

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste documento será disponibilizado somente a partir de 27/11/2026.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DA OCORRÊNCIA DE
AGENTES DO GÊNERO *ANAPLASMA* E *EHRLICHIA* EM
TAMANDUÁ-BANDEIRA E TAMANDUÁ-MIRIM, NA
REGIÃO DE BOTUCATU, SÃO PAULO**

JOÃO OTÁVIO MOCHIUTI

Botucatu – SP

Novembro/2025

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“Júlio de Mesquita Filho”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**INVESTIGAÇÃO MOLECULAR DA OCORRÊNCIA DE
AGENTES DO GÊNERO *ANAPLASMA* E *EHRLICHIA* EM
TAMANDUÁ-BANDEIRA E TAMANDUÁ-MIRIM, NA
REGIÃO DE BOTUCATU, SÃO PAULO**

JOÃO OTÁVIO MOCHIUTI

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em Animais
Selvagens para a obtenção do título de
Mestre.

Orientadora: Prof^a. Assoc. Lígia Souza Lima
Silveira da Mota

Botucatu – SP

Novembro/2025

M688i Mochiuti, João Otávio

Investigação molecular da ocorrência de agentes do gênero Anaplasma e Ehrlichia em Tamanduá-bandeira e Tamanduá-mirim, na região de Botucatu, São Paulo / João Otávio Mochiuti. -- Botucatu, 2026

69 p. : il., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu

Orientadora: Lígia Souza Lima Silveira da Mota

1. Genética animal. 2. Anaplasmosse. 3. Erliquiose. 4. Myrmecophaga. I. Título.

MINIBIOGRAFIA

João Otávio Mochiuti, graduado em Zootecnia pela Universidade Estadual Paulista (Unesp), área na qual adquiriu formação sólida em genética, produção e saúde animal, onde pode desenvolver pesquisas voltada ao estudo e o uso de técnicas de biologia molecular. Paralelamente, investiu tempo em aprimoramento na área de Ciência de Dados, buscando integrar abordagens quantitativas, estatísticas e computacionais à pesquisa biológica. Essa formação complementar ampliou a capacidade de análise e interpretação de dados complexos, fortalecendo a interface entre biotecnologia, genética e ciência de dados. A trajetória acadêmica reflete o interesse em pesquisa interdisciplinar, voltada à compreensão da relação entre patógenos, hospedeiros e ambiente, e na aplicação de ferramentas de inovação tecnológica para responder a questões relevantes em saúde e conservação da fauna silvestre.

Nome do autor: **João Otávio Mochiuti**

TÍTULO: Investigação molecular da ocorrência de agentes do gênero *Anaplasma* e *Ehrlichia* em Tamanduá-bandeira e Tamanduá-mirim, na região de Botucatu, São Paulo

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Assoc^a. Lígia Souza Lima Silveira da Mota

Presidente e Orientadora

Departamento Genética, Microbiologia e Imunologia

IBB, Unesp – Botucatu, SP

Prof. Dr. Paulo Fernandes Marcusso

Departamento de Clínica Veterinária

FMVZ, Unesp – Botucatu, SP

Dr. Vinicius Peron de Oliveira Gasparotto

Departamento de Medicina da Conservação

Instituto Tamanduá, Piauí - Brasil

Prof^a. Assoc^a. Adriane Pinto Wasko

Departamento Genética, Microbiologia e Imunologia

IBB, Unesp – Botucatu, SP

Prof. Dr. Luiz Daniel de Barros

Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal de Lavras, UFLA – Lavras, MG

Data da defesa: 27/11/2025

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	7
LISTA DE FIGURAS.....	8
ABREVIATURAS.....	9
RESUMO	10
ABSTRACT	11
CAPITULO I.....	13
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVO	14
2.1 Objetivo Geral	14
2.2 Objetivos específicos	14
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.2 Ordem Rickettsiales	14
3.3 Família Anaplasmataceae	15
3.3.1 Gêneros <i>Anaplasma</i> e <i>Ehrlichia</i>	16
3.4 Família Myrmecophagidae	18
3.4.1 <i>Myrmecophaga tridactyla</i>	19
3.4.2 <i>Tamandua tetradactyla</i>	24
3.5 Genes de referências e alvos diagnósticos em PCR.....	26
3.5.1 GAPDH	26
3.5.2. Gene rRNA 23S	27
3.5.2. Gene <i>dsb</i>	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Local de estudo.....	29
4.2 Coleta de Material Biológico.....	29
4.3 Análises Moleculares	30
4.3.1. Extração de DNA, quantificação e visualização dos produtos amplificados na PCR	30
4.3.2. Detecção de <i>Anaplasma</i> spp.....	30
4.3.3. Detecção de <i>Ehrlichia</i> spp.....	31
4.3.4. Sequenciamento	32
4.3.5 Construção de árvores filogenéticas	33
5. RESULTADOS.....	33
5.1 Análise do sequenciamento em banco de dados	36

5.2 Análise filogenética.....	37
6. DISCUSSÃO.....	40
7. CONCLUSÕES.....	43
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
CAPITULO II: TRABALHO CIENTIFICO.....	54
ANEXO I	68
ANEXO II – COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO	69

