

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores

INVESTIGAÇÃO DE *BORRELIA* sp. NA RESERVA BIOLÓGICA DE  
DUAS BOCAS, ÁREA DE INTERESSE EPIDEMIOLÓGICO NO  
ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

MARCOS ANTÔNIO CORREIA RODRIGUES DA CUNHA

Rio de Janeiro  
Setembro de 2019



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Programa de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores**

*MARCOS ANTÔNIO CORREIA RODRIGUES DA CUNHA*

INVESTIGAÇÃO DE *BORRELIA* sp. NA RESERVA BIOLÓGICA DE DUAS BOCAS, ÁREA DE INTERESSE EPIDEMIOLÓGICO NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

Dissertação apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Vigilância e Controle de Vetores.

**Orientador:** Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta

**RIO DE JANEIRO**

Setembro de 2019

## FICHA CATALOGRÁFICA

Cunha, Marcos Antônio Correia Rodrigues da Cunha

Investigação de borrelia sp. na reserva biológica de duas bocas, área de interesse epidemiológico no estado do Espírito Santo, Brasil / Marcos Antônio Correia Rodrigues da Cunha. – Rio de Janeiro, 2020.

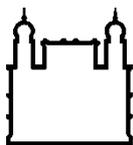
xviii, 95 f. ; il.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Vigilância e Controle de vetores, 2020.

Orientador: Gilberto Salles Gazêta

Bibliografia: p.38-45

1. Borrelia Burgdorferi. 2. Doença do Lyme. 3. Vigilância Epidemiológica. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## **INSTITUTO OSWALDO CRUZ**

**Programa de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores**

*MARCOS ANTÔNIO CORREIA RODRIGUES DA CUNHA*

### **INVESTIGAÇÃO DE *BORRELIA* sp. NA RESERVA BIOLÓGICA DE DUAS BOCAS, ÁREA DE INTERESSE EPIDEMIOLÓGICO NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta

**Aprovada em:** 12/09/2019

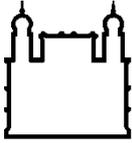
#### **EXAMINADORES:**

**Prof. Dr. Mário Sérgio Ribeiro - Presidente** (Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz)

**Prof. Dr. Ary Elias Aboud Dutra** (Universidade Castelo Branco/UCB)

**Prof. Dr. Roberto do Val Vilela** (Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz)

Rio de Janeiro, 12 de Setembro de 2019



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
**Fundação Oswaldo Cruz**

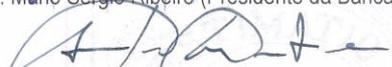


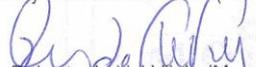
Ministério da Saúde

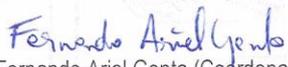
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

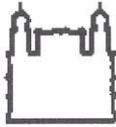
Ata da defesa de dissertação de mestrado profissional em Vigilância e Controle de Vetores de **Marcos Antonio Correia Rodrigues da Cunha**, sob orientação do Dr. Gilberto Salles Gazeta. Ao décimo segundo dia do mês de setembro de dois mil e dezenove, realizou-se às treze horas, no Auditório Carlos Chagas/FIOCRUZ, o exame da dissertação de mestrado profissional intitulada: **“Investigação de *Borrelia* sp. na Reserva Biológica de Duas Bocas, área de interesse epidemiológico no estado do Espírito Santo, Brasil”**, no programa de Pós-graduação em Vigilância e Controle de Vetores do Instituto Oswaldo Cruz, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências - área de concentração: Epidemiologia e controle de vetores, na linha de pesquisa: Vigilância. A banca examinadora foi constituída pelos Professores: Dr. Mário Sergio Ribeiro - SES/RJ (Presidente), Dr. Ary Elias Aboud Dutra - UCB/RJ, Dr. Roberto do Val Vilela - IOC/FIOCRUZ e como suplentes: Dr<sup>a</sup>. Heloiza Helena de Oliveira Morelli Amaral – SES/RJ e Dr<sup>a</sup>. Cristina Maria Giordano Dias – SES/RJ. Após arguir o candidato e considerando que o mesmo demonstrou capacidade no trato do tema escolhido e sistematização da apresentação dos dados, a banca examinadora pronunciou-se pela APPROVAÇÃO da defesa da dissertação de mestrado profissional. De acordo com o regulamento do Curso de Pós-Graduação em Vigilância e Controle de Vetores do Instituto Oswaldo Cruz, a outorga do título de Mestre em Ciências está condicionada à emissão de documento comprobatório de conclusão do curso. Uma vez encerrado o exame, o Coordenador do Programa, Dr. Fernando Ariel Genta, assinou a presente ata tomando ciência da decisão dos membros da banca examinadora. Rio de Janeiro, 12 de setembro de 2019.

  
Dr. Mário Sergio Ribeiro (Presidente da Banca):

  
Dr. Ary Elias Aboud Dutra (Membro da Banca):

  
Dr. Roberto do Val Vilela (Membro da Banca):

  
Dr. Fernando Ariel Genta (Coordenador do Programa):



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

FICHA DE AVALIAÇÃO DO CURSO DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA E CONTROLE DE VETORES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE MESTRE EM CIÊNCIAS

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DE VETORES

**“Investigação de *Borrelia* sp. na Reserva Biológica de Duas Bocas, área de  
interesse epidemiológico no estado do Espírito Santo, Brasil”**

Candidato: Marcos Antonio Correia Rodrigues da Cunha.

Examinador (a): Dr. Mário Sergio Ribeiro

Avaliação: APROVADO

Rio de Janeiro, 12 de setembro de 2019.

\_\_\_\_\_



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

FICHA DE AVALIAÇÃO DO CURSO DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA E CONTROLE DE VETORES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE MESTRE EM CIÊNCIAS

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DE VETORES

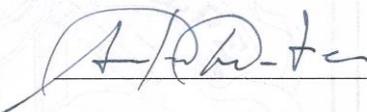
**“Investigação de *Borrelia* sp. na Reserva Biológica de Duas Bocas, área de  
interesse epidemiológico no estado do Espírito Santo, Brasil”**

Candidato: Marcos Antonio Correia Rodrigues da Cunha.

Examinador (a): Dr. Ary Elias Aboud Dutra

Avaliação: Aprovado

Rio de Janeiro, 12 de setembro de 2019.

  
\_\_\_\_\_



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

FICHA DE AVALIAÇÃO DO CURSO DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA E CONTROLE DE VETORES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO  
DE MESTRE EM CIÊNCIAS

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DE VETORES

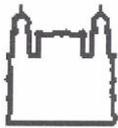
**“Investigação de *Borrelia* sp. na Reserva Biológica de Duas Bocas, área de  
interesse epidemiológico no estado do Espírito Santo, Brasil”**

Candidato: Marcos Antonio Correia Rodrigues da Cunha.

Examinador (a): Dr. Roberto do Val Vilela

Avaliação: Aprovado

Rio de Janeiro, 12 de setembro de 2019.



Ministério da Saúde

Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Oswaldo Cruz

ADENDO À ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO PROFISSIONAL EM VIGILÂNCIA E CONTROLE DE VETORES DE MARCOS ANTONIO CORREIA RODRIGUES DA CUNHA

Correções sugeridas pela Banca Examinadora a serem efetuadas pelo Pós-Graduando no prazo de 90 dias:

O aluno foi aprovado, devendo fazer pequenos ajustes no texto, por sugestão dos membros da banca.

Data da defesa: 12/09/19

Assinatura do Presidente da Banca

Av. Brasil, 4365 Manguinhos Rio de Janeiro RJ Brasil CEP: 21040-36  
Contatos: (21) 2562-1201 / 2562-1299 E-mail: [atendimentoeac@ioc.fiocruz.br](mailto:atendimentoeac@ioc.fiocruz.br) Site: [www.fiocruz.br/iocensino](http://www.fiocruz.br/iocensino)

Dedico esta monografia a toda a minha família, pela força, carinho e compreensão durante a realização deste curso.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por sua fidelidade e por ter me sustentado com paz, saúde e felicidade durante esta caminhada.

A meus pais, por nunca medirem esforços para apoiar meus estudos, por sempre me incentivarem a ser uma pessoa melhor e, acima de tudo, por todo amor.

Ao orientador, pela disponibilidade e dedicação desprendida.

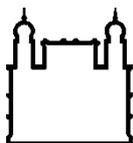
As equipes dos Laboratórios de Referência Nacional em Vetores de Riquetsioses, Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Reservatórios Silvestres e a Secretaria de Estado do Espírito Santo, pois sem eles esse projeto não teria acontecido.

Aos professores por compartilharem, de forma tão desprendida, seus conhecimentos.

Aos colegas e amigos, por serem tão especiais e me proporcionarem momentos únicos que vou sempre lembrar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – pelo apoio - Código de Financiamento 001.

Que todos os nossos esforços estejam sempre focados no desafio à impossibilidade.  
Todas as grandes conquistas humanas vieram daquilo que parecia impossível  
(Charles Chaplin).



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

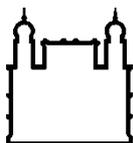
### INVESTIGAÇÃO DE *BORRELLA* sp. EM ÁREA DE INTERESSE EPIDEMIOLÓGICO NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL

#### RESUMO

#### DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM VIGILÂNCIA E CONTROLE DE VETORES

MARCOS ANTÔNIO CORREIA RODRIGUES DA CUNHA

A Doença de Lyme (DL) é uma zoonose transmitida por carrapatos e causada por *Borrelia burgdorferi* sl. Tem clínica variável e evolução crônica, sendo considerada um agravo desabilitante severo. No Brasil, é diagnosticada em todas as regiões, com maior agregado de casos reconhecidos para o Estado do Espírito Santo (ES). Entretanto, os fatores predisponentes e determinantes para a manutenção e transmissão de seu bioagente ainda não são identificados no país, o que limita criticamente as ações preventivas e de controle. A identificação das espécies de borrelíias circulantes na área de estudo permitirá inferir sobre a fauna de vetores e vertebrados envolvidos no ciclo de DL, bem como orientar ações em saúde. O objetivo desse projeto é a caracterização do ciclo de *Borrelia* sp. na reserva biológica de Duas Bocas, município de Cariacica / ES, área considerada como foco ativo de DL e com cenário ecoepidemiológico favorável à circulação deste bioagente. Entre novembro de 2016 e agosto de 2018 foram feitas duas investigações na área da reserva. Foram coletados 5.843 espécimes de potenciais vetores e capturados 145 espécimes de vertebrados. Novecentos e doze espécimes de potenciais vetores, distribuídos em 233 amostras, e 24 amostras de sangue foram submetidas à Reação em Cadeia pela Polimerase para a pesquisa de fragmentos do gene 16S, gênero-específico para *Borrelia* spp. Nenhuma amostra analisada foi positiva.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

## INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RESEARCH OF *BORRELLA* sp. IN THE AREA OF EPIDEMIOLOGICAL INTEREST IN THE STATE OF ESPIRITO SANTO, BRAZIL

### ABSTRACT

#### MASTER DISSERTATION/PHD THESIS IN VIGILANCE AND CONTROL OF VECTORS

MARCOS ANTÔNIO CORREIA RODRIGUES DA CUNHA

Lyme disease (DL) is a zoonosis transmitted by ticks and caused by bacteria of the genus *Borrelia*. It has variable clinical and chronic evolution, being considered a severe disabling illness. In Brazil, it is diagnosed in all regions, with the highest number of cases recognized for the State of Espírito Santo (ES). However, the predisposing and determinant factors for the maintenance and transmission of its bioagent are not yet identified in the country, which critically limits preventive and control actions. The identification of the species of circulating spores in the study area will allow to infer about the fauna of vectors and vertebrates involved in the DL cycle, as well as guiding actions in health. The objective of this project is the characterization of the cycle of *Borrelia* sp. in the biological reserve of Duas Bocas, Cariacica / ES, an area considered as an active focus of DL and with an ecoepidemiological scenario favorable to the circulation of this bioagent. Between November 2016 and August 2018 two investigations were made in the reserve area. A total of 5,833 specimens of potential vectors were collected and 145 vertebrate specimens were captured. Nine hundred and twelve specimens of potential vectors, distributed in 233 samples, and 24 blood samples have been submitted to Polymerase Chain Reaction to investigate fragments of the 16S gene, specific for *Borrelia* spp. No analyzed sample was considered positive.

## SUMÁRIO

Agradecimentos.....	x
Índice .....	xiv
Índice de Figuras .....	xvi
Lista de Tabelas .....	xvii
Lista de Siglas e Abreviaturas .....	xviii
<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
Justificativa .....	5
<b>OBJETIVOS</b>	<b>6</b>
Objetivo Geral .....	6
Objetivos Específicos.....	6
<b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>7</b>
Área de Estudo.....	7
Captura de Vertebrados .....	8
Coleta de Ectoparasitas .....	11
Coleta em ambiente .....	12
Coleta de Tecidos .....	15
Identificação de Potenciais Vetores.....	17
Biologia Molecular .....	18
Pesquisa do Bioagente .....	19
<b>RESULTADOS</b>	<b>23</b>
<b>DISCUSSÃO</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSÕES</b>	<b>37</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>38</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>46</b>
ANEXO A – Autorização de Pesquisa .....	46
ANEXO B – Licença permanente para coleta de material zoológico. 50	
ANEXO C – Autorização para atividades com finalidade científica... 52	

## APÊNDICES

56

- Apêndice A – Identificação molecular de carrapatos coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho a 10 de agosto de 2018..... 56**
- Apêndice B – Identificação molecular de carrapatos coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho a 10 de agosto de 2018..... 61**
- Apêndice C – Amostras de potenciais vetores de *Borrelia* sp. submetidos a análise por biologia molecular, coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 21 a 25 de novembro de 2016 e de 28 de julho a 10 de agosto de 2018.....63**
- Apêndice D – Amostras de vertebrados submetidos a análise por biologia molecular, coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 21 a 25 de novembro de 2016 e de 28 de julho a 10 de agosto de 2018.....74**

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Área de coleta evidenciando as trilhas de captura de roedores e marsupiais (linhas) e principal área de circulação de humana.....	8
Figura 2 - Área de coleta evidenciando os locais de coleta de potenciais vetores em ambiente, captura de morcegos e aves. ....	9
Figura 3 – Captura de Morcegos na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Captura com puçá. B) Captura com rede de Neblina.	10
Figura 4 - Captura de aves na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil.....	11
Figura 5 – Coleta de carrapatos em vertebrados na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Ninfa em <i>Sporophila nigricollis</i> (seta vermelha). B) Larvas (setas vermelhas) em <i>Cariama cristata</i> .....	11
Figura 6 – Coleta de ectoparasitos em vertebrados capturados na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica/ES, Brasil: A) Marsupiais. B) Morcegos. ....	12
Figura 7 – Coleta de carrapatos em ambiente com gelo seco na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Armadilha de gelo seco. B) Ninfa de carrapato sendo atraída (seta vermelha).....	13
Figura 8 – Coleta de carrapatos em ambiente pela técnica de arrasto na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil.....	14
Figura 9 – Coleta de carrapatos em ambiente por busca visual na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica/ES, Brasi: A) Galinheiro. B) Galpão. .	14
Figura 10 – anestesia de marsupial na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil.....	15
Figura 11 – Coleta de material biológico em pequenos mamíferos capturados na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil. A) Coleta de sangue. B) Coleta de baço.....	16
Figura 12 - Coleta de sangue em aves capturadas na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil.....	17

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para identificação genotípica de espécies de carrapatos.....	19
Tabela 2. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para identificação genotípica de espécies de <i>Borrelia</i> .....	20
Tabela 3 – Marsupiais, roedores e morcegos capturados e/ou examinados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho e 10 de agosto de 2018.....	23
Tabela 4 – Aves capturadas e/ou examinadas na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho e 10 de agosto de 2018 .....	24
Tabela 5 - Espécies de potenciais vetores de <i>Borrelia</i> sp. coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 21 a 25 de novembro de 2016 e de 28 de julho a 10 de agosto de 2018 .....	25

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BL	Borreliose de Lyme
DL	Doença de Lyme
DLS	Doença de Lyme Símile
ELISA	Ensaio de Imunoadsorção Enzimática
EM	Eritema Migratório
ES	Espírito Santo
EUA	Estados Unidos da América
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
LABPMR	Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios
LAMP	Amplificação isotérmica mediada por loop
LIRN	Laboratório de Referência Nacional em Vetores de Riquetsioses
MS	Ministério da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase convencional
SBY	Síndrome de Baggio Yoshinari

## INTRODUÇÃO

A doença de Lyme (DL) é uma antropozoonose multissistêmica, de evolução crônica e clínica variável. Tem distribuição mundial, com concentração de casos reconhecidos nas regiões temperadas do hemisfério norte, sendo considerada endêmica em diferentes áreas da América do Norte, Europa e Ásia, ocorrendo principalmente no período da primavera e verão<sup>1,2,3</sup>.

O Eritema Migratório (EM) é um *rash* cutâneo que surge na DL, no local da picada do carrapato, poucos dias após a inoculação do bioagente, e precede todas as fases da doença, sendo utilizado como marcador para o diagnóstico por ser considerado o sinal de maior frequência clínica. Sinais e sintomas comuns na fase inicial da doença incluem achados inespecíficos como febre, mialgias, dor de cabeça, artralgias e linfadenopatias. Manifestações clínicas nas fases mais avançadas incluem quadros cardíacos, musculoesqueléticos, neurológicos e de artropatias, sendo considerada uma doença debilitante severa<sup>3,4,5,6,7,8</sup>.

A DL é causada por bactérias unicelulares, helicoidais, finas, alongadas e muito móveis, sem parede celular rígida, com comprimento entre 10-30 µm e diâmetro entre 0,2–0,3 µm, classificadas como gênero *Borrelia*<sup>9,10</sup>. Estas bactérias pertencem ao filo Spirochaetes, classe Spirochaetia e à ordem Spirochaetales, que inclui três famílias, todas com importância em saúde pública: Spirochaetaceae (com destaque para o próprio gênero *Borrelia* e para o gênero *Treponema*), Leptospiraceae (com algumas espécies patogênicas dentro do gênero *Leptospira*) e Brachyspiraceae<sup>11,12</sup>.

