

ESTUDOS EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA 2

ALÉCIO MATOS PEREIRA
SARA SILVA REIS
(ORGANIZADORES)



Atena
Editora
Ano 2019

ESTUDOS EM MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA 2

ALÉCIO MATOS PEREIRA
SARA SILVA REIS
(ORGANIZADORES)


Atena
Editora
Ano 2019

2019 by Atena Editora
Copyright © Atena Editora
Copyright do Texto © 2019 Os Autores
Copyright da Edição © 2019 Atena Editora
Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Diagramação: Karine de Lima
Edição de Arte: Lorena Prestes
Revisão: Os Autores



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Faria – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Mato Grosso
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobom – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Profª Drª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Profª Drª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
E82	<p>Estudos em medicina veterinária e zootecnia 2 [recurso eletrônico] / Organizadores Alécio Matos Pereira, Sara Silva Reis. – Ponta Grossa, PR: Atena Editora, 2019. – (Estudos em Medicina Veterinária e Zootecnia; v. 2)</p> <p>Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader. Modo de acesso: World Wide Web. Inclui bibliografia ISBN 978-85-7247-867-0 DOI 10.22533/at.ed.670192312</p> <p>1. Medicina veterinária. 2. Zootecnia – Pesquisa – Brasil. I. Pereira, Alécio Matos. II. Reis, Sara Silva.</p> <p style="text-align: right;">CDD 636</p>
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná - Brasil
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

O e-book “Estudos em Medicina Veterinária e Zootecnia 2” aborda diversos assuntos importantes para formação e atualização de estudantes e profissionais que querem contribuir na área da ciência animal.

Nos estudos dos animais são abordados muitos assuntos, é necessário a integralização desses assuntos para que o profissional dessa área possa se atualizar de forma mais eficiente, encontrando nesse e-book assuntos variados que abordam as espécies: canina, felina, caprina, ovina e bovina.

Esse e-book tem 19 capítulos todos muito relevantes para o entendimento da ciência animal. Tem os capítulos que abordam clínica de cães e gatos, produção animal e relatos de caso de assuntos como ingestão acidental de Cannabis sativa por um Cão, onde esse último estudou o efeito dessa substância atualmente tão amplamente divulgados por causa de pesquisas recente sobre o uso canabidiol em tratamento doenças humanas

Os textos são escritos de uma forma objetiva e esclarecedoras, deixando claro para o leitor assuntos complexos como Leishmaniose, sendo essa doença atualmente um dos principais desafios da clínica de cães, pois existem muitas regiões endêmica no Brasil onde a principal intervenção do estado e o sacrifício dos animais soro positivo. Em função disso tem um capítulo que traz a percepção da população sobre o Centro de Zoonoses tão importante para controlar as doenças transmitidas pelos animais para os humanos.

É descrito também assuntos como o Tumor Venéreo Canino (TVT) e a endocardite e Miocardite bacteriana, bem como técnica de sutura e uso da radiografia para diagnóstico de Hidrocefalia em cães. Deixando o leitor a par de procedimentos cirúrgicos e exames fundamentais para exercer com profundidade a profissão de Médico Veterinário.

Não poderia ficar de fora relatos sobre procedimentos cirúrgicos de gatos e uma descrição clínica sobre diversas intoxicação por fármacos em felinos. O felino já é segundo animal pet da família brasileira. O e-book descreve com precisão as particularidades da farmacologia aplicada ao gato visto que esse animal tem uma baixa concentração da enzima glucuroniltransferase que é fundamental para o metabolismo de alguns medicamentos.

A caprino-ovinocultura faz parte hoje de várias regiões brasileiras, onde tem como seus desafios a nutrição e suas patologias, em função disso é abordado no texto um estudo sobre as principais patologias de caprinos e ovinos, deixando aqui o profissional com uma vasta lista de doença que pode acometer o rebanho que ele está atendendo. Na criação desses animais o grande desafio é a produção de alimentos, com isso o uso da alimentação nativa torna-se uma alternativa que foi abordado de forma aprofundada nesse e-book plantas nativas para uso de pequenos ruminantes.

O Brasil hoje é o segundo maior produtor de frango de corte do mundo, esse dado

demonstra a importância desse animal para o crescimento do agronegócio brasileiro. O profissional precisa entender o desempenho e crescimento desses animais para continuarmos a crescer a produção. Um dos desafios da produção de frango em algumas regiões são altas temperaturas, por isso foi contemplado um capítulo sobre linhagem de frango mais adaptáveis a essas temperaturas.

O brasileiro toma em média 128 litros de leite ano segundo o IBGE, e um desafio enfrentado para manter a produção é o controle da mastite subclínica, abordada com profundidade nas páginas desse e-book. A produção do leite sozinha muitas vezes não é suficiente para pagar todas contas da propriedade. Por isso foi colocado um texto sobre abate precoce do bezerro produzido pela vaca leiteira. O bezerro que era visto como um problema torna-se solução quando a sua dieta é bem orientada pelo profissional da zootecnia

Como foi visto nesse e-book que traz informações relevantes para os estudantes e profissionais da área de Medicina Veterinária, Zootecnia e Agronomia. Encontrando aqui uma fonte segura de informações por diversos pesquisados e profissionais reconhecidos na sua área de atuação. Deixando aqui disponíveis informações compiladas sobre os mais variados assuntos da ciência animal com o objetivo de orientar os profissionais dessa área possa se atualizar.

Alécio Matos Pereira

Sara Silva Reis

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1 1

INGESTÃO ACIDENTAL DE CANNABIS SATIVA POR UM CANINO –RELATO DE CASO

Damylla Nunes Azevedo
Denise Cerqueira de Sousa
Ranusce de Santis
Fabiana Crystina Alves Pereira
Ivanilce Nunes Rodrigues
Ivone Paiva da Silva
Fernanda Albuquerque Barros de Sousa
Paulo Roberto da Silva Pinheiro
Antônio Augusto Nascimento Machado Junior
Dayanne Anunciação Silva Dantas Lima
Manoel Lopes da Silva
Wagner Costa Lima

DOI 10.22533/at.ed.6701923121

CAPÍTULO 2 6

COINFECÇÃO NATURAL POR *LEISHMANIA SP.* E *EHRlichia CANIS* EM CÃO: RELATO DE CASO

Renata Oliveira Ribeiro
Antônio Augusto Nascimento Machado Júnior
Felicianna Clara Fonsêca Machado
Larissa Maria Feitosa Gonçalves
Manoel Lopes da Silva Filho
Márcia Paula Oliveira Farias
Nathália Barreira Sales Sampaio
José Soares Nascimento Neto
Dauri Soares Sousa
Joanna Darc Almondes Silva
Talia Fabrício Gonçalves
Felipe Augusto Edmundo Silva

DOI 10.22533/at.ed.6701923122

CAPÍTULO 3 14

ANÁLISE DO CONHECIMENTO DA POPULAÇÃO SOBRE O CENTRO DE CONTROLE DE ZOOSES DE MOSSORÓ/RN

Vilcelânia Alves Costa
Nilza Dutra Aves
Caio Sergio Santos
Gardênia Silvana de Oliveira Rodrigues
Karla Karielly de Souza Soares
Paula Vivian Feitosa dos Santos
Francisco Marlon Carneiro Feijó

DOI 10.22533/at.ed.6701923123

CAPÍTULO 4 24

INCIDÊNCIA DE TVT EM ANIMAIS ATENDIDOS NO HVU-UFPI, EM BOM JESUS, NO ANO DE 2018

José Soares do Nascimento Neto
Antônio Augusto Nascimento Machado Júnior
Felicianna Clara Fonseca Machado
Manoel Lopes da Silva Filho
Wagner Costa Lima
Larissa Maria Feitosa Gonçalves
Denise Cerqueira de Souza
Renata Oliveira Ribeiro
Felipe Augusto Edmundo Silva
Nathália Barreira Sales Sampaio
Talia Fabrício Gonçalves
Antônio Francisco da Silva Lisboa Neto

DOI 10.22533/at.ed.6701923124

CAPÍTULO 5 32

ENDOCARDITE E MIOCARDITE BACTERIANAS EM CADELA - RELATO DE CASO

Tayanne Gobbi Mendes
Fernanda da Mata Souza
Rosane Rodrigues da Costa Almeida
Monique Machado Louredo Teles Bombardelli
Paulo Roberto de Sousa
Priscilla Regina Nasciutti
Aline Maria Vasconcelos Lima
Rosângela de Oliveira Alves Carvalho

DOI 10.22533/at.ed.6701923125

CAPÍTULO 6 41

PESQUISA SOROLÓGICA E MOLECULAR DE BORRELIA SPP. EM CÃES DE ÁREA RURAL DO PANTANAL DE NHECOLÂNDIA E NA ÁREA URBANA DE CAMPO GRANDE - ESTADO DO MATO GROSSO DO SUL

Nivaldo Vitor de Albuquerque

DOI 10.22533/at.ed.6701923126

CAPÍTULO 7 69

RETALHO AXIAL EPIGÁSTRICO SUPERFICIAL CAUDAL PARA TRATAMENTO DE FERIDA CUTÂNEA – RELATO DE CASO

Leticia Matos de Rezende
Filipe Curti

DOI 10.22533/at.ed.6701923127

CAPÍTULO 8 72

TÉCNICA DE SUTURA EM QUADRADO PARA CORREÇÃO DE FENDA PALATINA: RELATO DE CASO

Matheus Felipe de Aquino Gomes
Francisco Alipio de Sousa Segundo
Anna Thais Correia Barreto
Gracineide da Costa Felipe
Bianca da Nóbrega Medeiros
Pedro Isidro da Nóbrega Neto

DOI 10.22533/at.ed.6701923128

CAPÍTULO 9	77
USO DA RADIOGRAFIA NO DIAGNÓSTICO DE HIDROCEFALIA CONGÊNITA - RELATO DE CASO	
Micaely Alves de Araujo José Lucas Xavier Lopes Neiliane Medeiros Dantas Ulisses Perigo Oliveira Clauceane de Jesus Sérgio Ricardo Araújo de Melo e Silva	
DOI 10.22533/at.ed.6701923129	
CAPÍTULO 10	80
COLECISTOJEJUNOSTOMIA (TÉCNICA DE Y DE ROUX) PARA RESOLUÇÃO DE OBSTRUÇÃO EXTRABILIAR POR CISTOADENOMA BILIAR EM GATO	
Keytianne de Oliveira Sampaio Mariana Araújo Rocha Jéssica Mara da Costa Silva Taiani Torquato Diógenes Reginaldo Pereira de Souza Filho	
DOI 10.22533/at.ed.67019231210	
CAPÍTULO 11	87
INTOXICAÇÃO PELA INTERAÇÃO DE FÁRMACOS EM UM FELINO: RELATO DE CASO	
Jardel de Azevedo Silva Lylían Karlla Gomes Medeiros Yanca Góes dos Santos Soares Fernanda Vieira Henrique Sóstenes Arthur Reis Santos Pereira Robério Gomes de Souza Laura Honório de Oliveira Pedro Isidro da Nóbrega Neto	
DOI 10.22533/at.ed.67019231211	
CAPÍTULO 12	90
PRINCIPAIS PATOLOGIAS DE INTERESSE ECONÔMICO QUE ACOMETEM OS REBANHOS DE CAPRINOS E OVINOS DO MUNICÍPIO DE PORANGA NO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL	
Julia Morgana Vieira Dada Caíke Pinho de Sousa Jackson Brendo Gomes Dantas Isac Gabriel Cunha dos Santos Joyce Veras de Almeida Gabriel do Nascimento Martins Wenderson Rodrigues de Amorim Isael de Sousa Sá Sávio Matheus Reis de Carvalho Laize Falcão de Almeida Alan Rodrigo Sousa Soares Santos Bianca Pereira Dias	
DOI 10.22533/at.ed.67019231212	

CAPÍTULO 13 94

PLANTAS NATIVAS NA ALIMENTAÇÃO DE ANIMAIS EM PROPRIEDADES ASSENTADAS DA ZONA RURAL DE CAJAZEIRAS, PARAÍBA

Maria Evelaine de Lucena Nascimento
Natália Ingrid Souto da Silva
Hodias Sousa de Oliveira Filho
Edvaldo Sebastião da Silva
Maria Eveline de Lucena Nascimento
Francisco Jocélio Cavalcante Souza
Deyvid Eduardo do Nascimento Oliveira
Maria das Graças Gabriela Sarmiento
Francisca Camila Gomes Machado
Jaciele Alves da Silva
Maria da Conceição leite da Silva
Maíza Araújo Cordão

DOI 10.22533/at.ed.67019231213

CAPÍTULO 14 100

TÉCNICA DE RESTAURAÇÃO DE PEÇAS ANATÔMICAS COM UTILIZAÇÃO DE PARAFINA COMERCIAL

Jiovani Oliveira da Silveira
Sabrina Amália Jappe
Adriano Alves Jorge

DOI 10.22533/at.ed.67019231214

CAPÍTULO 15 104

DESEMPENHO LINHAGENS DE FRANGO DE CORTE CRIADOS EM REGIÃO DE CLIMA QUENTE

Flaviane Rodrigues Jacobina
João Lúcio da Costa Rodrigues
Leontina Nascimento Ribeiro
Rodrigo Nunes dos Santos
Daniel Biagiotti
Leilane Rocha Barros Dourado
Moisés Barjud Filho
Dáphinne Cardoso Nagib do Nascimento
Melina Da Conceição Macêdo Da Silva
Francinete Alves de Sousa
Arléia Medeiros Maia
José Luiz Leonardo de Araújo Pimenta
Roberto Melo Marques