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Conjuntos de <i>primers</i> utilizados neste trabalho	32
TABELA 2 - Informações das amostras de tamanduás recolhidas do CEMPAS	34
TABELA 3 - Espectrofotometria das amostras cedidas para o estudo	34

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - O diagrama do ciclo de vida da família Anaplasmataceae	18
FIGURA 2 - <i>Myrmecophaga tridactyla</i>	21
FIGURA 3 - Distribuição geográfica do tamanduá-bandeira (<i>Myrmecophaga tridactyla</i>) em nove biomas sul-americanos, conforme registros históricos e atuais ...	22
FIGURA 4 - <i>Tamandua tetradactyla</i>	24
FIGURA 5 - Distribuição geográfica do tamandua-mirim.....	25
FIGURA 6 - Gel de agarose da PCR para <i>Ehrlichia</i> spp e <i>Anaplasma</i> spp.	35
FIGURA 7 - Resultado da comparação com sequências previamente depositadas no banco de dados.....	36
FIGURA 8 - Resultado da comparação com sequências previamente depositadas no banco de dados GenBank para amostra	36
FIGURA 9- Resultado da comparação com sequências previamente depositadas no banco de dados GenBank para amostra amplificada de <i>Anaplasma</i> sp	37
FIGURA 10 - Árvore filogenética inferida pelo método de Máxima Verossimilhança (ML) com base no alinhamento de sequências do gene dsb. O modelo de substituição Tamura-Nei foi utilizado, e a confiabilidade dos agrupamentos foi avaliada por 1000 repetições de <i>bootstrap</i> . Os valores de bootstrap são indicados nos nós dos ramos. As amostras 8 e 14 estão destacadas. NZ_LANS01000001.1 (<i>Anaplasma phagocytophilum</i>) foi utilizada como grupo externo.	38
FIGURA 11 - Árvore filogenética inferida pelo método de Máxima-Verossimilhança (ML) com base no alinhamento de sequências do gene 23S rRNA. O modelo de substituição Tamura-Nei foi utilizado, e a confiabilidade dos agrupamentos foi avaliada por 1000 repetições de <i>bootstrap</i> . A amostra 13 está destacada. NC_005295.2 (<i>Ehrlichia ruminantium</i>) foi utilizada como grupo externo.....	40

ABREVIATURAS

BLASTn: Basic Local Alignment Search Tool nucleotide (Ferramenta de Busca de Alinhamento Local Básico para nucleotídeos)

CEMPAS: Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Silvestres

CEUA: Comitê de Ética no Uso de Animais

CITES: Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens Ameaçadas de Extinção)

DNA: Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)

dsb: Disulfide bond formation protein (Proteína de formação de ligação dissulfeto)

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid (Ácido Etilenodiaminotetracético)

FMVZ: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

GAPDH: Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase

ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

IUCN: International Union for Conservation of Nature (União Internacional para a Conservação da Natureza)

ML: Máximo-Verossimilhança

MMA: Ministério do Meio Ambiente

NCBI: National Center for Biotechnology Information (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia)

nPCR: Nested Polymerase Chain Reaction (PCR Aninhada)

PCR: Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)

rRNA: Ribosomal Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico Ribossômico)

SISBIO: Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade

spp.: Species pluralis (plural de espécie, indicando mais de uma espécie dentro de um gênero)

TAE: Tris-Acetato-EDTA

MOCHIUTI, J.O.. Investigação molecular da ocorrência de agentes do gênero *Anaplasma* e *Ehrlichia* em Tamanduá-bandeira e Tamanduá-mirim, na região de Botucatu, São Paulo. Botucatu, 2025. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens – Genética Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

A emergência da preservação ambiental está intrinsecamente ligada à interferência humana no ambiente, como a caça, o comércio de animais silvestres e a fragmentação de habitats. A redução da biodiversidade facilita a disseminação de patógenos de importância médica e veterinária, como as bactérias da família Anaplasmataceae. Este estudo investigou a ocorrência de *Anaplasma* spp. e *Ehrlichia* spp. em tamanduás-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*) e mirins (*Tamandua tetradactyla*) por meio de técnicas moleculares. Foram analisadas 26 amostras de sangue. O DNA genômico foi extraído e submetido à PCR com *primers* específicos, seguida de eletroforese e sequenciamento. Os resultados revelaram DNA de *Ehrlichia* spp. em dois tamanduás-bandeira (7,69%) e de *Anaplasma* spp. em um tamanduá-mirim (3,85%). A análise filogenética das sequências de *Ehrlichia* spp. mostrou alta identidade com *E. chaffeensis*. A sequência de *Anaplasma* spp. agrupou-se com *A. centrale* e *A. marginale*, sugerindo uma possível variante regional ainda não descrita. Os resultados estabelecem o papel dos tamanduás no ciclo das Anaplasmataceae e destacam a necessidade do monitoramento molecular contínuo para avaliar o impacto desses agentes na saúde das populações silvestres, aspecto crucial para o sucesso de programas de manejo e conservação de fauna.

