



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AMBIENTE, TECNOLOGIA
E SOCIEDADE

**OCORRÊNCIA E FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS
À INFECÇÃO POR PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR
Rhipicephalus sanguineus EM CÃES NA CIDADE DE
MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

LARISSA LEYKMAN DA COSTA NOGUEIRA

MOSSORÓ/RN

JANEIRO/2022

LARISSA LEYKMAN DA COSTA NOGUEIRA

**OCORRÊNCIA E FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR *Rhipicephalus sanguineus* EM CÃES NA
CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Orientadora: Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amora

Co-orientadora: Profa. Dra. Juliana Fortes Vilarinho Braga

MOSSORÓ/RN

JANEIRO/2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

N778o Nogueira, Larissa Leykman da Costa.
Ocorrência e fatores ambientais associados à
infecção por patógenos transmitidos por
Rhipicephalus sanguineus em cães na cidade de
Mossoro, Rio Grande do Norte / Larissa Leykman da
Costa Nogueira. - 2022.
54 f. : il.

Orientadora: Sthenia dos Santos Albano Amora.
Coorientadora: Juliana Fortes Vilarinho Braga.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ambiente, Tecnologia e Sociedade, 2022.

1. Carrapatos. 2. Manejo ambiental. 3. Doenças
transmitidas por vetores. 4. PCR. I. Amora,
Sthenia dos Santos Albano, orient. II. Braga,
Juliana Fortes Vilarinho, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em
conformidade com AACR2 e os dados fornecidos
pelo autor(a).

Biblioteca Campus Angicos
Bibliotecário: Helder Romero
Maia Duarte CRB: 15/673

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

LARISSA LEYKMAN DA COSTA NOGUEIRA

**OCORRÊNCIA E FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR *Rhipicephalus sanguineus* EM CÃES NA
CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA, Campus de Mossoró, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ambiente, Tecnologia e Sociedade.

Orientadora: Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amora

Coorientadora: Profa. Dra. Juliana Fortes Vilarinho Braga

Aprovada em: 31/01/2022

BANCA EXAMINADORA

STHENIA DOS
SANTOS ALBANO
AMORA:03442574447

2022.02.01

Profa. Dra. Sthenia Santos Albano Amora
UFERSA

Juliana Fortes Vilarinho
Braga

Assinado de forma digital por Juliana Fortes Vilarinho Braga
Dados: 2022.02.02

Profa. Dra. Juliana Fortes Vilarinho Braga
UFERSA

Lucilene dos Santos Silva

Profa. Dra. Lucilene dos Santos Silva
UFPI

Wesley Adson Costa Coelho

Prof. Dr. Wesley Adson Costa Coelho
FACENE

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus.

Agradeço a minha orientadora, a professora Sthenia Santos Albano Amora, por todo o apoio e aprendizado durante todos esses anos trabalhando juntos. Você nunca deixou de ser minha inspiração.

Agradeço a professora Juliana Fortes Vilarinho Braga por toda paciência, apoio e contribuição. Tenho fortes suspeitas que você é um anjo vindo do céu para acalmar nossos corações.

Agradeço os colegas de laboratório Bruno Vinícios, Raylanne Pessoa e Larissa Danielle. Obrigada também a Luiza, que mais do que uma colega de laboratório, abraçou minhas ideias e trabalhos como só uma amiga faz.

Agradeço a minha família por todo suporte durante todos os meus anos de formação. Essa conquista é nossa.

Agradeço meus amigos da Pet Home, vocês nunca me deixaram faltar nada. Sou muito feliz por dividir a maior parte dos meus dias com vocês.

Agradeço meus colegas do mestrado e também os mestres que passaram pelo meu caminho. Vocês foram essenciais e torço por cada um de vocês.

Agradeço minha amiga Suzane. Nós sabemos que todo o perrengue foi dividido.

Agradeço a minha banca pela disponibilidade desde o tempo da qualificação. As contribuições de vocês deixam meu trabalho mais importante.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para que esse trabalho ficasse pronto.

Sou muito grata a todos vocês.

OCORRÊNCIA E FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR PATÓGENOS TRANSMITIDOS POR *Rhipicephalus sanguineus* EM CÃES NA CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE.

RESUMO

Os carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* são responsáveis pela transmissão de inúmeros patógenos aos cães, como *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis*. A infecção por esses parasitos depende não só da associação entre vetor e hospedeiro, como também de condições ambientais favoráveis ao seu ciclo de transmissão. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi avaliar a influência de fatores ambientais para a presença de *R. sanguineus* na infecção de cães por *E. canis*, *A. platys*, *B. vogeli* e *H. canis*. Para tanto, foram incluídos 120 cães atendidos em clínica particular do município de Mossoró/RN, dos quais foram colhidos quatro mililitros de sangue por venopunção jugular para extração de DNA e detecção molecular destes quatro parasitos. Foi realizada anamnese e exame físico de cada paciente, sendo avaliados parâmetros como coloração de mucosas, temperatura corporal, sinais de apatia, perda de peso e presença de ectoparasitas. Após a extração de DNA, as amostras foram quantificadas em espectrômetro e submetidas à PCR para detecção de gene de controle endógeno (β -actina de cão). Para amplificação de DNA de *E. canis* e *A. platys* foi empregada nested-PCR, enquanto a amplificação de *B. vogeli* e *B. canis* foi realizada por PCR convencional. Foram visitados os imóveis de todos os cães participantes do estudo, a fim de identificar características que favorecessem a presença do vetor *R. sanguineus*. Para verificar a associação das diferentes variáveis estudadas e a positividade para as doenças pesquisadas, os dados obtidos foram expressos em valores de frequência simples e porcentagem, e realizados testes de Qui-quadrado e exato de Fisher. O patógeno de maior prevalência no estudo foi *E. canis* (13,3%), seguido por *A. platys* (11,7%), *H. canis* (6%) e *B. vogeli* (6%). A análise de correspondência realizada entre a positividade de *E. canis* e as variáveis estudadas, demonstrou influência de fatores como histórico de carrapatos, não vacinação e não uso de medicações antiparasitárias. As principais características ambientais que correlacionadas com a infecção por *E. canis* foi a presença de árvores e jardins nas residências. O reconhecimento dessas características pode implicar na elaboração de estratégias mais eficazes de prevenção e controle, visto que atividades de manejo ambiental buscam diminuir a interação entre vetor e hospedeiro, e consequentemente, a exposição a doenças por eles transmitidas.

PALAVRAS-CHAVE: carrapatos, manejo ambiental, doenças transmitidas por vetores, PCR.

OCCURRENCE AND ENVIRONMENTAL FACTORS ASSOCIATED WITH
INFECTION BY PATHOGENS TRANSMITTED BY *Rhipicephalus sanguineus* IN
DOGS IN THE CITY OF MOSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE

ABSTRACT

Ticks of the *Rhipicephalus sanguineus* species are responsible for transmitting numerous pathogens to dogs, such as *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis*. Infection by these parasites depends not only on the association between vector and host, but also on favorable environmental conditions for their transmission cycle. Thus, the objective of this work was to evaluate the influence of environmental factors for the presence of *R. sanguineus* in the infection of dogs by *E. canis*, *A. platys*, *B. vogeli* and *H. canis*. Therefore, 120 dogs treated at a private clinic in the city of Mossoró/RN were included, from which four milliliters of blood were collected by jugular venipuncture for DNA extraction and molecular detection of these four parasites. Anamnesis and physical examination of each patient were performed, and parameters such as mucosal color, body temperature, signs of apathy, weight loss and presence of ectoparasites were evaluated. After DNA extraction, the samples were quantified in a spectrometer and submitted to PCR to detect the endogenous control gene (dog β -actin). Nested-PCR was used for DNA amplification of *E. canis* and *A. platys*, while amplification of *B. vogeli* and *B. canis* was performed by conventional PCR. The properties of all dogs participating in the study were visited in order to identify characteristics that favored the presence of the *R. sanguineus* vector. To verify the association of the different variables studied and the positivity for the diseases studied, the data obtained were expressed in simple frequency and percentage values, and Chi-square and Fisher's exact tests were performed. The most prevalent pathogen in the study was *E. canis* (13.3%), followed by *A. platys* (11.7%), *H. canis* (6%) and *B. vogeli* (6%). Correspondence analysis performed between *E. canis* positivity and the variables studied showed the influence of factors such as tick history, non-vaccination and non-use of antiparasitic medications. The main environmental characteristics that correlated with *E. canis* infection was the presence of trees and gardens in the homes. The recognition of these characteristics may imply the elaboration of more effective prevention and control strategies, since environmental management activities seek to reduce the interaction between vector and host, and consequently, the exposure to diseases transmitted by them.

KEYWORDS: ticks, environmental management, vector-borne diseases, PCR.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Sequência de oligonucleotídeos, programas de amplificação e tamanho de produtos amplificados em PCR para beta-actina do cão (controle endógeno), *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* e *Anaplasma platys* utilizados nessa pesquisa. 24
- Tabela 2 – Prevalência de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis* de acordo com histórico clínico de cães atendidos no município de Mossoró/RN, 2021. 26
- Tabela 3 – Prevalência de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis* de cães atendidos em Mossoró/RN de acordo com as características ambientais que estes estavam inseridos, 2021. 27

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Análise de correspondência do histórico clínico de cães atendidos em clínica particular do município de Mossoró/RN, frente a positividade de *Ehrliquia canis*, 2021. 28

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	12
2.1 BIOLOGIA E ECOLOGIA DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	12
2.2 IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	14
2.3 PRINCIPAIS DOENÇAS TRANSMITIDAS POR <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	14
2.4 DIAGNÓSTICO	16
2.5 PREVENÇÃO E CONTROLE.....	18
3. OBJETIVOS.....	20
3.1 OBJETIVO GERAL.....	20
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
CAPÍTULO 1.....	21
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38
APÊNDICES.....	46

1. INTRODUÇÃO

O carrapato é o vetor artrópode que transmite a maior variedade de doenças tanto para humanos, como para animais (JONGEJAN e UILEMBERG, 2004; MAHACHI et al., 2020). A transmissão dessas enfermidades ocorre a partir da associação entre vetor, patógeno e condições ambientais favoráveis durante o ciclo de transmissão. As características ambientais influenciam desde a sobrevivência e abundância vetorial, até o crescimento do patógeno e sua sobrevivência no hospedeiro (RANDOLPH e ROGERS, 2010; SEMENZA e SUK, 2018).