DOI 10.22533/at.ed.67019231215

CAPÍTULO 16 111

INTERAÇÃO GENÓTIPO – AMBIENTE PARA PARÂMETROS DA CURVA DE CRESCIMENTO DE CODORNAS ALIMENTADAS COM DIFERENTES RELAÇÕES TREONINA:LISINA

Giovanni Coelho Ladeira
Graziela Tarôco
Karine Aparecida Rodrigues de Souza
Lúcio Flávio Macedo Mota
Leonardo da Silva Costa
Rafael Bolina da Silva
Leila de Genova Gaya

DOI 10.22533/at.ed.67019231216

CAPÍTULO 17 119

DIAGNÓSTICO DE MASTITE SUBCLÍNICA PELA TÉCNICA DO CALIFORNIA MASTITIS TEST - CMT EM VACAS DA BACIA LEITEIRA DE PARNAÍBA, PIAUÍ, BRASIL

Níivy Marques Soares
Raylson Pereira de Oliveira
Márcia Paula Oliveira Farias
Nair Silva Cavalcanti de Lira
Denise Christine Ericeira Santos
Paulo Roberto Pinheiro da Silva
Andressa Rosendo Tavares de Lira
Fabiana Crystina Alves Pereira
Damylla Nunes Azevedo
Ivone Paiva da Silva
Fernanda Albuquerque Barros dos Santos
Túlio Victor de Souza Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.67019231217

CAPÍTULO 18 126

DEFORMIDADES FLEXURAS EM RUMINANTES

Henrique Jonatha Tavares
Nathalie Bonotto Ruivo
Luiza Rodegheri Jacondino
Marta Lizandra do Rêgo Leal

DOI 10.22533/at.ed.67019231218

CAPÍTULO 19 130

ABATE PRECOCE DE MACHOS HOLANDESES: UTILIZAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE CASTRAÇÃO E DIETA DE ALTO GRÃO

Maurício Civiero
Luís Henrique Schaitz
Ricardo Biasiolo
Mariana Nunes de Souza
Artur Barbosa Martins
Angélica Letícia Scheid
Fernando Rossa

DOI 10.22533/at.ed.67019231219

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 141

ÍNDICE REMISSIVO 142

PESQUISA SOROLÓGICA E MOLECULAR DE BORRELIA SPP. EM CÃES DE ÁREA RURAL DO PANTANAL DE NHECOLÂNDIA E NA ÁREA URBANA DE CAMPO GRANDE - ESTADO DO MATO GROSSO DO SUL

Nivaldo Vitor de Albuquerque

Campo Grande/MS 2017

Universidade Católica Dom Bosco

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros, que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino.”

Leonardo da Vinci

RESUMO: Borreliose de Lyme é uma zoonose cosmopolita causada pela espiroqueta *Borrelia burgdorferi*, cujo os vetores são carrapatos da família Ixodidae. Os cães são considerados importantes reservatórios de *Borrelia*, pois é possível isolar a espiroqueta em animais clinicamente sadios. O Objetivo do presente estudo, foi pesquisar a presença de anticorpos anti-*Borrelia* spp. e DNA de *Borrelia* sp. em cães de área rural do Pantanal e de áreas urbanas de Campo Grande, MS. Foram coletados amostras de sangue de 205 cães sendo, 136 residentes da área rural do Pantanal de Nhecolândia e 69 animais residentes em perímetro urbano – em Campo Grande, MS. O sangue foi coletado por punção da veia jugular em tubos contendo anticoagulante EDTA e em tubos sem anticoagulante para obtenção de soro. O material foi alíquotado e estocado em temperatura de -20°C. O DNA extraído

do sangue dos cães foram utilizados nas reações sem cadeia polimerase (PCR) para amplificação do DNA através do primer 23S região rDNA (RNA ribossômico 23S) específico para o gênero *Borrelia*. O ensaio de PCR foi padronizado e mostrou detectar até 9,37ng de DNA de *B. burgdorferi*, cepa americana G39/40. De um total de 205 animais testados pela PCR nenhum apresentou a amplificação do fragmento esperado de 500 pb para o gene 23S. O diagnóstico sorológico ELISA indireto foi realizado através de análise de imunoglobulinas anticorpos tipo IgG que se manifestam em infecções crônicas antigas de meses ou anos. Estes anticorpos são essenciais no teste sorológico para diagnosticar casos de infecções crônicas de animais. O ELISA indireto realizado com 77 cães da área rural do Pantanal, quatro (4/77) dos animais foram considerados positivos para a presença de imunoglobulinas, anticorpos homólogos da classe IgG anti-*B. burgdorferi* correspondendo a 5,2% dos animais e das 41 amostras dos cães do perímetro urbano de Campo Grande, cinco (5/41) dos animais foram considerados positivos para a presença de anticorpos homólogos da classe IgG anti-*Borrelia burgdorferi* perfazendo um total de 12,2% dos animais. Pela técnica de PCR, aplicada no presente estudo, não foi possível detectar a presença de *Borrelia* spp. nas amostras de sangue dos cães, entretanto

foi possível detectar anticorpos homólogos da classe IgG anti-Borrelia burgdorferi, nas amostras estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: PCR, ELISA; Doença de Lyme, Canis familiaris

ABSTRACT: Lyme borreliosis is a cosmopolitan zoonosis caused by the spirochete *Borrelia burgdorferi*, whose vectors are ticks of the Ixodidae family. Dogs are considered important reservoirs of *Borrelia* because it is possible to isolate the spirochete in clinically healthy animals. The objective of the present study was to investigate the presence of anti-*Borrelia* spp. And *Borrelia* sp. In dogs from rural Pantanal and urban areas of Campo Grande, MS. Blood samples were collected from 205 dogs, 136 residents of the rural area of Pantanal de Nhecolândia and 69 animals living in urban perimeter - Campo Grande, MS. The blood was collected by puncture of the jugular vein in tubes containing anticoagulant EDTA and in tubes without anticoagulant to obtain serum. The material was aliquoted and stored at -20 ° C. The DNA extracted from dogs' blood were used in the polymerase chain reaction (PCR) to amplify the DNA through the 23S primer region rDNA (ribosomal RNA 23S) specific for the genus *Borrelia*. The PCR assay was standardized and showed to detect up to 9.37ng of *B. burgdorferi* DNA, American strain G39 / 40. From a total of 205 animals tested by PCR none showed the amplification of the expected 500 bp fragment for the 23S gene. The indirect ELISA serological diagnosis was performed by immunoglobulin analysis of IgG antibodies that are manifested in chronic infections of months or years. These antibodies are essential in the serological test to diagnose cases of chronic infections of animals. The indirect ELISA performed with 77 dogs from the Pantanal rural area, four (4/77) of the animals were considered positive for the presence of immunoglobulins, homologous antibodies of the anti-B IgG class. *Burgdorferi* corresponding to 5.2% of the animals and 41 samples of the dogs from the urban perimeter of Campo Grande, five (5/41) of the animals were considered positive for the presence of anti-*Borrelia burgdorferi* IgG class homologues for a total of 12.2% of the animals. By the PCR technique, applied in the present study, it was not possible to detect the presence of *Borrelia* spp. In blood samples from the dogs, however, it was possible to detect anti-*Borrelia burgdorferi* IgG class homologues in the samples studied.

KEYWORDS: PCR, ELISA, Lyme disease, Canis familiaris.

1 | INTRODUÇÃO

A Doença de Lyme - DL foi identificada em 1975 pelo Dr. Allen C. Steere, mas apenas em 1977 foi realizada sua publicação. Mais tarde Willy Burgdorfer (BURGDORFER; BARBOUR; HAYES, 1982) encontrou espiroquetas em carrapatos da espécie *Ixodes scapularis*, e Johnson et al. (1984) após estudos com estas espiroquetas, denominou-as de *Borrelia burgdorferi*. Trata-se de uma zoonose emergente, multissistêmica que pode se manifestar através de sinais clínicos em vários órgãos humanos. No Brasil, em 1992, ocorreram observações dos primeiros casos humanos com sintomas da doença juntamente com os históricos de picadas por carrapatos, embora a enfermidade

apresentasse diferenças clínicas com sintomas variados em relação às manifestações clínicas apresentadas em humanos com a DL nos Estados Unidos – EUA (YOSHINARI et al., 1992, 2003).

Devido às diferenças clínicas observadas por médicos especialistas e a dificuldade de isolamento do agente etiológico *Borrelia* spp., a doença foi denominada de Síndrome Infecto-Reacional Lyme-símile - SIRLS ou doença de Lyme-símile brasileira, assim diferenciando da Doença de Lyme clássica, causada por *B. burgdorferi sensu stricto* (s.s). Atualmente os pesquisadores consideraram-na como uma doença emergente no País, a qual foi redenominada de como Síndrome de Baggio-Yoschinari - SBY (YOSHINARI et al., 2010).

Vários estudos foram realizados no intuito de identificar os possíveis vetores de *Borrelia* spp., principalmente na região Sudeste do Brasil, com registros de casos DL. Evidência da presença de *Borrelia* spp., puderam ser confirmadas nos carrapatos das espécies *Amblyomma sculptum* (Complexo *Amblyomma cajennense*, *Ixodes loricatus* e *Rhipicephalus microplus* (YOSHINARI, et al., 2003; FONSECA et al., 2005; MARTINS, et al., 1996; REZENDE et al., 2008; 2012).

Estudos soro epidemiológicos de *Borrelia* spp. foram realizados em várias regiões do Brasil, e em várias espécies hospedeiras, como: bovinos, cães, equinos e animais silvestres e apresentaram valores próximos aos reportados em áreas endêmicas na América do Norte (YOSHINARI et al., 1995; ISHIKAWA et al., 1997, 2000; SOARES et al., 1999; COSTA; BONOLDI ;YOSHINARI, 2002; SALLES et al., 2002; MADUREIRA, 2007; CORDEIRO; MEIRELES; SILVA 2012).

Estudos moleculares para a detecção de DNA de *Borrelia* spp. em amostras de tecidos humanos, animais e carrapatos, foram realizadas utilizando os genes 16 rRNA - Ácido ribonucléico, FlgE- Flagelina (MADUREIRA, 2007; GONÇALVES et al., 2013, 2015) e o gene 23S.

O Estado de Mato Grosso do Sul, especialmente na região do Pantanal Sul Mato-grossense apresenta condições fisiogeográficas favoráveis para a grande diversidade de espécies de carrapatos devido ao clima, fauna, flora e a presença de muitas aves migratórias na região podem facilitar o transporte de carrapatos infectados com diversos bioagentes infecciosos como: bactérias, fungos, vírus e protozoários. A intensa atividade agropecuária, o convívio do homem com animais domésticos e a valorização de atividades ao ar livre favorecem a disseminação de agentes infecciosos transmitidos por carrapatos, propiciando o surgimento e ressurgimento de diferentes agentes etiológicos.

Diante da necessidade de mais estudos para melhorar o diagnóstico, conhecer os aspectos epidemiológicos e, principalmente a identificação e caracterização de espécies de *Borrelia* circulante em nosso meio, objetivou-se neste estudo pesquisar, por meio das técnicas sorológica e molecular, a presença de anticorpos e DNA - Ácido Desoxirribonucleico de *Borrelia* spp., respectivamente, em cães da área rural do Pantanal de Nhecolândia e da área urbana de Campo Grande, no Estado de Mato

2 | REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Gênero *Borrelia*

A primeira observação de espiroqueta foi realizada por Leeuwenhoek em 1681, em material oriundo da mucosa bucal e intestinal de humano. Em 1834, Ehrenberg descreveu *Spirochaeta plicatilis*, de vida livre. No entanto, a importância deste grupo se deu pela descoberta de Obermeier em 1868 publicada em 1873, quando verificou a presença de espiroqueta no sangue de indivíduos com febre recorrente (PÊSSOA, 1963; PAVLOVSKY, 1965). Este grupo de microrganismos teve classificação incerta por um longo período, ficando transitando entre os grupos de algas, bactérias e protozoários. Devido a sua conformação helicoidal, foi classificada, inicialmente, como alga Cyanophyceae e depois como bactéria do gênero *Paraspirillum* (PÊSSOA, 1963).

Entretanto, a partir de 1948, os bacteriologistas sistematicamente colocaram-na como um grupo especial entre as bactérias. As espécies de bactérias com morfologia espiralada de importância médica e veterinária passaram a serem classificadas nas famílias Leptospiraceae: *Leptospira*, Spirochaetaceae: *Serpulina*, *Treponema* e *Borrelia* (BAKER-ZANDER; LUKERHART, 1984; QUINN et al., 2002).

O gênero *Borrelia* Swellngrenbel, 1907, foi denominado em homenagem a Amédée Marie Vincent Borrel. Os microrganismos desse gênero são bactérias patogênicas Gram negativa, extracelulares e microaerófilas que se reproduzem por fissão binária transversal, possuem o formato helicoidal com 3 a 10 espiras, são de difícil isolamento *in vitro*, extremamente fastidiosas de crescimento lento, necessitando de meios de cultura enriquecidos e com baixa tensão de oxigênio (AUSTIN, 1993).