Palavras-chaves: Anaplasmataceae, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., CEMPAS, tamanduá, saúde única

MOCHIUTI, J.O.. Molecular Investigation of Anaplasma spp. and Ehrlichia spp. in Giant Anteaters and Southern Tamanduas from Botucatu, São Paulo, Brazil. Botucatu, 2025. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens – Genética Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The urgency of environmental preservation is intrinsically linked to human interference in the environment, such as hunting, the wildlife trade, and habitat fragmentation. Biodiversity loss facilitates the emergence and spread of pathogens with the potential to affect both animal and human health. This study investigated the occurrence of *Anaplasma* spp. and *Ehrlichia* spp. in giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) and collared anteaters (*Tamandua tetradactyla*) using molecular techniques. Blood samples were collected from 26 animals. Genomic DNA was extracted and subjected to PCR with specific primers, followed by electrophoresis and sequencing. Results revealed *Ehrlichia* spp. DNA in two giant anteaters (7.69%) and *Anaplasma* spp. DNA in one collared anteater (3.85%). Phylogenetic analysis of the *Ehrlichia* spp. sequences showed high identity with *E. chaffeensis*. The *Anaplasma* spp. sequence clustered with *A. centrale* and *A. marginale*, suggesting a potential novel regional variant. These findings delineate the role of anteaters within the transmission cycles of Anaplasmataceae and underscore the importance of ongoing molecular surveillance to evaluate the impact of such pathogens on wildlife health, an essential factor for the success of fauna management and conservation initiatives.

Keywords: Anaplasmataceae, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia* spp., CEMPAS, anteaters, One Health.

CAPITULO I'

1. INTRODUÇÃO

A abordagem de Saúde Única (*One Health*) é uma perspectiva interdisciplinar que busca analisar e explorar as conexões essenciais entre a saúde do meio ambiente, dos animais e dos seres humanos (Ellwanger; Chies, 2022). Essa abordagem é amplamente adotada no combate às zoonoses, que são doenças ou infecções transmitidas entre animais vertebrados e humanos, envolvendo uma ampla variedade de hospedeiros e agentes patogênicos de diferentes origens. Devido a essa complexidade, muitas das doenças que surgiram ou ressurgiram ao longo do último século são zoonoses, constituindo relevantes problemas de saúde pública no Brasil. (Asokan, 2015; Zanella, 2016; Priyadarsini, 2020). Essa complexidade é acentuada pelo surgimento e ressurgimento de zoonoses, impulsionados por ações antrópicas que perturbam as interações entre seres humanos e o meio ambiente.

O surgimento das zoonoses, impulsionado por ações antrópicas está intimamente relacionado às perturbações nas interações entre seres humanos e o meio ambiente. Entre essas ações, destacam-se a (1) caça e o comércio de animais silvestres; (2) redução da biodiversidade resultante da perda e fragmentação de habitats; e (3) o avanço das atividades agropecuárias sobre paisagens naturais. Esses fatores que intensificam a transmissão de patógenos entre humanos, animais domésticos e animais silvestres (Damasceno, 2021; Ellwanger; Chies, 2021).

Diante desse cenário, o presente estudo teve como objetivo investigar a ocorrência de *Anaplasma* spp. e *Ehrlichia* spp. em amostras de sangue de tamanduás-bandeira e tamanduás-mirins. As análises foram realizadas por meio de técnicas de biologia molecular, utilizando amostras provenientes do Centro de Medicina e Pesquisa em Animais Selvagens (CEMPAS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu, São Paulo. A detecção desses patógenos em tamanduás contribuirá significativamente para o conhecimento desses agentes no estado de São Paulo, ressaltando a importância da vigilância epidemiológica em espécies ameaçadas e fornecendo subsídios para o desenvolvimento de estratégias de conservação e para a avaliação de possíveis riscos zoonóticos associados à interação entre a fauna silvestre e os ambientes humanos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, E. F. *et al.* **Lista de mamíferos do Brasil**. Piracicaba: Comitê de Taxonomia da Sociedade Brasileira de Mastozoologia, 2022.

AGUIAR, D. M. *et al.* A novel Ehrlichia genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 5, p. 537-544, 2014.

ALABÍ CÓRDOVA, A. S. *et al.* Novel tick-borne Anaplasmatidae genotypes in tropical birds from the Brazilian Pantanal Wetland. **Microorganisms**, Basel, v. 12, n. 5, p. 962, 2024.

ALLSOPP, B. A. Natural history of Ehrlichia ruminantium. **Veterinary parasitology**, Amsterdam, v. 167, n. 2-4, p. 123-135, 2010.

ALMEIDA, A. P. *et al.* Novel Ehrlichia and Hepatozoon agents infecting the crab-eating fox (Cerdonyx thous) in southeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Oxford, v. 50, n. 3, p. 640-646, 2013.

ANDRÉ, M. R. *et al.* Molecular and Serologic Detection of Ehrlichia spp. in Endangered Brazilian Wild Captive Felids. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 46, n. 3, p. 1017-1023, 2010.

ANDRÉ, M. R. *et al.* Molecular detection of tick-borne bacterial agents in Brazilian and exotic captive carnivores. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 247-253, 2012.