Os carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, também conhecidos como carrapato marrom do cão, são os que apresentam maior importância epidemiológica no Brasil. Esta espécie possui distribuição mundial, sendo mais prevalente em regiões tropicais e subtropicais (GRAY et al., 2013). Sua ampla distribuição geográfica tem sido facilitada pelo transporte do seu principal hospedeiro, o cão doméstico. Além disso, se adapta facilmente a viver nas construções humanas, podendo se desenvolver abundantemente em canis, criadouros de animais abandonados, jardins e até mesmo no interior das residências (ESTRADA-PEÑA et al., 2013).

A infestação por *R. sanguineus* é mais comum em cães de áreas urbanas, sendo menor em animais de áreas rurais, o que pode estar relacionado a menor densidade populacional canina dessas regiões. Animais que vivem em ambientes confinados e não fazem uso de ectoparasiticidas também costumam apresentar alto grau de infestação (GRAY et al., 2013; DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2014).

Esta espécie é capaz de completar seu ciclo de vida realizando o repasto sanguíneo em apenas um cachorro. Uma fêmea bem alimentada é capaz de produzir até 4000 ovos, dessa forma, apenas uma fêmea e um hospedeiro canino dentro de uma propriedade pode resultar em parasitismo severo (HANSFORD et al., 2017). Essa capacidade de infestação se torna ainda mais grave porque o carrapato marrom do cão é o principal vetor de um amplo número de agentes patogênicos, como *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* e *Anaplasma platys* (ESTRADA-PEÑA, 2017).

Os cães geralmente são infectados por *B. vogeli*, *E. canis* e *A. platys* por meio da picada de carrapatos contaminados, enquanto a infecção por *H. canis* ocorre por meio da ingestão de *R. sanguineus* (RUCKSAKEN et al., 2019). Esses patógenos costumam causar sinais clínicos semelhantes, embora suas apresentações possam variar desde uma forma subclínica a quadros patológicos graves. Os sintomas mais comuns incluem febre, anemia hemolítica, trombocitopenia, esplenomegalia e disfunção em diversos órgãos. A

coinfecção por esses agentes tem importância clínica porque agrava os sinais clínicos, complica o diagnóstico, reduz a eficácia do tratamento e pode piorar o prognóstico (WELZ et al., 2001; IRWIN, 2010; RUCKSAKEN et al., 2019). Além disso, *B. vogeli*, *E. canis* e *A. platys* têm potencial zoonótico.

O método de diagnóstico mais comum destes hemoparasitas em cães na rotina clínica é o exame microscópico de esfregaços sanguíneos, no entanto apresenta algumas limitações como a baixa sensibilidade e necessidade de um profissional experiente, que consiga diferenciar entre os diversos tipos de agentes patogênicos (CHOMEL, 2011; KAEWKONG et al., 2014). Características de eficácia semelhantes também são observadas nas técnicas sorológicas mais aplicadas, como nos testes de imunofluorescência indireta e ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) (GOMES et al., 2016; LARA et al., 2020). Em contrapartida, as técnicas moleculares como a Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR), permitem a detecção de DNA de patógenos com alta precisão, fazendo com que esta tenha se tornado uma ferramenta de diagnóstico recomendada em todo o mundo (KAEWKONG et al., 2014).

Por sua tamanha competência vetorial, *R. sanguineus* é um vetor de grande importância médica, tanto na área veterinária quanto na medicina humana (GRAY et al., 2013). Porém, as maiorias dos estudos sobre este parasita focam em aspectos práticos de identificação, excluindo os aspectos ambientais aos quais este está relacionado. O acompanhamento e estudo de doenças sob a visão de diversos elementos envolvidos em seu ciclo de transmissão, como os aspectos sociais e ambientais, tem se tornado cada vez mais comum, visto que a identificação desses fatores pode auxiliar de forma mais eficaz a elaboração de medidas de prevenção e controle dessas enfermidades (ALMEIDA et al., 2014; ABRANTES et al., 2018), pois conseguem romper o ciclo de transmissão de uma determinada doença a partir do adequado controle do seu vetor.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 BIOLOGIA E ECOLOGIA DE *Rhipicephalus sanguineus*

O carrapato *R. sanguineus*, também conhecido como carrapato marrom do cão, foi descrito pela primeira vez por Latreille (1806) como *Ixodes sanguineus*, e só posteriormente colocado no gênero *Rhipicephalus* (GRAY et al., 2013). Atualmente entende-se que há um complexo de espécies que historicamente vinham sendo classificadas como *R. sanguineus*, sendo que na América Latina uma dessas espécies habita a Argentina, Uruguai e Chile, e outra diferente ocupa o Brasil. A taxonomia desse grupo ainda não está clara, dessa forma, novas análises moleculares, morfológicas, biológicas e ecológicas deverão ser realizadas para melhor definição desse complexo (MORAES-FILHO et al., 2011).

Mesmo sabendo da existência do complexo *sanguineus* de espécies filogeneticamente muito próximas, é considerado que apenas a espécie *R. sanguineus* está presente na América (FILHO et al., 2013). Esta espécie é cosmopolita e provavelmente a de maior distribuição geográfica, o que pode estar associado às amplas migrações humanas pelo mundo, levando consigo o cão doméstico, seu principal hospedeiro (WALKER et al., 2000; AGUIAR et al., 2013).

Os carrapatos marrons machos e fêmeas possuem entre 3 a 4cm de tamanho. Quando não estão alimentados apresentam o idiossoma de coloração marrom escuro e o escudo sem ornamentação (WALKER et al., 2000). Com relação ao ciclo de vida, são trioxenos, ou seja, cada estágio ativo de desenvolvimento se alimenta uma vez no hospedeiro e as mudas são realizadas no ambiente (USPENSKY, 2008, NOGUEIRA, 2018). Os períodos de alimentação desses carrapatos sofrem influência de fatores bióticos, como as espécies hospedeiras, e fatores abióticos, como a temperatura ambiente (DANTAS-TORRES, 2008; DANTAS-TORRES et al., 2011).

Após realizarem repasto sanguíneo as fêmeas adultas descem do animal e procuram um lugar seguro para fazer a postura. Esses ovos eclodem em larvas que imediatamente procuram um hospedeiro para se alimentarem. As larvas se desenvolvem em ninfas e estas em carrapatos adultos (SILVA, 2016). Enquanto as larvas e as ninfas precisam de sangue para o processo de muda, fêmeas e machos adultos utilizam o sangue para fins reprodutivos, sendo que quando comparado às fêmeas, os machos consomem pouco sangue, embora possam permanecer parasitando o hospedeiro por várias semanas

(GRAY et al., 2013; SILVA, 2016). O hábito alimentar desses artrópodes e o seu ciclo de vida favorece a transmissão de doenças, visto a necessidade de se alimentar de um hospedeiro para completar seu desenvolvimento (AGUIAR et al., 2013). A amplitude do ciclo biológico pode variar entre seis a doze meses.

No Brasil, foi observado que cães machos costumam ter maiores infestações por *R. sanguineus* que fêmeas, e cães habitantes de áreas urbanas tendem a ser frequentemente mais infestados que os de áreas rurais (SILVEIRA et al., 2009; DANTAS-TORRES et al., 2009). O carrapato marrom do cão raramente tem seu desenvolvimento limitado por condições climáticas quentes e secas, pois conseguem se reproduzir adequadamente em uma ampla faixa de umidade relativa, podendo variar de 35 a 95%. Também conseguem tolerar ampla faixa de temperatura, reproduzindo efetivamente com faixas entre 20 e 35°C. Quanto maior a temperatura dentro dessa escala, maior o número de gerações que *R. sanguineus* consegue completar por ano (GREY et al., 2013).

A carga de infestação de cães por *R. sanguineus* pode ser influenciada por fatores individuais de cada hospedeiro, como idade e raça, sendo que alguns estudos sugerem que a carga parasitária costuma ser maior em cães jovens que em cães adultos. No Brasil, também é observado que a prevalência de *R. sanguineus* é maior entre os cães que vivem em casas com quintais gramados, quando comparado aos cães que vivem em apartamentos (DANTAS-TORRES, 2010; OJEDA et al., 2019). O parasitismo por esta espécie em hospedeiros que não sejam cães é bastante incomum e geralmente está associada à presença de cães já com alto grau de infestação em ambientes fortemente infestados pelo parasito (DANTAS-TORRES, 2010).

No ambiente o carrapato procura locais seguros, sombrios e com pouca ventilação, podendo ser árvores, arbustos, vegetação rasteira, buracos no solo ou fendas em rochas. Além disso, são bem habituados ao ambiente urbano, podendo habitar paredes de casas, muros, móveis, cortinas ou quadros de paredes (SERRA-FREIRE et al., 2011). As fêmeas geralmente depositam seus ovos próximo ao local de repouso dos hospedeiros, tornando mais fácil que as larvas encontrem alimento após a eclosão (DANTAS-TORRES, 2008; NOGUEIRA, 2018).

Exceto na fase de ovos, *R. sanguineus* possui capacidade de restabelecer os estoques de água em seu organismo, absorvendo o vapor de água do ar e bebendo água livre. Essas habilidades associadas ao seu hábito nidícola permite que o vetor colonize uma ampla variedade de habitats, aumentando ainda mais sua importância na transmissão de doenças (NOGUEIRA, 2018).

2.2 IMPORTÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE *Rhipicephalus sanguineus*

Os carrapatos foram os primeiros artrópodes a serem estabelecidos como vetores de patógenos causadores de doenças, transmitindo uma grande quantidade de agentes patogênicos tanto para animais, quanto para o homem (FUENTE et al., 2015). A população da América Latina tem passado por expansão marcada por desigualdades sociais, culturais e econômicas, o que tem criado condições para o aumento e persistência de vetores transmissores de doenças, podendo ser citado o mal controle populacional de animais de rua, falta de conscientização sobre bem estar animal e prevenção de doenças, além de condições econômicas restritas para acesso a serviços veterinários (MAGGI e KRAMER, 2019).

