veterinária: uma introdução.** 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009.

TOURINHO, H.L.Z. **Planejamento urbano em área de fronteira econômica: o caso Marabá.** Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Pará, Núcleo de Altos Estudos da Amazônia, Curso Internacional de Desenvolvimento em Planejamento do Desenvolvimento, Belém, 1991.

UNGAR DE SÁ, M.F.M., UNGAR DE SÁ, J.E., BITTENCOURT, D.V.V., BISPO, A.C., RÉGIS, A.M.M., SOUZA FILHO, N.J., GOMES NETO, C.M.B., SOUZA, B.M.P.S., BITTENCOURT, T.C.C., FRANKE, C.R. **Estudo retrospectivo (1991-2005) dos casos de babesiose canina na cidade de Salvador e Região Metropolitana, Bahia.** Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal, v. 8, p.178-183.2007.

VALLI, V.E.O., KIUPEL, M., BIENZLE, D. **Hematopoietic system.** In: 6th ed. Maxie, M.G. (Ed.), Jubb, Kennedy, and Palmer's – Pathology of Domestic Animals 3. Elsevier, St. Louis, p.117-120.2017.

VAYSSIER-TAUSSAT, KAZIMIROVA, M., HUBALEK, M., HORNOK, Z., FARKAS, S.R., COSSON, J.F. **Emerging horizons for tick-borne pathogens: from the “one pathogen-one disease” vision to the pathobiome paradigm.** Future Microbiology, v. 10, n. 12, p.2033-243.2015.

VIEIRA, R.F.C., BIONDO, A.W., GUIMARÃES, A.M.S., SANTOS, A.P., SANTOS, R.P., DUTRA, L.H., DINIZ, P.P.V.P., MORAIS, H.A., MESSICK, J.B.,



LABRUNA, M.B., VIDOTTO, O. **Ehrlichiosis in Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 20, n. 1, p.1-12.2011.

VIEIRA, F.T., ACOSTA, I., MARTINS, T.F., MORAES-FILHO, J., KRAWCZAK, F.S., BARBIERI, A.R.M., EGERT, L., FERNANDES, D.R., BRAGA, F.R., LABRUNA, M.B., DIETZE, R. **Tick-borne infections in dogs and horses in the state of Espírito Santo, Southeast Brazil**. Veterinary Parasitology, v. 249, p.43-48.2018.

WANER, C.K., HARRUS, S., BARK, H., BOGIN, E., AVIDAR, Y., KEYSARY, A., CORNELISSEN, A.W.C.A. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. Veterinary Parasitology, v. 95, p.1-15. 2001.

WHITWORTH, W.C, GOODWIN, D.J, RACSTER, L, et al. **Variability of the QuantiFERON(R)-TB gold in-tube test using automated and manual methods**. PLoS ONE, v. 9, e86721. 14.2014.

ZANG, H., CHANG, Z., MEHMOOD, K., WANG, Y., REHMAN, M., NABI, F., SABIR, A.J., LIU, X., WU, X., TIAN, X., ZHOU, D. **First report of Ehrlichia infection in goats, China**. Microbial Pathogenesis, doi: 10.1016/j.micpath.2017.07.012.2017.

ZEMTSOVA, G.E., APANASHKEVICH, D.A., REEVES, W.K., HAHN, M., SNELLGROVE, A., LEVIN, M.L. **Phylogeography of Rhipicephalus sanguineus sensu lato and its relationships with climatic factors**. Experimental and Applied Acarology, v. 69, p.191-203.2016.