Este organismo tem protoplasma cilíndrico envolto pela membrana celular, da qual partem flagelos, possui externamente outra membrana contendo diversas proteínas de superfície, e não possui túbulos citoplasmáticos (KRIEG; HOLT, 1984; BARBOUR; HAYES, 1986).

A membrana plasmática dessas espiroquetas contém diversas proteínas de superfície externa (*OspA*, *OspB*, *OspC*, *OspE* e *OspF*) e não possui túbulos citoplasmáticos.

As bactérias do gênero *Borrelia* distinguem-se morfologicamente dos demais gêneros da mesma família, por serem maiores, apresentarem 11 a 25 μm de comprimento e 0,3 μm de diâmetro, possuírem maior número de flagelos periplasmáticos de 15 a 20 flagelos e menor número de espiras (PFISTER; WILSKÉ; WEBER, 1994), entretanto dentro de uma única espécie pode ocorrer pleomorfismo (BENNETT, 1995).

As espiroquetas também podem sofrer transformações estruturais, assumindo formas de cistos ou corpos densos, quando as bactérias são submetidas a condições desfavoráveis de cultivo, como nas mudanças de nutriente, pH, presença de antibióticos,

retornando à morfologia espiralada quando as condições de cultivo melhoram. Em relação ao crescimento estas bactérias crescem a temperatura adequada de 33°C em meio Babour-Stoenner-Kelly - BSK, e podem ser visualizadas através de microscopia de campo escuro, contraste de fase ou até mesmo em tecidos, quando corados por corantes a base de prata (BARBOUR; HAYES, 1986).

As espécies do gênero *Borrelia* são responsáveis por ocasionar a borreliose e podem ser veiculadas principalmente por carrapatos, mas também podem ser transmitidas por piolhos (HOOGSTRAAL, 1979).

Atualmente, baseado em análise do gene DNA ribossomal (rRNA 16S) são descritos 14 genoespécies do complexo *B. burgdorferi* sensu lato (s.l.) sendo esses:

B. burgdorferi sensu stricto (s.s.), *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. andersonii*, *B. bissettii*, *B. californiensis*, *B. japonica*, *B. lusitaniae*, *B. sinica*, *B. spielmanii*, *B. tanukii*, *B. turdi*, *B. valaisiana*, *B. carolinensis*, com distribuição mundial (SANTOS, M. et al., 2010). Porém, ainda há uma grande discussão entre o número de genoespécies do complexo *B. burgdorferi* s.l., que são consideradas verdadeiramente patogênicas aos seres humanos, as quais necessitam ainda de caracterização genômica, identificação do vetor, distribuição geográfica e organotropismo.

As espiroquetas do complexo *B. burgdorferi* s.l. também podem ser classificadas por sorotipagem e são identificados oito sorotipos (sorotipo 1 *B. burgdorferi* ss., sorotipo 2 *B. afzelii* e os sorotipos 3 a 8, *B. garinii*), baseado na reatividade de anticorpos monoclonais e as lipoproteínas de superfície Outer Surface Protein A - OspA.

As genoespécies do complexo *B. burgdorferi* s.l. podem estar associadas a diferentes manifestações clínicas (artrite, dores articulares, lesões localizadas na pele entre outras), além de serem mantidas na natureza em diferentes hospedeiros, e dependendo da região geográfica a sua transmissão ocorre por diferentes espécies vetores.

As espécies de *Borrelia* patogênicas conhecidas podem determinar cinco grupos de enfermidades distintas: (a) febre recorrente epidêmica humana, causada pela *B. recurrentis*, e febre recorrente endêmica, com mais de 20 espécies do gênero *Borrelia*, recentemente denominadas de acordo com o carrapato transmissor; (b) borreliose aviária, a qual é ocasionada por uma única espécie *B. anserina*, que causa processos de anemia febre, apatia e altas taxas de morbidade nas aves; (c) borreliose bovina, causada por *B. theileri*, essa espécie é cosmopolita e pode determinar discreto processo de anemia em ruminantes e equinos, sendo considerada pouco patogênica; (d) aborto enzoótico bovino, enfermidade que acomete bovinos e cervídeos, determinada por *B. coriaceae*; (e) borreliose de Lyme (ou doença de Lyme) e borreliose de Lymesimile, as quais são causadas pelo grupo de *B. burgdorferi* sensu lato (FONSECA et al., 2005).

Doenças	Agentes etiológicos	Vetores	Hospedeiros	Distribuição geográfica
	<i>B. recurrentis</i>		Homem	Cosmopolita
Febre recorrente epidêmica Febre recorrente endêmica	<i>B. spp*</i>	<i>Peculushumanus</i> <i>Ornithodoros</i> spp	Roedores e homem	Cosmopolita
Borreliose aviária	<i>B. anserina</i>	<i>Argass</i> spp	Aves e pássaros	Cosmopolita
Borreliose bovina	<i>B. theileri</i>	<i>Boophilus</i> spp	Bovinos, ovinos e equinos	Cosmopolita
Aborto epizootico bovino	<i>B. coriaceae</i>	<i>O. coriaceus</i>	Bovinos e cervídeos	América do norte
Borreliose de Lyme	<i>B. burgdorferi</i>	<i>Ixodes</i> sp	Animais silvestres, domésticos e homem.	América do norte e Europa.
	<i>B. garinii</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Europa e Ásia
	<i>B. afzelii</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Europa e Ásia
Borreliose de Lyme similar nos Estados Unidos	<i>B. andersoni</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	América do Norte
	<i>B. lonestariamericanum</i>	<i>Amblyomma</i>	Idem	América do Norte
	<i>B. barbouri</i>	<i>A. americanum</i>	Idem	América do Norte
Doenças	Agentes etiológicos	Vetores	Hospedeiros	Distribuição geográfica
		<i>Ixodes</i> sp		América do norte e
Borreliose de Lyme similar na Europa e Ásia	<i>B. bissetii</i> <i>B. valaisiana</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem Idem	Europa
	<i>B. lusitanae</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Europa
	<i>B. turdii</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Ásia
	<i>B. tanukii</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Ásia
	<i>B. miyamotoi</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Ásia
	<i>B. japonica</i>	<i>Ixodes</i> sp	Idem	Ásia
Borreliose de Lyme similar nos Brasil	<i>Borrelia</i> sp	<i>Amblyomma cajennense</i>	Idem	Brasil

² Tabela 1

Tabela 1 - Grupos de borrelioses espécie(s) envolvida(s) vetor(es) hospedeiro(s) e distribuição geográfica

*São reconhecidas cerca de 25 espécies do gênero *Borrelia*, ainda nominadas de acordo com a espécie do carrapato do gênero transmissor. (FONSECA et al., 2005)

Vale ressaltar que na borreliose de Lyme quatro bactérias estão associadas: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii* e *B. Spielmanii*. Baseado nos estudos de Qiu (2008) e Rudenko, Golovechenko e Ggrobhoffer (2011).

2.2 Agentes transmissores de borrelioses e distribuição geográfica

As diferentes espécies de vetores (carrapatos, pulgas, culicídeos, tabanídeos e sifonápteros) que podem transmitir várias espécies de *Borrelia* (MAGNARELLI et al., 1987). Apresentam distribuição mundial, e dependendo da área geográfica em que se encontram disseminam espécies distintas *Borrelia* sp. provocando doenças em aves, equinos, bovinos, cães e humanos. Na Tabela 1 é possível observar os grupos de borrelioses espécie(s) envolvida(s), vetor(es), hospedeiro(s) e distribuição geográfica.

Nava et al. (2014) ao realizarem estudo sobre o *A. cajennense*, constataram que essa espécie de carrapato é na verdade um complexo de seis espécies distribuídas ao longo das Américas, sendo que destas seis, duas estão presentes no Brasil, sendo elas o *A. cajennense* e o *A. sculptum*. Os autores ressalvam ainda que o *A. sculptum* é a espécie de maior distribuição entre os estados brasileiros, englobando os estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Pernambuco, Piauí, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás enquanto que o *A. cajennense* somente é encontrado na região Amazônica da América do Sul, estando restrito aos estados do Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins e Amapá.

As famílias de carrapatos responsáveis pela transmissão de *Borrelia* spp. são: Argasidae (carrapatos do corpo mole) com as espécies do gênero *Ornithodoros* e *Argas*; e Ixodidae (carrapatos do corpo duro) com as espécies dos gêneros *Ixodes*, *Amblyomma* e *Rhipicephalus* (SOARES et al., 2000).

No mundo os principais vetores de *B. burgdorferi sensu lato*, são: *I. scapularis*, *I. dammini* e *I. pacificus* nos EUA, *I. ricinus* na Europa e Ásia, *I. persulcatus* na Ásia, com *I. ovatus*, *I. turdus*, *I. tanuki* no Japão e *I. ovatus* na China e Nepal.

As bactérias do complexo *Borrelia burgdorferi sensu lato*, constituída pela *B. burgdorferi sensu stricto* encontrada nos EUA e Eurásia e a *B. garinii* e *B. afzelli* observadas na Europa, que causam inúmeras manifestações clínicas sistêmicas são transmitidas por carrapatos *Ixodes* spp. (YOHINARI et al., 2010).

Existe, uma apresentação conhecida como doença de Masters ou Southern Tick Associated Rash Illness - STARI, identificada no sul dos EUA, caracterizada pelo desenvolvimento de rash semelhante ao Eritema Migratório - EM, na ausência de sintomatologia sistêmica, sendo causada por *Borrelia* incultivável, conhecida como *Borrelia lonestari* transmitida pelo *A. americanum* para o homem nos EUA (MASTERS et al., 1998). No Brasil os prováveis carrapatos responsáveis pelo ciclo silvestre pertencem ao gênero *Ixodes*, enquanto o gênero *Amblyomma* é o principal suspeito na transmissão para animais domésticos e seres humanos (FONSECA et

al., 2005). Embora tenha sido encontrado *Borrelia* spp. nos carrapatos *Rhipicephalus microplus* (YPARRAGUIRRE et al., 2007; REZENDE et al., 2008) e *Dermacentor nitens* (GONÇALVES et al., 2013).

A manutenção de *B. burgdorferi* pode ocorrer nos carrapatos em seus estágios de larva, ninfa ou adulto. Burgdorfer et al., (1988) citam que a transmissão transovariana ocorre em 100% dos carrapatos, porém apenas 1% destes são capazes de transmitir a bactéria para o hospedeiro vertebrado. Isso ocorre pelo fato de não serem transmitidos números suficientes de espiroquetas para induzir a infecção no hospedeiro primário (pequenos roedores) (APPEL, 1990). Hoogstraal (1979) afirmou que os espiroquetídeos vivem em simbiose com seus vetores, e em estudos realizados com fêmeas de *I. pacificus* revelaram que *B. burgdorferi* não afeta no sucesso de alimentação e reprodutividade desse carrapato (SCHOELER; LANE, 1993).

Porém, outros autores observaram que a maciça infecção de teleógenas por *Borrelia* spp. poderia levá-las à infertilidade, havendo danos na formação e deposição das cutículas dos ovos (BURGDORFER; HAYES; CORWIN, 1989).

A transmissão transovariana ocorre no momento do desenvolvimento embrionário dos carrapatos dos gêneros *Ixodidae* e *Argasidae*. As larvas e ninfas infectadas com bactérias do complexo *B. burgdorferi sensu lato* (s.l) transmitem *Borrelia* spp. aos animais vertebrados mantendo o seu ciclo de vida em animais silvestres no momento do seu primeiro repasto sanguíneo.

A transmissão de *B. burgdorferi* si pelos carrapatos para os seus hospedeiros vertebrados ocorre, principalmente através dos estágios de ninfa e adultos (LEVY; DREESSEN, 1992). As espiroquetas que estão no intestino do carrapato são estimuladas pela ingestão de sangue no início do repasto, ocorrendo então sua migração para glândula salivar e posterior inoculação na pele do hospedeiro (STRAUBINGER, 2000).

A infecção ocorre com a multiplicação no sítio da picada e em algumas semanas migram para outros tecidos, invadindo as articulações e ocasionando aos processos inflamatórios, com deposição de complexos imunes (GREENE, 1990). A produção de fatores inflamatórios e anti-inflamatórios pode ser a razão da intermitência das artrites.

Pesquisas de campo em áreas de ocorrência da SBY confirmam a presença de roedores silvestres e marsupiais, potenciais animais reservatórios no Brasil, muitas vezes contaminados com espiroquetídeos, que igualmente não se desenvolvem em meios de culturas habituais e não são identificados pelo Reação em cadeia polimerase - PCR a exemplo do que ocorre em carrapatos e doentes com SBY (COSTA; BONOLDI ;YOSHINARI, 2002). Particularmente no Estado de Espírito Santo, existe importante associação entre a ocorrência de casos de SBY e presença de capivaras, sugerindo que carrapatos que parasitam estes roedores possam participar no ciclo epidemiológico da SBY. Igualmente importante é o desenvolvimento de sintomas clínicos da SBY após contato com animais domésticos como cavalos, cachorros e bovinos (YOHINARI, et al., 2010).

A biodiversidade brasileira de animais reservatórios e carrapatos, assim como

diferenças climáticas, seriam os fatores implicados no surgimento de espiroquetas latentes, possivelmente borrelíias, na apresentação cística, muito diferente dos microorganismos espiralados encontrados nos Estados Unidos (EUA) no hemisfério Norte (YOHINARI et al., 2010).