Borrélias responsáveis pela DL ou Borreliose de Lyme, pertencem ao complexo *Borrelia burgdorferi sensu lato* e incluem, atualmente, 20 genoespécies conhecidas,

sendo que existem outras espécies que ainda necessitam de caracterização filogenética. Atualmente, oito destas genoespécies são clinicamente relevantes: *B. burgdorferi* s.s., *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. lusitaniae*, *B. valasiana*, *B. bavariensis*, *B. bissettii* e *B. spielmanii*. As genoespécies *B. burgdorferi* s.s., *B. afzelii*, *B. garinii* têm sido as mais diretamente relacionadas às manifestações clínicas<sup>13,14,15,16,17</sup>.

Diferentes artrópodes podem se infectar com *B. burgdorferi* s.l., mas somente carrapatos parecem ter importância como vetores no seu ciclo epidêmico, variando em espécie, segundo o continente, sendo carrapatos do gênero *Ixodes* considerados os principais transmissores<sup>4,5,13,18,19,20,21,22</sup>. Além da transmissão dessas espiroquetas via carrapatos, alguns autores observam a possibilidade de outras vias de transmissão, como transfusão sanguínea, transplante de tecido, via congênita, infecção oral e ectoparasitos hematófagos. No entanto, essas formas de transmissão não são consideradas na casuística da doença<sup>23,24,25,26</sup>.

O Ciclo enzoótico no foco natural ocorre pela ingestão de *B. burgdorferi* s.l. pelo carrapato durante seu repasto sanguíneo em vertebrados reservatórios. O carrapato infectado faz a ecdise no ambiente e procura um novo vertebrado para se alimentar, dando continuidade à circulação da borrelia na área. Larvas e ninfas de carrapatos infestam e contraem a infecção principalmente ao se alimentarem em animais de pequeno porte, enquanto os artrópodes adultos transmitem para os mamíferos de grande porte. O homem contrai a zoonose ao ser picado pelo carrapato infectado, principalmente pelas ninfas, que pelo seu tamanho diminuto, nem sempre são percebidas<sup>5,27,28</sup>.

No Brasil, aparentemente a DL é relatada a partir de 1987<sup>6,29,30</sup>. Desde então, considerou-se haver diferenças significativas em aspectos epidemiológicos e clínico-laboratoriais entre a doença presente no Brasil e a DL. Dessa forma, Gauditano et al. sugeriram a mudança de nomenclatura da enfermidade para Síndrome de Baggio-

Yoshinari (SBY), no intuito de desvincular a doença brasileira da DL e incentivar as pesquisas desta enfermidade emergente no país<sup>6,31</sup>.

Assim, por exemplo, o EM, lesão clássica na DL, inicia-se em média oito a nove dias após a picada, no sítio de inoculação da *B. burgdorferi* s.l., onde pode-se observar uma mácula ou pápula avermelhada, expandindo-se de forma centrífuga, que classicamente atinge diâmetro superior a 5 cm. No Brasil, os dados disponíveis indicam que o EM aparece em média 30 dias após a picada do carrapato, perdurando por período que varia de poucos dias a meses. O eritema é geralmente uniforme em sua fase inicial, resultando em uma placa avermelhada em expansão com diferentes intensidades dessa cor, podendo surgir uma pápula no centro, correspondendo ao local da picada do carrapato<sup>32</sup>.

As técnicas sorológicas têm sido amplamente utilizadas para pesquisa de anticorpos anti-IgG e anti-IgM no país, tanto em humanos quanto em animais, nas áreas consideradas de risco ou enzoótica para a borrelioses, servindo como suporte na confirmação de casos clínicos e para definir o perfil epidemiológico dessa enfermidade no território brasileiro. O ensaio ELISA indireto é o método mais utilizado para fins de diagnóstico e levantamento epidemiológico, em todas as regiões onde a borreliose é descrita, sendo considerado a principal ferramenta para diagnóstico desta enfermidade<sup>33</sup>.

Cada técnica de detecção de anticorpos tem vantagens e desvantagens quanto à sensibilidade, especificidade, facilidade de padronização e custo. Entretanto o ELISA é o mais empregado e reconhecido método para diagnosticar eficazmente a borreliose. Porém, devem ser estabelecidos critérios, padrões de controle adequados, com o título mínimo e linha de corte (“cutoff”) seguros. Neste contexto os “kits” comerciais para diagnóstico devem ser evitados, devido a possibilidade de ocorrência de reações cruzadas com outras espécies de *Borrelia* spp.<sup>7,8,34</sup>.

Diferentes tipos de antígenos podem ser utilizados na pesquisa de anticorpos anti-*Borrelia* spp., além do extrato de célula total sonicado da *B. burgdorferi*, como as proteínas recombinantes<sup>35</sup>, os peptídeos e até mesmo as espiroquetas íntegras. Porém, estas demonstraram resultados inferiores, quando comparado aos outros tipos de antígenos. Várias proteínas de superfície de *B. burgdorferi* foram avaliadas para atuarem como antígeno em testes sorológicos, entretanto esta espiroqueta produz distintas proteínas externas de membrana durante a infecção em mamíferos<sup>36</sup>.

Segundo Mantovani, embora testes como o ELISA e WB sejam úteis do ponto de vista prático para método diagnóstico, estes devem ser interpretados com muita cautela, devido a possível ocorrência de falsos negativos e positivos<sup>37</sup>. Yoshinari et al. afirmam ainda, que deve-se levar em consideração que os títulos dos ensaios no país são baixos e flutuantes e que a interpretação dos resultados de sorologias realizadas com metodologias adaptadas ao nosso meio é diferente das realizadas nos EUA e Europa e Ásia<sup>2</sup>.

SBY, Lyme símile, Lyme-Like ou Borreliose Brasileira está assinalada em todas as regiões do país, com casos concentrados nos estados da região Centro Oeste, Sudeste e Sul (Paraná), envolvendo o bioma Cerrado e parte do bioma Mata Atlântica. Entretanto, apesar de seu reconhecimento clínico e sorológico no território nacional, os fatores predisponentes e determinantes para a manutenção e transmissão de seu bioagente ainda não são identificados, o que limita criticamente as ações preventivas e de controle. A principal dificuldade para o reconhecimento da Doença de Lyme no Brasil é o fato de não haver o isolamento do bioagente em humanos, hospedeiros vertebrados ou vetores<sup>2,30,38,39,40,41,42</sup> nas áreas consideradas endêmicas, o que não parece ser incomum para diferentes focos reconhecidos de DL no mundo<sup>4,43,44</sup>. Diversas espécies de vertebrados e vetores foram apontadas como potencialmente envolvidas no ciclo da

SBY. Entretanto, em que pese achados clínicos, epidemiológicos e sorológicos, poucos estudos tem conseguido alguma evidência da circulação de seu agente etiológico<sup>45,46</sup>.

### **Justificativa**

O Espírito Santo (ES) é o estado brasileiro com o maior agregado de casos registrados de Doença de Lyme<sup>42</sup>. O Núcleo Especial de Vigilância Epidemiológica do ES vem investigando casos clínico notificados em grande parte dos municípios do estado. Entretanto, a análise de amostras coletadas durante o período mórbido não têm obtido êxito no isolamento do bioagente causador da Doença de Lyme.

O encontro do microrganismo em potenciais vetores ou hospedeiros vertebrados, associados aos registros de casos, permitirá maior robustez aos critérios diagnósticos, especialmente os epidemiológicos, e permitirão a obtenção de indicadores de vulnerabilidade que deverão nortear as estratégias para prevenção e controle do agravo.

Este estudo faz parte do Projeto "Investigação Ecoepidemiológica de Borrelioses de Interesse Médico no Brasil", apoiado pelo Ministério da Saúde (TED 148/2017), envolvendo os Estados do Espírito Santo, Paraná, Tocantins e Minas Gerais, que juntos apresentam os maiores agregados de casos notificados e sorologia positiva para Doença de Lyme no Brasil<sup>42</sup>.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo Geral**

Investigar a ocorrência de *Borrelia burgdorferi sensu lato* em área com registros sorológicos de casos humanos de Doença de Lyme e características ecoepidemiológicas propensas ao desenvolvimento do ciclo de borrelíias.

### **Objetivos Específicos**

Pesquisar a presença de *Borrelia sp.* em potenciais vetores e vertebrados na área de estudo.

Identificar as espécies de borrelíias circulantes na área de estudo

Caracterizar a fauna de vetores e vertebrados envolvidos no ciclo da doença de Lyme na área de estudo.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Área de Estudo

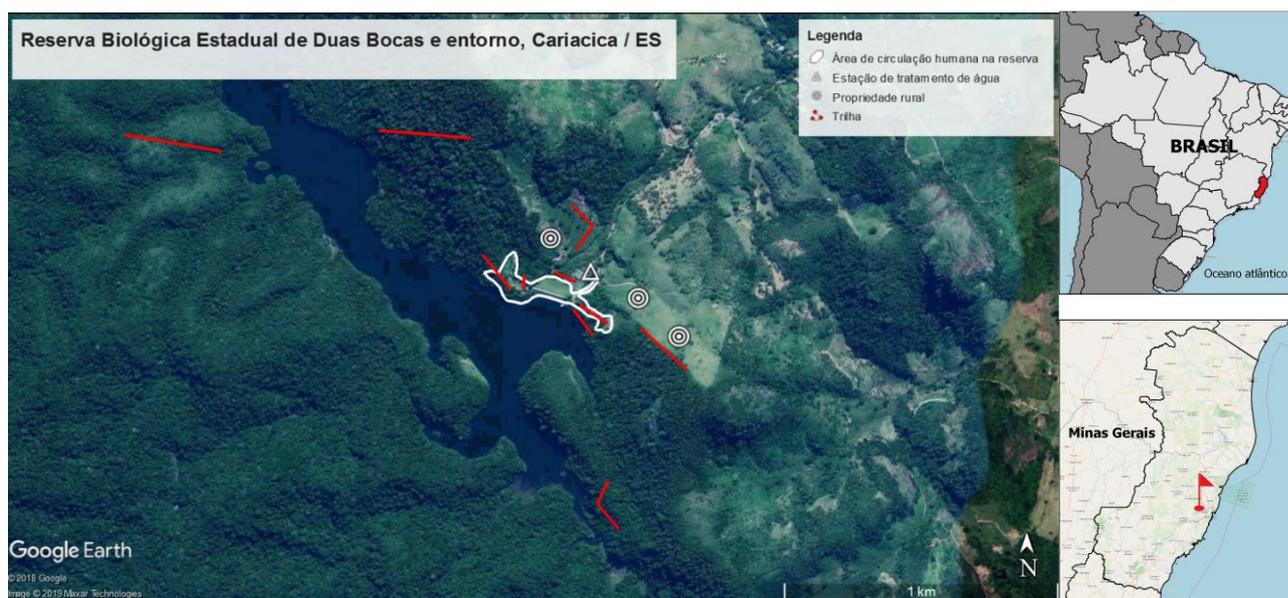
As coletas de campo foram realizadas entre 21 e 25 de novembro de 2016 e entre 28 de julho e 10 de agosto de 2018, na reserva biológica de Duas Bocas, município de Cariacica / ES, em locais preservados ou com acesso de humanos, bem como em áreas antropizadas do entorno da reserva, sujeita ao efeito de borda (Figura 1). As coletas foram feitas em parceria entre equipes das Secretarias Estadual e Municipais da Saúde do ES, o Laboratório de Referência Nacional em Vetores de Riquetsioses (LIRN), do Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Silvestres Reservatórios (LABPMR), ambos do Instituto Oswaldo Cruz / Fiocruz, e autorizadas por:

- 1) Autorização de Pesquisa GRN nº 026<sup>a</sup>-2017 (processo nº 755612/1/16 – Atualização), do Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos do Estado do Espírito Santo (IEMA / ES) (Anexo A).
- 2) Licença Permanente para coleta de material zoológico nº 13373-1, do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, do Ministério do Meio ambiente (ICMBio / MMA) (Anexo B).
- 3) Autorização para atividade com finalidade científica nº 63023-1, do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, do Ministério do Meio ambiente (ICMBio / MMA) (Anexo C).

## Captura de Vertebrados

### Roedores e marsupiais

Duzentos e cinquenta armadilhas modelo Sherman e 250 armadilhas modelo Tomahawk foram utilizadas nas capturas de roedores e marsupiais. As armadilhas foram iscadas com uma mistura de banana, pasta de amendoim, aveia e sardinha, e armadas, em transectos, a uma distância de vinte metros uma da outra, por cinco dias consecutivos, em dez diferentes pontos (trilhas, Figura 1). As cinco trilhas mais próximas à área de circulação humana foram amostradas durante a primeira coleta (2016).

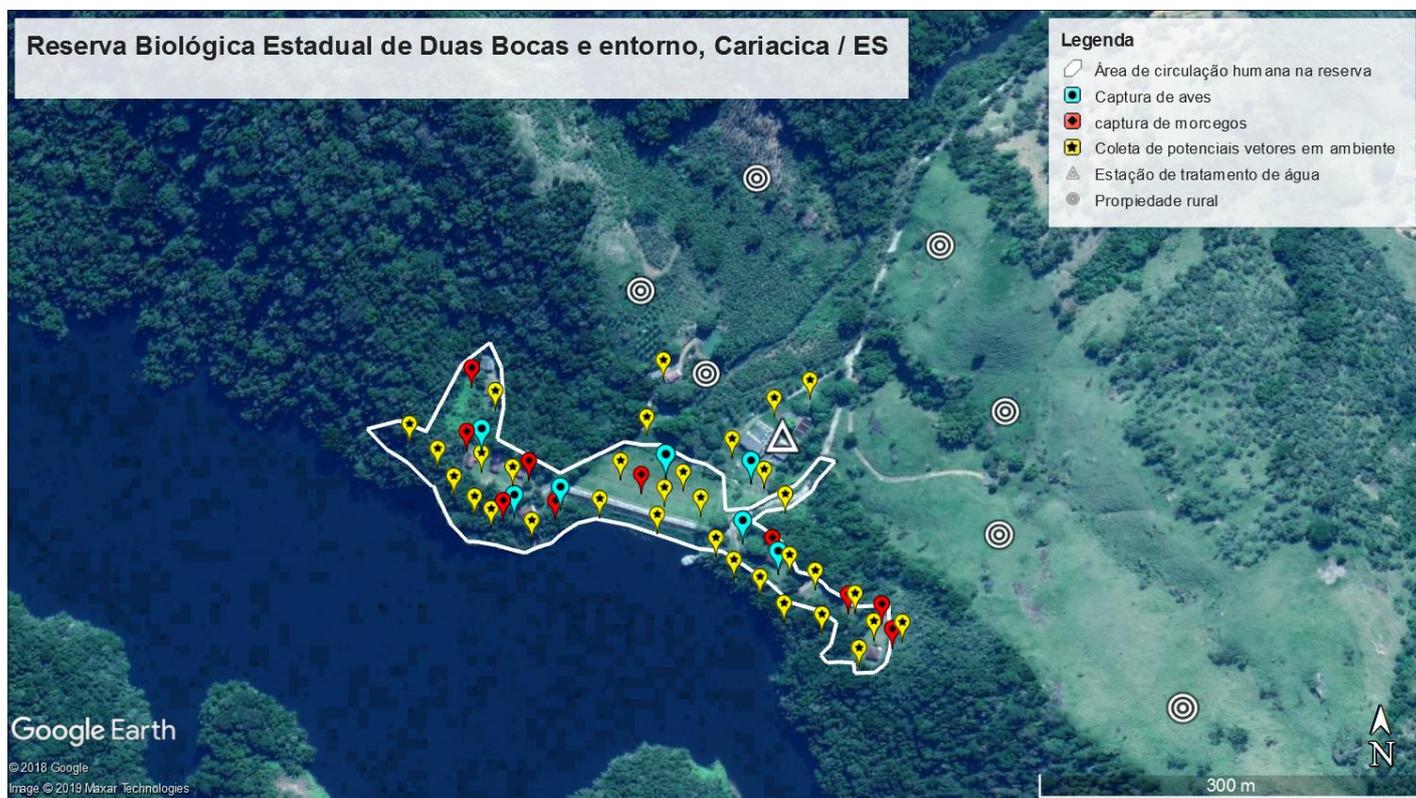


**Figura 1** - Área de coleta evidenciando as trilhas de captura de roedores e marsupiais (linhas) e principal área de circulação de humana. Fonte: Arquivo pessoal.

### Morcegos

As coletas de quirópteros foram realizadas durante a segunda etapa da pesquisa (2018), as mesmas aconteceram por sete dias consecutivos e divididas em duas etapas. No período diurno, entre 08:00 e 16:00 hs, com a utilização de puçá, nos forros dos dormitórios, túneis e gruta da reserva. No período noturno, a captura foi feita utilizando seis redes "Mist Net" (rede de neblina). As redes foram armadas antes

de escurecer, por volta das 17:00 hs, sendo observadas a cada 20 minutos até às 23:00 hs, quando foram fechadas (Figura 3).



**Figura 2** - Área de coleta evidenciando os locais de coleta de potenciais vetores em ambiente, captura de morcegos e aves. Fonte: Arquivo pessoal.



**Figura 3** – Captura de Morcegos na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Captura com puçá. B) Captura com rede de Neblina. Fonte: Ademar Ferreira da Silva.

### Aves

As aves silvestres foram capturadas durante a segunda coleta (2018), por sete dias consecutivos, utilizando-se 10 redes "Mist Net "(rede de neblina). As redes foram armadas ao amanhecer, por volta das 06:00 hs, sendo observadas a cada 30 minutos até as 18:00 hs, quando foram fechadas (Figura 4).



**Figura 4** - Captura de aves na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil. Fonte: Graziela Virginia Tolesano Pascoli

### Coleta de Ectoparasitas

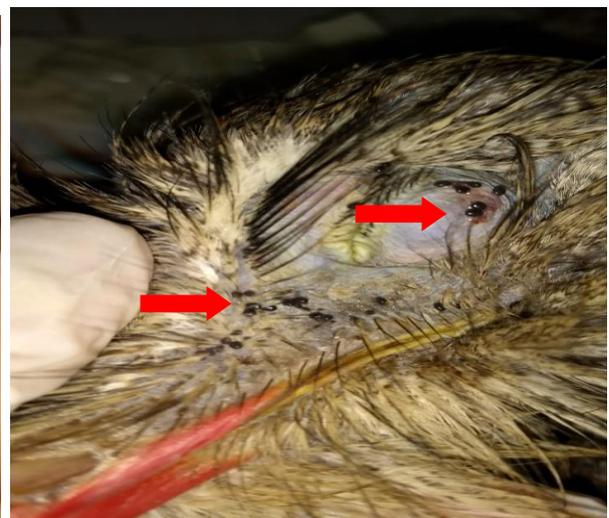
#### Coleta em vertebrados

-Ixodida

Os vertebrados eram inspecionados visualmente e os carrapatos retirados por torção contínua em torno do próprio eixo longitudinal (Figura 5).