DE ARAUJO, V. A. L. *et al.* Mixed infection in the anteater Tamandua tetradactyla (Mammalia: Pilosa) from Pará State, Brazil: Trypanosoma cruzi, T. rangeli and Leishmania infantum. **Parasitology**, London, v. 140, n. 4, p. 455-460, 2013.

ASCENSÃO, F. *et al.* Spatial patterns of road mortality of medium-large mammals in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Wildlife Research**, East Melbourne, v. 44, n. 2, p. 135-146, 2017.

ASOKAN, G. V. One Health and zoonoses: the evolution of One Health and incorporation of zoonoses. **Central Asian Journal of Global Health**, Pittsburgh, v. 4,

n. 1, p. 139, 2015.

BATTILANI, M. *et al.* Genetic diversity and molecular epidemiology of Anaplasma. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 49, p. 195-211, 2017.

BENEVENUTE, J. L. *et al.* Assessment of a quantitative 5' nuclease real-time polymerase chain reaction using groEL gene for Ehrlichia and Anaplasma species in

rodents in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 8, n. 4, p. 646-656, 2017.

BENIRSCHKE, K. Reproductive parameters and placentation in anteaters and sloths. In: VIZCAÍNO, S. F.; LOUGHRY, W. J. (ed.). **The biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida, 2008. p. 160-171.

BERESCA, A. M.; CASSARO, K. Biology and captive management of armadillos and anteaters. In: FOWLER, M.; CUBAS, Z. S. (ed.). **Biology, Medicine, and Surgery of South American Wild Animals**. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2001. p. 238-244.

BERTÃO-SANTOS, A. *et al.* Molecular diagnostic for a screening investigation method of tick-borne pathogens in *Didelphis albiventris* road-killed in north of Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 44, n. 1, p. 451-460, 2023.

BERTASSONI, A.; DE OLIVEIRA NOVAES, M.; RODRIGUES, F. H. G. Tamanduás (Vermilingua, Pilosa) da Bacia do Alto Paraguai: uma revisão do conhecimento do planalto à planície pantaneira. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi-Ciências Naturais**, Belém, v. 17, n. 1, p. 71-93, 2022.

BIRKENHEUER, A. J.; LEVY, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B. Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian genotype) and *B. canis* DNA in canine blood samples. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 41, n. 9, p. 4172-4177, 2003.

BRAGA, M. S. C. O. *et al.* Molecular detection of Anaplasmataceae agents in *Dasyprocta azarae* in northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 98-104, 2018.

BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. **Convenção sobre Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (CITES)**. Brasília, DF: Ibama, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/biodiversidade/cites-e-comercio-exterior/convencao-sobre-comercio-internacional-das-especies-da-flora-e-fauna-selvagens-em-perigo-de-extincao-cites>. Acesso em: 7 jul. 2025.

BRESSAN, P. M.; KIERULFF, M. C. M.; SUGIEDA, A. M. **Fauna ameaçada de extinção no estado de São Paulo vertebrados**. São Paulo: Fundação Parque Zoológico de São Paulo, 2009.

BUYSSE, M. *et al.* Detection of *Anaplasma* and *Ehrlichia* bacteria in humans, wildlife, and ticks in the Amazon rainforest. **Nature Communications**, London, v. 15, n. 1, p. 3988, 2024.

CABEZAS-CRUZ, A. *et al.* *Ehrlichia minasensis* sp. nov., isolated from the tick *Rhipicephalus microplus*. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 66, n. 3, p. 1426-1430, 2016.

CALCHI, A. C. *et al.* *Ehrlichia* spp. and *Anaplasma* spp. in *Xenarthra* mammals from Brazil, with evidence of novel 'Candidatus *Anaplasma* spp.'. **Scientific Reports**, London, v. 10, n. 1, p. 12615, 2020.

CALDART, E. T. *et al.* Avaliação de metodologia de vigilância ativa e precoce da leishmaniose visceral por detecção molecular em fauna silvestre atropelada. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 30, n. 2, p. e027920, 2021.

DAHMANI, M. *et al.* Development of a new PCR-based assay to detect Anaplasmataceae and the first report of *Anaplasma phagocytophilum* and *Anaplasma platys* in cattle from Algeria. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Exeter, v. 39, p. 39-45, 2015.

DAMASCENO, S. J. **Como as ações antrópicas estão favorecendo o surgimento de doenças zoonóticas no Brasil?** 2021. 77 f. Monografia (Bacharel em Medicina Veterinária) - Centro Universitário AGES, Paripiranga, 2021.

DEEM, S.; FIORELLO, C. Capture and immobilization of free-ranging edentates. *In*: HEARD, D. (ed.). **Zoological restraint and anesthesia**. Ithaca: IVIS, 2002.

DE LA FUENTE, J. *et al.* Sequence analysis of the msp4 gene of *Anaplasma phagocytophilum* strains. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 43, n. 3, p. 1309-1317, 2005.

DENONCIN, K.; COLLET, J-F. Disulfide bond formation in the bacterial periplasm: major achievements and challenges ahead. **Antioxidants & Redox Signaling**, Larchmont, v. 19, n. 1, p. 63-71, 2013.