2.3 Borreliose em cães

A capacidade dos cães em transportar os vetores para a proximidade humana, pela frequente exposição ao exterior e constantes deslocações, incluindo viagens, e devido ao fato de produzirem anticorpos para *B. burgdorferi* s.l. detectáveis por mais de dois anos, foi proposto que os canídeos poderiam servir como sentinelas para programas de vigilância para borreliose de Lyme (GOOSSENS; BOGAARD; NOHLMANS, 2001).

O Colégio Americano de Veterinários de Medicina Interna - ACVIM estabeleceu, como critérios clínicos para o diagnóstico de borreliose de Lyme canina, a evidência de exposição à bactéria, sinais clínicos compatíveis com a doença, ausência de outros diagnósticos diferenciais e resposta ao tratamento (LITTMAN et al., 2006).

Em animais doméstico, como o cão, a borreliose de Lyme foi descrita por Lissman et al., (1984) em um doberman de 3 anos de idade, que apresentava artrite carpiana, temperatura de 40,2°C e claudicação. O exame a fresco pela microscopia de campo escuro e a cultura de líquido sinovial e do sangue evidenciaram a presença de espiroquetas.

Os cães naturalmente infectados são assintomáticos ou subclínicos podendo evoluir e apresentar sintomas clínicos de ósteo-musculares, com quadro de artrite progressiva, febre e dores nos quatro membros do animal (LEVY; DREESEN, 1992; STRAUBINGER et al., 1998, 2000).

Estudos realizados no Japão sobre Doença de Lyme em 21 cães de Saporó (Japão) segundo Azuma, Isogai e Kawakura, (1994), 13 cães soropositivos apresentaram sinais clínicos de febre, astasia, convulsões, anorexia, fadiga, perturbações na marcha, sinais nervosos, diarreia e córnea opacidade e conjuntivite. Eisendle, Grabner e Zelger, (2007), por meio do exame de imunohistoquímica específica para a detecção de *Borrelia* sp. associado a técnica de microscopia com focal (MF), obteve resultados superiores à nested – PCR na detecção de *Borrelia* respectivamente 96% e 45,2%, com especificidade similar a 99,4 % e 100%.

Estudos soroepidemiológicos têm sido conduzidos no mundo inteiro para determinação da prevalência de anticorpos contra *B. burgdorferi* sensu lato em cães devido a importância destes hospedeiros na epidemiologia da borreliose (MCKENNA et al., 1995; WRIGHT et al., 1997; STEFANCIKOV et al, 1998). O conhecimento da soroprevalência em cães pode constituir-se em um importante indicador da dispersão do agente etiológico (HOSKINS, 1991), bem como indicar o risco de exposição humana (LINDENMAYER; MARSHALL; ONDERDONK, 1991).

O primeiro estudo de detecção de anticorpos contra *B. burgdorferi* em cães, no Brasil foi realizado no município de Itaguaí por Soares et al.(1999), que obteve uma prevalência de 20% pelo método de diagnóstico Ensaio de Imunoabsorção Enzimática – ELISA, indireto. A metodologia utilizada foi a mesma descrita por (JOPPERT; HAGIWARA; YOSHINARI, 2001), que encontraram 9,7% de animais positivos na cidade de Cotia em São Paulo e no estudo realizado por (O' DWYER et al., 2004), a prevalência amostral foi de 15,58% de cães positivos de áreas rurais em sete cidades do Estado do Rio de Janeiro.

Alves et al., (2004), observaram uma prevalência de 48,25% de cães positivos da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, esses autores chamaram atenção de uma prevalência maior para o município de Seropédica, onde foi observada uma prevalência de 51,28%.

Estudos realizados de soro prevalência anti-*B.burgdorferi* em cães sob tutela do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) nos municípios de Campo Grande–MS (SALGADO, et al., 2008) e, no do Rio de Janeiro (SANTOS, V.G., 2008) obtiveram uma prevalência de 73,3% e 86,8% de animais positivos, respectivamente.

No município de Seropédica, RJ foi observado que de 293 cães estudados em quatro áreas distintas 52,56% (154/293) foram positivos contra antígenos brutos de *B.burgdorferi* (CORDEIRO; MEIRELES; SILVA, 2012), corroborando aos dados de estudos realizados no EUA em áreas endêmicas de borreliose de Lyme (BURGESS, 1986; MAGNARELLI, et al., 1985).

Nos estudos realizados por Soares et al. (1999) e Joppert et al., (2001) esses autores não observaram reações cruzadas significativas entre anticorpos de *B. burgdorferi* e variantes sorológicas de *Leptospira* sp.

2.4 Animais reservatórios de *Borrelia* spp.

A manutenção de *B. burgdorferi* sensu lato (sl) em uma determinada região depende da presença de hospedeiros reservatórios adequados e de hospedeiros de manutenção de carrapatos. Os hospedeiros reservatórios são os pequenos roedores, como camundongos, ratos, coelhos silvestres e porcos-espinhos (QUINN et al., 2002).

O camundongo da pata branca (white-footed mouse), *Peromyscus leucopus* é incriminado como o principal reservatório para manutenção de *B. burgdorferi* ss nos EUA (BURGESS, 1986). As aves migratórias também são consideradas reservatórios por atuarem na manutenção e transmissão de *B. burgdorferi* sl (STAFFORD III; BLADEN; MAGNARELLI, 1995), bem como carrearem carrapatos infectados auxiliando na dispersão de *Borrelia* spp. (TELFORD; SPIELMAN, 1989; DURDEN; OLIVER; KINSEY, 2001).

Os mamíferos, como cervídeos e animais domésticos são considerados os hospedeiros de manutenção da população de carrapatos (QUINN et al., 2002). O veado da pata branca (White-tailed deer), *Odocoileus virginianus* embora outras espécies, como *Cervus nippon yesoensis*, também pode atuar como reservatório (SOARES et

al., 2000).

Segundo Bosler (1993), e Costa (1998), os principais reservatórios naturais encontrados em estudos epidemiológicos brasileiros, americanos e europeus são marsupiais (gambás), roedores (rato do mato, porco espinho, paca, cotia e capivara), canídeos, eqüinos, bovinos e cervídeos. Estudos realizados por Milagres (2010) detectaram através de sorologia anticorpos tipo IgG anti-*B.burgdorferi* em cães e equinos. Pesquisas realizadas por Fonseca et al., (1995) e Abel (1996); demonstraram que os marsupiais podem participar na epidemiologia da borreliose no Brasil, sendo observado espiroquetas com características morfológicas de *Borrelia sp.* em sangue periférico de *Didelphis aurita*.

2.5 Diagnóstico sorológico e marcadores moleculares utilizados no estudo dos agentes causadores de borrelioses

O diagnóstico de sorologia é baseado na detecção de anticorpos específicos e/ou na presença do agente etiológico. A detecção de anticorpos IgM ou IgG anti-*B. burgdorferi* é comumente usado e o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) indireto tem sido a principal ferramenta imunológica utilizada para diagnóstico e levantamentos epidemiológicos, devido à sua alta sensibilidade e especificidade. (MAGNARELLI et al., 1987; SOARES et al., 2000).

A utilização de proteínas recombinantes específicas para detecção de anticorpos anti-*B. burgdorferi*, como OspA, (31kDa) e OspB (34kDa) e uma proteína de 110kDa OspC, Fla, P39, VlsE, BBK32, P37, P22, DbpA, P58, P18, têm sido empregadas como antígenos em ELISA, com soros de humanos, cães e equinos, a fim de aumentar a especificidade e sensibilidade do teste.

No Brasil, diagnósticos soro epidemiológicos de borrelioses foram realizados utilizando soros humanos (YOSHINARI et al., 2003; CORRADI; CARVALHO; COUTINHO, 2006), e em caninos (SOARES, 1998; JOPPERT; HAGIWARA, YOSHINARI, 2001; ALVES et al., 2004; O' DWYER et al., 2004; SALGADO, 2006; CORDEIRO; MEIRELES; SILVA, 2012), equinos (SALLES et al., 2002) bovinos (ISHIKAWA, 1996; FONSECA et al., 1996) e bubalinos (CORRÊA, 2007) e a soro prevalência em todos os estudos apresentam valores próximos aos reportados em áreas endêmicas na América do Norte (GREENE, 1990). Estes estudos demonstraram a importância do diagnóstico para detectar imunoglobulinas IgG anti- *B.burgdorferi* nestes animais.

Estudos moleculares têm sido realizados, a principal ferramenta utilizada para detecção de *Borrelia sp.* é a reação em cadeia da polimerase. A PCR pode ser empregada na detecção de DNA de *Borrelia sp.* em fluídos e tecidos de humanos e animais e também nos fragmentos de carrapatos (ZHAN et al., 2009). Porém, apesar de ser uma técnica amplamente utilizada na detecção de vários agentes infecciosos, este método de diagnóstico é usado em inquéritos epidemiológicos de borreliose,

na caracterização genética e estudo de genes que codificam proteínas específicas (JWANG et al., 1995).

Alguns marcadores genéticos, como os genes 16S rRNA, flagelina B (RICH et al., 2001) e gene rpoB que é altamente conservado na família Spirochaetaceae (gêneros *Borrelia*, *Treponema* e *Leptospira*) codificando a subunidade beta da RNA polimerase e libera a síntese de mRNA (ALEKSHUN; KASHLEV; SCHWARTZ, 1997), têm sido usados no Brasil com sucesso na identificação das espécies de *Borrelia*. Porém, muitas tentativas de amplificação de genes que codificam proteínas de superfície e flagelares de *B. burgdorferi*, já foram realizadas sem sucesso, possivelmente devido à espécie de *Borrelia* encontrada no país apresentar-se na forma bacteróide sem flagelos (MANTOVANI, 2010), o que ocorre quando as espiroquetas são desprovidas do gene responsável pela formação do filamento flagelar (MOTALEB et al., 2000).

O gene flgE de *B. burgdorferi* possui 1.119 pb e está localizado na posição 950 Kb do cromossomo linear de *B. burgdorferi*. A sequência deste gene tem demonstrado 100% de identidade com outras cepas de *B. burgdorferi*, porém também foram observadas 73% de homologia com *Treponema phagedenis* e aproximadamente 50% de similaridade com gene flgG de bactérias gram-positivas e gram-negativas (JWANG, et al., 1995).

Este gene, atualmente se tornou alvo para a detecção do agente da borreliose no Brasil, pois apesar das espiroquetas observadas em pacientes com a Síndrome de Baggio Yoshinari (SBY) apresentarem morfologia atípica e sem flagelos, o teste sorológico destes pacientes por meio de técnica de Western blotting tem indicado a presença de anticorpos contra proteínas flagelares de *B. burgdorferi* (41 kDa). Este fato levou pesquisadores a aprofundarem o estudo dos componentes flagelares deste agente que poderiam permanecer conservados. Assim, o êxito obtido com o uso do gene flgE em estudo com pacientes com a SBY, leva a supor que este gene seja potencialmente conservado entre as diferentes cepas de *Borrelia* spp. (MANTOVANI, 2010).

A região rDNA ribossomal é amplamente utilizado na detecção de micro-organismo, e na detecção das espécies de *Borrelia* não é diferente. Os genes rDNA são organizados em operon com estrutura geral de 16S-23S-5S, sendo que o gene 16S rRNA contém um única cópia e genes 23S e 5S encontram-se em duas cópias. Desta forma são mais indicados para a detecção de *Borrelia* spp. Em vários isolados de *B. burgdorferi* obtidos de várias localizações geográficas, bem como várias outras espécies de *Borrelia*, foi investigada. Todos os isolados de *B. burgdorferi* testados mostraram duplicação em tandem, enquanto as espécies estreitamente relacionadas *B. hermsii*, *B. anserina* e *B. turicatae* apresentaram cópia única de cada um dos genes. Além disso, diferentes isolados geográficos de *B. burgdorferi* podem ser diferenciado com base no polimorfismo do tamanho dos fragmentos de digestão (RFLP) ao gene 23S-5S. Este polimorfismo pode ser uma ferramenta útil para a determinação da relação genética entre diferentes isolados de *B. burgdorferi* (LEEJW, et al., 2014).

3 | MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Origem das amostras

O estudo foi realizado no Pantanal de Nhecolândia localizado na Microrregião de Baixo Pantanal no estado do Mato Grosso do Sul - MS. As coordenadas de satélite de Nhecolândia são: latitude 19°14'51"S e longitude 57°1'33"W. A região fica praticamente no centro do Pantanal e sofre grande influência das enchentes, formando grandes lagos conhecidos por salinas, onde a água fica salobra, propiciando habitat especial para muitas espécies de aves. Apresenta uma grande biodiversidade de mamíferos, répteis, aves e peixes. Esta região é uma extensa área utilizada na criação de bovinos. A vegetação apresenta fitofisionomias diversas, desde os campos limpos, aos cerrados stricto sensu e cerrados arbóreos e algumas florestas, além de vegetação aquática.