A

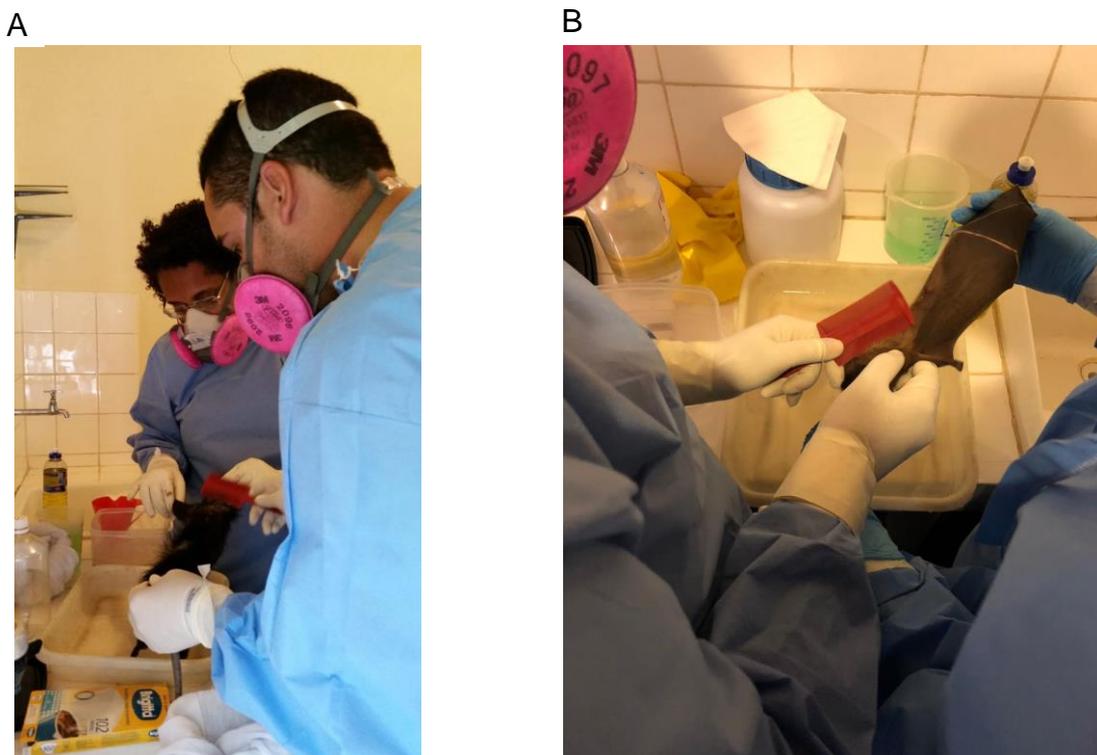
B



**Figura 5** – Coleta de carrapatos em vertebrados na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Ninfa em *Sporophila nigricollis* (seta vermelha). B) Larvas (setas vermelhas) em *Cariama cristata*. Fonte: Graziela Virginia Tolesano Pascoli.

### *Siphonaptera, Phthiraptera e Acari*

Com a estrutura de um laboratório de campo montado, pequenos mamíferos foram penteados por todo corpo, sobre uma vasilha com água filtrada, que era, em seguida, coada em filtro de papel. Aves foram inspecionadas visualmente. Os ectoparasitos encontrados foram coletados manualmente ou com auxílio de pinças (Figura 6).



**Figura 6** – Coleta de ectoparasitos em vertebrados capturados na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Marsupiais. B) Morcegos. Fonte: Arquivo pessoal.

### **Coleta em ambiente**

#### Coleta com Armadilha de Gelo Seco

Com a utilização de armadilhas de gelo seco, tínhamos a emissão de gás carbônico e atração dos carrapatos. As mesmas foram empregadas na área de circulação humana e seu entorno (Figura 2 e 7), por sete dias consecutivos, no horário de 07:00 às 11:00 hs, e de 13:00 às 17:00 hs., a uma distância de 20 m entre elas. As armadilhas eram vistoriadas a cada 15 minutos.

A



B



**Figura 7** – Coleta de carrapatos em ambiente com gelo seco na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Armadilha de gelo seco. B) Ninfa de carrapato sendo atraída (seta vermelha). Fonte: Arquivo pessoal.

### Coleta com Pano de Arrasto

Três flanelas de coloração branca eram arrastadas com o auxílio de hastes de ferro nas áreas de circulação humana e seu entorno (Figuras 2 e 8). O arrasto foi feito por sete dias consecutivos nos horários de 08:00 às 10:00 hs e de 15:00 às 17:00 hs. As flanelas foram puxadas por um percurso de 50 metros e vistoriadas.



**Figura 8** – Coleta de carrapatos em ambiente pela técnica de arrasto na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil. Fonte: Arquivo pessoal.

#### Coleta por busca visual

Residências e galinheiros em torno da reserva, dormitórios, refeitórios, galpões, e árvores, dentro da reserva, foram vistoriadas visualmente para a presença de carrapatos (Figura 9).



**Figura 9** – Coleta de carrapatos em ambiente por busca visual na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil: A) Galinheiro. B) Galpão. Fonte: Arquivo pessoal.

Todos os espécimes coletados eram fixados em isopropanol PA, segundo o local de coleta, e enviados para o Laboratório de Referência (LIRN).

### Coleta de Tecidos

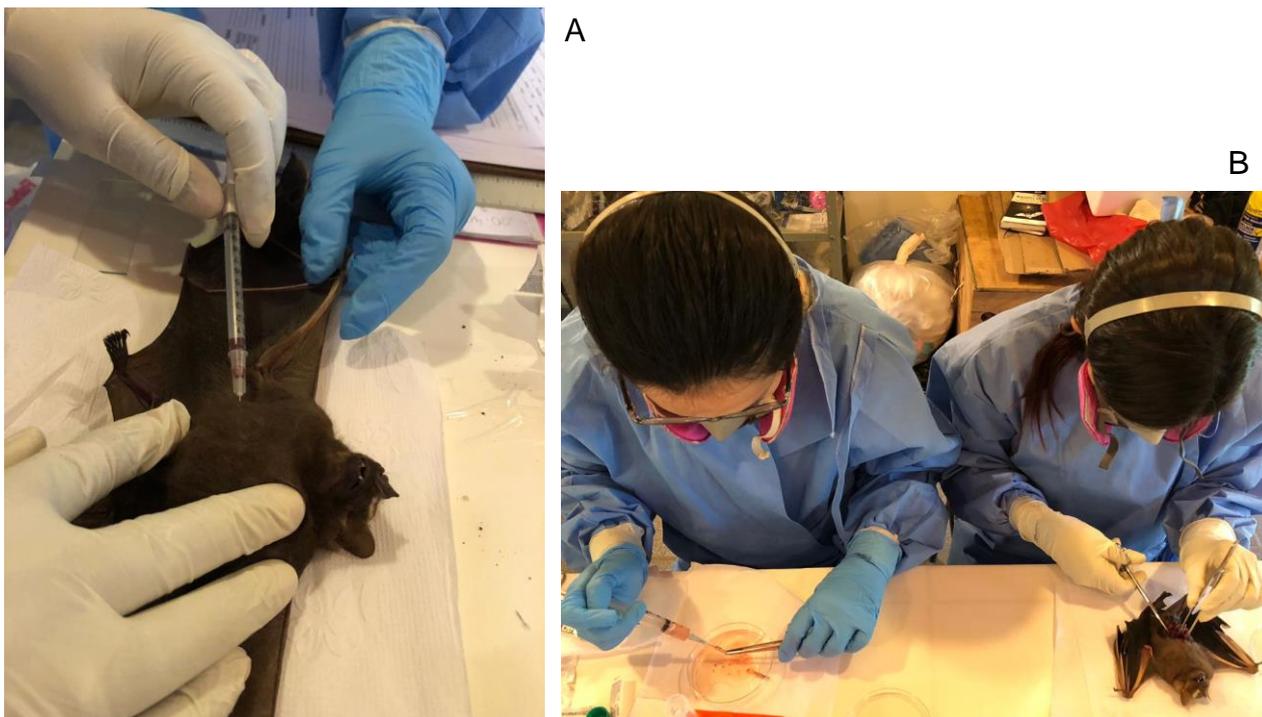
Pequenos mamíferos capturados foram sedados com a mistura de Quetamina 10% (200 mg/Kg) + Xilazina 2% (20 mg/Kg), na proporção de 2:1. Os anestésicos eram aplicados por via intramuscular em roedores e marsupiais e por via intraperitoneal em morcegos (Figura 10). O sangue era coletado por punção cardíaca (Figura 11). O coágulo foi armazenado a -20°C até a realização da extração de DNA genômico para pesquisa de *Borrelia* sp.



**Figura 10** – anestesia de marsupial na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil.

Fonte: Arquivo pessoal.

Alguns espécimes foram eutanasiados com Tiopental sódico 2,5 % (120 mg/Kg) e coletados fragmentos de fígado, baço e rim, fixados em álcool absoluto para pesquisa de *Borrelia* sp.. Fragmentos de medula foram retiradas do fêmur ou da tíbia dos roedores para taxonomia por cariotipagem (Figura 11).



**Figura 11** – Coleta de material biológico em pequenos mamíferos capturados na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil. A) Coleta de sangue. B) Coleta de baço. Fonte: Arquivo pessoal.

A coleta de sangue nas aves foi feita seguindo Clarck et al. preferencialmente na veia ulnar (Figura 12). O volume não excedeu 1% da massa total da ave<sup>56</sup>. Todas as aves foram liberadas após o procedimento de coleta.



**Figura 12** - Coleta de sangue em aves capturadas na Reserva Biológica de Duas Bocas, em Cariacica / ES, Brasil. Fonte: Graziela Virginia Tolesano Pascoli

### **Identificação de Potenciais Vetores**

Os ectoparasitos foram identificados por análise morfológica seguindo as chaves dicotômicas e metodologias apropriadas para cada grupo: Acari<sup>47,48,49,50,51</sup>, Ixodida<sup>52,53,54</sup>, Siphonaptera<sup>55</sup> e Phthiraptera<sup>56,57</sup>. Espécimes testemunhos foram depositados na Coleção de Artrópodes Vetores Ápteros de Importância em Saúde das Comunidades (CAVAISC-IOC/FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brasil (Número de tombamento: Carrapato – IXO 2966 a IXO 2981, Piolho – PHT 399 e PHT 400, Ácaros – ACA 4090 a ACA 4132).

## Biologia Molecular

### Identificação molecular de carrapatos

Quando a diagnose taxonômica específica das amostras de carrapato não foi conclusiva através das análises morfológicas, os exemplares foram submetidos à identificação genotípica através de análises moleculares.

Inicialmente, essas amostras tiveram o DNA genômico (DNAg) extraído através da técnica de extração por solução saturada de NaCl<sup>58</sup> e armazenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os artrópodes foram triturados em banho de  $\text{N}_2$ , e ressuspendidos em um volume máximo de 400  $\mu\text{l}$  de solução 1 (NaCl 0,4 M; EDTA 2 mM pH 8,0; Tris HCl 10 mM pH 8,0). Em seguida foi adicionado SDS 2% e 0,4 mg/ml Proteinase K (Ambion®, Austin, EUA) e o material incubado em banho - maria a 56 - 60  $^{\circ}\text{C}$  por 1 à 2 h. Após esta incubação, à mistura foi acrescentada de 2,57 mM de NaCl, e a mesma foi homogeneizada e centrifugada a 10.000 g por 30 min; o sobrenadante foi precipitado em igual volume de isopropanol. O DNAg foi ressuspendido em 30  $\mu\text{l}$  de água ultra pura livre de DNase e RNase. Amostras representativas foram selecionadas aleatoriamente para quantificação em espectrofotômetro *NanoDrop™ 2000* (Thermo Scientific™, Waltham, EUA).

Para a identificação molecular, os carrapatos foram submetidos à amplificação de fragmentos parciais dos genes mitocondriais 12S rDNA<sup>59</sup> e 16S rDNA<sup>60</sup>. Essas amplificações foram realizadas através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando iniciadores e protocolos de amplificação disponíveis na literatura (Tabela 1). As reações de PCR, foram realizadas em termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems®, Carlsbad, EUA).

**Tabela 1. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para identificação genotípica de espécies de carrapatos**

Gene Alvo	Oligonucleotídeo Iniciador	Sequência 5'- 3'	Tamanho do Fragmento
12S rDNA	T2A T1B	AAAGAGTGACGGGCGATATGT AAACTAGGATTAGATACCCT	340 pb <sup>61</sup>
16S rDNA	16S+1 16S-1	CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT GCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGT	460 pb <sup>62</sup>

### Pesquisa do Bioagente

O DNAg dos ectoparasitos submetidos a pesquisa de *Borrelia* sp. foi obtido pela técnica de extração por solução saturada de NaCl<sup>58</sup>, conforme protocolo supracitado, e os espécimes imaturos de carrapatos foram submetidos a extração de DNAg individualmente ou em pools de 10 espécimes, já o DNAg de carrapatos adultos, bem como piolhos e pulgas foram obtidos individualmente. O DNAg de tecidos de vertebrados foi extraído utilizando *DNeasy Blood and Tissue Kit* (Qiagen®, Hilden, Alemanha), seguindo recomendações do fabricante.

As reações de PCR para pesquisa de *Borrelia* sp. foram realizadas utilizando oligonucleotídeos iniciadores para detecção dos genes Flagellin (*Fla*)<sup>23</sup>, RNA ribossomal 16S<sup>23</sup> e da região intergênica IGS<sup>61</sup> (Tabela 2). O preparo das soluções e as condições dos ensaios de PCR foram adequados para cada tipo de gene pesquisado<sup>62</sup>, em cada reação foi utilizado como controle positivo DNA de *B. burgdorferi* quantificado (15.000 cópias por µl) (*AmpliRun*®, Vircell, Granada, Espanha) e como controle negativo água ultra pura livre de DNase e RNase. As reações de PCR, foram realizadas em termociclador *GeneAmp PCR System 9700*

(Applied Biosystems®, Carlsbad, EUA) e *T-Professional Gradient Thermocycler* (Biometra Ltd., Goettingen, Germany).

**Tabela 2. Oligonucleotídeos iniciadores utilizados para identificação genotípica de espécies de *Borrelia***

Gene Alvo	Oligonucleotídeo Iniciador	Sequência 5'- 3'	Tamanho do Fragmento
Flagellin ( <i>Fla</i> )	1ª etapa: FlaLL FlaRL	ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT	665 pb <sup>63</sup>
	2ª etapa: FlaLS FlaRS	AACAGCTGAAGAGCTTGGAAATG CTTTGATCACTTATCATTCTAATAGC	354 pb <sup>63</sup>
16S rRNA	16RNAR 16RNAL	CTGGCAGTGCGTCTTAAGCA CATATAGTCTTACTATGCCACTTATG	1336 pb <sup>63</sup>
Região intergênica (IGS) <i>rrfA</i> – <i>rrlB</i>	IGSb IGSa	GTTAAGCTCTTATTCGCTGATGGTA CGACCTTCTTCGCCTTAAAGC	225-255 pb <sup>64</sup>

### **Eletroforese, Purificação e Sequenciamento de Nucleotídeos**

Para visualização dos produtos amplificados, os *amplicons* foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com brometo de etídio. Posteriormente, os géis foram observados em scanner de gel *MiniBis Pro®* (DNR Bio-Imaging Systems Ltd., Jerusalém, Israel) com luz ultravioleta. Imagens digitais de cada gel foram geradas e arquivadas. Todos os produtos da PCR que corresponderam ao tamanho de DNA esperado, para cada marcador, foram selecionados para purificação e sequenciamento.

As amostras de DNA amplificado foram purificadas utilizando o kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean up System* (Promega®, Madison, EUA), seguindo as recomendações do fabricante.

Posteriormente, os produtos da PCR purificados foram encaminhados para o sequenciamento do DNA, cujas reações foram executadas utilizando, separadamente cada iniciador empregado na PCR e o Kit *BigDye<sup>TM</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Applied Biosystems®, Carlsbad, EUA), de acordo com o manual do fabricante. Em seguida, as amostras foram precipitadas, ressuspensas em formamida e aplicadas em sequenciador automático *ABI 3730 DNA Analyzer* (Applied Biosystems®, Carlsbad, EUA) na Plataforma de Sequenciamento de DNA (PDTIS) da Fiocruz/RJ para determinação das sequências em ambas as direções (3'- 5' e 5'- 3').

### **Análise das sequências de DNA**

As sequências obtidas foram editadas manualmente e as sequências consenso geradas no programa *ChromasPro 1.5* (TechneLysium Pty Ltd, Queensland, Australia). Inicialmente essas sequências foram identificadas, por avaliação de similaridade, através de análise comparativa com as sequências depositadas no GenBank, com auxílio do BLASTN<sup>63</sup>.

As sequências produzidas e sequências disponíveis no banco de dados do GenBank, para cada gene analisado, foram automaticamente alinhadas através do algoritmo de alinhamento múltiplo *ClustalW*<sup>64</sup>, disponível no programa *MEGA 6.0*<sup>65</sup>. Todos os alinhamentos foram inspecionados manualmente.

### **Análises Filogenéticas**

A fim de investigar as relações evolutivas entre as amostras de carrapato analisadas, foi realizada reconstrução filogenética concatenada para as sequências obtidas dos genes 12S rDNA e 16S rDNA.

Os alinhamentos foram concatenados no programa *SeaView*<sup>66</sup>. As inferências filogenéticas, através de análise de máxima verossimilhança, foram realizadas no

programa *PhyML* 3.0<sup>67</sup> utilizando o modelo evolutivo GTR+G (através do *Bayesian Information Criterion*), indicado pelo programa *MEGA* 6.0<sup>65</sup>, que melhor se ajustava ao conjunto de dados analisados. Valores de apoio estatístico dos ramos internos foram estimados com o teste aLRT (*approximate likelihood ratio test*) com 1000 réplicas<sup>68</sup>.