O vetor *R. sanguineus* vem aparecendo em estudos realizados no Brasil desde 1973, no estado de Minas Gerais (LINARDI e NAGEM, 1973). Estudos realizados por Luz et al. (2014) no Rio de Janeiro demonstraram que *R. sanguineus* era a espécie mais prevalente nos cães incluídos na pesquisa, resultado semelhante ao encontrado por Costa et al. (2014) no Maranhão.

As doenças transmitidas por *R. sanguineus* apresentam alta prevalência no Brasil. A eriquiose monocítica canina (EMC), por exemplo, é considerada enzootia no país desde 1973 (Costa et al., 1973). Estudos epidemiológicos demonstram que em algumas regiões brasileiras 70% da população canina apresentam anticorpos anti-*E.canis*, sendo a infestação por *R. sanguineus* o principal fator de risco (AGUIAR, et al., 2007; VIEIRA et al., 2011; PAULINO et al., 2018). Já no caso da anaplasmose, as taxas de prevalência variam de 1,1% a 41,9% a depender da região geográfica, população do estudo e método diagnóstico utilizado (COSTA-JUNIOR et al., 2013).

Outras doenças como hepatozoonose e babesiose canina também apresentam prevalência variável no Brasil. No caso da hepatozoonose, esta pode variar entre 0,9% a 71% (VOJTA et al., 2009; MIRANDA et al., 2014). A variação na prevalência das infecções babesiais tem sido estudada e também pode estar relacionada às diferenças das populações e tipos de métodos diagnósticos empregados nas pesquisas (DANTAS-TORRES et al., 2021).

2.3 PRINCIPAIS DOENÇAS TRANSMITIDAS POR *Rhipicephalus sanguineus*

Os cães são hospedeiros e reservatórios para vários patógenos transmitidos por *R. sanguineus*, sendo alguns deles de interesse zoonótico (TOMMASI et al., 2013). Os principais patógenos transmitidos por *R. sanguineus* no Brasil são *E. canis*, *A. platys*, *B. vogeli*. e *H. canis*., sendo que estas parasitoses podem ocorrer de forma isolada ou em conjunto em um mesmo hospedeiro canino. Dentre esses patógenos, apenas *H. canis* não possui potencial zoonótico (KAEWKONG et al., 2014; MAHACHI et al., 2020).

Ehrlichia canis é uma bactéria intracelular obrigatória responsável por causar erliquiose em cães. Estágios imaturos de *R. sanguineus* são infectados quando se alimentam de um cão que hospeda o parasito. A infecção nas fêmeas é mantida de forma transtadial, fazendo com que a transmissão ao cão ocorra quando o carrapato se alimenta, seja em estágio de ninfa ou adulto (LITTLE, 2010). Carrapatos machos também podem transmitir *E. canis*, mas de forma intraestadial, ao se deslocarem de um animal para o outro. A infecção no cão acontece por meio das secreções salivares deixadas pelo carrapato no seu local de alimentação (SAITO e WALKER, 2016).

O curso da doença pode ser subdividido em três fases: subclínica, aguda e crônica (NEER, 1998; VIEIRA et al., 2016). A fase aguda geralmente ocorre após um período de incubação entre oito a vinte dias e pode persistir até quatro semanas, tempo em que ocorre a multiplicação da bactéria dentro das células do sistema mononuclear e disseminação do parasito no hospedeiro (SAITO e WALKER, 2016). As principais manifestações da doença na fase aguda envolvem anemia, febre, perda de peso, anorexia, letargia, petéquias, esplenomegalia e linfadenomegalia (CASTRO et al., 2004; NAKAGUI et al., 2008; MONGRUEL et al., 2018). Em casos crônicos da doença, além dos sinais clínicos citados na fase aguda, é possível o aparecimento de mialgia, sangramentos, lesões oculares, insuficiência renal, poliartrite e anormalidades neurológicas (LITTLE, 2010).

Anaplasma platys, por sua vez, parasita exclusivamente plaquetas de cães, causando a doença conhecida como anaplasmose, uma zoonose (ALMOSNY e MASSARD, 2002). A transmissão natural acontece quando carrapatos infectados se alimentam de um hospedeiro suscetível, transmitindo a bactéria também por meio de suas secreções salivares (SILVA, 2010).

Normalmente, os cães infectados por *A. platys* apresentam apenas episódios de trombocitopenia cíclica, não estando associado a episódios hemorrágicos (DANTAS-TORRES, 2008). Quando há aparecimento de sinais clínicos estes costumam ser

inespecíficos e parecidos com o da erliquiose, como anorexia, letargia, febre, anemia crônica e êmese (KAEWKONG et al., 2014).

A depender das características genéticas, especificidade vetorial, manifestações clínicas e distribuição geográfica, o patógeno *Babesia* sp. pode ser dividido em três diferentes espécies: *Babesia vogeli*, *Babesia canis* e *Babesia rossi* (UILEMBERG et al., 1989; PENZHORN, 2020). A babesiose também é uma doença zoonótica e emergente transmitida por carrapatos. Os agentes causadores da babesiose são protozoários que parasitam os glóbulos vermelhos de seus hospedeiros, sendo uma das doenças mais importantes dos cães domésticos (LI et al., 2020).

A maior parte dos sinais clínicos causados por este protozoário estão relacionados a anemia hemolítica com destruição eritrocitária e resposta inflamatória sistêmica. As manifestações mais comuns incluem febre, anemia, palidez, icterícia, hemoglobinúria e esplenomegalia, podendo haver também disfunção hepática, renal, pulmonar e cerebral (BECK et al., 2008; BAJER et al., 2014. LI et al., 2020).

Além dos microrganismos citados anteriormente, temos também o protozoário *H. canis*, responsável por provocar uma enfermidade em cães denominada hepatozoonose, transmitida por meio da ingestão do carrapato contaminado. Uma vez dentro do organismo, este protozoário infecta os leucócitos dos hospedeiros e geralmente causa quadro assintomático ou subclínico (GOMES et al., 2016).

Para todas as doenças citadas é comum que em regiões tropicais e subtropicais, onde os vetores são abundantes, ocorra coinfeções dessas doenças, potencializando a patogênese e alterando as manifestações clínicas singulares de cada uma (TOMMASI et al., 2013). Fatores como esse podem complicar o diagnóstico, tratamento e influenciar negativamente no prognóstico, caso as infecções não sejam descobertas de forma precoce e tratadas simultaneamente. Dessa forma, para sucesso da terapia e restabelecimento do paciente, é importante que o diagnóstico dessas parasitoses seja realizado de forma integral, podendo incluir microscopia, sorologia e PCR, principalmente em áreas endêmicas (DANTAS-TORRES, 2008).

2.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de doenças transmitidas por carrapatos geralmente se inicia com avaliação clínica e histórico de exposição a esses vetores. Exames de sangue indicando trombocitopenia e outras anormalidades também ajudam na suspeita (LITTLE, 2010),

sendo que a confirmação laboratorial pode ser obtida por meio de métodos diretos, como esfregaço sanguíneo, sorologia ou PCR.

No caso do esfregaço sanguíneo, a visualização do patógeno é um método que pode ser difícil e demorado. Por exemplo, na pesquisa de *E. canis*, plaquetas, grânulos linfocíticos e material celular fagocitado podem ser confundidos com inclusões erliquiais (HARRUS et al., 2011; SAINZ et al., 2015; CICUTTIN et al., 2016). Examinar uma grande quantidade de células da camada leucocitária pode aumentar a probabilidade de identificação desse agente, porém cães cronicamente infectados raramente são detectáveis microscopicamente (LITTLE, 2010). Já quando se pesquisa *A. platys*, as mórulas podem ser encontradas dentro de plaquetas, porém pode ser difícil distingui-las de outros grânulos presentes nessas células. *B. vogeli* e *H. canis* também podem ser identificados em esfregaços sanguíneos, no entanto este método possui baixa sensibilidade e especificidade (GOMES et al., 2016; SOLANO-GALLEGO et al., 2016).

Testes de imunofluorescência indireta baseados em sorologia estão disponíveis comercialmente para detecção de *E. canis* e *A. platys*. Também chamados de testes de ponto atendimento ou POC testes, permitem o diagnóstico rápido através da imunocromatografia, sendo bastante utilizados como uma ferramenta de diagnóstico pelos médicos veterinários (LARA et al., 2020). Porém, a sorologia pode apresentar reação cruzada entre *E. canis*, outras espécies de *Ehrlichia* spp. e *A. platys*. Além disso, não há como diferenciar entre uma infecção atual e exposição anterior (CICUTTIN et al., 2016). Independente do teste utilizado, a doença clínica pode acontecer antes da soroconversão, dessa forma, um teste de anticorpos negativos não deve ser utilizado para eliminar um diagnóstico de erliquiose e anaplasmose em um paciente com a doença clínica (LITTLE, 2010).

Ainda sobre testes sorológicos, o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) pode ser utilizado para o diagnóstico de *H. canis*, sendo mais sensíveis que a análise de sangue periférico, porém essa técnica necessita de amostras obtidas de cães com parasitemia extremamente alta, podendo implicar em resultados falso negativos em cães com menor taxa de infecção (GOMES et al., 2016).

Diante do exposto, os métodos moleculares como a PCR, têm se mostrado mais sensíveis e específicos no diagnóstico dessas doenças parasitárias (SOLLANO-GALEGO e BANETH, 2011; HARRUS, 2011; CICUTTIN et al., 2016). Em resumo, resultados positivos na PCR confirmam infecção, enquanto resultados positivos do teste sorológico apenas confirmam exposição (CICUTTIN et al., 2016).

O correto diagnóstico dessas doenças, seja de forma isolada ou suas coinfeções é de grande importância para se estabelecer tratamentos eficazes. Além disso, estudar a relação dessas infecções, suas manifestações clínicas e correlação com seus vetores, auxiliam na compreensão das perspectivas epidemiológicas, auxiliando na elaboração de medidas de prevenção e controle.