Campo Grande, situada nas seguintes coordenadas de satélite (20° 27' S e 54° 37' O) é a capital e a maior cidade (~ 750 mil habitantes) do Estado de Mato Grosso do Sul, Centro-Oeste do Brasil. O município abrange aproximadamente 8.100 km²; com área urbana de 150 km² e topografia plana (590m altitude). Está localizada no divisor das bacias hidrográficas do Paraná e do Paraguai, com grande quantidade de córregos e nascentes. O clima é tropical (Aw de Köppen), com inverno seco e verão úmido; a precipitação média anual é de 1.500 mm e a temperatura média anual de 23°C (COLETI; LUCHMANN; DAMBRÓS, 2007). Espécies da vegetação original de Cerrado predominam em parques e remanescentes urbanos de vegetação nativa. Aproximadamente 30% da área do município correspondem à vegetação remanescente de Cerrado (INSTITUTO MUNICIPAL DE PLANEJAMENTO URBANO - PLANURB, 2007).

3.2 Amostras de sangue e soro

Amostras de sangue de 136 cães foram coletadas em área rural do Pantanal de Nhecolândia – MS. As coletas foram realizadas entre agosto de 2012 e julho de 2013 sendo 95 machos e 41 fêmeas. O sangue dos 69 cães do perímetro urbano de Campo Grande, foram coletados pelos médicos veterinários no Hospital Veterinário da Universidade Católica Dom Bosco – UCDB entre agosto de 2013 a setembro 2014, sendo 27 machos e 42 fêmeas procedentes de diversos bairros da cidade. O número total de amostras de sangue coletadas foram de 205. As raças dos cães não foram levadas em consideração para as técnicas aplicadas porém a idade de cães para estudos epidemiológicos devem ser acima de 6 meses.

Para a coleta do sangue, os cães foram contidos com focinheiras pelos proprietários ou pelos funcionários da fazenda ou mesmo pelo médico veterinário responsável da equipe e, após assepsia da região da pata (veia cefálica) e veia jugular com álcool iodado. Foram coletados, aproximadamente, 6 ml do sangue total em tubos à vácuo com Ácido Etileno Diamino Tetracético – EDTA, e sem anticoagulante. O sangue foi

centrifugado e os soros obtidos do sangue de 118 cães sendo 77 cães de área rural do Pantanal de Nhecolândia e 41 cães de área urbana de Campo Grande, Mato Grosso do Sul - MS foram acondicionados em tubos de polipropileno e mantidos a - 20°C até o momento da análise sorológica. Após a coleta do material biológico as amostras de sangue com anticoagulante dos cães foram submetidas à extração do DNA. Testes de medidas das concentrações de DNA e seu grau de pureza foram realizados no laboratório de Biologia Molecular SINOVA- Biotech.

3.3 Extração de DNA pelo método Fenol-Clorofórmio

Aproximadamente 350 μ L de sangue foram distribuídos em tubos de polipropileno e adicionado em cada tubo 20 μ L de proteínase K (20mg/mL). Após este procedimento realizou a homogeneização das amostras. O material foi incubado em banho-maria a 65°C por 15 minutos e adicionado 250 μ L de Dodecil Sulfato de Sódio - SDS 20%, em cada amostra e submetido ao banho maria por mais 6 minutos. Após foi adicionado 800 μ L de fenol clorofórmio (1:1) em cada amostra. O material foi homogeneizado no vortex e adicionado 400 μ L de solução de precipitação proteica (3M C₂H₃KO₂, 2MCH₃COOH). O material foi novamente homogeneizado no vortex e centrifugado a 10 minutos a 14000 rpm a uma temperatura de 4°C. A fase aquosa foi pipetada para outros tubos de polipropileno. Adicionou-se 1000 μ L de etanol absoluto. As amostras foram inseridas na centrífuga a 14000 RPM a uma temperatura de 4°C durante 5 minutos. O sobrenadante foi desprezado e adicionado 1000 μ L de álcool 70%. O material biológico foi centrifugado a 14000 rpm a 4°C em 2 minutos, o sobrenadante foi desprezado e passou pela centrífuga por mais 1 minuto a 14000 rpm a 4°C, o sobrenadante foi descartado e adicionado 150 μ L de água ultrapura, homogeneizado e levado ao banho maria a 37°C durante 10 minutos.

Após esses procedimentos de extração do DNA do sangue dos 205 cães, todas as amostras foram avaliadas quanto ao grau de pureza e a concentração do DNA em espectrofotômetro de luz (Eppendorf Biophotometer).

3.4 Teste de Sensibilidade da Reação em Cadeia da polimerase (PCR) com o par de Primer 23S

O par de primer utilizado foi desenhado baseado na região do DNA ribossomal, o qual amplifica um produto de aproximadamente 500 pares de base, que corresponde a uma região conservada do gene 23S da estrutura primária de *Borrelia* spp. conforme a tabela 2 sequência do par de primer utilizado nos testes de sensibilidade e no diagnóstico molecular PCR.

Gene	Primer	Seqüência	Números depares de base (pb)
23S rDNA	23S Foward	5´ - TACCCAGCACTTACCCTTGG -3´	500pb
	23S Reverse	5´ - AGTGCCAGGTGGGTAGTTTG -3´	

Tabela 2 - Seqüência do par de Primer 23S

A sensibilidade da PCR foi testada através da diluição seriada (13 vezes) do controle positivo em amostras de DNA de sangue de cão, contaminadas artificialmente com DNA de *B. burgdorferi* cepa americana G39/40. Foi realizado uma diluição seriada do DNA bacteriano (concentração de 150 ng/UL) de 10⁻¹ a 10⁻¹⁰ neste misturado foi acrescentado 1µL de DNA de cão (concentração de 300 ng/UL). O limite da detecção foi considerado até que a mistura de DNA diluído tornassem visíveis após amplificação por PCR e submetido em gel de agarose 1%.

Diluição seriada com DNA de <i>B. burgdorferi</i> e DNA de sangue de cães			
Amostra 1:	150 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	
Amostra 2:	150 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 3:	75 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 4:	37,5 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 5:	18,75 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 6:	9,37 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 7:	4,68 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 8:	2,34 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 9:	1,17 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 10:	0,58 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 11:	0,29 ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 12:	0,145ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão
Amostra 13:	0,0725ng	de DNA de bactéria <i>B. burgdorferi</i>	+ 300ng de DNA de cão

Tabela 3 -Diluições seriadas realizadas com DNA de *B. burgdorferi* e DNA de cães para avaliar a sensibilidade do primer 23S.

Um microlitro de cada uma das diluições citadas acima foram utilizadas nas PCRs com o par de primer 23S de sensibilidade.

As reações de amplificação da reação em cadeia da polimerase (PCR) foram realizadas em termociclador com gradiente de temperatura da Applied Biosystems®, modelo veriti 96 weell. A reação de PCR foi preparada em um volume final de 25µL, contendo 2,5 µl de tampão de PCR 10X (100 mM Tris-HCL pH 8,5, 500 mM KCL), 1,5 mM de MgCl₂, 250 µM de cada dNTP, 0,2µL de taq DNA polimerase (Iud®), 0,5 pmoles de cada oligonucleotídeo, e 3µL de DNA molde (100 ng/UL). Em todas as reações foi incluído um controle positivo com DNA de *B. burgdorferi* (100 ng/UL) e um controle negativo água ultrapura. A reação foi submetida em termociclador e iniciou-se com uma fase de desnaturação a 95°C por 3 minutos, 34 ciclos de 95°C por 20 segundos (desnaturação da fita de DNA), 60°C por 25 segundos (anelamento), 72°C por 25 segundos e seguido de uma extensão final a 72°C por 5 minutos.

Os produtos gerados na PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose TBE a 1% preparado da seguinte forma: As amostras foram aplicadas em gel utilizando 2 μ L de tampão da amostra, 3 μ L de H₂O ultrapura e 5 μ L da PCR e como marcador de pares de bases (pb) foram utilizados o marcador de 1Kb (Plus) (Invitrogen®). A eletroforese foi realizada em cubas horizontal (BioAgency®) a corrida foi conduzida a uma tensão de 100V por 30 minutos. Após a corrida, o gel foi corado com brometo de Etídeo e visualizado em um transiluminador de U.V (UVPBioResearch®) e os resultados foto documentados. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram a amplificação de um fragmento de 500 pb.

3.5 Obtenção de antígenos e ensaios sorológicos

A sorologia foi realizada em parceria com o Laboratório de Doenças Parasitária coordenado pelo Prof. Adivaldo Henrique da Fonseca da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro-UFRRJ. O meio de Kelly modificado ou meio BSK, para cultivo de *B. burgdorferi* foi preparado segundo descrição original (BARBOUR, 1984). Para obtenção do antígeno 15mL de cultura de *B.burgdorferi* stricto sensu cepa G39/40 de origem americana, mantendo-o em estufa a 33°C por uma semana.

A cultura foi centrifugada a 9.000xg por 10 min. a 4°C, o sedimento foi ressuspensão em tampão salino fosfatado (PBS) e submetido ao tratamento anterior por duas vezes. O “pellet” formado foi finalmente suspenso na mesma solução ao volume de 6,0 mL. A suspensão foi submetida à sonicação (Fisher Sonic Dismembrator, model 300, Dynatech) por três minutos, com intervalos de 15 segundos; posteriormente filtrada a 0,45mm e aliqüotada, obtendo-se assim 1,4mg/mL de conteúdo proteico, o extrato total de antígeno para uso nos procedimentos de ensaios imunológicos. O antígeno então foi armazenado em freezer a -20°C até o momento de uso. A concentração proteica do extrato total de antígeno foi estabelecida por meio da técnica do reagente de Folin. O extrato do antígeno total foi armazenado a temperatura de -70°C, para procedimentos posteriores de ensaios imunológicos.

O diagnóstico ELISA indireto foram realizados com 118 amostras de soro de sangue de cães sendo 77 de área rural do Pantanal de Nhecolândia e 41 de área urbana de Campo Grande - MS. Os materiais biológicos foram submetidos à pesquisa de anticorpos da classe IgG contra antígeno bruto de *B. burgdorferi* utilizando o ELISA indireto padronizado por (SOARES et al., 1999).

Neste ensaio foram utilizadas microplacas de poliestireno de 96 orifícios (CORNING ®) sensibilizadas com 100 μ L do antígeno de *B. burgdorferi* cepa G39/40 diluído a 15 μ g/mL em tampão carbonato pH 9,6 e incubadas durante 12 horas em câmara úmida à 4°C. Após a sensibilização, as placas foram lavadas três vezes com Tampão salino fosfato (PBS Tween 200,05% pH 7,4) e bloqueadas com 200 μ L de leite em pó desnatado 5% diluído em PBST e incubadas por 90 minutos, em câmara úmida, em estufa bacteriológica a 37°C. Em seguida foram realizadas novamente as

três lavagens da placa.

Foram utilizadas 12 amostras negativas de animais previamente testados e um controle positivo de um animal inoculado com antígeno inativado de *B. burgdorferi* cepa G39/40. Os 12 controles negativos, o controle positivo e os soros testes foram diluídos na concentração de 1:800 em PBST e dispostos 100 µL nas placas, que foram incubadas a 37°C por 90 minutos em câmara úmida e, posteriormente lavada como na etapa anterior. Então, foi disposto 100 µL do conjugado IgG de coelho antiIgG canino ligado a fosfatase alcalina (antidog IgG, wholemolecule, alkalinephosphatase, SIGMA®) na diluição de 1:5000 em PBST com mais 90 minutos de incubação nas mesmas condições anteriores, em seguida, lavagens das placas.

Após esta última incubação foi empregado 100 µL do substrato revelador Paranitrofenilfosfato de Sódio (PNPP - SIGMA Chemical) diluído em Tampão de Dietanolamina pH 9,8 na concentração de 1 mg/mL. Em aproximadamente 15 minutos, as placas foram lidas em espectrofotômetro para microplacas de 96 orifícios (Termo Scientific® Uniscience Multiskan FC) sob comprimento de onda de 405 nm. O ponto de corte (“cutoff”) para o ensaio foi determinado utilizando a distribuição T Student com um grau de confiança de 99,99%, segundo a média mais três vezes o desvio padrão dos valores da DO - Densidade Óptica dos controles negativos (FREYA; DI CANZIO; ZURAKOWSKI, 1998).

4 | RESULTADOS

4.1 Reação em cadeia da polimerase (PCR) para *Borrelia spp*

A PCR quanto a sensibilidade analítica em termos de concentração de DNA foi de 2,34 ng/µl, sendo possível amplificar uma banda visível até a diluição de 1:10⁻⁷. O par de primer foi padronizado e mostrou ser altamente sensível para detectar até 9,37ng de DNA de bactéria *B. burgdorferi* (Figura -1).

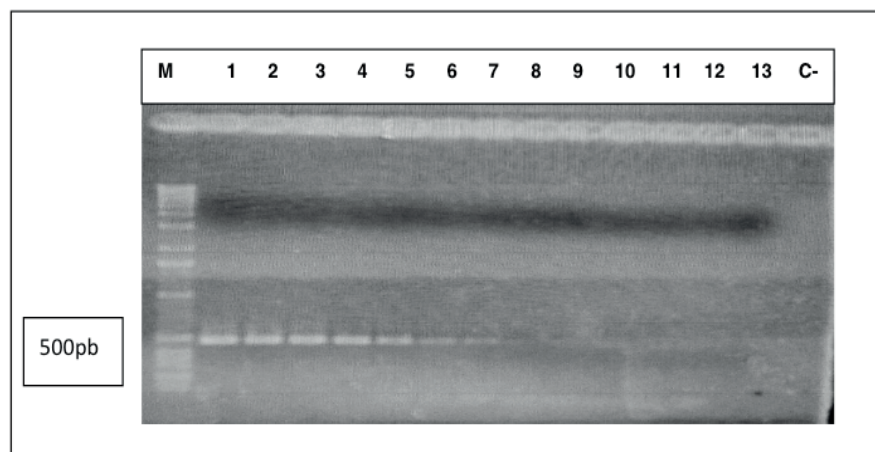


Figura 1 - Avaliação da sensibilidade do par de primer 23S para a detecção de DNA de *Borrelia burgdorferi* cepa G39/40 diluído em DNA de cães¹.