## RESULTADOS

### Captura de vertebrados

Foram capturados e/ou inspecionadas 9 espécimes de Marsupiais, 24 espécimes de Roedores, 34 espécimes de Morcegos (Tabela 3), 10 espécimes de cães (*Canis lupus familiaris*) e 68 espécimes de aves (Tabela 4), totalizando 145 vertebrados analisados.

Os vertebrados capturados foram devidamente identificados pelo Laboratório de Biologia e Parasitologia de Mamíferos Reservatórios Silvestres (LABPMR), do Instituto Oswaldo Cruz / Fiocruz, com base na morfologia externa, cariótipos e filogenias moleculares com o gene MT-CYB.

**Tabela 3 – Marsupiais, roedores e morcegos capturados e/ou examinados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho e 10 de agosto de 2018**

<b>Espécie</b>	<b>Nome comum</b>	<b>(n)</b>
<b>Marsupiais</b>		
<i>Didelphis aurita</i>	gambá-de-orelha-preta	4
<i>Marmosops incanus</i>	cuíca	2
<i>Monodelphis Americana</i>	cuíca-de-três-listras	3
	<b>Subtotal</b>	<b>9</b>
<b>Roedores</b>		
<i>Akodon cursor</i>	rato-do-chão	19
<i>Nectomys squamipes</i> *	Rato d'água	1
<i>Oligoryzomys nigripes</i>	rato-do-mato	1
<i>Rattus rattus</i> *	rato-preto	3
	<b>Subtotal</b>	<b>24</b>
<b>Morcegos</b>		
<i>Artibeus lituratus</i>	Morcego-da-cara-branca	4
<i>Carollia perspicillata</i>	Morcego-de-cauda-curta	11
<i>Desmodus rotundus</i>	Morcego-vampiro	2
<i>Molossus rufus</i>	Molosso-negro	16
<i>Myotis nigricans</i>	Morcego-borboleta-preto	1
	<b>Subtotal</b>	<b>34</b>
<b>TOTAL</b>		<b>67</b>

(n): número de espécimes examinados; \*Espécies encontradas parasitadas por carrapato.

**Tabela 4 – Aves capturadas e/ou examinadas na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho e 10 de agosto de 2018**

<b>Espécie</b>	<b>Nome comum</b>	<b>(n)</b>
<i>Chloroceryle americana</i>	Martim-pescador-pequeno	1
<i>Nyctidromus albicollis</i>	Bacurau	1
<i>Cariama cristata*</i>	Seriema	1
<i>Columbina talpacoti</i>	Rolinha	1
<i>Leptotila rufaxilla</i>	Juriti-gemeadeira	1
<i>Euphonia violacea</i>	Gaturamo-verdadeiro	3
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Andorinha-serradora	9
<i>Cacicus haemorrhous</i>	Guaxe	1
<i>Dacnis cayana</i>	Sai-azul	1
<i>Sicalis flaveola</i>	Canário-da-terra	3
<i>Sporophila caerulescens</i>	Coleirinho	8
<i>Sporophila nigricollis*</i>	Baiano	7
<i>Volatinia jacarina</i>	Tiziu	8
<i>Glaucis hirsutus</i>	Balança-rabo-de-bico-torto	1
<i>Troglodytes musculus</i>	Corruíra	2
<i>Turdus albicollis</i>	Sabiá-coleira	1
<i>Turdus flaviceps</i>	Sabiá-uma	1
<i>Turdus leucomelas*</i>	Sabiá-barranco	6
<i>Elaenia flavogaster</i>	Guaracava-de-barriga-amarela	2
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Bentevizinho-de-penacho-vermelho	1
<i>Xenops minutus</i>	Bico-virado-miúdo	2
<i>Myiozetetes similis</i>	bentevizinho-de-penacho-vermelho	1
<i>Gallus gallus domesticus</i>	Galo / galinha	6
<b>TOTAL</b>		<b>68</b>

(n): número de espécimes examinados; \*Espécies encontradas parasitadas por carrapatos.

### **Identificação de ectoparasitos**

Foi realizada a diagnose de 4.481 espécimes de *Amblyomma sculptum*; 1.061 de *Amblyomma dubitatum*, 35 de *Rhipicephalus sanguineus*, um de *Amblyomma* sp., dois de *Amblyomma nodosum*, três de *Ctenocephalides felis*, dois de *Polygenis* sp.,

cinco de *Adoratopsylla* sp., oito de Phthiraptera e 245 de Mesostigmata, totalizando 5.843 espécimes identificados (Tabela 5).

**Tabela 5 - Espécies de potenciais vetores de *Borrelia* sp. coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 21 a 25 de novembro de 2016 e de 28 de julho a 10 de agosto de 2018**

Ambiente / hospedeiro (n)	Tecido*	Sangue	Vetores	
			Espécie	(n)
Ambiente (NA)	NA	NA	<i>Amblyomma sculptum</i>	4.400
			<i>Amblyomma dubitatum</i>	1.044
			<i>Amblyomma</i> sp.	1
			Ácaros	19
			<b>Subtotal</b>	<b>5.464</b>
Marsupiais (9)	8	9	Ácaros	2
			<i>Adoratopsylla</i> sp.	5
			<b>Subtotal</b>	<b>7</b>
Roedores (24)	23	24	<i>Amblyomma dubitatum</i>	16
			Ácaros	223
			Piolhos	8
			<b>Subtotal</b>	<b>247</b>
Morcegos (34)	34	33	Ácaros	1
			<b>Subtotal</b>	<b>1</b>
Caninos (10)	0	2	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	35
			<i>Amblyomma sculptum</i>	3
			<i>Ctenocephalides felis</i>	3
			<i>Polygenis</i> sp.	2
			<b>Subtotal</b>	<b>43</b>
Humanos (5)	0	0	<i>Amblyomma sculptum</i>	13
			<i>Amblyomma dubitatum</i>	1
			<b>Subtotal</b>	<b>14</b>
Aves (68)	0	33	<i>Amblyomma nodosum</i>	2
			<i>Amblyomma sculptum</i>	65
			<b>Subtotal</b>	<b>67</b>
<b>TOTAL</b>				<b>5.843</b>

(n): número de espécimes; NA: não se aplica; \*Tecido= Fragmentos de baço

No total, 61 espécimes de ixodídeos foram submetidos à identificação molecular (Apêndice A, Apêndice B – Figura B1). Para a maioria das amostras (47) só foi possível concluir o diagnóstico específico através das análises genéticas. Foram identificadas 14 alíquotas de larvas de *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899 e 13

de *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888. Em diferentes alíquotas de uma mesma amostra (LIC 8869, alíquotas A e B; LIC 8876, alíquotas A e C; e LIC 8902, alíquotas I-K, H, C, D e F) foi observada a presença dessas duas espécies de carrapato (Apêndice A).

Os Morfotipos 1 e 3 corresponderam a ninfas de *A. sculptum*, enquanto os Morfotipos 2, 4 e 5 foram identificados como ninfas de *A. dubitatum*. A amostra LIC 8879Z, apesar de não ter amplificado para nenhum dos marcadores analisados, por corresponder ao Morfotipo 2 pode ser diagnosticada como *A. dubitatum*.

A amostra LIC 8898K foi morfológicamente identificada como *A. sculptum*, mas as análises moleculares concluíram que o espécime era *A. dubitatum*. Caso semelhante ocorreu com a amostra LIC 8909A, onde características morfológicas indicavam a presença de ninfa de *A. dubitatum*, mas genotipicamente o espécime correspondeu à *A. sculptum*. As amostras LIC 8907 e LIC 8908 foram diagnosticadas morfológicamente como *A. dubitatum*, entretanto a verificação molecular concluiu que esses espécimes correspondem a ninfas de *Amblyomma nodosum* (Neumann, 1899) (Apêndice A). Para as outras amostras (14), a identificação molecular dos carrapatos confirmou a diagnose morfológica desses espécimes (Apêndice A).

A reconstrução filogenética (Apêndice B – Figura B1) corroborou a identificação molecular de todas as amostras através da avaliação de similaridade utilizando o BLASTN. Onde, as sequências das amostras analisadas agruparam com as mesmas espécies de ixodídeos com as quais tiveram similaridade.

### **Pesquisa de *Borrelia* sp.**

Um total de 1.135 espécimes de ectoparasitos, distribuídos em 441 amostras (Apêndice C), e 166 amostras de tecidos (sangue e baço) de vertebrados (Apêndice D),

foram submetidos à extração de DNAg e as PCRs para pesquisa de *Borrelia* sp. Nenhuma amostra foi positiva para presença de *Borrelia* sp., pelas técnicas utilizadas.

## DISCUSSÃO

O ES destaca-se por apresentar uma das maiores densidades populacionais do país, possuir um fluxo turístico considerável e, ainda, por apresentar grandes áreas rurais e de Unidades de Conservação. Essa variedade de cenários, e suas áreas de transição, são propícias ao desenvolvimento de diferentes zoonoses.

Casos de borreliose são relatados no ES desde a década de 90, mas sem confirmação laboratorial para maioria dos casos. Assim, entre 1995 e 2012, diversos casos foram notificados em diferentes municípios do Estado (Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo – SESA/ES, dados não publicados), e entre 2013 e 2015 foram confirmados, por exames laboratoriais, 73 casos (Gerenciador de Ambiente Laboratorial do Ministério da Saúde do Brasil – GAL/MS, dados não publicados), apontando uma condição de endemicidade no ES. O agregado de casos mais recentes ocorreu na Reserva Biológica de Duas Bocas, município de Cariacica, totalizando oito casos confirmados (SESA/ES, dados não publicados). Todos os pacientes eram residentes ou trabalhadores da Reserva (SESA/ES, dados não publicados).

Além disso, o ES é o Estado brasileiro com maior número de casos de DL-simile diagnosticados no Brasil<sup>42</sup> e guarda uma alta relação entre esses casos e a presença de aves migratórias, consideradas possíveis dispersoras de *B. burgdorferi* s.l.<sup>69</sup>. Dessa forma, a área escolhida para o estudo, pode ser considerado como uma das áreas mais importantes, epidemiologicamente, para estudo de borreliose no Brasil.

Do ponto de vista metodológico, a técnica de PCR tem alta especificidade, mas sua sensibilidade é variável para a detecção de *Borrelia* sp.<sup>6,7</sup>. Neste estudo, foi

realizada análise molecular do gene rRNA 16S, considerado alvo primário para detecção de bactérias do gênero *Borrelia* em estudos desenvolvidos em diferentes partes do mundo<sup>7,22,23,34,70,71</sup>, por se tratar de um gene de baixa taxa de evolução e com regiões conservadas nestes organismos, além de codificar uma das principais proteínas de superfície externa<sup>72,73</sup>. De forma adicional, foram realizados ensaios moleculares para pesquisa do gene gênero-específico Flagelina (*fla*)<sup>23</sup>, que utiliza a Nested-PCR como abordagem para aumentar a especificidade e a sensibilidade da detecção de patógenos, particularmente importante quando amostras ambientais complexas<sup>74,75</sup>, bem como foi realizada a análise de região espaçadora intergênica (IGS), que é conhecida por ser muito variável entre as cepas de *B. burgdorferi* s.l. e já ter sido amplamente utilizada para diferenciação de espécies na Europa<sup>61</sup>. Assim, consideramos que o resultado ora obtido para a pesquisa de *Borrelia* sp. fornece dados que nos permite interpretações confiáveis pelas evidências baseadas em uma ampla análise para a presença de fragmentos de genes de *Borrelia* sp.

Ainda do ponto de vista metodológico, é oportuno observar que o ciclo enzoótico de *B. burgdorferi* s.l., conhecido para as áreas endêmicas, garante a circulação permanente do patógeno em um determinado foco pela presença do vertebrado reservatório infectado, uma vez que, diferente de outras doenças transmitidas por carrapatos, a importância para manutenção de *B. burgdorferi* s.l. no ambiente através da transmissão transovariana permanece inconclusiva. Assim, o ciclo inicia-se com a infecção dos estágios imaturos, especialmente larvas, durante seu repasto sanguíneo em vertebrados reservatórios, principalmente pequenos mamíferos e aves. A borrelia passa por um processo de amplificação durante as sucessivas fases de alimentação e pode chegar até vertebrados de grande porte por sua infestação por carrapatos adultos infectados. O homem é um hospedeiro acidental

e o ciclo epidêmico ocorre principalmente no período de primavera e verão, pelo aumento da atividade de humanos e carrapatos, especialmente ninfas<sup>3,4,5,27,44</sup>.

Nesse sentido, buscamos analisar amostras de carrapatos em ambiente e vertebrados da área de estudo (Tabela 5). Para isso foram feitas duas campanhas de coleta, uma no final da primavera (2016), onde ocorre maior número de ninfas e a literatura aponta como período mais propenso à ocorrência do ciclo epidêmico da DL<sup>3,4,5,27,44</sup> e outra no período de inverno (2018), com maior frequência de larvas e maior possibilidade de infecção de carrapatos e hospedeiros vertebrados<sup>5,27,44</sup>.

Assim, em que pese a área de estudo reunir características de interesse epidemiológico para a circulação de *B. burgdorferi* s.l., de buscamos amostras de vetores e vertebrados em períodos de maior chance para o desenvolvimento dos ciclos desse bioagente e da segurança metodológica adotada para a detecção de *Borrelia* sp., nenhuma amostra de potencial vetor e vertebrado foi positiva, sinalizando para a ausência desse bioagente na área investigada.

Em consonância com nossos resultados, Spolidorio et al., em estudo sobre zoonoses transmitidas por carrapatos no ES, analisaram amostras de sangue de humanos, cães e cavalos. Todas as amostras analisadas foram negativas, pela PCR, para a presença de *Borrelia* sp. Contudo, em ensaios sorológicos, além de poucas amostras de humanos e equinos reativas, foi possível detectar positividade em 51% das amostras caninas, sugerindo que cães e, conseqüentemente seus carrapatos, poderiam fazer parte do ciclo epidemiológico do agente causador da SBY<sup>41</sup>, corroborando outros estudos que assinalam positividade em sangue de cães no país, em diferentes áreas<sup>76,77,78,79</sup>.

Apesar de termos analisado amostras de sangue de cães residentes no entorno da reserva, bem como de seus ectoparasitos (Tabela 5), não encontramos

positividade naquelas amostras, indicando que nossa área de estudo, de fato, não tem a presença de *Borrelia* sp. ou as diferenças metodológicas entre os dois estudos não permitiram uma proximidade de resultados. Ainda nesse sentido, Bhide et al., trabalhando em áreas reconhecidamente endêmicas para DL, chamam a atenção para o papel de cães como sentinelas na identificação de novos focos e mudança na endemicidade de focos conhecidos, uma vez que sua soropositividade é curta após a infecção por *B. burgdorferi* s.l.<sup>80</sup>, o que não pode ser confirmado em nosso estudo.

Outros trabalhos sinalizam, sorologicamente, para os equinos como possíveis reservatórios de *B. burgdorferi* s.l.<sup>78,79,81,82,83,84,85</sup>, entretanto, mesmo considerando a grande frequência de *A. sculptum*, ectoparasito comum de equinos, coletado em nosso estudo (Tabela 5), não foram encontrados equinos na área investigada.

Apesar do relato da presença de *Borrelia* sp. em diferentes artrópodes hematófagos<sup>25,26</sup>, algumas espécies de carrapatos estão, reconhecidamente, envolvidas na sua transmissão em diferentes partes do mundo<sup>4,13,18,19,20,21,22,23,86</sup>. No Brasil, relatos de *B. burgdorferi* s.l. em carrapatos são raros e as espécies observadas infectadas parecem não ter importância epidemiológica<sup>87,88</sup>. Alguns estudos sugerem *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus sanguineus* como possíveis transmissores de *B. burgdorferi* s.l. no país<sup>2,6,41</sup>. Entretanto, a ausência de amostras positivas para a presença de fragmentos de genes de *B. burgdorferi* s.l. em nossos resultados, não nos permite corroborar com aqueles estudos. Igualmente, não foram coletados carrapatos do gênero *Ixodes* na área analisada (Tabela 5), considerado o gênero transmissor de *B. burgdorferi* s.l. nos países endêmicos, e parasitos comuns em espécies de pequenos mamíferos e aves, vertebrados reservatórios importantes no ciclo enzoótico da DL<sup>27,44</sup>. Logo, a ausência de *Ixodes* sp. em nossa coleta e o resultado negativo para a pesquisa de *Borrelia* sp. em diferentes espécies de

carrapatos, pequenos mamíferos e aves, amostrados em nossa pesquisa, não indica a existência de um ciclo enzootico para *B. burgdorferi* s.l. no local de estudo.

Curiosamente, é fácil observarmos uma grande população de capivaras na área da Reserva de Duas Bocas, que se aproxima diariamente da área de circulação humana (Figuras 1 e 2) em busca de alimento. É provável que, por esse motivo, tenhamos encontrado *A. sculptum* e *A. dubitatum* com as maiores frequências (Tabela 5), especialmente na área de coleta de potenciais vetores no ambiente, dentro ou bem próxima à área de circulação humana (Figura 2). Não foi possível analisarmos o sangue das capivaras, mas a pesquisa de *Borrelia* sp. em seus ectoparasitos mais importantes (*A. sculptum* e *A. dubitatum*) não sinalizam para a participação daquele roedor no ciclo de borrelias na área investigada. Além disso, apesar de capivaras serem apontadas como possíveis reservatórios no ciclo da SBY<sup>84</sup>, não encontramos nenhuma literatura que mostrasse sua infecção por *Borrelia* sp.

Os critérios técnicos para o diagnóstico da DL vêm sendo modificados ao longo do tempo, buscando facilitar a prática médica. Os protocolos estabelecidos para os países endêmicos podem variar, mas têm em comum o diagnóstico clínico-epidemiológico, considerando os sinais (especialmente o EM), sintomas e contato com o carrapato infectado, em área reconhecidamente de transmissão<sup>8,44</sup>. Logo, a caracterização do caso, com a comprovação do agente etiológico no paciente e no ambiente é fundamental para a definição de uma área como sendo de transmissão. Dessa forma, mesmo considerando que o ES apresenta o maior agregado de casos diagnosticados como borreliose Lyme-simile no Brasil<sup>42</sup>, o fato de não haver a identificação específica do agente etiológico, não permite apontar, com segurança, que a área de estudo é de transmissão. Nesse sentido, nossos resultados não conseguem corroborar para a utilização do critério epidemiológico como base para o

diagnóstico determinístico na área analisada. Ao contrário, a ausência de amostras positivas sugerem não haver a circulação de *B. burgdorferi* s.l. nessa área.