2.5 PREVENÇÃO E CONTROLE

O controle vetorial é a única medida efetiva para a maioria das doenças de transmissão vetorial no Brasil (DANTAS-TORRES, 2008). Levando em consideração as características do ciclo de vida dos carrapatos, as medidas de prevenção das infecções por *R. sanguineus* devem ser baseadas no controle de ectoparasitas tanto no cão quanto no ambiente que este vive, visto que 95% dos carrapatos estão presentes no ambiente em forma de ovos, larvas e ninfas, enquanto apenas 5% se encontram parasitando o cão.

A forma mais eficaz de atingir os 95% da população de carrapatos presentes no ambiente é a dedetização com produtos à base de piretróides. De modo geral, três a quatro aplicações com intervalos de 14 dias são suficientes para eliminar infestações por *R. sanguineus* quando não existem outras áreas infestadas por perto (LABRUNA et al., 2001). Deve-se ter cuidado ao aplicar produtos químicos no meio ambiente, sendo aconselhável que os tutores consultem um veterinário ou especialista antes de realizar a dedetização do local (DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2014).

Carrapatos adultos e suas formas imaturas possuem preferência em se esconder em locais altos, ou seja, acima do nível do solo. Desta forma, ao aplicar carrapaticidas no ambiente deve-se priorizar as paredes e teto de onde o animal vive, devendo também fechar rachaduras e fendas presentes nesses locais (LABRUNA et al., 2001; NOGUEIRA, 2018). Como os cães estão cada vez mais frequentando o ambiente intradomiciliar, é preciso também dar atenção ao interior das residências, como os sofás, cortinas, tapetes e armários. Os locais mais habitados pelo animal devem ser frequentemente lavados e higienizados, diminuindo o risco de infestações.

Atualmente há no mercado diversos produtos que previnem e controlam carrapatos em cães, seja em forma de comprimido, produtos *spot-on* ou coleiras repelentes. Para que essa proteção seja eficaz, é necessário que o médico veterinário conheça os diferentes medicamentos disponíveis, possibilitando assim indicar a melhor profilaxia e tratamento de acordo com o risco de infecção, transmissão de doenças,

comportamento do animal e seu estilo de vida (LITTLE, 2010; ZARDO e PEREIRA, 2019).

Devido ao caráter zoonótico da maioria das doenças transmitidas por *R. sanguineus*, o controle deste vetor e dos patógenos que este transmite também constitui um problema de saúde pública. Sendo assim, algumas ações como disponibilidade de técnicas de diagnóstico acessíveis, fácil acesso a informações tanto a profissionais de saúde, quanto a população, devem ser postas como prioridade. Além disso, a inclusão da população por meio de programas educacionais relacionados à guarda responsável de animais de estimação e controle de ectoparasitas também constitui um pilar importante no controle das doenças transmitidas por carrapatos (MAGGI e KRAMER, 2019).

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência de fatores ambientais para presença de *R. sanguineus* na infecção de cães por *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis*.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a ocorrência de doenças transmitidas por *R. sanguineus* em cães atendidos em clínica particular do município de Mossoró, Rio Grande do Norte;

Verificar a presença de fatores ambientais associados à presença de *R. sanguineus* nas residências dos cães participantes do estudo;

Analisar se há correlação da infecção mais prevalente em cães, com os fatores ambientais que possam favorecer a presença de *R. sanguineus*.

CAPÍTULO 1

FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR *Rhipicephalus sanguineus*

Veterinary Parasitology

Qualis ambientais A2

FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS A OCORRÊNCIA DE DOENÇAS TRANSMITIDAS POR *Rhipicephalus sanguineus*

Larissa Leykman da Costa Nogueira, Juliana Fortes Vilarinho Braga, Raylanne Leticia Pessoa Sousa, Bruno Vinicios Silva de Araújo, Ana Luiza Cordeiro Gondim Guimarães, Larissa Daniele Aires Oliveira, Wesley Adson Costa Coelho, Sthenia Santos Albano
Amora

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi avaliar a influência de fatores ambientais para a presença de *Rhipicephalus sanguineus* na infecção de cães por *Ehrliquia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis*. Para tanto, foram incluídos 120 cães, dos quais foram colhidas amostras de sangue para extração de DNA e diagnóstico molecular destes quatro parasitas. Foi realizada anamnese e exame físico de cada paciente e todos os imóveis foram caracterizados. Os testes de Qui-quadrado e exato de Fisher foram utilizados para verificar a associação das diferentes variáveis estudadas. O patógeno de maior prevalência no estudo foi *E. canis* (13,3%), seguido por *A. platys* (11,7%), *H. canis* (6%) e *B. vogeli* (6%). A análise de correspondência realizada entre a positividade de *E. canis* e as variáveis estudadas, demonstrou influência de fatores como histórico de carrapatos, não vacinação e não uso de medicações antiparasitárias. Os principais fatores ambientais observados na infecção por *E. canis* foi a presença de árvores e vegetação nas residências. O reconhecimento dessas características pode auxiliar na elaboração de estratégias de prevenção e controle, visto que atividades de manejo ambiental buscam diminuir a interação entre vetor e hospedeiro, e conseqüentemente, a exposição a doenças.

Palavras-chave: carrapatos, manejo ambiental, doenças transmitidas por vetores, PCR.

ABSTRACT: The aim of this work was to evaluate the influence of environmental factors for the presence of *Rhipicephalus sanguineus* in the infection of dogs by *Ehrliquia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis*. For that, 120 dogs were included, from which blood samples were collected for DNA extraction and molecular diagnosis of these four parasites. Anamnesis and physical examination were performed for each patient and all properties were characterized. Chi-square and Fisher's exact tests were used to verify the association of the different variables studied. The most prevalent pathogen in the study was *E. canis* (13.3%), followed by *A. platys* (11.7%), *H. canis* (6%)

and *B. vogeli* (6%). Correspondence analysis performed between *E. canis* positivity and the variables studied showed the influence of factors such as tick history, non-vaccination and non-use of antiparasitic medications. The main environmental factors observed in the infection by *E. canis* was the presence of trees and vegetation in the residences. The recognition of these characteristics can help in the elaboration of prevention and control strategies, since environmental management activities seek to reduce the interaction between vector and host, and consequently, the exposure to diseases.

KEYWORDS: ticks, environmental management, vector-borne diseases, PCR.

INTRODUÇÃO

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, também conhecido como carrapato marrom do cão, possui distribuição cosmopolita e forte associação com seu hospedeiro canino, sendo um dos principais vetores de patógenos de importância médica e veterinária (DANTAS-TORRES, 2010; DANTAS-TORRES e OTRANTO, 2014; TUCKER et al., 2020). Alguns fatores como urbanização, aumento de viagens e intercâmbios comerciais, bem como alterações climáticas e mudanças ecológicas influenciam a dispersão geográfica e expansão populacional desses carrapatos (WIKEL, 2018), o que contribui para o aumento de casos de doenças transmitidas por estes aracnídeos (LINDAHL e GRACE, 2015; BARRADAS et al., 2020).

Com hábito nidícola e comportamento endófilo, os carrapatos *R. sanguineus* costumam habitar tocas e abrigos artificiais. Este vetor é predominantemente encontrado em áreas urbanas e suburbanas, onde vive em estreita proximidade com cães e humanos. Nessas áreas, principalmente entre os cães que habitam ambientes confinados e não são tratados com ectoparasiticidas, o grau de infestação costuma ser alto (LORUSSO et al., 2010; GRAY et al., 2013).

Além do parasitismo, os carrapatos podem ser transmissores de importantes infecções em seus hospedeiros e tais doenças representam um desafio diagnóstico considerável, pois geralmente causam sinais inespecíficos e suas manifestações clínicas podem variar de acordo com o patógeno envolvido, nível de parasitemia e estado imunológico do cão (BANETH et al., 2011; ROJAS et al., 2014). O carrapato marrom do cão, aqui em destaque, é o principal vetor de um amplo número de agentes patogênicos como *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* e *Anaplasma platys*. Os cães geralmente são infectados por *B. vogeli*, *E. canis* e *A. platys* por meio da picada de

carrapatos contaminados, enquanto a infecção de *H. canis* ocorre por meio da ingestão de *R. sanguineus* (RUCKSAKEN et al., 2019).

Apesar do carrapato marrom do cão ser bastante estudado, há uma escassez de informações quanto às características ambientais que podem favorecer seu aparecimento, e conseqüentemente à transmissão de doenças. E como o animal não deve ser visto apenas como indivíduo singular, mas sim uma interação entre este e o ambiente em que vive, esse trabalho teve como objetivo avaliar a influência de fatores ambientais para a presença de *R. sanguineus* na infecção de cães por *E. canis*, *A. platys*, *B. vogeli* e *H. canis*. A identificação desses fatores e sua correlação com a positividade das doenças, contribuirá para a elaboração de medidas de manejo ambiental que controlem a proliferação do vetor, e, conseqüentemente, o contato deste com o homem.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo, cães e amostras

O estudo foi realizado no município de Mossoró, Rio Grande do Norte (05°11'16,8" de latitude sul e 37°20'38,4" de longitude oeste). A cidade possui o clima semiárido muito quente e com estação chuvosa no verão atrasando-se para o outono, apresentando temperatura média de 27,4°C, com precipitação pluviométrica anual muito irregular e com umidade relativa média do ar de 68,9%.

Na pesquisa foram incluídos 120 cães, independente do sexo, raça e idade, atendidos em uma clínica veterinária particular, mediante protocolo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido sob número 23091.013652/2018-95.

O cálculo amostral foi determinado pela fórmula do Centro Panamericano de Zoonoses (1997), em que: $N = [p \times (100 - p) \times z^2] / (d \times p/100)^2$, sendo N = número de amostras, p= prevalência esperada, Z = grau de confiança e d = margem de erro. Foi considerado P = 50%, Z = 90%, e d = 15%, totalizando 120 animais.

Dos cães incluídos no estudo foram colhidos quatro mililitros de sangue por venopunção jugular em tubo contendo anticoagulante (EDTA) para extração de DNA e realização do diagnóstico molecular.