1 M (marcador de pares de bases 1kb plusInvitrogen®); 1 (150 ng/µlDNA de *Borrelia burgdorferi*

4.2 Reação em Cadeia da polimerase (PCR)

O exame molecular realizado pela PCR não detectou a presença do DNA de *Borrelia* spp. nas 136 amostras de sangue dos cães da região central do Pantanal de Nhecolândia, assim como nas 69 amostras de sangue dos cães do perímetro urbano de Campo Grande - MS

4.3 Diagnóstico sorológico ELISA indireto

A análise sorológica realizada pelo ELISA indireto em 77 soro de sangue de cães da área rural da região central do Pantanal de Nhecolândia foram considerados reativos com a presença de anticorpos da classe IgG anti-*Borrelia burgdorferi* cepa americana G39/40, quatro cães (5,2%) dos animais, sendo três fêmeas e um macho. A análise sorológica realizada com soro do sangue de 41 cães de área urbana de Campo Grande/MS foram consideradas reativas para a presença de anticorpos homólogos da classe IgG anti-*Borrelia burgdorferi* cinco cães (12,2%) dos animais sendo três fêmeas e dois machos, conforme tabela 4.

Área	Nº de animais analisados na PCR	PCR		Nº de animais analisados no ELISA	ELISA	
		+	-		+	-
Rural	136	0	136	77	4	73
Urbana	69	0	69	41	5	36
Total	205	0	205	118	9	109

Tabela 4- Resultado da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e do ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) indireto dos cães estudados nas regiões do Pantanal de Nhecolândia e Campo grande-MS

O índice de densidade óptica obtido dos 77 cães reativos ao ELISA, indireto do Pantanal de Nhecolândia está representado na Figura 2.

cepa G39/40) americana, 2 a 13 diluição seriada (10-1 a 10-10) de DNA de *Borrelia burgdorferi* cepa G39/40 e DNA de cães.

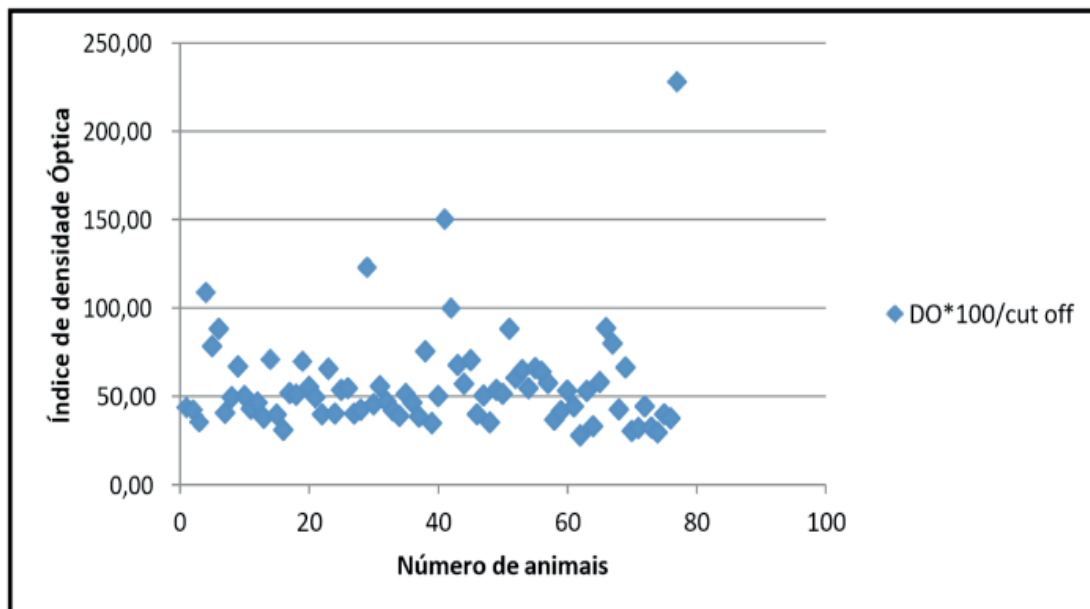


Figura 2 - Distribuição dos valores de densidades ópticas dos animais em relação ao “cutoff” (DOx100/ “cutoff”)

O índice de densidade óptica obtido dos 41 cães de área urbana de Campo Grande, MS reativos ao diagnóstico ELISA, indireto está representado na Figura 3.

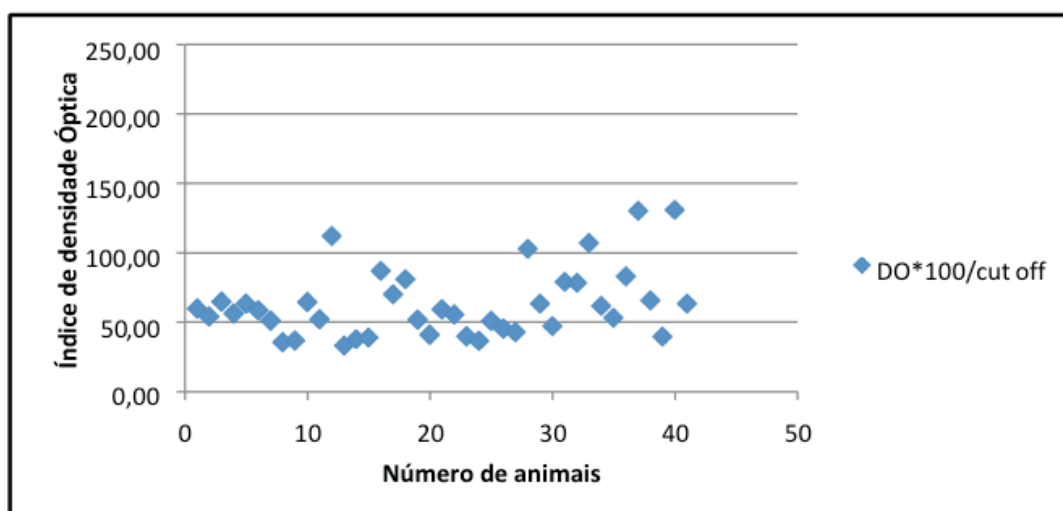


Figura 3 - Distribuição dos índices de densidades ópticas dos animais em relação ao “cutoff” (DOx100/ “cutoff”)²

O índice de densidade óptica foi realizado para identificar a presença de imunoglobulinas, anticorpos da classe IgG anti-B. burgdorferi cepa americana G39/40 no soro do sangue dos cães que se apresentavam com infecções crônicas de meses ou anos o que possibilita os cães soro positivos das regiões do Pantanal de Nhecolândia e de Campo Grande serem considerados hospedeiros de Borrelia spp.

2 Obtidas do ensaio ELISA indireto para Borrelia spp. dos soros-teste de cães do perímetro urbano de Campo Grande.

5 | DISCUSSÃO

O diagnóstico realizado pela técnica PCR, não detectou a presença de DNA de *Borrelia* spp. no sangue dos cães. Os resultados negativos obtido na PCR pode ser justificado pelo seguinte fato: os cães estavam com baixo índice de *Borrelia* presente nos tecido sanguíneos. Estudos realizados em sete distrito de Portugal (Braga, Vila Real, Lisboa, Setubal, Évora, Aveiro e Faro) onde foram coletados um total de 2915 espécies de carrapatos sendo todas analisadas por métodos moleculares PCR o DNA de *B. burgdorferi* sensu stricto foi detectado em duas amostra de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* utilizando a análise da sequência de DNA (*flaB*) revelou alta homologia com *Borrelias* que causam a febre recidivante (FR). As análises filogenéticas obtidas a partir de três marcadores genéticos (16S rRNA, *flaB* e *glpQ*) confirmaram sua inclusão em dois subgrupos que diferem das outras espécies da febre recidivante. Portanto os resultados confirmaram a circulação de múltiplas espécies de *B. burgdorferi* s.l. Os resultados obtidos também revelaram duas espécies novas de *Borrelias* semelhantes as que causam a febre recidivante em humanos em diferente espécies de carrapatos (NUNES et al., 2016).

O ELISA realizado com o soro sanguíneo dos cães da região central do Pantanal de Nhecolândia apresentou prevalência para a presença de imunoglobulinas, anticorpos homólogos da classe IgG anti-*Borrelia burgdorferi* cepa americana G39/40 sendo apenas 5,2% (4/77) de animais considerados positivos. Entretanto a presença de anticorpos em cães é um indicativo de que houve resposta através de reações imunitárias na presença do antígeno bruto de *Borrelia burgdorferi* cepa G39/40 americana no soro-teste dos cães da área rural do pantanal de Nhecolândia. Por outro lado, dos cães do perímetro urbano de Campo Grande - MS, apenas cinco foram diagnosticados como soropositivo correspondendo ao percentual de 12,2% de (5/41) animais reativos ao teste ELISA indireto.

A utilização do teste ELISA padronizado com uso de antígeno bruto de *B. burgdorferi* justifica os resultados obtidos da pesquisa demonstrando que a sensibilidade do teste é eficiente na detecção de imunoglobulinas, anticorpos da classe IgM que se apresentam em animais com infecções iniciais aguda. Por outro lado cães com infecções crônicas, que persistem por meses e anos devido as coinfeções é comum a presença de, anticorpos tipo IgG mesmo após confirmado nos testes sorológico a presença dos anticorpos. Anti-*B. burgdorferi*. A associação dos resultados com casos clínicos em humanos tem reforçado a importância deste tipo de pesquisa considerando que os cães domésticos são hospedeiros de *Borrelia* spp. Estudos realizados por Naka (2005) em 100 crianças que apresentavam manifestações clínicas compatíveis com a síndrome de Lyme-simile no Estado de Mato Grosso do Sul, apresentaram frequências de 29% de anticorpos anti- *B. burgdorferi*. As maiorias das crianças eram procedente da zona urbana e todas possuíam cães de estimação, que são competentes reservatórios de *Borreliasp*, no ambiente domiciliar (GOOSSENS; BOGAARD; NOHLMANS, 2001).

A frequência de anticorpos anti-*B. burgdorferi* em cães varia de acordo com a região fisiográfica (WRIGHT et al., 1997; SOARES et al., 1999; JOPPERT; HAGIWARA; YOSHINARI, 2001) e mostra-se mais frequente em áreas endêmicas para Borreliose humana (LINDENMAYER; MARSHALL; ONDERDONK, 1991).

A pesquisa realizada demonstrou uma baixa frequência de animais soropositivos na região do Pantanal de Nhecolândia e no perímetro urbano de Campo Grande – MS. Os resultados observado neste estudo revelam um valor inferior em relação à frequência encontrada no trabalho de (O’ DWYER et al., 2004) onde se identificou com os estudos sorológicos de 199 cães de áreas rurais de sete municípios do Rio de Janeiro uma frequência de 15,58% dos animais reativos ao teste sorológico.

Salgado et al. (2008) na cidade de Campo Grande - MS, realizou estudos com 180 amostras sanguíneas de cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses, 15,6% dos cães estavam com o carrapato *R. sanguineus*. Os soros sanguíneos foram analisados por meio do diagnóstico ELISA indireto revelando uma prevalência de 132 (73,3%) de animais positivo. Os animais domiciliados tiveram 70,79% de soros positivos e os errantes 75,82% foram considerados soropositivos. Santos V.G. (2008) no Rio de Janeiro estudou a prevalência de *B. burgdorferi* cepa americana G39/40 em 38 cães analisados pelo teste sorológico ELISA indireto, 33 cães (86,8%) foram considerados soropositivos. Cordeiro Meireles e Silva (2012) realizaram estudos em 293 cães em quatro áreas do município de Seropédica-RJ sendo 154 (52,56%) animais considerados positivos para anticorpo homólogos anti-*B. Burgdorferi* cepa americana G39/40.

A pesquisa realizada na região do Pantanal de Nhecolândia e região urbana de Campo Grande - MS, fortalece os resultados publicados por Salgado et al (2008) comprovando a exposição dos cães a um determinado agente infeccioso que reage com a presença do antígeno bruto de *B. burgdorferi* cepa G39/40 americana. A presença de imunoglobulinas anticorpos tipo IgG detectados no exame sorológico dos cães determina a presença de *Borrelia* spp. ainda não identificada e isolada em cães.

6 | CONCLUSÃO

A pesquisa indicou presença de cães soro-positivo com anticorpos IgG anti-*B. Burgdorferi* cepa G39/40 americana em cães domiciliados em áreas rurais do Pantanal de Nhecolândia e urbanas de Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul.