DOUDIER, B. *et al.* Factors contributing to emergence of Ehrlichia and Anaplasma spp. as human pathogens. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 167, n. 2-4, p. 149-154, 2010.

DOYLE, C. K. *et al.* Detection of medically important Ehrlichia by quantitative multicolor TaqMan real-time polymerase chain reaction of the dsb gene. **The Journal of Molecular Diagnostics**, New York, v. 7, n. 4, p. 504-510, 2005.

DRUMOND, M. A.; RYLANDS, A. B. Giant anteaters, *Myrmecophaga tridactyla*: feeding behavior and fires. **Edentata**, Arlington, v. 1, p. 15-16, 1994.

DUMLER, J. S. *et al.* Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and 'HGE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.

EHOUNOUD, C. B. *et al.* Multiple pathogens including potential new species in tick vectors in Côte d'Ivoire. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 10, n. 1, p. e0004367, 2016.

ELLWANGER, J. H.; CHIES, J. A. B. Saúde Única (One Health): uma abordagem para entender, prevenir e controlar as doenças infecciosas e parasitárias. **Bio Diverso**, Porto Alegre, v. 2, n. 1, p. 42-65, 2022.

ELLWANGER, J. H.; CHIES, J. A. B. Zoonotic spillover: understanding basic aspects for better prevention. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 44, n. 1, p. e20200355, 2021.

FREITAS, C. H.; JUSTINO, C. S.; SETZ, E. Z. F. Road-kills of the giant anteater in south-eastern Brazil: 10 years monitoring spatial and temporal determinants. **Wildlife Research**, East Melbourne, v. 41, n. 8, p. 673-680, 2015.

FROMME, L. *et al.* Morphology of the genital organs of male and female giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **PeerJ**, Corte Madera, v. 9, p. e11945, 2021.

GARDNER, A. L. (ed.). **Mammals of South America**: marsupials, xenarthrans, shrews, and bats. Chicago: University of Chicago Press, 2019.

GAUDIN, T. J.; HICKS, P.; DI BLANCO, Y. *Myrmecophaga tridactyla* (pilosa: myrmecophagidae). **Mammalian Species**, Stillwater, v. 50, n. 956, p. 1-13, 2018.

GRZIMEK, B.. **Grzimek's Animal Life Encyclopedia**. 2. ed. Detroit: Gale, 2004. v. 12: Mammals I.

GUIMARÃES, A. **Métodos de diagnóstico molecular e metagenômico de agentes anaplasmataceae em felinos domésticos (domiciliados e errantes) e gambás da Região Metropolitana do Rio de Janeiro**. 2017. 79 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2017.

HATAHET, F.; BOYD, D.; BECKWITH, J. Disulfide bond formation in prokaryotes: history, diversity and design. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1844, n. 8, p. 1402-1414, 2014.

HAYSEN, V. *Tamandua tetradactyla* (Pilosa: Myrmecophagidae). **Mammalian Species**, Stillwater, v. 43, n. 875, p. 64-74, 2011.

HONG, B. X. *et al.* Sequence analysis of 23S rRNA gene and its amplification in bacteria discriminative identification. **Chinese Journal of Microbiology and Immunology**, Taipei, v. 24, n. 3, p. 241-244, 2004.

HOTOPP, J. C. D. *et al.* Comparative genomics of emerging human ehrlichiosis agents. **PLoS Genetics**, San Francisco, v. 2, n. 2, p. e21, 2006.

INOKUMA, H. *et al.* Citrate synthase gene sequence: a new tool for phylogenetic analysis and identification of Ehrlichia. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 39, n. 9, p. 3031-3039, 2001.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **Fauna brasileira**: publicações. Brasília, DF: ICMBio, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/fauna-brasileira/publicacoes/publicacoes>. Acesso em: 11 jul. 2025.

ISMAIL, N.; BLOCH, K. C.; MCBRIDE, J. W. Human ehrlichiosis and anaplasmosis. **Clinics in Laboratory Medicine**, Philadelphia, v. 30, n. 1, p. 261-292, 2010.

ITO, K.; INABA, K. The disulfide bond formation (Dsb) system. **Current Opinion in Structural Biology**, London, v. 18, n. 4, p. 450-458, 2008.

KOLO, A. Anaplasma species in Africa-a century of discovery: a review on molecular epidemiology, genetic diversity, and control. **Pathogens**, Basel, v. 12, n. 5, p. 702, 2023.

LASTA, C. S. Detecção molecular de Ehrlichia canis e Anaplasma Platys em cães do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 360-366, 2013.