Questões éticas e dados epidemiológicos

Durante o atendimento do paciente os tutores foram esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa e instruídos a lerem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Após aceitação e assinatura, foi realizada anamnese e exame físico do cão, nessa etapa foram avaliadas mucosas oculares para identificação de anemia ou icterícia, temperatura corporal, presença de ectoparasitas, sinais de apatia, anorexia, perda de peso, desidratação e registro de quaisquer outras alterações clínicas em ficha clínico-epidemiológica individual.

No momento da anamnese os tutores foram questionados sobre a acessibilidade do animal à rua, vacinação e convivência com outros animais, histórico de ectoparasitas, além de outros questionamentos que poderiam surgir de acordo com a individualidade de cada paciente.

A visita aos imóveis onde residem os animais incluídos no estudo foi realizada com o objetivo de identificar as características ambientais de onde o animal está inserido, buscando fatores que favoreçam a presença de *R. sanguineus*, e conseqüentemente, maior exposição dos animais ao transmissor das doenças.

Caracterização dos imóveis

Foram visitados os imóveis de todos os animais participantes do estudo. As visitas aos domicílios foram realizadas por um dos membros do projeto, mediante autorização dos tutores através de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

As residências foram caracterizadas quanto a presença de características ambientais que favorecem o aparecimento do vetor, como presença de outros animais domésticos, árvores ou madeira em decomposição, presença de vegetação no peridomicílio ou área verde próxima à residência, rachaduras em paredes, acúmulo de materiais de construção e presença de cursos de água próximos.

Extração de DNA e PCR

Para extração de DNA foi utilizado o kit comercial PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific), conforme recomendações do fabricante. Depois de extraído, a qualidade e a concentração do DNA foram analisadas em espectrofotômetro (NanoDrop™ Lite, Thermo Scientific) e as amostras armazenadas a -20 °C até o momento da PCR. Com o DNA extraído, as amostras foram submetidas à PCR para detecção de gene de controle endógeno (beta-actina de cão) e, em seguida para os agentes de estudo, sendo eles: *A. platys*, *B. vogeli*, *E. canis* e *H. canis*.

Para detecção do DNA utilizou-se oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) e programas de amplificação específicos previamente publicados e discriminados na Tabela 1. Para as PCRs foram utilizados 200 a 300 ng de DNA das amostras e 12,5 pmol de cada *primer* em um volume final de reação 25 µL (PCR Supermix Brasil, Invitrogen®). Para amplificação de DNA de *E. canis* e *A. platys* foi empregada nested-PCR, utilizando-se 1 µL do produto da primeira PCR como amostra para segunda reação. A amplificação do DNA de *B. vogeli* e *H. canis* foi realizada por PCR convencional. Para todas as reações, foram utilizados como controle positivo DNA de amostras sabidamente positivas para os agentes pesquisados e, como controle negativo, água DPEC.

Tabela 1. Sequência de oligonucleotídeos, programas de amplificação e tamanho de produtos amplificados em PCR para beta-actina do cão (controle endógeno), *Babesia vogeli*, *Ehrliquia canis*, *Hepatozoon canis* e *Anaplasma platys* utilizados nessa pesquisa.

Gene alvo	Primer	Sequência de oligonucleotídeos (5'-3')	Programa de amplificação	Produto (pb)	Referência
Beta actina do cão	Actb-F	GGCATCCTGACCCTGAAGT	Desnat. ¹ inicial: 95°C, 10' 35 ciclos de: Desnaturação: 95°, 30'' Anelamento: 60°C, 30'' Extensão: 72°C, 30'' Extensão final: 72°C, 5'	98pb	Turchetti (2014)
	Actb-R	CGCAGCTCGTTGTAGAAGG			
<i>B. vogeli</i> (18S rRNA)	BAB1	GTGAACCTTATCACTTAAA	Desnat. ¹ inicial: 94°C, 2' 35 ciclos de: Desnaturação: 94°, 30'' Anelamento: 56°C, 30'' Extensão: 72°C, 60'' Extensão final: 72°C, 5'	602pb	Duarte et al. (2008)
	BAB4	CAACTCCTCCACGCAATCG			
<i>E. canis</i> (16S rRNA)	1 a reação: EHO-F	AGAACGAACGCTGGCGGCA	Desnat. ¹ inicial: 94°C, 10' 40 ciclos de: Desnaturação: 94°, 60'' Anelamento: 60°C, 60'' Extensão: 72°C, 60'' Extensão final: 72°C, 4'	478pb	Bulla et al. (2004)
	1 a reação: EHO-R	CGTATTACCGCGGCTGCTG			
	2 a reação: PLAT5F	CAATTATTTATAGCCTCTGG			
	2 a reação: EPLAT3R	TATAGGTACCGTCATTATCT	Extensão final: 72°C 4'		
<i>H. canis</i> (18S)	HC-18S-F	CACCAGGTCCAGACATAGA	Desnat. ¹ inicial: 95°C 3' 35 ciclos de: Desnaturação: 95°, 30'' Anelamento: 62°C, 30''	306pb	

rRNA)	HC-18S-R	AAGCTTACCAGCCAAGGTT AT	Extensão: 72°C, 45'' Extensão final: 72°C, 1'		Kaur et al. (2020)
	1ª reação: EHR16S D-F	GGTACCYACAGAAGAAGTC C	Desnat. ¹ inicial: 95°C 5' 35 ciclos de: Desnaturação: 94°, 30'' Anelamento: 55°C, 30'' Extensão: 72°C, 90'' Extensão final: 72°C 5'	345p b	Matei et al. (2016)
A. <i>platys</i> (16S rRNA)	1ª reação: EHR16S-R	TAGCACTCATCGTTTACAGC	Desnat. ¹ inicial: 95°C 5' 35 ciclos de: Desnaturação: 94°, 30'' Anelamento: 58°C, 30'' Extensão: 72°C, 45'' Extensão final: 72°C 5'	349p b	
	2ª reação: PLAT5-F	TTTGTCGTAGCTTGCTATGA T	Desnat. ¹ inicial: 95°C 5' 35 ciclos de: Desnaturação: 94°, 30'' Anelamento: 58°C, 30'' Extensão: 72°C, 45'' Extensão final: 72°C 5'	349p b	
	2ª reação: EPLAT3-R	CTTCTGTGGGTACCGTC	Desnat. ¹ inicial: 95°C 5' 35 ciclos de: Desnaturação: 94°, 30'' Anelamento: 58°C, 30'' Extensão: 72°C, 45'' Extensão final: 72°C 5'	349p b	

Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose à 1,5% em tampão Tris-Acetato-EDTA (TAE) 1x, utilizando o SybrSafe® como corante evidenciador de DNA por 60 minutos a 100 volts. Para determinação do tamanho dos produtos amplificados foi utilizado um marcador de peso molecular de 100pb (Promega®) seguindo recomendações do fabricante. Após a eletroforese, o gel foi visualizado em transiluminador de luz ultravioleta (Proteinsimple®) e registrado utilizando-se o programa AlphaImager Mini system.

As amostras foram consideradas positivas para a detecção do gene da beta-actina de cão, gene 18S rRNA de *B. canis*, gene 16S rRNA de *E. canis*, gene 18S rRNA de *H. canis* e gene 16S rRNA de *A. platys* ao se detectar produtos amplificados com tamanho aproximado de 98pb (TURCHETTI, 2014), 602pb (DUARTE et al., 2008), 389 pb (BULLA et al., 2004), 306pb (KAUR et al., 2020) e 349 pb (MATEI et al., 2016) respectivamente.

Análise estatística

Os dados foram expressos em valores de frequência simples e porcentagem obtidos através do programa estatístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 23.0. Para verificar a associação das diferentes variáveis estudadas frente as parasitoses estudadas, foram utilizados os testes de Qui-quadrado e exato de Fisher. Este último utilizado quando a frequência esperada foi inferior a cinco. Neste sentido, foram calculadas Odds ratio (OR) com respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%). Por fim, foi realizada a análise de correspondência para conhecer a relação das variáveis relacionadas à erliquiose canina. O nível de significância estabelecido foi de 5%.

RESULTADOS

A prevalência dos patógenos pesquisados neste estudo foi de 13,3% (16/120) para *E. canis*, 11,7% (14/120) para *A. platys*, 5% (06/120) para *H. canis* e 5% (06/120) para *B. vogeli*. Sete animais apresentaram coinfeção desses patógenos, sendo um cão positivo para *E. canis*, *H. canis* e *B. vogeli* ao mesmo tempo, quatro cães positivos para *H. canis* e *B. vogeli* e dois cães positivos para *E. canis* e *A. platys*.

Os sinais clínicos encontrados durante exame físico foram anorexia, perda de peso, polidipsia, claudicação, onicogrifose, mucosas hipocoradas, febre, esplenomegalia, linfadenomegalia, úlcera de córnea, alterações digestivas e alterações dermatológicas. Apenas 14 animais apresentaram algum tipo de alteração clínica durante o exame físico, enquanto os outros 106 de encontravam saudáveis.

Na Tabela 2 é possível observar a prevalência de animais positivos para *E. canis*, *A. platys*, *B. vogeli* e *H. canis* de acordo com os dados coletados na anamnese. Dos cães reagentes para *E. canis*, 81,3% possuía acesso a rua, número maior que o encontrado nos outros patógenos. Além disso, 56,3% dos positivos para erliquiose conviviam com outros animais. Com relação ao uso de medicamentos antiparasitários, observou-se que 78,6% dos cães com infecção por *A. platys* faziam uso dessas medicações.

Tabela 2 – Prevalência de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis* de acordo com histórico clínico de cães atendidos no município de Mossoró/RN, 2021.

Variáveis	<i>Ehrlichia canis</i>	Anaplasma platys	<i>Hepatozoon canis</i>	<i>Babesia vogeli</i>
	n=16	n=14	n=06	n=06
	%	%	%	%
Histórico de acesso a rua	81,3	57,1	66,7	66,7
Histórico de vacinado	37,5	85,7	66,7	66,7
Histórico de convivência com outros animais	56,3	35,7	33,3	50,0
Histórico de carrapato	31,3	7,1	33,3	50,0
Histórico de usar medicação antiparasitária	75,0	78,6	66,7	66,7

Fonte: Dados da pesquisa (2021)

Já na Tabela 3 é possível notar a prevalência dessas mesmas parasitoses de acordo com as características ambientais as quais os animais participantes do estudo estavam

inseridos. É possível observar que a maioria dos cães positivos residiam em casas, com destaque de 81,3% para *E. canis*. Dentre os animais positivos para *A. platys*, a variável que mais se destacou foi a presença de vegetação, como pasto, grama e jardim.