REFERÊNCIAS

- ABEL, I. S. **Estudo de *Borrelia* sp. em *Didelphis marsupialis*(marsupialia: didelphidae) naturalmente infectados.** 1996. 40 f. Monografia (Bacharel em Ciências Biológicas) - Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996.
- ALEKSHUN, M.; KASHLEV, M.; SCHWARTZ, I. Molecular cloning and characterization of *Borrelia burgdorferi* rpoB. **Gene**, v.186, n.2, p. 227-235, fev, 1997. < [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1119\(96\)00714-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-1119(96)00714-7)>.
- ALVES, A. L. MADUREIRA, R. C; SILVA, R.A.; CORRÊA, F. N.; BOTTEON, R.C. M. Frequência de anticorpos contra *Borrelia burgdorferi* em cães na região metropolitana do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.24, n.4. p. 204-205, out./dez. 2004. < <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2004000400006>>.
- APPEL, J. G. Lyme disease in dogs and cats. **Compendium**, v.12, n.5, p. 617, 1990.
- AUSTIN, F. E. Maintenance of infective *Borrelia burgdorferi* Sh-2-82 in 4% oxygen - 5% carbon dioxide in vitro. **Canadian Journal of Microbiology**, v.39, n.12, p.1103- 1111, dez. 1993.
- AZUMA, Y.; ISOGAI, E. H.; KAWAMURA, K. Doença de Lyme canina: avaliação clínica e sorológica em 21 cães no Japão. **Journal Article**, v. 134, n.15, p. 369-372, 1994.
- BAKER-ZANDER, S.; LUKERHART, S. A. Antigenic cross-reactivity between *Treponema pallidum* and other pathogenic members of the family spirochaetaceae. **Infection and Immunity**, v. 46, n.1. p. 116-121, out. 1984.
- BARBOUR, A. G. Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 57, n. 4, p. 521-525, jul./ago. 1984.
- BARBOUR, A. G.; HAYES, S. Biology of *Borrelia* species. **Microbiological Reviews**. v. 50, n. 4. p. 381-400, dez. 1986.
- BENNETT, C. E. Ticks and Lyme disease. **Advances in Parasitology**, v.36, p. 343- 405 , 1995.
- BOSLER, E. M. Tick vectors and hosts. In: COYLE, P. K. **Lyme disease**. Boston: Mosby Year Book, 1993. p.18-26.
- BURGDORFER, W.; BARBOUR, A. G.; HAYES, S. F. Lyme disease: a tick-borne spirochetosis. **Science**, v.216, n. 4552, p. 1317-1319, jun.1982. < <http://dx.doi.org/10.1126/science.7043737>>.
- BURGDORFER, W.; HAYES, S. F.; BENACH, J. L. Development of *Borrelia burgdorferi* in ixodid tick vectors. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 539, p.172-179, 1988.
- BURGDORFER, W.; HAYES, S. F.; CORWIN, D. Pathophysiology of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in ixodes ticks. **Reviews of Infectious Diseases**, v.11, p.1442-1449, set./ out. 1989. Suplemento 6.
- BURGESS, E. C. Natural exposure of Wisconsin dogs to the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi*. **Laboratory Animal Science**, v.36, n.3, p. 288-290, 1986.
- COLETI, R. C. F. B.; LUCHMANN, R.; DAMBRÓS, S. R. **Relatório de avaliação ambiental**: programa de desenvolvimento integrado e qualificação urbana do município de Campo Grande MS. Campo Grande: Prefeitura Municipal de Campo Grande, 2007.
- CORDEIRO, M. D.; MEIRELES, G. S.; SILVA, J. B. D. Soroprevalência para *Borrelia* spp. em cães

no município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.34, n.3, p. 251-256, jul./set. 2012.

CORRADI, D. A.; CARVALHO, V. M.; COUTINHO, S. D. Anticorpos para *Borrelia burgdorferi* em indivíduos que trabalham com animais silvestres. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n.5, p. 966-968, out. 2006. < [http:// dx.doi.org/10.1590/S0102-09352006000500042](http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352006000500042)>

CORRÊA, F. N. **Pesquisa de anticorpos homólogos anti-Borrelia burgdorferi em búfalos (*Bubalus bubalis*) do estado do Pará**. 2007. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica: 2007.

COSTA, I. P. **Pesquisa de anticorpos anti-Borrelia e do agente etiológico, em soro e liquor de pacientes com manifestações clínicas compatíveis com a doença de Lyme, no estado de Mato Grosso**. 1998. Tese (Doutorado em Medicina) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

COSTA, I. P.; BONOLDI, V. L. N.; YOSHINARI, N. H. Search for *Borrelia* sp. in ticks collected from potential reservoirs in an urban forest reserve in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil: a short report. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.97, n.5, p. 631-635, jul. 2002.

DURDEN, L. A.; OLIVER, J. H.; KINSEY, A. A. Ticks (acari: ixodidae) and spirochetes (spirochaetaceae: spirochaetales) recovered from birds on a Georgia Barrier Island. **Journal of Medical Entomology**, v.38, n.2, p. 231-236, mar. 2001.

EISENDLE, K.; GRABNER, T.; ZELGER, B. Morphea: a manifestation of infection with *Borrelia* sp. **British Journal of Dermatology**, v. 157, n. 6 p.1189-1198, 2007. < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2007.08235.x>>.

FONSECA, A. H. et al. Lyme borreliosis serology in cattle in Brazil. **Revista Universidade Rural: Série Ciências da Vida**, v. 18, n. 1, 2, p.85-89, dez. 1996.

FONSECA, A. H. Detection of *Borrelia* sp. in opossum (marsupialia: didelphidae) In: CONGRESS WORLD VETERINARY ASSOCIATION, Yokohama, Japão; **Anais...**, 1995. p. 283.

FONSECA, A. H. Borreliose de Lyme símile: uma doença emergente e relevante para a dermatologia no Brasil. **Anais Brasileiro de Dermatologia**, v.80, n. 2, p.171- 178, 2005. < <http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962005000200008>>.

FREYA, A. ; DI CANZIO, J.; ZURAKOWSKI, D. Statistically defined endpoint determination method for immunoassays. **Journal of Immunological Methods**, v. 221, p. 35-41, dez. 1998.

GONÇALVES, D. D.; Carreira, T.; Nunes, M.; Benitez, A.; Lopes-Mori F.M.; Vidotto O. Freitas, J.C.; Vieira, M.L.; First record of *Borrelia burgdorferi* B31 strain in Dermacentor nitens ticks in the northern region of Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.44, n. 3, p. 883-887, 2013.

GONÇALVES, D. D. Primeira detecção de anticorpos anti-Borrelia burgdorferi sensu lato em cães errantes da região noroeste do estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.4, jul./ago. 2015. < <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015 v36n4p2641>>.

GOOSSENS, H. A. T.; BOGAARD, A. E.; NOHLMANS, M. K. E. Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in the Netherlands. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, n.3, p. 844-848, mar. 2001. < <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.39.3.844-848.2001>>.

GREENE, R. T. An update on the serodiagnosis of canine Lyme borreliosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.4, n.3, p. 16 - 171, maio 1990. < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.1990>>.

tb00891.x>.

HOOGSTRAAL, H. Ticks and spirochetes. **Acta Tropica**, v.36, n.2, p.133-136, jun. 1979.

HOSKINS, J. D. Tick-borne zoonose: Lyme disease, ehrlichiosis, and rocky mountain spotted fever. **Small Animal**, v.6, n.3, p.236-243, ago. 1991.

CAMPO GRANDE - MS. Instituto Municipal de Planejamento Urbano - PLANURB. Perfil sócio-econômico de Campo Grande - MS.14.ed. Campo Grande, 2007.

ISHIKAWA, M. M. **Epidemiologia da borreliose de Lyme em bovinos na região sudeste do Brasil e padronização do diagnóstico sorológico**. 1996, 52 f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996.

ISHIKAWA, M. M.; FONSECA, A. H., SOARES C.O. Padronização de ensaio imunoenzimático ELISA indireto para pesquisa de anticorpos IgG contra *Borrelia burgdorferi* em bovinos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.19, n. 4, p. 166-168, 1997.

JOHNSON, L. C.; SCHIMID, G.P.; HYDE, F.; W,BRENNER, J. *Borrelia burgdorferi* sp. nov.: etiologic agente of Lyme disease. **International Journal Systematic Bacteriology**, v.34, n.4, p. 496-497, out. 1984.

JOPPERT, A. M.; HAGIWARA, M. K.; YOSHINARI, N. H. *Borrelia burgdorferi* antibodies in dogs from Cotia county, São Paulo state, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, n.5, p. 251-255, out. 2001.< [http://dx .doi.org/10.1590/S0036-46652001000500003](http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652001000500003)>.

JWANG, B.; DEWING, P.; FIKRIG, E.; FLAVELL, R.A. The hook protein of *Borrelia burgdorferi*, encoded by the FLGE gene, is serologically recognized in Lyme disease. **Clinical and Diagnóstico Laboratory Immunology**, v. 2, n. 5, p. 609-615, set. 1995.

KRIEG, N. R.; HOLT, J. G. B. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 8.ed. London: Williams & Wilkins, v. 1, 1984.

LEEuw, B. H.; MARAHA, B., ; HOLLEMANS, L. ; SPRONG, H.; BRANDENBURG, A.H.; WESTENEND, P.J.; KUSTERS, J.G. Evaluation of *Borrelia* real time PCR DNA targeting *OspA*, *FlaB* and 5S-23S IGS and *Borrelia* 16S rRNA RT-qPCR. **Microbiological Methods**, v.107, p. 41-46, dez. 2014 <<http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2014.09.001>>.

LEVY, S. A.; DREESEN, D. W. Lyme borreliosis in dogs. **Canine Practic**, v.17, p. 5- 14,1992.

LINDENMAYER, J. M.; MARSHALL, D.; ONDERDONK, A. B. Dogs as sentinels for Lyme disease in Massachusetts. **American Publication of Health**, v.81, n.11, p.1448-1455, nov. 1991

LITTMAN, M. P.; GOLDSTEIN, R.E.; LABATO, M.A; LAPPIN, M.R.; MOORE, G.E. ACVIM small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment, and prevention. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.20, n.2, p. 422-434, mar./abr. 2006.

MADUREIRA, R. C. **Sorologia para *Borrelia burgdorferi* em equinos do estado do Pará e caracterização genotípica de isolados de *Borrelia* spp.** 2007. Tese (Doutorado) – Programa da Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

MAGNARELLI, L. A.; ANDERSON ,J.F.; KAUFMANN, A.F.; LIEBERMAN, L.L.; WHITNEY, G.D. Borreliosis in dogs from southern Connecticut. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.186, n.9, p. 955-959, maio 1985.

MAGNARELLI, L. A. Clinical and serologic studies of canine borreliosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, n.9, p.1089-1094, nov. 1987.

MANTOVANI, E. **Identificação do agente etiológico da doença de Lyme-símile brasileira (síndrome de Baggio Yoshinari)**. 2010, 117 f. Tese (Doutorado) – Programa de Ciências Médicas da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. <<http://dx.doi.org/10.11606/T.5.2010.tde-04112010-145154>>.

MARTINS, J. R. ; CERESER, V.H.; CORREA, B. L.; SMITH, R.D. Borrelia theileri: observação em carrapatos do gênero boophilus microplus no município de Guaíba, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v.26, n.3, p. 447- 450, dez. 1996. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84781996000300018>>.

MASTERS, E.; GRANTER, S.; DURAY, P.; CORDES, P. Physician-diagnosed erythema migrans and erythema migrans-like rashes following lone star tick bites. **Archives of Dermatology**, v.134, n.8, p. 955-960, ago. 1998.

MCKENNA, P.; CLEMENT, J.; VAN DIJCK, D.; LAUWERYS, M.; CAREY, D.; VAN DEN BOGAARD, T.; BIGAIGNON, G. Canine Lyme disease in Belgium. **The Veterinary Record**, v.136, n.10, p. 224-247, mar. 1995.

MILAGRES, B. S. **Pesquisa de rickettsia em animais sinantrópicos e domésticos e em seus ectoparasitas em duas áreas de baixa endemicidade para febre maculosa brasileira da região leste de Minas Gerais, de 2005-2007**.

2010. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2010.

MOTALEB, M. A.; CORUM, L.; BONO, J.L.; ELIAS, A.F.; ROSA ,P.; SAMUELS, D.S.; Charon NW. *Borrelia burgdorferi* periplasmatic flagella have both skeletal and motility function. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 97, n. 20, p.10899 –10904, set. 2000. <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.200221797>>.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M.B. ; CÁCERES, A.G. ; MANGOLD, A.J. ; GUGLIELMONE, A.A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch. **Ticks and TickBorne Diseases**, v.5, n.3. p. 252-276, abr. 2014.< <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2013.11.004>>.

NUNES, M.; PARREIRA, R.; MAIA, C.; LOPES, N.; FINGERLE, V.; VIEIRA. M.L. Molecular identification of *Borrelia* genus in questing hard ticks from Portugal: phylogenetic characterization of two novel relapsing fever-like *Borrelia* sp. **Infection, Genetics and Evolution**, v.40, p. 266-274, Jun. 2016. <[Doi.org/10.1016/j.meegid.2016.03.008](http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2016.03.008)>.

O' DWYER, L. H. SOARES, C. O.; MASSARD, C. L.; SOUZA, J. C. P.; LAUSINO, W.; FONSECA, A. H. Soro prevalência de *Borrelia burgdorferi* lato sensu associada a presença de carrapatos em cães de áreas rurais do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p. 201-205 jan./fev. 2004.