- LI, Y. *et al.* Anaplasma infection of Bactrian camels (*Camelus bactrianus*) and ticks in Xinjiang, China. **Parasites & Vectors**, London, v. 8, p. 1-6, 2015.
- LONDOÑO, A. F.; SCORPIO, D. G.; DUMLER, J. S. Innate immunity in rickettsial infections. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 13, p. 1187267, 2023.
- LUBIN, Y. D.; MONTGOMERY, G. G.; YOUNG, O. P. Food resources of anteaters (Edentata: Myrmecophagidae) I. A year's census of arboreal nests of ants and termites on Barro Colorado Island, Panama Canal Zone. **Biotropica**, Washington, DC, v. 9, n. 1, p. 26-34, 1977.
- LUDWIG, W. *et al.* Comparative sequence analysis of 23S rRNA from Proteobacteria. **Systematic and Applied Microbiology**, Munich, v. 18, n. 2, p. 164-188, 1995.
- MACHADO, R. Z. *et al.* Detection of Ehrlichia chaffeensis in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 139, n. 1-3, p. 262-266, 2006.
- MARGARIDO, T. C. C.; BRAGA, F. G. Mamíferos. *In*: MIKICH, S. B.; BÉRNILS, R. S. (ed.). **Livro vermelho da fauna ameaçada no estado do Paraná**. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2004. p. 27-142.
- MARQUES, A. A. B. *et al.* **Lista das espécies da fauna ameaçadas de extinção no Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: FZB, 2002.
- MARTIJN, J. *et al.* Confident phylogenetic identification of uncultured prokaryotes through long read amplicon sequencing of the 16S-ITS-23S rRNA operon. **Environmental Microbiology**, Oxford, v. 21, n. 7, p. 2485-2498, 2019.
- MASSUNG, R. F. *et al.* Characterization of the rRNA genes of Ehrlichia chaffeensis and Anaplasma phagocytophila. **DNA and Cell Biology**, Larchmont, v. 21, n. 8, p. 587-596, 2002.
- MCBRIDE, J. W. *et al.* Identification and functional analysis of an immunoreactive DsbA-like thio-disulfide oxidoreductase of Ehrlichia spp. **Infection and Immunity**, Washington, DC, v. 70, n. 5, p. 2700-2703, 2002.
- MCNAB, B. K. Food habits, energetics, and the population biology of mammals. **The American Naturalist**, Chicago, v. 116, n. 1, p. 106-124, 1980.
- MCNAB, B. K. Physiological convergence amongst ant-eating and termite-eating mammals. **Journal of Zoology**, London, v. 203, n. 4, p. 485-510, 1984.
- MERHEJ, V.; RAOULT, D. Rickettsial evolution in the light of comparative genomics. **Biological Reviews**, London, v. 86, n. 2, p. 379-405, 2011.
- MIRANDA, F. R. *et al.* Avaliação do risco de extinção de Myrmecophaga tridactyla Linnaeus 1758 no Brasil. *In*: INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. **Avaliação do risco de extinção de Xenartros Brasileiros**. Brasília, DF: ICMBio, 2015. p. 89-105.

MIRANDA, F. R. *et al.* Nine biomes and nine challenges for the conservation genetics of Neotropical species, the case of the vulnerable giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Biodiversity and Conservation**, v. 31, n. 11, p. 2515-2541, 2022.

MIRANDA, F. *et al.* **Myrmecophaga tridactyla**: the IUCN Red List of Threatened Species. Gland: IUCN, 2025. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2025-1.RLTS.T14224A210444314.en>. Acesso em: 11 jul. 2025.

MOLINA, K. *et al.* **Tamandua tetradactyla**: the IUCN Red List of Threatened Species. Gland: IUCN, 2025. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2025-1.RLTS.T21350A210445394.en>. Acesso em: 17 jul. 2025.

MÖCKLINGHOFF, L.; SCHUCHMANN, K-L.; MARQUES, M. I. New non-invasive photo-identification technique for free-ranging giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) facilitates urgently needed field studies. **Journal of Natural History**, London, v. 52, n. 37-38, p. 2397-2411, 2018.

MONGRUEL, A. C. B. *et al.* Molecular characterization of *Anaplasma* sp. in free-living gray brockets (*Mazama gouazoubira*). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 17, n. 3, p. 165-171, 2017.

MORAES-FILHO, J. *et al.* Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. **Acta tropica**, Amsterdam, v. 117, n. 1, p. 51-55, 2011.

NGUYEN, A. H. L.; TIAWSIRISUP, S.; KAEWTHAMASORN, M. Molecular detection and genetic characterization of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma platys*-like (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in water buffalo from eight provinces of Thailand. **BMC Veterinary Research**, London, v. 16, n. 1, p. 380, 2020.

NOGUEIRA, L. L. C. *et al.* Occurrence of pathogens transmitted by *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* ticks in dogs in the semiarid region of Rio Grande do Norte state, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 44, p. e07366, 2024.

OGATA, H. *et al.* The genome sequence of *Rickettsia felis* identifies the first putative conjugative plasmid in an obligate intracellular parasite. **PLoS Biology**, San Francisco, v. 3, n. 8, p. e248, 2005.

OLIVEIRA, G. M. B. *et al.* Ocorrência de carrapatos em *Tamandua tetradactyla* (Linnaeus, 1758) na Caatinga, Nordeste do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 69, n. 4, p. 865-869, 2017.

OLSON, D. M. *et al.* Terrestrial ecoregions of the world: a new map of life on earth - a new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. **BioScience**, Oxford, v. 51, n. 11, p. 933-938, 2001.

PADDOCK, C. D.; CHILDS, J. E. *Ehrlichia chaffeensis*: a prototypical emerging pathogen. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 16, n. 1, p. 37-64, 2003.