Tabela 3 – Prevalência de animais infectados por *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia vogeli* e *Hepatozoon canis* de cães atendidos em Mossoró/RN de acordo com as características ambientais que estes estavam inseridos, 2021.

Variáveis	<i>Ehrlichia canis</i>	<i>Anaplasma platys</i>	<i>Hepatozoon canis</i>	<i>Babesia canis</i>
	n=16	n=14	n=06	n=06
	%	%	%	%
Tipo de ambiente				
Casa	81,3	71,4	66,7	66,7
Apartamento	18,3	28,6	33,3	33,3
Presença de árvore	18,8	14,3	16,7	16,7
Presença de vegetação				
Pasto	6,3	7,1	0,0	0,0
Gramma	6,3	14,3	0,0	0,0
Arbusto	6,3	7,1	0,0	0,0
Jardim	0,0	14,3	0,0	0,0
Área verde próxima a residência	6,3	0,0	16,7	16,7
Presença de canil	0,0	0,0	0,0	0,0
Presença de rio	0,0	0,0	0,0	0,0
Presença de rachadura de parede	12,5	7,1	16,7	16,7
Presença de pedras	12,5	14,3	16,7	16,7
Ambiente dedetizado há menos de três meses	0,0	0,0	0,0	0,0

Fonte: Dados da pesquisa (2021)

Como *E. canis* foi o patógeno mais prevalente do estudo e devido ao número pequeno da amostra, apenas para esse agente foi determinada a correlação entre a positividade da doença, histórico clínico e características ambientais. Observou-se que, os cães que possuíam acesso a rua e conviviam com outros animais (OR 0,98; p=0,971),

ou os que possuíam histórico de carrapatos e não utilizavam medicações ectoparasiticidas (OR 0,58; $p= 0,478$) não apresentaram, estatisticamente ($p<0,05$), maior probabilidade de serem positivos para *E. canis* nessa pesquisa. No entanto, quando comparados animais vacinados e não vacinados, foi observada maior prevalência de erliquiose neste último grupo ($p<0,03$), apesar de não haver vacina específica para esta enfermidade.

A positividade para *E. canis* não sofreu interferência estatística quando avaliada a presença de outros animais domésticos, e o tipo de ambiente que o animal morava, seja casa (OR 0,73; $p= 0,707$) ou apartamento. Vegetações como pasto, arbusto ou grama, assim como áreas verdes próximas as residências não demonstraram significância estatística. Também não houve correlação entre a positividade da doença com outras características que podem favorecer a aparecimento de *R. sanguineus*, como a presença de canis, rachaduras em paredes, pedras e a não dedetização do ambiente.

Ainda sobre análise de correspondência, que pode ser visualizada na Figura 1, observou-se que o histórico de presença de carrapatos e não uso de medicações contra esses vetores parecem estar mais presentes em cães positivos para *E. canis*. Ainda que, a única variável com significância estatística tenha sido o histórico de vacinação dos animais.

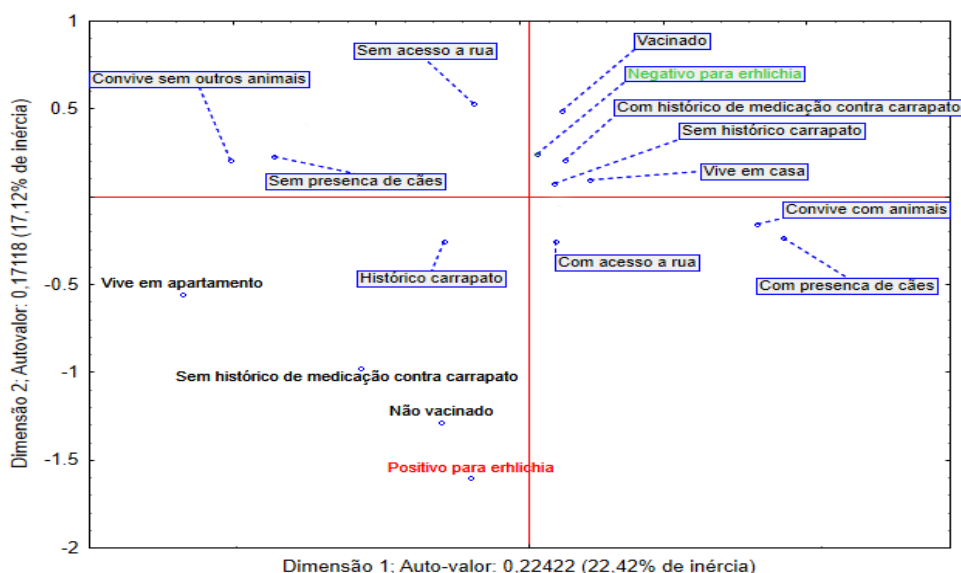


Figura 1 – Análise de correspondência do histórico clínico de cães atendidos em clínica particular do município de Mossoró/RN, frente a positividade de *Ehrlichia canis*, 2021.

DISCUSSÃO

Todos os patógenos transmitidos por *R. sanguineus* pesquisados foram detectados na população canina deste estudo, sendo *E. canis* (13,3%) o agente mais frequente. Doenças transmitidas por vetores são historicamente endêmicas em regiões tropicais (DANTAS-TORRES, 2008). Em algumas regiões brasileiras, como Goiânia/PE, a prevalência de *Ehrlichia* spp. pode chegar a 64,7%, sendo a infestação por *R. sanguineus* o principal fator de risco (DANTAS-TORRES et al., 2020). Já em diferentes áreas do Sudeste do Brasil, a prevalência dessa doença sofreu variações de 15% a 44,7% (MACIEIRA et al., 2005; COSTA et al., 2007). Em São Joaquim de Bicas/MG, Dantas-Torres et al. (2020) identificaram prevalência de 37,9%. O fato desta pesquisa ter englobado animais com ou sem sinais clínicos, além do número limitado da amostra, pode ter contribuído para uma menor quantidade de animais infectados.

O maior número de cães positivos para *E. canis*, quando comparado aos outros patógenos também foi identificado em estudo realizado por Rojas et. al (2014), com prevalência de 34% para *E. canis*, 10% para *A. platys*, 8,5% para *B. vogeli* e 7,5% para *H. canis*. Dados como esses permitem identificar o perfil epidemiológico de cada região, fornecendo informações sobre quais patógenos e doenças podem afetar os animais daquele local em maior prevalência.

Em regiões com alto nível de infestação por *R. sanguineus*, a coinfeção entre esses agentes é comum. Em estudo realizado por Sarma et al. (2019) na Índia, coinfeções entre *Babesia gibsoni*, *H. canis* e *B. vogeli* foram identificadas em 3% da população de cães estudada. Já Rojas et al. (2014) identificaram coinfeção entre *E. canis* e *B. vogeli* (8/18), assim como de *E. canis* e *A. platys* (4/18), *E. canis* e *H. canis* (3/18) e *A. platys* e *B. vogeli* (2/18). Nesses trabalhos, a presença de mais de um agente esteve associada com quadros clínicos mais severos, principalmente de anemia, demonstrando a importância do rastreamento de mais de um patógeno na prática veterinária.

As principais alterações clínicas encontradas nos cães participantes do estudo foram anemia, febre, perda de peso, anorexia, esplenomegalia e linfadenomegalia, além de lesões oculares e distúrbios gastrointestinais. Além das doenças pesquisadas, sinais como onicogrifose e alterações dermatológicas também podem estar relacionados a outros tipos de enfermidades, como leishmaniose visceral canina (QUEIROZ et al., 2010).

No caso da anaplasmosse, a infecção em fêmeas foi mais diagnosticada do que em cães, podendo estar relacionado à maior exposição que esses animais tiveram ao vetor da doença, quando comparado aos machos. Resultados semelhantes foram encontrados por

Selim et al. (2021) no Egito, com maior prevalência da doença em fêmeas, principalmente as da raça pastor alemão.

Cães com histórico de acesso à rua apresentaram maior positividade às doenças quando comparados àqueles que não saíam para passear, o que pode estar relacionado a maior exposição que esses animais podem ter ao vetor *R. sanguineus*. Em estudo realizado por Guedes et al. (2015) no município de Ituberá/BA, cães que tiveram contato com outros cães, domiciliados ou não, e que possuíam histórico de infestação por *R. sanguineus* apresentaram maior predisposição a infecção por *E. canis*.

O uso de medicações ectoparasiticidas está sabidamente associado a prevenção de hemoparasitoses em cães (DANTAS-TORRES, 2010, McTIER et al., 2016). Ainda assim, neste trabalho, mesmo os cães que faziam uso destes medicamentos apresentaram resultados positivos para erliquiose (75%), anaplasmose (78,6%), hepatozoonose (66,7%) e babesiose (66,7%). Neste caso, é importante considerar que maioria dos produtos disponíveis contra carrapatos possuem ação acaricida direta e controla os parasitas no próprio animal, porém, visto que 95% destes vetores ficam presentes no ambiente, um controle eficaz deve envolver também dedetizações periódicas no intra e peridomicílio habitado pelos cães (LABRUNA et al., 2001; McTIER et al., 2016).

Fatores como presença de árvores, rachaduras em paredes e acúmulo de pedras também foram visualizados no ambiente frequentado pelos animais positivos. Esses locais fornecem condições favoráveis ao desenvolvimento e permanência de *R. sanguineus*, favorecendo sua manutenção no ambiente e consequentemente a disseminação de doenças (DANTAS-TORRES, 2010).