< <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-8478200400010003>>.

PAVLOVSKY, E. N. **Natural nidity of transmissible diseases**. Moscow: Peace Publishers, 1965. 250 p.

PÊSSOA, S. B. **Parasitologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1963. 849 p.

PFISTER, H. W.; WILSKE, B.; WEBER, K. Lyme borreliosis: basic science and clinical aspects. **Lancet**, v. 343, n. 8904, p. 1013-1016, abr. 1994. < [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)90130-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(94)90130-9)>.

QIU, W. G.; BRUNO, J.F.; MCCAIG, W. D.; XU, Y.; LIVEY, I.; SCHRIEFER, M. E. ; LUFT, B. J. Wide distribution of a high virulence *Borrelia burgdorferi* clone in Europe and North America. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.7 p. 1097- 10104, jul. 2008. < <http://dx.doi.org/10.3201/eid1407.070880>>.

QUINN P, J. Espiroquetas. In: **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2002. p.179-188.

REZENDE, J.; KESSLER, R. H.; SOARES, C. O.; MARTINS, O. P. Ocorrência de *Borrelia* spp. em cultura de células embrionárias do carrapato *Boophilus microplus* (acari: ixodidae) no estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p. 50-52, 2008.

REZENDE, J. ;RANGEL, C.P.; CUNHA, N.C.; FONSECA, A.H. Células embrionárias primárias do carrapato *Rhipicephallus microplus* e *Amblyomma cajennense*, como substrato para o desenvolvimento de *Borrelia burgdorferi* (Cepa G39/40). **Brazilian Journal of Biology**, v.72, n.3, p. 577-582, ago. 2012.

<<http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842012000300021>>.

RICH, S. M. ; ARMSTRONG, P.M.; SMITH, R.D. ; TELFORD, S.R. Lone star tick- infecting *Borrelia* are most closely related to the agent of bovine Borreliose. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, n.2, p. 494 - 497, 2001.

RUDENKO, N.; GOLOVECHENKO, M.; GROBHOFFER, L. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. **Ticks Tick Borne Diseases**, v. 2, n.3. p. 123-128, set. 2011. <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2011.04.002>>.

SALGADO, F. P. **Identificação de hemoparasitos e carrapatos de cães procedentes do centro de controle de zoonoses de Campo Grande estado de Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2006, 55 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2006.

SALGADO, F. P.; HONER, M. R.; ISHIKAWA, M. M.; MADUREIRA, R.C. ; SOARES, C. O. ; RIGO, L. ; FONSECA, A. H. Detecção de anticorpos ant-*Borrelia burgdorferi* em cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.30, n. 2. , p. 97 -101, abr./jun. 2008.

SALLES, R. S.; FONSECA, A.H.; SCOFIELD, A.; MADUREIRA, R.C.; YOSHINARI, N.H. Sorologia para *Borrelia burgdorferi* latu sensu em eqüinos no estado do Rio de Janeiro. **A Hora Veterinária**, v. 22, n. 127, p. 46-49, maio/jun. 2002.

SANTOS, M. ; RIBEIRO-RODRIGUES, R.; LOBO R.; TALHARI, S. Antibody reactivity to *Borrelia burgdorferi* sensu stricto antigens in patients from the brasilian amazon region with skin diseases not. **International journal of dermatology**, v.49, n.5, p. 552- 556, maio 2010.< <http://dx.doi.org/doi:10.1111/j.1365-4632.2010.04393.x>>.

SANTOS, V. G. **Aspectos clínicos e laboratoriais da cinomose, ehrlichiose e borreliose em cães (*Canis familiaris*, linnaeus, 1758) naturalmente infectados**. 2008, 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.

SCHOELER, G. B.; LANE, R. S. Efficiency of transovarial transmission of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in the western blacklegged tick, *Ixodes pacificus* (acari: ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.30, n.1, p. 80-86, jan. 1993.

SOARES, C. O. **Estudo da borreliose canina: imunodiagnóstico, soroepi- demologia e análise interativa com a babesiose canina**. 1998, 80 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1998.

SOARES, C. O. ; ISHIKAWA, M.M.; FONSECA, A.H.; YOSHINARI, N.H. Borrelioses, agentes e vetores. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 20, n.1, p. 1-19, jan./mar. 2000. <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X200000100001>>.

SOARES, C. O. Sorologia para borreliose em cães procedentes da Baixada Fluminense, estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 21, n. 3, p. 111- 114, 1999.

STAFFORD III, K. C.; BLADEN, V. C.; MAGNARELLI, L. A. Ticks (acarí: ixodidae) infesting wild birds (aves) and white-footed mice in Lyme, CT. **Journal of Medical Entomology**, v. 32, n. 4, p. 453-466, jul. 1995.

STEERE, A. C.; MALAWISTA, S.E.; HARDIN, J.A.; RUDDY, S.; ASKENASE, W.; ANDIMAN, W.A. Erythema chronicum migrans and Lyme arthritis: the enlarging clinical spectrum. **Annals of Internal Medicine**, v.86, n.6, p. 685 - 698, jun. 1977.

STEFANCIKOV, A.; TRESOVÁ, G. ; PETKO, B. ; SKARDOV, I; SESZTÁKOVÁ, E. ELISA comparison of three whole-cell antigens of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in serological study of dogs from area of Koice, Eastern Slovakia. **Annals of Agriculture, Environmental and Medicine**, v.5, n. 1, p. 25-30, 1998.

STRAUBINGER, R. K. PCR-based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.6, p. 2191- 2219, jun. 2000.

STRAUBINGER, R. K. ; Straubinger A.F.; Summers B.A.; Jacobson R.H. Clinical manifestations, pathogenesis and effect of antibiotic treatment of Lyme borreliosis in dogs. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 110, n. 24, p. 874-881, dez. 1998.

TELFORD, S. R.; SPIELMAN, A. Competence of a rabbit-feeding ixodes (acarí: ixodidae) as a vector of the Lyme disease spirochete. **Journal of Medical Entomology**, v. 26, n. 2, p. 118-121, mar. 1989.

WRIGHT, J. C. ; CHAMBERS, M.; MULLEN, G.R.; SWANGO, L.J.; D'ANDREA, G.H.; BOYCE, A.J. Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in dogs in Alabama, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 31, p.127-131, jul. 1997.

YOSHINARI, N. H. ; MANTOVANI, E.; BONOLDI, V. L.; MARANGONI, R.G. Doença de Lyme-símile brasileira ou síndrome Baggio-Yoshinari: zoonose exótica e emergente transmitida por carrapatos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n.3, p. 363-369, 2010.< <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-42302010000300025>>.

YOSHINARI, N. H.; BARROS, P.J.L.; YASUDA, P.H. ; BAGGIO, D.; STEERE, A. C. Estudo epidemiológico da doença de Lyme no Brasil. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, v. 4, n. 2, p. 71-15, mar./abr. 1992.

YOSHINARI, N. H.; BARROS, P.J.L.; FONSECA, A.H. Borreliose de Lyme - zoonose emergente de interesse multidisciplinar. **News Laboratorial**, v. 3, n.12, p. 90-104, 1995.

YOSHINARI, N. H.; BARROS, P.J.L.; BONOLDI V.L.N.; NAZARIO, V.L. Perfil da borreliose de Lyme no Brasil. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**, v. 52, n.2, p. 111-117, mar./abr. 1997.

YOSHINARI, N. H.; ABRÃO, M.G.; BONOLDI, V.L.N.; SOARES, C.O.; MADRUGA, CR, SCOFIELD, A. Coexistence of Antibodies to tick-borne agents of babesiosis and Lyme Borreliosis in patients from Cotia County, state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n.3, p.311-318, abr. 2003.

YPARRAGUIRRE, L. A. ; MACHADO-FERREIRA, E.; ULLMANN, A.J.; PIESMAN, J.; ZEIDNER, N.S.;

SOARES, C.A. A hard tick relapsing fever group spirochete in a brazilian *Rhipicephalus (boophilus) microplus*. **Vector Born and Zoonotic Diseases**, v.7, n.4, p. 717-721, 2007.

ZHAN, L.; CHU, C.Y.; ZUO, S.Q.; WU, X.M.; DUMLER, J.S.; JIA, N.; JIANG, B.G.; YANG, H.; CAO, W.C. *Anaplasma phagocytophilum* and *Borrelia burgdorferi* in rabbits from southeastern China. **Veterinary Parasitology**, v. 162, n. 3-4, p. 354– 356, jun. 2009. <<http://dx.doi.org/doi: 10.1016/j.vetpar.2009.03.003>>.

SOBRE OS ORGANIZADORES

Alécio Matos Pereira: Possui graduação em Medicina Veterinária (2004), Mestrado (2008) e Doutorado (2014) em Ciência Animal (área de concentração em Reprodução Animal) pela Universidade Federal do Piauí. Atualmente é Professor da Universidade Federal do Maranhão, Campus IV, da disciplina de Anatomia e Fisiologia, nos cursos de Zootecnia, Agronomia e Biologia. Tem experiência na área de Medicina Veterinária e Zootecnia, com ênfase em endocrinologia e piscicultura. E-mail para contato: aleciomatos@gmail.com Lattes: <http://lattes.cnpq.br/2057530058619654>

Sara Silva Reis: Possui graduação em Zootecnia pela Universidade Federal do Maranhão (2019). Mestranda em Ciência Animal pelo Programa de Pós-graduação PPGCA pela Universidade Federal do Maranhão - Campus IV. Tem experiência na área de Zootecnia, com ênfase em termorregulação e parasitologia. E-mail para contato: sara.reis652@gmail.com Lattes: <http://lattes.cnpq.br/9200770549379851>

ÍNDICE REMISSIVO

A

Alimentação 48, 91, 94, 95, 96, 98, 99, 112, 113, 133
Ambiente 3, 14, 60, 106, 107, 109, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 133, 134
Anatomia 100, 101, 102, 103, 141
Arritmia 32, 37
Ataxia 4, 77, 78, 88, 89
Atividades rurais 94

B

Bovinocultura de leite 120, 130

C

Caatinga 94, 95, 96, 97, 98, 99
Canabidiol 2, 5
Canino 1, 5, 7, 8, 11, 26, 30, 31, 57, 70, 77
Caprinovinocultura 91
Cardiopatia 32
Castração 29, 130, 135, 136, 137, 138, 139
Cirurgia oral 72
Clínica 1, 3, 4, 25, 28, 30, 31, 33, 37, 39, 62, 76, 77, 82, 87, 90, 124, 128, 134
Cocção 100
Codornas 111, 112, 113, 115, 116, 117, 118
Colecistojejunostomia 80, 81, 82, 83, 84, 85
Congênita 77, 78, 126, 127
Contratura tendínea 126, 127
Controle 1, 2, 3, 4, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 36, 50, 55, 57, 61, 66, 90, 109, 120, 121, 123, 124, 133

D

Danos 5, 48, 85, 100, 101, 137
Desempenho 92, 95, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 115, 117, 130, 132, 134, 135, 137, 138, 139, 140
Dieta de alto grão 130, 131, 135
Dissecção 100, 101
Doença de Lyme 42, 43, 49, 62, 67
Ducto biliar 80, 84

E

Eficiência produtiva 120, 121, 139
Elisa 8, 41, 42, 50, 51, 56, 58, 59, 60, 61, 64, 67, 124
Endocardite 32, 33, 35, 36, 37, 38, 39

Epífises 100
Epigástrico caudal 69

F

Fármacos 87, 88
Felino 72, 73, 74, 75, 80, 81, 82, 87
Ferida 69, 70, 71
Fonte de volumoso 94, 99, 135, 139

G

Glicuroniltransferase 88

H

Hemoparasitas 7
Hidrocefalia congênita 77
Hubbard 105, 106, 107, 108, 109

I

Icterícia 11, 80, 81, 82, 84
Incidência 24, 26, 29, 30, 33, 107
Infecções concomitantes 7
Ingestão 1, 3, 4, 48

L

Linhagem 105, 106, 107, 108, 109
Liquor cefalorraquidiano 77

M

Maconha 1, 2, 3, 4, 5
Mastite 119, 120, 121, 122, 123, 124
Metabolização 4, 87, 88
Miocardite 32, 35, 37, 38, 39

O

Oncologia 25, 30, 31, 71

P

Palato 72, 73, 75, 76
Parafina 100, 101, 102
Patologias 18, 29, 90, 91, 92, 108
PCR 8, 41, 42, 48, 49, 51, 54, 55, 56, 57, 58, 60, 64, 67, 124
Piometra 32, 34, 37
Plantas nativas 94, 95, 98, 99

Produção 48, 91, 94, 98, 100, 105, 106, 108, 109, 112, 113, 115, 116, 117, 120, 121, 124, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140

Propriedades psicoativas 1, 2

R

Radiografia 34, 77, 79

Reprodução 25, 124, 139, 141

Retalho de padrão axial 69, 70, 71

S

Sanidade 90, 91, 105, 120

Sanidade animal 90, 120

Saúde pública 14, 15, 16, 22, 90

Semiárido 94, 95, 99

Sepse 32, 37, 38

Sutura 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75

V

Variância residual 111, 114, 117

Vetores 6, 7, 8, 16, 18, 41, 43, 45, 47, 48, 49, 67

Z

Zoonoses 14, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 22, 23, 50, 61, 66