De forma geral, no Brasil, as tentativas em caracterizar o agente etiológico da provável borreliose brasileira tem falhado. Alguns autores apontam para possíveis diferenças entre *B. burgdorferi* s.l. e a espécie de borrelia circulante no país ou ainda para a presença de uma espiroqueta não descrita<sup>2,37,39,78</sup>. A evolução clínica da doença, no território nacional, tem sido substancialmente diferenciada daquela considerada típica da DL, ao ponto de criarmos uma entidade nosológica para os casos brasileiro<sup>6,31,39</sup>. Alguns estudos têm chamado a atenção para o fato de que a diversidade clínica da DL, observada em diferentes países, está ligada às características próprias da espécie de *B. burgdorferi* s.l. circulante na área de transmissão<sup>89,90,91</sup> e que uma *Borrelia* genotipicamente diferente poderia levar a uma doença com características de evolução própria. Nesse sentido, Sinsk et al.<sup>92</sup> Chamam a atenção para a existência de, ao menos, nove enfermidades distintas que possuem como agente etiológico espiroquetas do gênero *Borrelia*: (1) Febre recorrente epidêmica humana, causada pela *Borrelia recurrentis*; (2) Febre recorrente endêmica, causada por mais de 20 espécies do gênero *Borrelia*; (3) Borreliose aviária, causada por *Borrelia anserina*; (4) Aborto epizootico bovino, causado por *Borrelia coriaceae*; (5) Borreliose bovina, ocasionada pela *Borrelia theileri*; (6) Enfermidade ainda não nominada, causada pela *Borrelia miyamotoi*; (7) Doença de Masters ou STARI (Southern Tick Associated Rash Illness), determinada pela *Borrelia lonestari*; (8) DL, causada por *B. burgdorferi* sensu lato; (9) SBY, causada por *Borrelia* não descrita.

Da mesma forma, Miziara et al.<sup>93</sup> advogam que a biodiversidade e o clima peculiar do Brasil, provavelmente contribuíram para o surgimento de uma borreliose

com características microbiológicas, laboratoriais e clínicas específicas, diferentes daquelas observadas no Hemisfério Norte. Os autores consideram que uma espiroqueta, com características morfológicas e genéticas próprias, pode ter se adaptado para sobreviver às condições de biodiversidade ecológica do país por passagem de *Borrelia burgdorferi* pelo trato digestivo de carrapatos.

Entretanto, a maioria dos exames utilizados como método laboratorial de diagnóstico é considerada de baixa sensibilidade na fase inicial da doença e, de outra forma, nas fases mais avançadas, podem haver resultados falso-positivos, devido à reação cruzada com outras doenças. Assim, em áreas que não são comprovadamente endêmicas para borreliose, o diagnóstico definitivo necessita da realização de exame confirmatório, que demonstre a presença do agente<sup>5,27,44,94,95</sup>, o que não ocorreu em nossa área de estudo.

Outrossim, os exames laboratoriais, em acordo com protocolo estabelecido para cada ensaio, são considerados confirmatórios do caso<sup>8,44</sup>. Logo, o sangue do paciente suspeito deve ser, inicialmente, analisado por um teste de maior sensibilidade (ELISA - ensaio imunoenzimático, ou ELFA - imunoenensaio fluorescente ligado a enzima) que, resultando em amostra positiva ou duvidosa, deve ser submetido a um teste mais específico (rotineiramente o WB - Western blot), buscando detectar a presença de anticorpos anti-*B. burgdorferi* s.l., uma vez que nos ensaios de maior sensibilidade pode haver detecção de anticorpos contra outras doenças<sup>8,44</sup>. Contudo, o diagnóstico laboratorial no Brasil não tem seguido os critérios internacionais, adotando um entendimento próprio<sup>2,6,39</sup> e, portanto, não possibilita uma análise comparativa com resultados obtidos para áreas sabidamente endêmicas.

Dessa forma, nossos resultados, além de não corroborar com a base epidemiológica para um diagnóstico determinístico, somados às características

clínicas próprias de uma possível espiroquetose Lyme-símile, de dúvidas no diagnóstico laboratorial utilizados no país, bem como pela ausência da caracterização do envolvimento de *B. burgdorferi* s.l. na maioria quase absoluta dos casos diagnosticados no Brasil, não possibilita, com a robustez necessária, substanciar a existência de *Borrelia* sp. circulando na área sob investigação.

Além disso, em que pese o fato de que dois, dos três casos suspeitos de DL no Brasil, confirmados pelos critérios internacionais, serem residentes do ES (GAL/MS, dados não publicados), Oliveira et al.<sup>96</sup> consideram que afirmar a existência de DL no Brasil ainda seria impreciso, já que não foi possível avaliar de forma detalhada a história clínica e epidemiológica desses casos, não sendo considerado, por exemplo, a possibilidade de infecção fora do país.

Assim, sob a ótica da vigilância em saúde, nossa área de estudo não evidencia elementos determinantes para sua caracterização sendo de circulação de *Borrelia* sp. ou de transmissão de borreliose. Contudo, mesmo que raros, os encontros de *Borrelia* sp. ou *B. burgdorferi* s.l. no país, em humanos<sup>97,98,99,100</sup> e vetores<sup>87,88,101</sup>, bem como da detecção de três casos suspeitos de DL que se enquadram nos critérios internacionais adotados para as áreas endêmicas<sup>96</sup>, não nos permite descartar a presença de DL no ES ou de outra espiroquetose na Reserva Biológica de Duas Bocas ou em seu entorno.

Vale a pena ressaltar a importância do trabalho integrado de vigilância, uma vez que as mesmas amostras analisadas para a presença de genes de *Borrelia* sp. estão sendo analisadas para riquetsias.

Assim, de forma adicional, 1024 espécimes de carrapatos e pulgas (*A. sculptum*, *A. dubitatum*, *Amblyomma* sp., *R. sanguineus*, *C. felis* e *Polygenis* sp.),

distribuídos em 343 amostras, foram submetidos à pesquisa de *Rickettsia* sp. utilizando oligonucleotídeos iniciadores para detecção de gene gênero-específico (*gltA*)<sup>89</sup> e gene grupo-específico para detecção do Grupo Febre Maculosa (*ompA*)<sup>90</sup>. Um total de 58 espécimes foram positivas para a presença de riquetsias (*A. sculptum*, *A. dubitatum*, *Amblyomma* sp., *R. sanguineus* e *C. felis*), com maior prevalência para *A. sculptum*, considerado o principal vetor de *Rickettsia rickettsii* no Brasil, com 38 exemplares positivo, seguido do *A. dubitatum*, com 6 exemplares positivos.

Esses dados, devido a relevância do gênero *Rickettsia* para a saúde pública, serão finalizados (PCR para novos genes e sequenciamento) e serão incluídos no estudo da área.

## CONCLUSÕES

Não encontramos evidência da circulação de *Borrelia burgdorferi* s.l. na área investigada. Entretanto, a grande presença de *Amblyomma sculptum* na Reserva Biológica de Duas Bocas, indica uma vulnerabilidade da área de estudo para o surgimento de casos de Febre Maculosa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Steere AC. Lyme Disease. N Engl J Med. 2001;345:115–25.
2. Yoshinari NH, Mantovani E, Bonoldi VLN, Marangoni RG, Gauditano G. Brazilian lyme-like disease or Baggio-Yoshinari syndrome: exotic and emerging Brazilian tick-borne zoonosis. Rev Assoc Med Bras. 2010;56: 363-9.
3. Bush LM, Vazquez-Pertejo MT. Tick-borne illness—Lyme disease. Disease-a-Month. 2018; 64: 196-212.
4. Biesiada G, Czepiel J, Leśniak MR, Garlicki A, Mach T. Lyme disease: review. Archives of Medical Science : AMS.2012; 8:978-82.
5. Steere AC, Coburne J, Glickstein L. Lyme borreliosis. In: Goodman JL, Dennis DT, Sonenshine DE (ed) Tick-Borne diseases of humans. Washington, DC: Am Soc Microbiol. 2005.
6. Santos M, Haddad Jr V, Ribeiro-Rodrigues R, Tlhari S. Lyme borreliosis. An Bras Dermatol. 2010;85: 930-8.
7. Lohr B, Fingerle V, Norris DE, Klaus-Peter H. Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis: Current state of the art and future perspectives. Crit Rev Clin Lab Sci. 2018;55: 219-45.
8. Eldin C, Raffetin A, Bouiller K, Hansmann Y, Roblot F, Raoult D, et al. Review of European and American guidelines for the diagnosis of Lyme borreliosis. Médecine et Maladies Infectieuses. 2019; 49:121–132.
9. Krupka M, Raska M, Belakova J, Horynova M, Novotny R, Weigl E. Biological aspects of Lyme Disease Spirochetes: Unique bacteria of *Borrelia burgdorferi* species group. Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Polachy, Olomouc. Czech Republic.2007; 151(2):175-86.
10. Barbour A, Schwan TG. *Borrelia*. In: Wang G, Schwartz I (eds) Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria. Wiley, in association with Bergey's Manual Trust, New York. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm01246.pub2>
11. Karami A. Molecular Biology of *Borrelia burgdorferi*. In Karimi, A., Lyme Disease. Rijeca, Croácia: InTech; 2012.
12. Gupta RS, Mahmood S, Adeolu M. A phylogenomic and molecular signature based approach for characterization of the phylum Spirochaetes and its major clades: proposal for a taxonomic revision of the phylum [published correction appears in Front Microbiol. 2013, 31(4): 322]. Front Microbiol. 2013; 4:217.
13. Socolovschi C, Mediannikov O, Raoult D, Parola P. Update on tick-born bacterial diseases in Europe. Parasite. 2009; 16: 259-73.

14. Stanek G, Reiter M. The expanding Lyme *Borrelia* complex – clinical significance of genomic species? *Clinical Microbiology and Infection*. 2011; 17: 487-93.
15. Franke J, Hildebrandt A, Dorn W. Exploring gaps in our knowledge on Lyme borreliosis spirochaetes – Updates on complex heterogeneity, ecology, and pathogenicity. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2013; 4:11-25.
16. Ruzic-Sabljić E, Cesar T. *Borrelia* genotyping in Lyme Disease. *The Open Dermatology Journal*. 2016; 10(4):6-14.
17. Cutler SJ, Ruzic-Sabljić E, Potkonjak A. Emerging borreliae e Expanding beyond Lyme borreliosis. *Molecular and Cellular Probes*. 2017; 31: 22-7.
18. Burgdorfer W, Barbour AG, Hayes SF, Benhach JL, Davis JP. Lyme disease, a thick-borne spirochetosis. *Science*. 1982; 216:1317-9.
19. Gayle A, Ringdahl E. Tick-borne Diseases. *Amer Fam Phys*. 2001; 64:461.
20. Barbieri AM, Venzal JM, Marcili A, Almeida AP, González EM, Labruna MB. *Borrelia burgdorferi* sensu lato infecting ticks of the *Ixodes ricinus* complex in Uruguay: first report for the Southern Hemisphere. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2013;13:147-53.
21. Sebastian PS, Bottero MNS, Carvalho L, Mackenstedt U, Lareschi M, Venzal JM, et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes cf. neuquenensis* and *Ixodes sigelos* ticks from the Patagonian region of Argentina. *Acta Tropica*. 2016; 162: 218-21.
22. López-Pérez AM, Sánchez-Montes S, Foley J, Guzmán-Cornejo C, Colunga-Salas P, Pascoe E, et al. Molecular evidence of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Rickettsia massiliae* in ticks collected from a domestic-wild carnivore interface in Chihuahua, Mexico. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2019; 10(5): 1118-23.
23. Barbour AG, Maupin GO, Teltow GJ, Carter CJ, Piesman J. Identification of an uncultivable *Borrelia* species in the hard tick *Amblyomma americanum*: Possible agent of a Lyme disease-like illness. *J Infect Dis*. 1996; 173:403-9.
24. Bunikis J, Barbour AG. Laboratory testing for suspected Lyme disease. *Med Clin N Am*. 2002; 86:311-39.
25. Melaun C, Zotzmann S, Santaella VG, Werblow A, Zumkowski-Xylander H, Kraiczy P, et al Occurrence of *Borrelia burgdorferi* s.l. in different genera of mosquitoes (Culicidae) in Central Europe. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 2016; 7: 256-63.
26. Raele DA, Galante D, Pugliese N, La Salandra G, Lomuto M, Assunta-Cafiero M. First report of *Coxiella burnetii* and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in poultry red mites, *Dermanyssus gallinae* (Mesostigmata, Acari), related to urban outbreaks of dermatitis in Italy. *NMNI*. 2018; 23: 103-9.
27. Piesman J, Gray JS. Lyme disease/Lyme Borreliosis. In; Sonenshine DE, Mather TN (ed) *Ecological Dynamics of tick-borne zoonoses*. New York, USA. Oxford University Press. 1994.

28. Kurtenbach K, Hanicová K, Tsao JI, Margos G, Fish D, Ogden NH. Fundamental process in the evolutionary ecology of Lyme borreliosis. *Nat Rev Microbiol.* 2006; 4:660-9.
29. Talhari S, Schettini APM, Parreira VJ. et al. Eritema crônico migrans/Doença de Lyme – Estudo de três casos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DERMATOLOGIA, 1987, Goiânia. Anais. Goiânia: Sociedade Brasileira de Dermatologia, 1987.
30. Yoshinari NH, Barros PJJ, Cruz FCM, Oyafuso LK. Clínica e sorologia da doença de Lyme no Brasil. *Revista Brasileira de Reumatologia.* 1992; 32:57-61.
31. Gauditano G, Bonoldi VLN, Costa IP, Barros-Battesti DM, Barros PJJ, Fonseca AH. Síndrome de Lyme-símile ou complexo infecto-reacional do carrapato – Síndrome de Baggio-Yoshinari. *Revista Paulista de Reumatologia.* 2005; 4:16-7.
32. Shinjo SK, Gauditano G, Marchiori PE, Bonoldi VLN, Mantovani E, Yoshinari NH. Manifestação neurológica na Síndrome de Baggio-Yoshinari (Síndrome brasileira semelhante à doença de Lyme). *Rev Bras Reumatol.* 2009; 49:492-505.
33. Cameron DJ, Johnson LB, Maloney EL. Evidence assessments and guideline recommendations in Lyme disease: the clinical management of known tick bites, erythema migrans rashes and persistent disease. *Expert Review of Anti-infective Therapy.* 2014; 12: 1103-35.
34. Pritt BS, Mead PS, Johnson DKH, Neitzel DF, Respcio-Kingry LB, Davis JP, et al. Identification of a novel pathogenic *Borrelia* species causing Lyme borreliosis with unusually high spirochaetaemia: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16: 556-64.
35. Mullegger RR. Clinical aspects and diagnosis of erythema migrans and borreliac lymphocytoma. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* 2001; 10:152-8.
36. Magnarelli LA, Williams SC, Fikrig E. Seasonal prevalence of serum antibodies to whole cell and recombinant antigens of *Borrelia burgdorferi* and *Anaplasma phagocytophilum* in white-tailed deer in Connecticut. *Journal of Wildlife Diseases.* 2010; 46:781-90.
37. Mantovani E. Identificação do agente etiológico da doença de Lyme-símile brasileira (síndrome Baggio-Yoshinari). [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2010.
38. Costa IP, Bonoldi VLN, Yoshinari NH. Perfil clínico e laboratorial da Doença de Lyme-s2002; 41:142-50.
39. Mantovani E, Costa IP, Gauditano G, Bonoldi VL, Higuchi ML, Yoshinari NH. Description of lyme disease-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne disease or lyme disease variation? *Braz J Med Biol Res.* 2007; 40: 443-56.
40. Gouveia EA, Alves MF, Mantovani E, Oyafuso LK, Bonoldi VLN, Yoshinari NH. Profile of patients with Baggio-Yoshinari Syndrome admitted at "Instituto de Infectologia Emilio Ribas". *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo.* 2010;52: 297-303.

41. Spolidorio M G, Labruna M B, Machado R Z, Moraes-Filho J, Zago A M, Donatele D M, et al. Survey for tick-borne zoonoses in the State of Espírito Santo, Southeastern Brazil. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 83: 201-6.
42. Oliveira SV, Oliveira KHC, Santos JP, Gazeta GS. Geographical distribution of Lyme-like borreliosis in Brazil: Hot spots for research and surveillance. *J Parasitic Dis: Diag Ther.* 2017; 2:1-2.
43. Chalada MJ, Stenos J, Bradbury RS. Is there a Lyme-like disease in Australia? Summary of the findings to date. *One Health.*2016; 2: 42-54.
44. CDC – Center for Disease Control and prevention. Lyme Disease. 2019. Disponível em:<https://www.cdc.gov/lyme/index.html>. acesso em 19 de jul. 2019.
45. Acosta ICL, Martins TF, Marcili A, Soares HS, Krawczak FS, Vieira FT, et al. Ticks (Acari: Ixodidae, Argasidae) from humans, domestic and wild animals in the state of Espírito Santo, Brazil, with notes on rickettsial infection. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.*2016; 3(4):66-9.
46. Madureira RC, Corrêa FN, Cunha NC, Guedes Junior DS, Fonseca AH. Ocorrência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em equinos de propriedades dos municípios de Três Rios e Vassouras, estado do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária.*2007;14(3):43-6.
47. Krantz GW, Walter DE. A manual of acarology. 3<sup>rd</sup> ed. Texastech University Press, Lubbock, USA, 807p.2009
48. Fonseca F. XLIV. Inquérito sobre a fauna acarológica de parasitas no nordeste do Brasil. *Mem Inst Butantan.*1957; 28:99-186.
49. Tipton JV. The Genus *Laelaps*. With a Review of the Laelapinae And a New Subfamily Alphalaelaptinae (Acarina: Laelaptidae). University of California; 1960.
50. Evans GO, Till WM. studies in the british Dermanyssidae (Acari: Mesostigmata) part II. *Bull Br MusNat Hist Zool.*1966; 14: 107-370.
51. Furman DP. Laelapid mites (Laelapidae: Laelapinae) of Venezuela. *Brigham Young University Science Bulletin*, 1972; 17:1-58.
52. Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de importância médico-veterinária da região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan; 2006.
53. Amorim M, Serra-Freire NM. Chave dicotômica para identificação de larvas de algumas espécies do gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Entomol. Vect.*1999; 6:75-90.
54. Martins TF, onofrio VC, Barros-Battesti DM, Labruna M. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key Ticks and Tick-borne Diseases.2010; 1: 75-99.