Não foi possível correlacionar as características ambientais à positividade de *E. canis*, porém, as variáveis mais comuns nos animais reagentes foram a presença de árvores e quintais com vegetação. A correlação desses fatores com a presença de *R. sanguineus* tem sido estudada desde 1992, por Gilot et al. na França, sendo observado que casas com jardins são biótipos mais adequados para desenvolvimento de carrapatos que edifícios. No Japão, cães que tiveram contato com algum jardim duas semanas antes de serem avaliados clinicamente, também tiveram mais chances de serem infestados por carrapatos (SHIMADA et al., 2003). Um estudo realizado por González et al. (2016) demonstrou que quanto mais um cão estiver infestado por *R. sanguineus*, maior a possibilidade de ser soropositivo. Além disso, o número de cães por domicílio também foi determinado como fator de risco à positividade de *E. canis*.

Apesar de não haver vacina específica contra a erliquiose, os cães vacinados com vacinas polivalente contra viroses demonstraram ter menor probabilidade de adquirir a infecção por *E. canis*, assim como os cães que não possuíam histórico de carrapatos e faziam uso de medicações ectoparasiticidas. Em estudo realizado por Angelou et al. (2019) foi observado que os cães que não recebiam tratamento antiparasitário frequente, tendiam a ser soropositivos para *Ehrliquia* spp. quando comparados aos animais que os recebiam regularmente, destacando-se a necessidade do uso dessas medicações.

Mesmo que a maioria das variáveis ambientais não tenha apresentado significância estatística frente a positividade de erliquiose canina neste estudo, sabe-se que, ainda assim, atividades de intervenção ambiental, como a dedetização periódica do ambiente, podem ser realizadas para reduzir condições favoráveis ao desenvolvimento do vetor *R. sanguineus* e, conseqüentemente, as doenças transmitidas por esse vetor aos cães.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que *E. canis* foi o patógeno de maior prevalência encontrado nesse estudo, seguido de *A. platys*, *B. vogeli* e *H. canis*. Também foi diagnosticado coinfeção entre esses agentes, demonstrando a necessidade do rastreamento de mais de um patógeno em regiões endêmicas para doenças transmitidas por *R. sanguineus*.

As principais características ambientais que influenciaram na positividade de erliquiose canina foi a presença de árvores e vegetação nas residências. Fatores como histórico de carrapatos e não utilização de medicações antiparasitárias também foram relacionados a sua positividade, destacando a necessidade do uso dessas medicações.

O reconhecimento dessas características pode implicar na elaboração de estratégias de prevenção e controle, baseadas não somente nos cães como indivíduos, mas na interação destes com o ambiente em que vivem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGELOU, A., GELASAKIS, A. I., VERDE, N., PANTCHEV, N., SCHAPER, R., CHANDRASHEKAR, R., PAPADOPOULOS, E. Prevalence and risk factors for selected canine vector-borne diseases in Greece. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-11, 2019.

BANETH, G. Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 1, p. 3-11, 2011.

BARRADAS, P.F., MESQUITA, J.R., FERREIRA, P., AMORIM, I. et al. Detection of tick-borne pathogens in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and dogs from different districts of Portugal. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 6, p. 1015-36, 2020.

BARRANTES-GONZÁLEZ, A. V., JIMÉNEZ-ROCHA, A. E., ROMERO-ZUÑIGA, J. J., DOLZ, G. Serology, molecular detection and risk factors of *Ehrlichia canis* infection in dogs in Costa Rica. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 6, p. 1245-1251, 2016.

BULLA, C., TAKAHIRA, R. K., ARAÚJO JR, J. P., APARECIDATRINCA, L., LOPES, R. S., WIEDMEYER, C. E The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. **Veterinary Research**, v. 35, n. 1, p. 141-146, 2004.

COSTA JR, L.M., REMBECK, K., RIBEIRO, M.F.B., BEELITZ, P., PFISTER, K et al. Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 174, n. 3, p. 673-676, 2007

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 173-185, 2008.

DANTAS-TORRES, F., FIGUEREDO, L. A., DA SILVA SALES, K. G., DE OLIVEIRA MIRANDA et al. Prevalence and incidence of vector-borne pathogens in unprotected dogs in two Brazilian regions. **Parasites & vectors**, v. 13, n. 1, p. 1-7, 2020.

DANTAS-TORRES, F., OTRANTO, D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-25, 2014.

DANTAS-TORRES. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & vectors**, n. 3, v.26, 2010.

DUARTE, S.C., LINHARES, G.F.C., ROMANOWSKY, T.N., DA SILVEIRA NETO, O.J., BORGES, L.M.F. Assessment of primers designed for the subspecies-specific discrimination among *Babesia canis canis*, *Babesia canis vogeli* and *Babesia canis rossi* by PCR assay. **Veterinary parasitology**, v. 152, n. 1-2, p. 16-20, 2008.

GILOT B, LAFORGE ML, CABASSU JP, ROMANI M. Éléments pour la cartographie écologique des populations de *Rhipicephalus* du groupe sanguineus (Acariens, Ixodoidea) dans l'agglomération Marseillaise, en relation avec les diverses formes d'urbanisation. **Acarologia**, v. 33, n. 1, p. 17-33, 1992.

GONZÁLEZ, A.B., ROCHA, A.E.J., ZUNIGA, R., DOLZ, G. Serology, molecular detection and risk factors of *Ehrlichia canis* infection in dogs in Costa Rica. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 6, p. 1245-1251, 2016.

GRAY, J., DANTAS-TORRES, F., ESTRADA-PEÑA, A., LEVIN, M. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 4, n. 3, p. 171-180, 2013.

GUEDES, P.E.B., OLIVEIRA, T.N.A., CARVALHO, F.S., CARLOS, R.S.A. et al. Canine ehrlichiosis: prevalence and epidemiology in northeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 115-121, 2015.

KAUR, N., SINGH, H., SHARMA, P., SINGH, N. K., KASHYAP, N., & SINGH, N. K. Development and application of multiplex PCR assay for the simultaneous detection of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* in dogs. **Acta Tropica**, v. 212, p. 105713, 2020.

LABRUNA, M.B., PEREIRA, M.C. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 30, n. 1, p. 24-32, 2001.

LINDAHL, Johanna F.; GRACE, Delia. The consequences of human actions on risks for infectious diseases: a review. **Infection ecology & epidemiology**, v. 5, n. 1, p. 30048, 2015.

LORUSSO, V., DANTAS-TORRES, F., LIA, R.P., TARALLO, V.D., MENCKE, N., CAPELLI, G., OTRANTO, D. Seasonal dynamics of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*, on a confined dog population in Italy. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 24, n. 3, p. 309-315, 2010.

MACIEIRA, D.D.B., MESSICK, J.B., CERQUEIRA, A.D.M.F., FREIRE, I.M.A. et al. Prevalence of *Ehrlichia canis* infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 1, p. 44-48, 2005.

MATEI, I. A., D'AMICO, G., YAO, P. K., IONICĂ, A. M., KANYARI, P. W., DASKALAKI, A. A., MIHALCA, A. D A Molecular detection of *Anaplasma platys* infection in free-roaming dogs and ticks from Kenya and Ivory Coast. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, p. 1-8, 2016.

McTIER, T.L., SIX, R.H., FOURIE, J.J., PULLINS, A. et al. Determination of the effective dose of a novel oral formulation of sarolaner (Simparica™) for the treatment and month-long control of fleas and ticks on dogs. **Veterinary parasitology**, v. 222, p. 12-17, 2016.

QUEIROZ, N.M., ASSIS, J.D., OLIVEIRA, T.M., MACHADO, R.Z. et al. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 32-38, 2010.

ROJAS, A., ROJAS, D., MONTENEGRO, V., GUTIÉRREZ, R., YASUR-LANDAU, D., BANETH, G. Vector-borne pathogens in dogs from Costa Rica: first molecular

description of *Babesia vogeli* and *Hepatozoon canis* infections with a high prevalence of monocytic ehrlichiosis and the manifestations of co-infection. **Veterinary Parasitology**, v. 199, n. 3-4, p. 121-128, 2014.

RUCKSAKEN, R., MANEERUTTANARUNGROJ, C., MASWANNA, T., SUSSADEE, M., & KANBUTRA, P. Comparison of conventional polymerase chain reaction and routine blood smear for the detection of *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma platys* in Buriram Province, Thailand. **Veterinary world**, v. 12, n. 5, p. 700, 2019.

SARMA, K., NACHUM-BIALA, Y., KUMAR, M., BANETH, G. Molecular investigation of vector-borne parasitic infections in dogs in Northeast India. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2019.

SELIM, A., ALMOHAMMED, H., ABDELHADY, A., ALOUFFI, A., ALSHAMMARI, F. A. Molecular detection and risk factors for *Anaplasma platys* infection in dogs from Egypt. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 1-6, 2021.

SHIMADA Y, BEPPU T, INOKUMA H, OKUDA M, ONISHI T. Ixodid tick species recovered from domestic dogs in Japan. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 17, n. 1, p. 38-45, 2003.

TUCKER, N.S.G., WEEKS, E.N.I., BEATI, L., KAUFMAN, P.E. Prevalence and distribution of pathogen infection and permethrin resistance in tropical and temperate populations of *Rhipicephalus sanguineus* s.l. collected worldwide. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 35, n. 2, p. 147-157, 2021.

TURCHETTI, A. P. Perfil de expressão gênica e níveis de citocinas em macrófagos caninos com diferentes graus de susceptibilidade à infecção por *Leishmania infantum*. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária - UFMG. 2014.

WIKEL, S.K. Ticks and tick-borne infections: complex ecology, agents, and host interactions. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 2, p. 60, 2018

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos demonstraram que *E. canis* foi o patógeno de maior prevalência encontrado nesse estudo, seguido de *A. platys*, *B. vogeli* e *H. canis*. Também foi diagnosticado coinfeção entre esses agentes, demonstrando a necessidade do rastreamento de mais de um patógeno em regiões endêmicas para doenças transmitidas por *R. sanguineus*.

As principais características ambientais que influenciaram na positividade de erliquiose canina foi a presença de árvores e vegetação nas residências. Fatores como histórico de carrapatos e não utilização de medicações antiparasitárias também foram relacionados a sua positividade, destacando a necessidade do uso dessas medicações.