PAIZ, L. M. **Infecção por agentes das leishmanioses, doença de Chagas e febre maculosa brasileira em mamíferos silvestres de vida livre em área de proteção ambiental do município de Campinas, São Paulo**. 2018. 159 f. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.

PASSAMANI, M.; MENDES, S. L. **Livro vermelho das espécies da fauna ameaçada de extinção no estado do Espírito Santo**. Vitória: Ipema, 2007.

PEI, A. *et al.* Diversity of 23S rRNA genes within individual prokaryotic genomes. **PloS One**, San Francisco, v. 4, n. 5, p. e5437, 2009.

PERLES, L. *et al.* Multi-locus sequencing reveals putative novel Anaplasmataceae agents, 'Candidatus Ehrlichia dumleri' and Anaplasma sp., in ring-tailed coatis (Carnivora: Nasua nasua) from urban forested fragments at Midwestern Brazil. **Microorganisms**, Basel, v. 10, n. 12, p. 2379, 2022.

PERLES, L. **Diversidade genética de agentes transmitidos por vetores em quatis (Nasua nasua) em área periurbana no centro-oeste brasileiro**. 2023. 242 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2023.

PICOLOTO, G. *et al.* Real time polymerase chain reaction to diagnose Anaplasma marginale in cattle and deer (Ozotoceros bezoarticus leucogaster) of the Brazilian Pantanal. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, p. 186-188, 2010.

POCOCK, R. I. The external characters of the South American edentates. In: ZOOLOGICAL SOCIETY OF LONDON, 1924, Oxford. **Proceedings** [...]. Oxford: Blackwell Publishing, 1924. p. 983-1031.

POPOV, V. L. *et al.* Ultrastructural differentiation of the genogroups in the genus Ehrlichia. **Journal of Medical Microbiology**, London, v. 47, n. 3, p. 235-251, 1998.

PRIYADARSINI, S. L.; SURESH, M.; HUISINGH, D. What can we learn from previous pandemics to reduce the frequency of emerging infectious diseases like COVID-19? **Global Transitions**, Beijing v. 2, p. 202-220, 2020.

PUGLIA, K. R. P. R. **Educação ambiental transformadora para a conservação da avifauna recebida pelo Centro de Pesquisa e Medicina Veterinária em Animais Selvagens (CEMPAS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP**. 2022. 182 f. Tese (Doutorado em Animais Selvagens) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2022.

RAR, V.; TKACHEV, S.; TIKUNOVA, N. Genetic diversity of Anaplasma bacteria: twenty years later. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 91, p. 104833, 2021.

REDFORD, K. H. Dietary specialization and variation in two mammalian myrmecophages (variation in mammalian myrmecophagy). **Revista Chilena de Historia Natural**, Gainesville, v. 59, n. 1, p. 201-208, 1986.

REDFORD, K. H. The edentates of the Cerrado. **Edentata**, Arlington, v. 1, n. 1, p. 4-10, 1994.

RIBEIRO, S. R. **Investigação de Babesia, Hepatozoon e Ehrlichia em gambás (Didelphis sp.) de vida livre do Estado de São Paulo, Brasil**. 2024. 101 f. Dissertação (Mestrado em Animais Selvagens) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2022.

RIKIHISA, Y. The tribe Ehrlichieae and ehrlichial diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 4, n. 3, p. 286-308, 1991.

RODRIGUES, F. H. G. *et al.* Anteater behavior and ecology. *In*: VIZCAÍNO, S. F.; LOUGHRY, W. J. **The biology of the Xenarthra**. Gainesville: University Press of Florida, 2008. p. 257-268.

ROSSONI, R. B.; MACHADO, C. R. S.; MACHADO, A. B. M. Autonomic innervation of salivary glands in the armadillo, anteater, and sloth (Edentata). **Journal of Morphology**, Hoboken, v. 168, n. 2, p. 151-157, 1981.

RURANGIRWA, F. R. *et al.* Conservation of the unique rickettsial rRNA gene arrangement in Anaplasma. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, London, v. 52, n. 4, p. 1405-1409, 2002.

SACCHI, A. B. V. *et al.* Prevalence and molecular characterization of Anaplasmataceae agents in free-ranging Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Exeter, v. 35, n. 4, p. 325-334, 2012.

SAITO, E. N. *et al.* **Estradas mais seguras para todos: no caminho para reduzir as colisões com fauna**. Campo Grande: Instituto de Conservação de Animais Silvestres, 2022.

SANTOS, P. M. *et al.* NEOTROPICAL XENARTHANS: a data set of occurrence of xenarthran species in the Neotropics. **Ecology**, Washington, DC, v. 100, n. 7, p. e02663, 2019.

SEIDLER, N. W. Basic biology of GAPDH. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 985, p. 1-36, 2012.

SHAW, J. H.; CARTER, T. S. Giant Anteaters: getting too close to this toothless creature could result in a fatal embrace. **Natural History**, New York, v. 89, n. 10. p. 62-67, 1980.

SILVA, G. C. F. **Ocorrência de Ehrlichia canis e Anaplasma platys em cães domiciliados da cidade de Jataizinho, Paraná**. Londrina: UEL, 2011.