55. Linardi PM, Guimarães LR. Siphonapteros do Brasil. São Paulo: EDUSP; 2000.
56. Clark P, Boardman W, Raidal S. Atlas of clinical avian hematology. Oxford: Blackwell Publishing. 2009; 184.
57. Johnson PT. Sucking Lice of Venezuelan rodents, with remarks on related species (Anoplura). Brigham Young Univ Sci Bull. 1972; 17:1-62.
58. Aljanabi SM, Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. Nucl. Acids. Res. 1997; 25:4692-3.
59. Beati L, Keirans JE. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. J Parasitol. 2001; 87: 32–48.
60. Mangold AJ, Barges MD, Mas-Coma S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among *Metastrata* (Acari: Ixodidae). Parasitol Res. 1998 Jun;84(6):478-84.
61. Derdakova M, Beati L, Pet'ko B, Stanko M, Fish D. Genetic variability within *Borrelia burgdorferi* sensu lato genospecies established by PCR-single-strand conformation polymorphism analysis of the *rrfA-rrlB* intergenic spacer in *Ixodes ricinus* ticks from the Czech Republic. Appl Environ Microbiol. 2003;69:509-16.
62. Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: a laboratory manual. 3 ed, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2001.
63. NCBI – Nacional Center For Biotechnology Information. Basic Local Alignment Search Tool – Nucleotide. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>. acesso em 04 de jun. 2018.
64. Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Res. 1994 Nov 11;22(22):4673-80.
65. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol. 2013 Dec;30(12):2725-9.
66. Gouy M, Guindon S, Gascuel O. SeaView version 4: A multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. Mol Biol Evol. 2010 Feb;27(2):221-4.
67. Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. Syst. Biol. 2010; 59:307-21.
68. Anisimova M, Gascuel O. Approximate likelihood-ratio test for branches: A fast, accurate, and powerful alternative. Syst Biol. 2006 Aug;55(4):539-52.

69. Oliveira SV, Santos JP, Aver G, Corrêa LLC, Vizzoni VF, Gazeta GS. Serological Evidence of Lyme disease And Possible Introduction of *Borrelia* along Migratory Bird Routes in Brazil. *Vector Biology Journal*. 2018; 3:1.
70. Le Fleche A, Postic D, Girardet K, Peter O, Baranton G. Characterization of *Borrelia lusitaniae* sp. nov. by 16S ribosomal DNA sequence analysis. *Int J Syst Bacteriol*. 1997; 47: 921-5.
71. Jiang BG, Jia N, Jiang JF, Zheng YC, Chu YL, Jiang RR, et al. Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol*. 2013 Dec;30(12):2725-9.
72. Persing DH, Telford SR 3rd, Rys PN, Dodge DE, White TJ, Malawista SE, Spielman A. Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA in museum specimens of Ixodes dammini ticks. *Science*. 1990; 249:1420-3.
73. Radulović Z, Milutinović M, Tomanović S, Mulenga A. Detection of *Borrelia*-specific 16S rRNA sequence in total RNA extracted from Ixodes ricinus ticks. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*. 2010; 62(4):862-867.
74. Cerar T, Ruzic-Sabljić E, Glizek U, Zore A, Strle F. Comparison of PCR methods and culture for the detection of *Borrelia* sp. in patients with erythema migrans. *Clin Microbiol Infect*. 2008; 14:653-8.
75. Wills MKB, Kirby AM, Lloyd VK. Detecting the Lyme Disease Spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in Ticks Using Nested PCR. *J Vis Exp*. 2018; 4:132.
76. Joppert AM, Hagiwara MK, Yoshinari NH. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, São Paulo state, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*. 2001; 43(5):251-255.
77. Cordeiro MD, Meireles GS, Silva JB, Souza MMS, Fonseca AH. Soroprevalência para *Borrelia* spp. em cães no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Med. Vet*. 2012; 34(3):251-256.
78. Montandon CM, Yoshinari NH, Milagres BS, Mazioli R, Gomes GG, Moreira HN, et al. Evidence of *Borrelia* in wild and domestic mammals from the state of Minas Gerais, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol*. 2014; 23(2):287-290.
79. Nascimento DAG, Vieira RFC, Vieira TSWJ, Toledo RS, Tamekuni K, Santos NJR, et al. Serosurvey of *Borrelia* in dogs, horses, and humans exposed to ticks in a rural settlement of southern Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol*. 2016; 25(4):418-422.
80. Bhide M, Travinicek M, Curlik J, Stefancikova A. The importance of dogs in eco-epidemiology of Lyme borreliosis: a review. *Vet. Med. – Czech*. 2004; 49(4):135–142
81. Magnarelli LA, Anderson JF. Class-specific and polyvalent enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in equids. *J Am Vet Med Assoc*. 1999; 195:1365–1368.
82. Salles RS, Fonseca AH, Scofield A, Madureira RC, Yoshinari NH. Sorologia para *Borrelia burgdorferi* lato sensu em equinos no estado do Rio de Janeiro. *Hora Vet*. 2002; 22:46–49.

83. Galo KR, Fonseca AH, Madureira RC, Neto JDB. Freqüência de anticorpos homólogos anti-*Borrelia burgdorferi* em eqüinos na mesorregião metropolitana de Belém, Estado do Pará. *Pesq. Vet. Bras.* 2009; 29(3):229-232.
84. Basile BC, Yoshinari NH, Mantovani E, Bonoldi CN, Grac D, Macoris A, et al. Brazilian borreliosis with special emphasis on humans and horses. *Brazilian Journal of Microbiology.* 2017; 48:167–172
85. Socoloski SNG, Castro BG, Cordeiro MD, Fonseca AH, Cepeda MB, Nicolino RR, et al. Epidemiological investigation of *Borrelia burgdorferi* in horses in the municipality of Sinop—MT, Brazil *Tropical Animal Health and Production.* 2018; 50:831–836.
86. Lopez JE, Krishnavahjala A, Garcia MN, Bermudez S. Tick-Borne Relapsing Fever Spirochetes in the Americas. *Vet. Sci.* 2016; 3:16.
87. Gonçalves DD, Carreira T, Nunes M, Benitez A, Lopes-Mori FMR, Vidotto O, et al. First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in *Dermacentor nitens* ticks in the northern region of Parana (Brazil). *Brazilian Journal of Microbiology.* 2013; 44(3):883-887.
88. Dall'Agnol B, Michel T, Weck B, Souza UA, Webster A, Leal BF, et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes longiscutatus* ticks from Brazilian Pampa. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017; 8: 928-32.
89. Qiu WG, Bruno JF, McCaig WD, Xu Y, Livey I, Schriefer ME, et al. Wide distribution of a high-virulence *Borrelia burgdorferi* clone in Europe and North America. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14:1097–104.3.
90. Rudenko N, Golovchenko M, Grubhoffer L, Oliver JH Jr. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011; 2:123–8.
91. Steere AC. Lyme Disease. *N Engl J Med.* 2001; 345:115–25.2.
92. Sinsk E, Welc-Faleciak, R, Zajkowska J. *Borrelia miyamotoi*: A human tick-borne relapsing fever spirochete in Europe and its potential impact on public health. *Advances in Medical Sciences.* 2016; 61(9):255-60.
93. Miziara CS, Serrano VA, Yoshinari N. Passage of *Borrelia burgdorferi* through diverse Ixodid hard ticks causes distinct diseases: Lyme borreliosis and Baggio-Yoshinari syndrome. *Clinics.* 2018; 73:e394.
94. Bratton RL, Whiteside JW, Hovan MJ, Engle RL, Edwards FD. Diagnosis and treatment of Lyme disease. *Mayo Clin Proc.* 2008; 83: 566-71.
95. LDo – LymeDisease.org. Lyme disease. 2019. Disponível em: <<https://www.lymedisease.org/>>. Acesso em 19 de Jul. 2019.
96. Oliveira SV, Faccini-Martínez AA, Cerutti Jr C. Lack of serological evidence for Lyme-like borreliosis in Brazil. *Travel Medicine and Infectious Disease.* 2018; 26:62–63.

97. Rodrigues BD, Meireles VMB, Braz MN. Borreliose de lyme símile: Relato de caso. Rev. Para. Med. 2007; 21(3).
98. Mantovani E, Marangoni RG, Gauditano G, Bonoldi VLN, Yoshinari NH. Amplification of The *Flge* gene provides evidence for the existence of a brazilian Borreliosis. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo. 2012; 54(3):153-157.
99. Gonçalves DD, Moura RA, Nunes M, Carreira T, Vidotto O, Freitas JC, et al. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in humans in a rural area of Paraná State, Brazil. Braz. J. Microbiol. 2015;46(2):571-9.
100. Lopes FA, Rezende J, Silva DBS, Alvese FCG, Oliveira CE, Costa IP, Evidência molecular de *Borrelia burgdorferi* sensu lato em pacientes no centro-oeste brasileiro. Rev Bras Reumatol. 2017; 57(6):641–645.
101. Pacheco A, Cordeiro MD, Cepeda MB, Luz HR, Cardozo SV, Berto BP, et al. Hemoparasites in ticks of wild birds of Serra dos Órgãos National Park, state of Rio de Janeiro, Brazil. Braz J Vet Parasitol. 2019; 28(2): 238-244.

# ANEXOS

## ANEXO A – Autorização de Pesquisa



GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO  
Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos  
Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos - IEMA

Folha nº 1/4

### AUTORIZAÇÃO DE PESQUISA GRN nº 026A-2017

(Processo nº 75561271/16 – Atualização)

Título da Pesquisa: Biodiversidade de potenciais vetores e hospedeiros de *Barrelhas* no Estado do Espírito Santo.

Unidade de Conservação: Reserva Biológica de Duas Bocas - RBDB

Pesquisador responsável: Gilberto Salles Gazêta

#### Equipe:

- |                                       |                                       |
|---------------------------------------|---------------------------------------|
| 1. Juliana Rodrigues Iovar            | 9. Vanessa de Carvalho Brandão        |
| 2. Marcos Antônio CR Cunha            | 10. Beatriz Elise de Andrade Silva    |
| 3. Adilson Arimathea Rosa             | 11. Camila dos Santos Lucio           |
| 4. Augusto Marchon Zago               | 12. Raphael Lubiana Zanotti           |
| 5. Ademar Ferreira                    | 13. Cynthia Ito                       |
| 6. Elizabeth Cristina Santos          | 14. Luciano Lyrio Salles (Funasa)     |
| 7. Graziela Virginia Tolesano Pascoli | 15. Altamir Bittencourt (motorista)   |
| 8. Roberto do Val V Ielo              | 16. João Batista da Silva (motorista) |

Com fundamento nos documentos Ofício/SESA/GEVS/NEVE/nº 111/2017 e Ofício/SESA/GEVS/NEVE/nº 23/2018, decidimos pelo DEFERIMENTO do pedido de autorização de pesquisa solicitado por meio do Processo nº 75561271.

Esta autorização é válida até **30 de dezembro de 2019**, estando a mesma condicionada ao cumprimento no disposto abaixo.

Informamos que os prazos de entrega dos relatórios **Parcial** é **31 de dezembro de 2018**, e do relatório **Final** é **31 de janeiro de 2020**.

Informamos que as campanhas de campo deverão ser agendadas, **em dia útil e até o horário de 15:00**, junto à administração da unidade de conservação através dos seguintes contatos: Reserva Biológica de Duas Bocas - [rbdb@iema.es.gov.br](mailto:rbdb@iema.es.gov.br) e/ou (27) 3636-2586 ou 98849-9817.

BR 262, Km 0, Jardim América, s/n, Cariacica, Espírito Santo – CEP 29.140-500 – Telefax: (27) 3636-2569.

[www.meioambiente.es.gov.br](http://www.meioambiente.es.gov.br)



**Condicionantes Específicas:**

1.	Ressaltamos que, quando da realização das atividades de campo, é <b>obrigatório</b> o porte desta autorização (original ou cópia) para segurança do pesquisador.
2.	Fica <b>cancelada</b> a Autorização GRN nº 023-2016.
3.	O corte ou poda de vegetação, para abertura de trilhas ou outros fins, só será permitido mediante autorização do gestor da UC e/ou do IEMA, bem como, com o acompanhamento de funcionário da unidade, nos casos que couber.
4.	A captura de mamíferos de pequeno porte -- <b>pequenos roedores, marsupiais e morcegos</b> - está autorizada para os fins desse projeto, com a utilização de <u>armadilhas modelo Sherman e Tomahawk, puçá e redes de neblina</u> , conforme informado em projeto, e deverá ser direcionada para as espécies alvo desta pesquisa.
5.	A coleta de mamíferos de pequeno porte -- pequenos roedores, marsupiais e morcegos - está autorizada em <u>uma única campanha</u> de campo e para os fins desse projeto, nas <b>quantidades máximas de até 05 (cinco) casais de cada espécie</b> de morcego e de <b>até 10 (dez) casais de cada espécie</b> de roedores e marsupiais, devendo ser direcionada para as espécies alvo desta pesquisa, <u>evitando-se a captura ou manejo de espécies em extinção, fêmeas prenhas ou lactantes.</u>
6.	A captura e manuseio de <b>aves</b> estão autorizados em <u>uma única campanha</u> de campo e para os fins desse projeto, nas <b>quantidades máximas de até 10 (dez) casais de cada espécie</b> , <u>evitando-se espécies em extinção</u> e liberando-se todas as aves após o procedimento de coleta de sangue e ectoparasitas.
7.	A coleta de amostras de sangue dos animais capturados e de espécimes de carrapatos e pulgas está autorizada, devendo o pesquisador apresentar uma relação do material coletado à gestão da unidade de conservação <u>a cada campanha</u> , inclusive quando houver coleta imprevista.
8.	Todas as marcações e materiais utilizados devem ser removidos ao final da pesquisa.

**Condicionantes Documentais:**

a.	Alterações, no escopo do projeto e/ou no cronograma de atividades, deverão ser comunicadas ao gestor da unidade de conservação e/ou à Gerência de Recursos Naturais/IEMA com <b>antecedência mínima de 30 (trinta) dias</b> .
----	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



b.	Conforme disposto na Resolução IBGE nº 01/2005, a pesquisa e seus produtos finais – tabelas, planilhas, listas, imagens, mapas e/ou projeções - devem utilizar o sistema geodésico SIRGAS 2000 ou UTM WGS84 para apresentar as coordenadas dos pontos/estações amostrais.
c.	A <b>Planilha do SISBIO</b> deve ser entregue ao IEMA, conjuntamente com os Relatórios.
d.	O Relatório <b>Parcial</b> deverá ser apresentado, em meio digital e impresso, de acordo com a data prevista nesta Autorização de Pesquisa, englobando: a planilha SISBIO e o registro fotográfico dos espécimes (se houver).
e.	O Relatório <b>Final</b> deverá ser apresentado, em meio digital e impresso, de acordo com a data prevista nesta Autorização de Pesquisa, englobando: a planilha SISBIO, o registro fotográfico (se houver) e outros produtos que considerar importante para a gestão e planejamento ecológico da unidade de conservação.
f.	Após o término da pesquisa, o pesquisador deverá realizar uma apresentação da pesquisa e seus resultados à equipe da unidade de conservação, técnicos da Sede IEMA, e, se for o caso, aos proprietários da RPPN e comunidades, em linguagem acessível.
g.	Os artigos produzidos, também, devem ser apresentados em meio digital e em <b>até 30 (trinta) dias após sua publicação</b> em revistas científicas.
h.	Como <b>contrapartida do pesquisador</b> , deve ser disponibilizado todo o material produzido durante a pesquisa, em meio digital, como: audiovisual, dados brutos, imagens, mapas, <i>shapes</i> e outros, os quais <u>comporão o banco de dados das Unidades de Conservação</u> da pesquisa, visando à melhoria da gestão desta.

**Condicionantes Gerais:**

I.	As metodologias a serem utilizadas nas UCs estaduais devem ser somente aquelas autorizadas pelo IEMA.
II.	Deve ser inserido, no item "Reconhecimento/Agradecimento" do artigo científico, o nome da unidade de conservação e da Autarquia que propiciou a pesquisa.
III.	Essa autorização e os resultados <b>não</b> poderão ser utilizados para fins comerciais, industriais, esportivos ou para a realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento de empreendimentos.
IV.	Essa autorização <b>não</b> exime os pesquisadores de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais.





**GOVERNO DO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO**  
*Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos*  
**Instituto Estadual de Meio Ambiente e Recursos Hídricos - IEMA**

Folha nº 4/4

V.	Conforme Artigo 19º do Decreto nº 4.225-N/1998, o pesquisador que <b>não cumprir com as obrigações estabelecidas</b> , poderá ter sua autorização suspensa e/ou cancelada e estará sujeito ao indeferimento de novos pedidos de pesquisa em Unidades de Conservação geridas por esta autarquia.
----	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Cariacica - ES, 09 de julho de 2018.

Atenciosamente,

**IDALUCIA SCHIMITH BERGHER**  
Gerente de Recursos Naturais  
GRN/DT/IEMA

Ao Sr. Gilberto S Gazêta  
Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz  
Entomologia - Lab. Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses  
Av. Brasil, 4365, anexo posterior do Pavilhão Lauro Travassos, salas 01 a 10  
Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 21040-360

C/C:  
Fabiano Novelli – Reserva Biológica de Duas Bocas - CGEUC/GRN/DT/IEMA

S:\GRN\2018 GRN - Docs\Apoio Administrativo\2018- Autorização de Pesquisa em UC\APUC 026A-2017\_75561271\_Gilberto Salles Gazeta\_Atualizacao.doc

BR 262, Km 0, Jardim América, s/n, Cariacica, Espírito Santo – CEP 29.140-500 – Telefax: (27) 3636-2569.

[www.meioambiente.es.gov.br](http://www.meioambiente.es.gov.br)

## ANEXO B – Licença permanente para coleta de material zoológico



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
**Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA**  
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1	Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
-----------------	-----------------------------------

#### Dados do titular

Registro no Ibama: 608054	Nome: PAULO SÉRGIO D ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

#### Observações, ressalvas e condicionantes

1	A participação do(a) pesquisador(a) estrangeiro(a) nas atividades previstas nesta autorização depende de autorização expedida pelo Ministério de Ciência e Tecnologia (CNPq/MCT);
	A licença permanente não é válida para: a) coleta ou transporte de espécies que constem nas listas oficiais de espécies ameaçadas de extinção; b) manutenção de espécimes de fauna silvestre em cativeiro;
2	c) recebimento ou envio de material biológico ao exterior; e d) realização de pesquisa em unidade de conservação federal ou em caverna. A restrição prevista no item d não se aplica as categorias Reserva Particular do Patrimônio Natural, Área de Relevante Interesse Ecológico e Área de Proteção Ambiental constituídas por terras privadas;
3	O pesquisador titular da licença permanente, quando acompanhado, deverá registrar a expedição de campo no Sisbio e informar o nome e CPF dos membros da sua equipe, bem como dados da expedição, que constarão no comprovante de registro de expedição para eventual apresentação à fiscalização;
4	Esta licença permanente não exime o seu titular da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade.
5	Esta licença permanente não poderá ser utilizada para fins comerciais, industriais, esportivos ou para realização de atividades inerentes ao processo de licenciamento ambiental de empreendimentos.
6	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
7	O pesquisador titular da licença permanente será responsável pelos atos dos membros da equipe (quando for o caso)
8	O órgão gestor de unidade de conservação estadual, distrital ou municipal poderá, a despeito da licença permanente e das autorizações concedidas pelo Ibama, estabelecer outras condições para a realização de pesquisa nessas unidades de conservação.
9	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
10	O titular da licença permanente deverá apresentar, anualmente, relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias após o aniversário de emissão da licença permanente.
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo Ibama e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
12	A licença permanente será válida enquanto durar o vínculo empregatício do pesquisador com a instituição científica a qual ele estava vinculado por ocasião da solicitação.
13	Este documento não dispensa a obtenção de autorização de acesso ao componente do patrimônio genético ou ao conhecimento tradicional associado nos termos da legislação vigente.
14	As atividades contempladas nesta autorização NÃO abrangem espécies brasileiras constante de listas oficiais (de abrangência nacional, estadual ou municipal) de espécies ameaçadas de extinção, sobreexplotadas ou ameaçadas de sobreexplotação.

#### Táxons autorizados

#	Nível taxonômico	Táxon(s)
1	ORDEM	Rodentia, Didelphimorphia
2		

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Museu Nacional (UFRRJ)	coleção

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet ([www.ibama.gov.br/sisbio](http://www.ibama.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 91827146**



Página 1/2



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
**Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA**  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 13373-1		Data da Emissão: 19/11/2007 17:02
Dados do titular		
Registro no Ibama: 608054	Nome: PAULO SÉRGIO D ANDREA	CPF: 062.639.198-92
Nome da Instituição: FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ		CNPJ: 33.781.055/0001-35

### Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa Ibama nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta ser comunicada ao Ibama por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica, preferencialmente depositado em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Nível	Táxon*	Qtde.	Amostra	Qtde.	Data

\* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.

Este documento (Licença permanente para coleta de material zoológico) foi expedido com base na Instrução Normativa Ibama nº154/2007. . Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet ([www.ibama.gov.br/sisbio](http://www.ibama.gov.br/sisbio)).

**Código de autenticação: 91827146**



Página 2/2

## ANEXO C – Autorização para atividades com finalidade científica



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63023-1	Data da Emissão: 13/06/2018 18:39	Data para Revalidação*: 13/07/2019
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

\* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

#### Dados do titular

Nome: Roberto do Val Vilela	CPF: 165.927.918-61
Título do Projeto: INVESTIGAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DE BORRELIÓSE DE INTERESSE MÉDICO NO BRASIL	
Nome da Instituição : Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ	CNPJ: 33.781.055/0012-98

#### Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Coleta na Região Metropolitana de Vitória	06/2018	06/2018
2	Coleta na Região Metropolitana de Curitiba	10/2018	10/2018
3	Coleta na Região Metropolitana de Belo Horizonte	06/2019	06/2019
4	Coleta na Região Metropolitana de Palmas	10/2019	10/2019

#### Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico <a href="http://www.ibama.gov.br">www.ibama.gov.br</a> (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
6	O titular de licença e autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
7	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em <a href="http://www.mma.gov.br/cgen">www.mma.gov.br/cgen</a> .
9	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

#### Outras ressalvas

1	As redes de neblina utilizadas para a captura de morcegos deverão ser checadas no mínimo a cada 20 minutos. Não está autorizada a coleta e o transporte de fêmeas grávidas ou em processo de amamentação.
2	No momento da submissão do relatório é necessário informar as espécies de ectoparasitas identificadas no estudo. Quando a solicitação for submetida novamente à análise, deverá ser realizada a inclusão da atividade "Coleta/transporte de espécimes in situ" (no item Taxon(s) X Atividades) para esses invertebrados, uma vez que eles constituem espécimes não amostras biológicas (partes de indivíduos ou carcaças).
2	Esta autorização não exime seu titular de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres - SNA.

#### Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
---	------	--------	-----	-----------------	---------------

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 39574135



Página 1/4



### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63023-1	Data da Emissão: 13/06/2018 18:39	Data para Revalidação*: 13/07/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Roberto do Val Vilela	CPF: 165.927.918-61
Título do Projeto: INVESTIGAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DE BORRELIOSSE DE INTERESSE MÉDICO NO BRASIL	
Nome da Instituição : Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ	CNPJ: 33.781.055/0012-98

1	Beatriz Elise de Andrade Silva	Bolsista técnico nível mestrado	107.955.567-64	208923029 DETRAN-RJ	Brasileira
2	ALINE DA PENHA VALADARES	Bióloga	111.462.837-92	2069497 SPTC-ES	Brasileira
3	GRAZIELA VIRGINIA TOLESANO PASCOLI	Pesquisadora responsável coleta de aves	039.120.306-18	28878716 SSP-SP	Brasileira
4	LUCIANO LYRIO SALLES	Guarda Endemias/Biólogo	912.480.517-34	785475 SPTC-ES	Brasileira
5	Socrates Fraga da Costa Neto	Bolsista técnico nível doutorado	098.931.347-65	126332089 IFP-RJ	Brasileira
6	Ademar Ferreira da Silva	Pesquisador responsável coleta de quirópteros	644.608.517-68	52147824 Detran Rio-RJ	Brasileira
7	Camila dos Santos Lucio	Discente Mestrado / PPGBS/IOC/Fiocruz	134.577.197-56	129872941 detran-RJ	Brasileira
8	Gilberto Salles Gazêta	Coordenador	531.362.766-04	M3 148428 SSP-MG	Brasileira
9	Cynthia Ito	Coordenadora de campo	269.131.368-97	283926211 SSP-SP	Brasileira
10	Stefan Vilges de Oliveira	Consultor técnico	986.894.100-82	3078738451 SSP-RS	Brasileira
11	Karina Varela Arpon	Discente Mestrado / PPGBP/IOC/Fiocruz	160.227.107-07	27.246.974-3 Ifp-RJ	Brasileira
12	Jeiel Gabrir Carvalhaes	Discente Doutorado / PPGBS/IOC/Fiocruz	086.576.357-71	11987891-6 IFP-RJ	Brasileira
13	Filipe Veiga de Brito	Estagiário	094.163.087-06	02563721170 Detran-RJ	Brasileira
14	MÁRCIO SALES ABREU JUNIOR	Bolsista técnico nível superior	133.478.927-47	04244796700 DETRAN-RJ	Brasileira
15	Vanessa de Carvalho Brandão	Bolsista técnico nível superior	013.142.272-38	5944494 ssp-PA	Brasileira
16	elizabeth cristina Ferreira dos santos	Discente Doutorado / PPGBS/IOC/Fiocruz	072.880.537-50	107681157 Ifp-RJ	Brasileira
17	Adilson Arimatêa Rosa	Médico Veterinário	386.482.295-53	541.398 SSP-SE	Brasileira
18	Marcos Antonio Correia Rodrigues da Cunha	Médico Veterinário, Referência Técnica Estadual	104.393.677-78	1310195544 SSP-BA	Brasileira
19	Rute Hilário Albuquerque de Sousa	Bolsista técnico nível superior	105.633.747-80	201770211 DETRAN-RJ	Brasileira
20	Karina Diniz Pontes Tavares	Bolsista PIBIC	116.173.647-62	300865698 Detran-RJ	Brasileira
21	Augusto Marchon Zago	Médico veterinário CRMV ES 0184 Função vigilância em saúde	493.400.697-49	357347 SSP-ES	Brasileira

#### Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	VITORIA	ES	Região Metropolitana de Vitória	Fora de UC Federal
2	CURITIBA	PR	Região Metropolitana de Curitiba	Fora de UC Federal
3	BELO HORIZONTE	MG	Região Metropolitana de Belo Horizonte	Fora de UC Federal
4	PALMAS	TO	Região Metropolitana de Palmas	Fora de UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 39574135



Página 2/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63023-1	Data da Emissão: 13/06/2018 18:39	Data para Revalidação*: 13/07/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

#### Dados do titular

Nome: Roberto do Val Vilela	CPF: 165.927.918-61
Título do Projeto: INVESTIGAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DE BORRELIOSE DE INTERESSE MÉDICO NO BRASIL	
Nome da Instituição : Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ	CNPJ: 33.781.055/0012-98

#### Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Captura de animais silvestres in situ	Chiroptera, Aves
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Chiroptera, Aves
3	Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ	Chiroptera (*Qtde: 12)
4	Marcação de animais silvestres in situ	Chiroptera, Aves

\* Quantidade de indivíduos por espécie, por localidade ou unidade de conservação, a serem coletados durante um ano.

#### Material e métodos

1	Amostras biológicas (Aves)	Fezes, Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Sangue, Ectoparasita
2	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Sangue, Animal encontrado morto ou partes (carcaça)/osso/pele, Fezes, Ectoparasita, Fragmento de tecido/orgão
3	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina
4	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Rede de neblina
5	Método de marcação (Aves)	Anilha de Alumínio (padrão CEMAVE), Anilha metálica (padrão CEMAVE)
6	Método de marcação (Outros mamíferos)	"Tags"

#### Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	Museu Nacional (UFRJ)	colecção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 39574135



Página 3/4



Ministério do Meio Ambiente - MMA  
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio  
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

### Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 63023-1	Data da Emissão: 13/06/2018 18:39	Data para Revalidação*: 13/07/2019
-----------------	-----------------------------------	------------------------------------

\* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.

#### Dados do titular

Nome: Roberto do Val Vilela	CPF: 165.927.918-61
Título do Projeto: INVESTIGAÇÃO ECOEPIDEMIOLÓGICA DE BORRELIÓSE DE INTERESSE MÉDICO NO BRASIL	
Nome da Instituição : Instituto Oswaldo Cruz - IOC/FIOCRUZ	CNPJ: 33.781.055/0012-98

### Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

\* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet ([www.icmbio.gov.br/sisbio](http://www.icmbio.gov.br/sisbio)).

Código de autenticação: 39574135



Página 4/4

## APÊNDICES

### Apêndice A – Identificação molecular de carrapatos coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho a 10 de agosto de 2018

Amostras	Identificação Morfológica	Identificação molecular utilizando o gene 12S rDNA*	Identificação molecular utilizando o gene 16S rDNA*
LIC 8880A	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,66% (289/290) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342257)	99,73% (374/375) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KY707774, KX137896)
LIC 8880B	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,64% (274/275) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,53% (426/428) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (DQ858955, DQ858954)
LIC 8880E	5 larvas de <i>Amblyomma</i> sp	Sem sucesso na PCR	99,77% (427/428) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (DQ858955, DQ858954)
LIC 8881	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,68% (316/317) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342257)	99,77% (427/428) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (DQ858955, DQ858954)
LIC 8879B	1 Ninfa Morfotipo 3	100,00% (371/371) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KX622791)	Sem sucesso no sequenciamento
LIC 8879S	1 Ninfa Morfotipo 3	100,00% (330/330) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,76% (415/416) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8879X	1 Ninfa Morfotipo 3	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,76% (414/415) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8879Z	1 Ninfa Morfotipo 2	Sem sucesso na PCR	Sem sucesso na PCR
LIC 8879A1	1 Ninfa Morfotipo 5	Sem sucesso na PCR	99,54% (429/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8878F	1 Ninfa Morfotipo 1	99,70% (328/329) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273545, KY273542, KX622791, KF614698, JX573118)	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)

Amostras	Identificação Morfológica	Identificação molecular utilizando o gene 12S rDNA*	Identificação molecular utilizando o gene 16S rDNA*
LIC 8878G	1 Ninfa Morfotipo 1	99,70% (328/329) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273545, KY273542, KX622791, KF614698, JX573118)	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8878H	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i> Morfotipo Maior	99,70% (332/333) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273546)	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8878I	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i> Morfotipo Maior	99,70% (329/330) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273545, KY273542, KX622791, KF614698, JX573118)	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8873A	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i> Morfotipo 1	Sem sucesso no sequenciamento	99,54% (430/432) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8873B	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i> Morfotipo 2	99,65% (287/288) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8873C	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i> Morfotipo Maior	99,70% (329/330) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273545, KY273542, KX622791, KF614698, JX573118)	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8874E	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	Sem sucesso no sequenciamento	99,31% (430/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8875A	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,65% (283/284) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	Sem sucesso na PCR
LIC 8875B	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,65% (284/285) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	Sem sucesso na PCR
LIC 8875P	1 Ninfa Morfotipo 2	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8875Q	1 Ninfa Morfotipo 2	99,65% (285/286) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,54% (430/432) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8875R	1 Ninfa Morfotipo 3	Sem sucesso na PCR	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8875S	1 Ninfa Morfotipo 3	Sem sucesso na PCR	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8876A	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	Sem sucesso na PCR	99,77% (431/432) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8876C	5 larvas de <i>Amblyomma</i> sp	Sem sucesso na PCR	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8872B	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i> Morfotipo Maior	Sem sucesso no sequenciamento	99,77% (431/432) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8872D	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i> Morfotipo 4	99,66% (289/290) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)

Amostras	Identificação Morfológica	Identificação molecular utilizando o gene 12S rDNA*	Identificação molecular utilizando o gene 16S rDNA*
LIC 8869A	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,53% (424/426) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (DQ858955, DQ858954)
LIC 8869B	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8882A	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698, JX573118)	Sem sucesso na PCR
LIC 8882B	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8897E	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8897K	3 larvas de <i>Amblyomma</i> sp.	99,64% (275/276) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8902I	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	Sem sucesso no sequenciamento	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8902J	10 larvas de <i>Amblyomma</i> sp.	Sem sucesso no sequenciamento	99,77% (430/431) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8902K	10 larvas de <i>Amblyomma</i> sp.	100,00% (330/330) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (431/432) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8902H	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	Sem sucesso no sequenciamento	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8902C	1 larva de <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (281/282) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	Sem sucesso na PCR
LIC 8902D	1 larva de <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (284/285) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8902F	5 larvas de <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,64% (274/275) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8903B	1 larva de <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (282/283) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8900D1	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i> Morfofoto 1	99,65% (281/282) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)

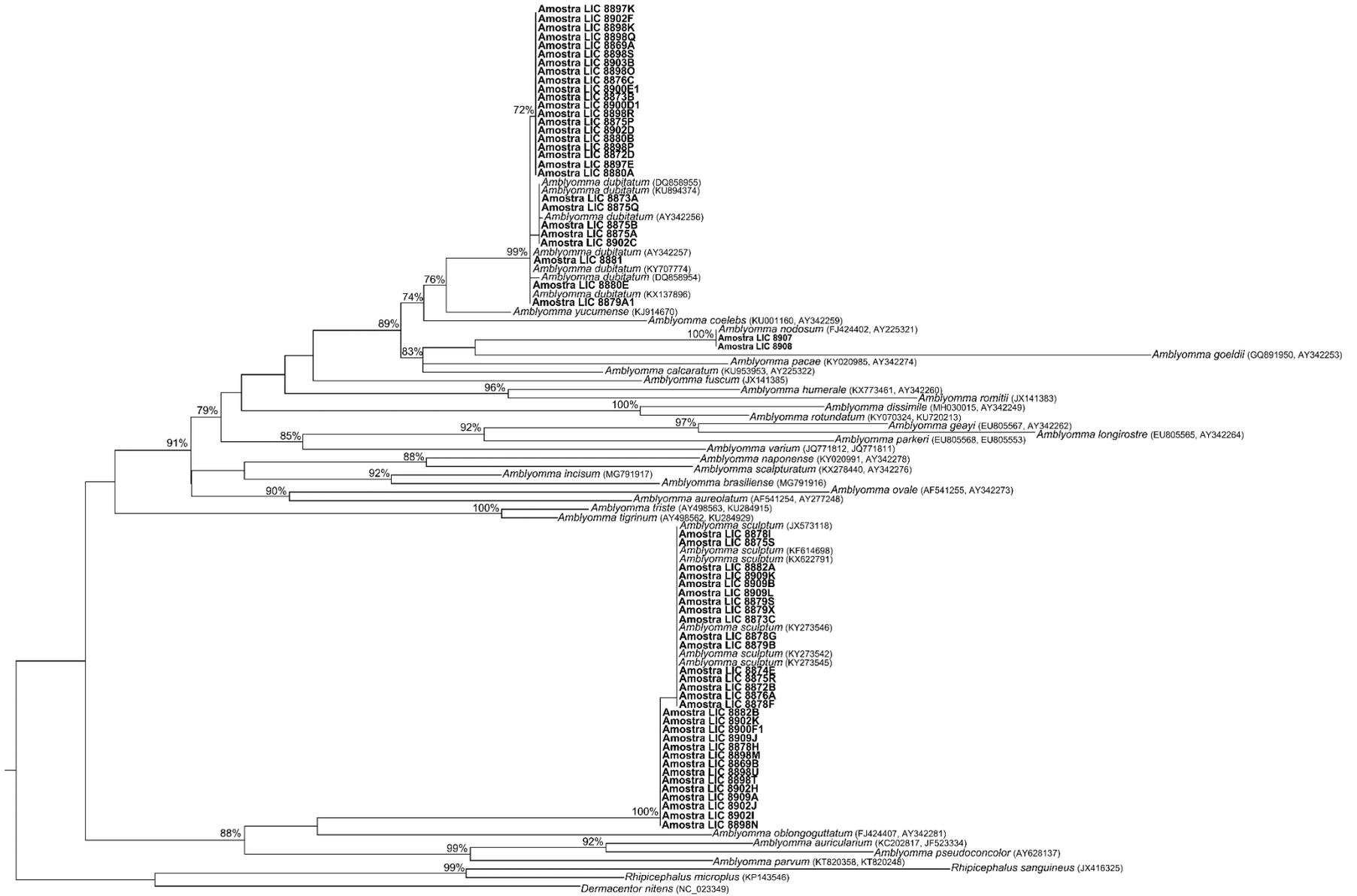
Amostras	Identificação Morfológica	Identificação molecular utilizando o gene 12S rDNA*	Identificação molecular utilizando o gene 16S rDNA*
LIC 8900E1	1 Ninfa Morfotipo 5	Sem sucesso no sequenciamento	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8900F1	1 Ninfa Morfotipo 3	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (431/432) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8898K	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i>	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8898M	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i>	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (431/432) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8898N	1 Ninfa <i>Amblyomma sculptum</i>	Sem sucesso no sequenciamento	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8898O	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8898P	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8898Q	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8898R	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8898S	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	99,65% (286/287) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (AY342256, AY342257)	99,30% (428/431) de identidade com <i>Amblyomma dubitatum</i> (KU894374)
LIC 8898T	1 Ninfa Morfotipo 3	100,00% (330/330) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8898U	1 Ninfa Morfotipo 3	99,70% (332/333) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273546)	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8907	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	Sem sucesso na PCR	99,27% (406/409) de identidade com <i>Amblyomma nodosum</i> (FJ424402)
LIC 8908	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	Sem sucesso na PCR	100,00% (406/406) de identidade com <i>Amblyomma nodosum</i> (FJ424402)
LIC 8909A	1 Ninfa <i>Amblyomma dubitatum</i>	Sem sucesso na PCR	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8909B	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	Sem sucesso na PCR