SILVA, I. P. M. Ehrlichiosis canine: literature review. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, Garça, v. 13, n. 24, p. 1-15, 2015.

SILVA, J. M. M. *et al.* Criação, reabilitação e soltura monitorada de tamanduás-bandeira (*myrmecophaga tridactyla*) do projeto tamanduasas. *In*: CONGRESSO DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE VETERINÁRIOS DE ANIMAIS SELVAGENS, 2021, São Paulo. **Anais [...]**. São Paulo: Associação Brasileira de Veterinários de Animais Selvagens, 2021. Disponível em: [https://www.even3.com.br/anais/congressoabravas/388852-CRIACAO-REABILITACAO-E-SOLTURA-MONITORADA-DE-TAMANDUAS-BANDEIRA-\(MYRMECOPHAGA-TRIDACTYLA\)-DO-PROJETO-TAMANDUASAS](https://www.even3.com.br/anais/congressoabravas/388852-CRIACAO-REABILITACAO-E-SOLTURA-MONITORADA-DE-TAMANDUAS-BANDEIRA-(MYRMECOPHAGA-TRIDACTYLA)-DO-PROJETO-TAMANDUASAS). Acesso em: 7 jul. 2025.

SILVEIRA, J. A. G. *et al.* Post-mortem hemoparasite detection in free-living Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer 1814). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 23, p. 206-215, 2014.

SILVEIRA, J. A. G. *et al.* Molecular detection and identification of hemoparasites in pampas deer (*Ozotoceros bezoarticus* Linnaeus, 1758) from the Pantanal Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 4, n. 4, p. 341-345, 2013.

SILVEIRA, J. A. G.; RABELO, E. M. L.; RIBEIRO, M. F. B. Molecular detection of tick-borne pathogens of the family Anaplasmataceae in Brazilian brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*, Fischer, 1814) and marsh deer (*Blastocerus dichotomus*, Illiger, 1815). **Transboundary and Emerging Diseases**, Berlin, v. 59, n. 4, p. 353-360, 2012.

SOARES, H. S. *et al.* Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, Dordrecht, v. 65, n. 1, p. 125-140, 2015.

SOUSA, K. C. M. *et al.* Anaplasmataceae agents among wild mammals and ectoparasites in Brazil. **Epidemiology & Infection**, Cambridge, v. 145, n. 16, p. 3424-3437, 2017.

SOUZA, J. L. N. *et al.* Analysis of the stability of the reference genes GAPDH, SDHA and RPL-19 in sheep from a semi-arid region infected by gastrointestinal nematodes. **BMC Veterinary Research**, London, v. 19, n. 1, p. 147, 2023.

STAVRU, F. *et al.* When bacteria meet mitochondria: the strange case of the tick symbiont *Midichloria mitochondrii*. **Cellular Microbiology**, Hoboken, v. 22, n. 4, p. e13189, 2020.

SUMPAVONG, P. *et al.* Systematic evaluation of TaqMan real-time polymerase chain reaction assays targeting the *dsb* and *gltA* loci of *Ehrlichia canis* in recombinant plasmids and naturally infected dogs. **Veterinary World**, Gujarat, v. 15, n. 3, p. 701, 2022.

TAMURA, K.; STECHER, G.; KUMAR, S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. **Molecular Biology and Evolution**, New York, v. 38, n. 7, p. 3022-3027, 2021.

TASEVA, T. *et al.* Gapdh shows altered gene expression in alcohol models. **Acta Medica Bulgarica**, Sofia, v. 49, n. 2, p. 16-21, 2022.

TATE, C. M. *et al.* *Anaplasma odocoilei* sp. nov. (family Anaplasmataceae) from white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 4, n. 1-2, p. 110-119, 2013.

TAYLOR, B. K. Functional anatomy of the forelimb in vermilinguas (anteaters). In: MONTGOMERY, G. G. **The evolution and ecology of armadillos sloths, and vermilinguas**. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1985. p. 163-171.

WETZEL, R. M. The identification and distribution of recent Xenarthra (=Edentata). In: MONTGOMERY, G. G. **The evolution and ecology of armadillos, sloths and vermilinguas**. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1985. p. 5-21.

WIDMER, C. E. *et al.* Tick-borne bacteria in free-living jaguars (*Panthera onca*) in Pantanal, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, v. 11, n. 8, p. 1001-1005, 2011.

WOLF, R. W. *et al.* Novel Babesia and Hepatozoon agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros*

guaporensis in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, Amsterdam, v. 7, n. 3, p. 449-456, 2016.

XENARTHTRANS. **Southern tamandua (*Tamandua tetradactyla*)**. Gland: IUCN, 2025. Disponível em: <https://xenarthrans.org/species/anteaters/southern-tamandua/>. Acesso em: 17 jul. 2025.

YILMAZ, P, *et al.* Analysis of 23S rRNA genes in metagenomes-a case study from the Global Ocean Sampling Expedition. **Systematic and Applied Microbiology**, Munich, v. 34, n. 6, p. 462-469, 2011.

ZANELLA, J. R. C. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 5, p. 510-519, 2016.