<b>Amostras</b>	<b>Identificação Morfológica</b>	<b>Identificação molecular utilizando o gene 12S rDNA*</b>	<b>Identificação molecular utilizando o gene 16S rDNA*</b>
LIC 8909J	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp.	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	99,77% (432/433) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (JX573118)
LIC 8909K	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp. (Pequena)	100,00% (330/330) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	Sem sucesso na PCR
LIC 8909L	1 larva de <i>Amblyomma</i> sp. (Pequena)	100,00% (331/331) de identidade com <i>Amblyomma sculptum</i> (KY273542, KX622791, KF614698)	Sem sucesso na PCR

\* Identidade com sequências depositadas no GenBank: Porcentagem, resíduos idênticos/ resíduos alinhados, espécie e número de acesso no GenBank

**Apêndice B – Identificação molecular de carrapatos coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 28 de julho a 10 de agosto de 2018**

**Figura B1** Filogenia concatenada, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo GTR+G, de sequências parciais dos genes mitocondriais 16S rDNA e 12S rDNA (427 + 339 pb) de carrapatos coletados no Espírito Santo. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% “cut-off”).



**Apêndice C – Amostras de potenciais vetores de *Borrelia* sp. submetidos a análise por biologia molecular, coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 21 a 25 de novembro de 2016 e de 28 de julho a 10 de agosto de 2018**

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8277	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8278A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8278B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8278C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8278D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8278E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8278F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8278G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8278H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8278I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8278J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8278K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8278L	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8278M	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 5LL
LIC 8279A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8279B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8279C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8279D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8279E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8279F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8280A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8280B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8280C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8280D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8280E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8280F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8280G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 10LL
LIC 8280H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 10LL
LIC 8280I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 10LL
LIC 8281A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8281B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8281C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8281D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8281E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8281F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8281G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8281H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8281I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8281J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8182A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8182B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8182C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8182D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8182E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8182F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8182G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8182H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8182I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8182J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8182K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 15LL
LIC 8283A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8283B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8283K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8284A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8284B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8284C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8284D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8284E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284L	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284M	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284N	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284O	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284P	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284Q	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8284R	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8284S	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8284T	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8285A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8285B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8285C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8285D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8285E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8285F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8285G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8285H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285L	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285M	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285N	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285O	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8285P	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8286A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8286B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8286C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8286D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8286E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8286F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8286G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8286H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8287A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8287B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8287C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8288I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288L	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8288M	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288N	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288O	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288P	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288Q	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288R	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288S	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288T	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288U	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288V	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8288X	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8288Z	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20L
LIC 8288A1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8288B1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8288C1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8289A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8289B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8290A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8290B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8290C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8291A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8291B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8291C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8292A	<i>Canis familiaris</i> (Cão)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8292B	<i>Canis familiaris</i> (Cão)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8293	Ambiente (Mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8294	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8295A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8295B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8295C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8295D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8295E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8295F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8295G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8295H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8295I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 20LL
LIC 8296A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8296B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8296C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8297	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8298	Ambiente (Galinheiro)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299A	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> ♀

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8299B	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8299C	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299D	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299E	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299F	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299G	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299H	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299I	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299J	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299K	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299L	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8299M	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8299N	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8299O	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8299P	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8299Q	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8299R	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8299S	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8299T	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8299U	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8299V	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 2NN
LIC 8299X	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8299Z	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 2NN
LIC 8299A1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 30LL
LIC 8299B1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 30LL
LIC 8299C1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 30LL
LIC 8299D1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 30LL
LIC 8299E1	Ambiente (Pasto)	<i>Amblyomma</i> sp. 30LL
LIS 815A	<i>Canis familiaris</i> (Cão)	<i>Ctenocephalides felis</i> 1♂
LIS 815B	<i>Canis familiaris</i> (Cão)	<i>Polygenis</i> sp. 1♀
LIC 8869A	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8869B	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8869C	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8869D	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8869E	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8870A	Ambiente (gruta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8870B	Ambiente (gruta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8870C	Ambiente (gruta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8870D	Ambiente (gruta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8871	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8872A	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8872B	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8872C	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8872D	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8872E	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8872F	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8872G	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873A	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8873B	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8873C	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873D	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873E	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873F	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873G	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873H	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8873I	Ambiente (casa de formação)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8874A	Ambiente (administração)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8874B	Ambiente (administração)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8874C	Ambiente (administração)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8874D	Ambiente (administração)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
Lic 8874E	Ambiente (administração)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8875A	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8875B	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8875C	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8875D	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875E	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875F	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875G	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875H	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875I	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875J	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875K	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875L	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875M	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875N	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875O	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875P	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8875Q	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8875R	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8875S	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8876A	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8876B	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8876C	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 5LL
LIC 8876D	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8876E	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8876F	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8876G	Ambiente (próximo a represa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8877A	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8877B	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8877C	Ambiente (alojamento)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878A	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8878B	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878C	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878D	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878E	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878F	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878G	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878H	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878I	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8878J	Ambiente (ponte)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879A	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8879B	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879C	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8879D	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879E	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879F	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879G	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879H	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879I	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879J	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879K	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879L	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879M	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879N	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879O	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879P	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879Q	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879R	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879S	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879T	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879U	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879V	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879X	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879Z	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8879A1	Ambiente (rampa)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8880A	<i>Nectomys squamipes</i> (rato d'água)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8880B	<i>Nectomys squamipes</i> (rato d'água)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8880C	<i>Nectomys squamipes</i> (rato d'água)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8880D	<i>Nectomys squamipes</i> (rato d'água)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8880E	<i>Nectomys squamipes</i> (rato d'água)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 5LL
LIC 8881	<i>Rattus rattus</i> (rato-preto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8882A	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8882B	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8882C	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8882D	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8883A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8883B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8884A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8884B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8884C	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8884D	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8884E	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8884F	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1N
LIC 8885A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8885B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8885C	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8886A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8886B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8887A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8887B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8887C	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8888	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8889A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8889B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8890A	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♀
LIC 8890B	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Rhipicephalus sanguineus</i> 1♂
LIC 8897A	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8897B	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8897C	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8897D	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8897E	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8897F	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8897G	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8897H	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8897I	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8897J	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8897K	Ambiente (pasto)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 3L
LIC 8898A	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8898B	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8898C	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8898D	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8898E	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8898F	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898G	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898H	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898I	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898J	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898K	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898L	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8898M	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898N	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898O	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898P	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898Q	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898R	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898S	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8898T	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898U	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898V	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898X	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898Z	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898A1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898B1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898C1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898D1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898E1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898F1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898G1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898H1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898I1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898J1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898K1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898L1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898M1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898N1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898O1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898P1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898Q1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898R1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8898S1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N

<b>Amostra</b>	<b>Hospedeiro / Ambiente</b>	<b>Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.</b>
LIC 8898T1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8899A	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8899B	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900A	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♀
LIC 8900B	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8900C	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8900D	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900E	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900F	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900G	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900H	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900I	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900J	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900K	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900L	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900M	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900N	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900O	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900P	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900Q	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900R	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900S	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900T	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900U	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900V	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900X	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900Z	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900A1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900B1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900C1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900D1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900E1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1N
LIC 8900F1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900G1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900H1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8900I1	Ambiente (mata)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8901	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8902A	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♂
LIC 8902B	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8902C	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8902D	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8902E	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L

Amostra	Hospedeiro / Ambiente	Espécie de potencial vetor de <i>Borrelia</i> sp.
LIC 8902F	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 5LL
LIC 8902G	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8902H	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8902I	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8902J	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 10LL
LIC 8902K	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 10LL
LIC 8902L	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 10LL
LIC 8902M	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 10LL
LIC 8903A	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1♂
LIC 8903B	Ambiente (macacão da equipe de coleta)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1L
LIC 8904	<i>Homo sapiens</i> (Humano)	<i>Amblyomma dubitatum</i> 1♀
LIC 8907	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco)	<i>Amblyomma nodosum</i> 1N
LIC 8908	<i>Sporophila nigricollis</i> (baiano)	<i>Amblyomma nodosum</i> 1N
LIC 8909A	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1N
LIC 8909B	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8909C	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8909D	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8909E	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8909F	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 5LL
LIC 8909G	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 5LL
LIC 8909H	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 5LL
LIC 8909I	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 5LL
LIC 8909J	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 5LL
LIC 8909K	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIC 8909L	<i>Cariama cristata</i> (siriema)	<i>Amblyomma sculptum</i> 1L
LIS 881	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Ctenocephalides felis</i> 1♀
LIS 882	<i>Canis familiaris</i> (cão)	<i>Ctenocephalides felis</i> 1♀

♂-Macho, ♀-Fêmea, N-Ninfa, L-Larva

**Apêndice D – Amostras de vertebrados submetidos a análise por biologia molecular, coletados na Reserva Biológica de Duas Bocas, Cariacica, Espírito Santo, no período de 21 a 25 de novembro de 2016 e de 28 de julho a 10 de agosto de 2018**

<b>Amostra</b>	<b>Espécie</b>	<b>Tipo de amostra biológica</b>
10/17RN	<i>Canis familiaris</i> (cão) – mine	Sangue Total
11/17RN	<i>Canis familiaris</i> (cão) – malu	Sangue Total
215/18RN	<i>Didelphis aurita</i> (gambá-de-orelha-preta) – 20428	Baço e Coágulo
216/18RN	<i>Didelphis aurita</i> (gambá-de-orelha-preta) – 20429	Baço e Coágulo
217/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20430	Baço e Coágulo
218/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20431	Baço e Coágulo
219/18RN	<i>Rattus rattus</i> (rato-preto) – 20432	Baço e Coágulo
220/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20433	Baço e Coágulo
221/18RN	<i>Oligoryzomys nigripes</i> (rato-do-mato) – 20434	Baço e Coágulo
222/18RN	<i>Monodelphis americana</i> (cuíca-de-três-listras) – 20435	Baço e Coágulo
223/18RN	<i>Didelphis aurita</i> (gambá-de-orelha-preta) – 20642	Baço e Coágulo
224/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20643	Baço e Coágulo
225/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20644	Baço e Coágulo
226/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20645	Baço e Coágulo
227/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20646	Baço e Coágulo
228/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20647	Baço e Coágulo
229/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20648	Baço e Coágulo
230/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20649	Baço e Coágulo
231/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20650	Coágulo
232/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20651	Baço e Coágulo
233/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20652	Baço e Coágulo
234/18RN	<i>Nectomys squamipes</i> (Rato d'água) – 20653	Baço e Coágulo
235/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20654	Baço e Coágulo
236/18RN	<i>Marmosops incanus</i> (cuíca) – 20655	Baço e Coágulo
237/18RN	<i>Marmosops incanus</i> (cuíca) – 20656	Baço e Coágulo
238/18RN	<i>Didelphis aurita</i> (gambá-de-orelha-preta) – 20657	Coágulo
239/18RN	<i>Rattus rattus</i> (rato-preto) – 20658	Baço e Coágulo
240/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20659	Baço e Coágulo
241/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20660	Baço e Coágulo
242/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20661	Baço e Coágulo
243/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20662	Baço e Coágulo
244/18RN	<i>Rattus rattus</i> (rato-preto) – 20663	Baço e Coágulo
245/18RN	<i>Akodon cursor</i> (rato-do-chão) – 20664	Baço e Coágulo
246/18RN	<i>Monodelphis americana</i> (cuíca-de-três-listras) – 20665	Baço e Coágulo
247/18RN	<i>Monodelphis americana</i> (cuíca-de-três-listras) – 20666	Baço e Coágulo
248/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) - 20394	Baço e Coágulo
249/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20395	Baço e Coágulo

<b>Amostra</b>	<b>Espécie</b>	<b>Tipo de amostra biológica</b>
250/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20396	Baço e Coágulo
251/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20397	Baço e Coágulo
252/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20398	Baço
253/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20399	Baço e Coágulo
254/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20400	Baço e Coágulo
255/18RN	<i>Myotis nigricans</i> (morcego-borboleta-preto) – 20401	Baço e Coágulo
256/18RN	<i>Artibeus lituratus</i> (morcego-da-cara-branca) – 20402	Baço e Coágulo
257/18RN	<i>Artibeus lituratus</i> (morcego-da-cara-branca) – 20403	Baço e Coágulo
258/18RN	<i>Artibeus lituratus</i> (morcego-da-cara-branca) – 20404	Baço e Coágulo
259/18RN	<i>Desmodus rotundus</i> (morcego-vampiro) – 20405	Baço e Coágulo
260/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20406	Baço e Coágulo
261/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20407	Baço e Coágulo
262/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20408	Baço e Coágulo
263/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20409	Baço e Coágulo
264/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20410	Baço e Coágulo
265/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20411	Baço e Coágulo
266/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20412	Baço e Coágulo
267/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20413	Baço e Coágulo
268/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20414	Baço e Coágulo
269/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20415	Baço e Coágulo
270/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20416	Baço e Coágulo
271/18RN	<i>Artibeus lituratus</i> (morcego-da-cara-branca) – 20417	Baço e Coágulo
272/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20418	Baço e Coágulo
273/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) – 20419	Baço e Coágulo
274/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20420	Baço e Coágulo
275/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20421	Baço e Coágulo
276/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20422	Baço e Coágulo
277/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20423	Baço e Coágulo
278/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20424	Baço e Coágulo
279/18RN	<i>Molossus rufus</i> (molosso-negro) – 20425	Baço e Coágulo
280/18RN	<i>Desmodus rotundus</i> (morcego-vampiro) -20426	Baço e Coágulo
281/18RN	<i>Carollia perspicillata</i> (morcego-de-cauda-curta) -20427	Baço e Coágulo
294/18RN	<i>Gallus gallus domesticus</i> (galo) – 1	Coágulo
295/18RN	<i>Gallus gallus domesticus</i> (galo) – 2	Coágulo
296/18RN	<i>Gallus gallus domesticus</i> (galo) – 3	Coágulo
297/18RN	<i>Gallus gallus domesticus</i> (galo) – 4	Coágulo
298/18RN	<i>Gallus gallus domesticus</i> (galo) – 5	Coágulo
299/19RN	<i>Gallus gallus domesticus</i> (galinha) – 1	Coágulo
301/18RN	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco) – ADB10	Sangue Total
302/18RN	<i>Sporophila nigricollis</i> (baiano) – ADB35	Sangue Total
303/18RN	<i>Cariama cristata</i> (siriema) – ADB60	Sangue Total
304/18RN	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i> (andorinha-serradora) – ADB01	Sangue Total
305/18RN	<i>Turdus albicollis</i> (Sabiá-coleira) – ADB03	Sangue Total

<b>Amostra</b>	<b>Espécie</b>	<b>Tipo de amostra biológica</b>
306/18RN	<i>Sporophila nigricollis</i> (baiano) – ADB04	Sangue Total
307/18RN	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i> (andorinha-serradora) – ADB05	Sangue Total
308/18RN	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i> (andorinha-serradora) – ADB06	Sangue Total
309/18RN	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco) – ADB07	Sangue Total
310/18RN	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco) – ADB08	Sangue Total
311/18RN	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco) – ADB09	Sangue Total
312/18RN	<i>Dacnis cayana</i> (saí-azul) – ADB11	Sangue Total
313/18RN	<i>Turdus flaviceps</i> (sabiá-uma) – ADB14	Sangue Total
314/18RN	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco) – ADB15	Sangue Total
315/18RN	<i>Pitangus sulphuratus</i> (Bentevizinho-de-penacho-vermelho) – ADB28	Sangue Total
316/18RN	<i>Nyctidromus albicollis</i> (bacurau) – ADB30	Sangue Total
317/18RN	<i>Turdus leucomelas</i> (sabiá-barranco) – ADB31	Sangue Total
318/18RN	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i> (andorinha-serradora) – ADB32	Sangue Total
319/18RN	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i> (andorinha-serradora) – ADB33	Sangue Total
320/18RN	<i>Leptotila rufaxilla</i> (juriti-gemeadeira) – ADB34	Sangue Total
321/18RN	<i>Sporophila caerulescens</i> (coleirinho) – ADB36	Sangue Total
322/18RN	<i>Volatinia jacarina</i> (tiziú) – ADB37	Sangue Total
323/18RN	<i>Sporophila caerulescens</i> (coleirinho) – ADB43	Sangue Total
324/18RN	<i>Sicalis flaveola</i> (Canário-da-terra) – ADB46	Sangue Total
325/18RN	<i>Troglodytes musculus</i> (Corruíra) – ADB51	Sangue Total
326/18RN	<i>Sicalis flaveola</i> (Canário-da-terra) – ADB56	Sangue Total
327/18RN	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i> (andorinha-serradora) – ADB62	Sangue Total