O reconhecimento dessas características pode implicar na elaboração de estratégias de prevenção e controle, baseadas não somente nos cães como indivíduos, mas na interação destes com o ambiente em que vivem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, T.R., WERNECK, G.L., ALMEIDA, A.S.D., FIGUEIREDO, F.B. Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 34, p. e00021117, 2018.

AGUIAR, C.L.G, PINTO, D.M, PAPPEN, F.G, FILHO, N.A.C, SANTOS, T.G.B, FARIAS, N.A.R. Parâmetros da fase de vida livre de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): adaptado ao clima subtropical. **Animal parasitology**, v.80, n. 4, p. 375-380, 2013.

AGUIAR, D. M., CAVALCANTE, G. T., PINTER, A., GENNARI, S. M., CAMARGO, L. M. A., LABRUNA, M. B. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. **Journal of medical entomology**, v. 44, n. 1, p. 126-132, 2007.

ALMEIDA, A.S.D., WERNECK, G.L., RESENDES, A.P.D.C. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 30, p. 1639-1653, 2014.

ALMOSNY, N.R.P., MASSARD, C.L. Eriiquiose em pequenos animais domésticos e como zoonoses. In: Almosny, N.R.P. (1st Ed.), Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses. L.F. Livros de Veterinária, Rio de Janeiro, pp. 13-56, 2002.

BAJER, A., MIERZEJEWSKA, A., RODO, A., WELC-FALECIAK, R. The risk of vector-borne infections in sled dogs associated with existing and new endemic areas in Poland. Part 2: occurrence and control of babesiosis in a sled dog kennel during a 13-year long period, **Veterinary parasitology**, v. 202, n. 3-4, p. 234-240, 2014.

BANETH, G. Antiprotozoal treatment of canine babesiosis. **Veterinary parasitology**, v. 254, p. 58-63, 2018.

BECK, R., VOJTA, L., MRLJAK, V., MARINCULIC, A., BECK, A., ZIVICNJAK, T. et al. Diversity of Babesia and Theileria species in symptomatic and asymptomatic dogs in Croatia, **International journal for parasitology**, v. 39, n. 7, p. 843-848, 2009.

CASTRO, M.B, MACHADO, R.Z, AQUINO, L.P.T.C., ALESSI, A.C., COSTA, M.T. Experimental acute canine monocytic ehrlichiosis: clinicopathological and immunopathological findings. **Veterinary Parasitology**, v. 119, n. 1, p. 73-86, 2004.

CHOMEL, B. Tick-borne infections in dogs—an emerging infectious threat. **Veterinary parasitology**, v. 179, n. 4, p. 294-301, 2011.

CICUTTIN, G.L., DE SALVO, M,N., DOHMEN, F.E. Molecular characterization of *Ehrlichia canis* infecting dogs, Buenos Aires. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 5, p. 954-957, 2016.

COSTA, F.B. Soroepidemiologia e epidemiologia molecular das infecções por *Rickettsia* spp. em cães e carrapatos de ambiente urbano e rural do estado do Maranhão. 115f. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2014.

COSTA, J.O., SILVA, M., BATISTA, J.J.A., GUIMARÃES, M.P. *Ehrlichia canis* infection in dogs in Belo Horizonte – Brazil. *Arquivos da Escola de Veterinária da Universidade de Minas Gerais*, v. 25, p. 199-200, 1973.

COSTA-JÚNIOR, L.M., REMBECK, K., PASSOS, L.M.F, RIBEIRO, M.F.B. Factors associated with epidemiology of *Anaplasma platys* in dogs in rural and urban areas of Minas Gerais State, Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 109, n. 3-4, p. 321-326, 2013.

DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 173-185, 2008.

DANTAS-TORRES, F., ALEXANDRE, J., MIRANDA, D.E.O., FIGUEREDO, L.A. et al. Molecular epidemiology and prevalence of babesial infections in dogs in two hyperendemic foci in Brazil. **Parasitology Research**, p. 1-7, 2021.

DANTAS-TORRES, F., FIGUEREDO, L.A., OTRANTO, D. Seasonal variation in the effect of climate on the biology of *Rhipicephalus sanguineus* in southern Europe. **Parasitology**, v. 138, n. 4, p. 527-536, 2011.

DANTAS-TORRES, F., MELO, M.F., FIGUEREDO, L.A., BRANDÃO-FILHO, S.P. Ectoparasite infestation on rural dogs in the municipality of São Vicente Férrer, Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de parasitologia veterinária**, v. 18, n. 3, p. 75-77, 2009.

DANTAS-TORRES, F., OTRANTO, D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-25, 2014.

DANTAS-TORRES. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites & vectors**, n. 3, v.26, 2010.

ESTRADA-PEÑA, A., GRAY, J.S., KAHL, O., LANE, R.S., NIJHOFF, A. M. Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens—methodological principles and caveats. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 3, p. 29, 2013.

FILHO, J.M. Competência vetorial de carrapatos do grupo *Rhipicephalus sanguineus* do Brasil, Argentina e Uruguai para transmissão da bactéria *Ehrlichia canis*, agente etiológico da erliquiose monocítica canina. SÃO PAULO, 2013.

FUENTE, J., KOCAN, K.M., CONTRERAS, M. Prevention and control strategies for ticks and pathogen transmission. **Revue Scientifique et technique (International office of epizootics)**, n. 34, v. 1, p. 249-264, 2015.

GOMES, L., MORAES, P.H.G., NASCIMENTO, L.D.C.S., O'DWYER, L.H. et al. Molecular analysis reveals the diversity of Hepatozoon species naturally infecting domestic dogs in a northern region of Brazil. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 7, n. 6, p. 1061-1066, 2016.

GRAY, J., DANTAS-TORRES, F., ESTRADA-PEÑA, A., LEVIN, M. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 4, n. 3, p. 171-180, 2013.

HANSFORD, K.M., PHIPPS, L.P., CULL, B., PIETZSCH, M.E., MEDLOCK, J.M. *Rhipicephalus sanguineus* importation into the UK: surveillance, risk, public health awareness and One Health response. **Veterinary Record**, v. 180, n. 5, p. 119-119, 2017.

HARRUS, S., WANER, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. *Vet. J.* 187, 292–296, 2011.

IRWIN, P.J. Canine babesiosis. ***Veterinary Clinics: Small Animal Practice***, v. 40, n. 6, p. 1141-1156, 2010.

JONGEJAN, F., UILENBERG, G. The global importance of ticks. ***Parasitology-Cambridge***, v. 129, p. S3, 2004.

KAEWKONG, W., INTAPAN, P. M., SANPOOL, O., JANWAN, P., THANCHOMNANG, T., KONGKLIENG, A., MALEEWONG, W. High throughput pyrosequencing technology for molecular differential detection of *Babesia vogeli*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in canine blood samples. ***Ticks and tick-borne diseases***, v. 5, n. 4, p. 381-385, 2014.

LABRUNA, M.B., PEREIRA, M.C. Carrapato em cães no Brasil. ***Clínica Veterinária***, v. 30, n. 1, p. 24-32, 2001.

LARA, B., CONAN, A., THRALL, M. A., KETZIS, J. K., BRANFORD, G. C., RAJEEV, S. Serologic and Molecular Diagnosis of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* Infection in Dogs in an Endemic Region. ***Pathogens***, v. 9, n. 6, p. 488, 2020.

LI, X.W., ZHANG, X.L., HUANG, H.L., LI, W.J., WANG, S.J. et al. Prevalence and molecular characterization of *Babesia* in pet dogs in Shenzhen, China. ***Comparative immunology, microbiology and infectious diseases***, v. 70, p. 101452, 2020.

LINARDI, P.M.; NAGEM, R.L. Pulicídeos e outros ectoparasitos de cães de Belo Horizonte e municípios vizinhos. ***Revista Brasileira de Biologia***, v.33, n.4, p. 529–538, 1973.

LITTLE, S.E. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. ***Veterinary Clinics: Small Animal Practice***, v. 40, n. 6, p. 1121-1140, 2010.

LUZ, H.R., MATHIAS, C., FACCINI, J.L.H. Carrapatos parasitando cães em área insular do estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil. ***Revista Brasileira de Medicina Veterinária***, v. 36, n.4, p. 437-442, 2014.

- MAGGI, R.G., KRÄMER, F. A review on the occurrence of companion vector-borne diseases in pet animals in Latin America. **Parasites & vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-37, 2019.
- MAHACHI, K., KONTOWICZ, E., ANDERSON, B., TOEPP, A. J., LIMA, A. L., LARSON, M., PETERSEN, C. A. Predominant risk factors for tick-borne co-infections in hunting dogs from the USA. **Parasites & vectors**, v. 13, p. 1-12, 2020.
- MIRANDA, R.L., O'DWYER, CASTRO, L.H., METZGER, J.R. et al. Prevalence and molecular characterization of *Hepatozoon canis* in dogs from urban and rural areas in Southeast Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 97, n. 2, p. 325-328, 2014.
- MONGRUEL, A.C.B., IKEDA, P., SOUSA, K.C.M.D., BENEVENUTE, J.L. et al. Molecular detection of vector borne pathogens in anemic and thrombocytopenic dogs in southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, p. 505-513, 2018.
- MORAES-FILHO, J., MARCILI, A., NIERI-BASTOS, F. A., RICHTZENHAIN, L. J., et al. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. **Acta tropica**, v. 117, n. 1, p. 51-55, 2011.
- NAKAGHI, A.C.H., MACHADO, R.Z., COSTA, M.T., ANDRÉ, M.R., BALDANI, C.D. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Ciência Rural**, v. 38, p. 766-770, 2008.
- NEER, T. M. Canine monocytic granulocytic ehrlichiosis. In: GREENE, C. E. (Ed). *Infectious Disease of the Dog and Cat*. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p. 139-147.
- NOGUEIRA, F.R. Revisão de literatura: Complexo *Rhipicephalus sanguineus*. São Paulo, 2018.
- OJEDA-CHI, M. M., RODRIGUEZ-VIVAS, R. I., ESTEVE-GASENT, M. D., PÉREZ DE LEÓN et al. Ticks infesting dogs in rural communities of Yucatan, Mexico and molecular diagnosis of rickettsial infection. **Transboundary and emerging diseases**, v. 66, n. 1, p. 102-110, 2019.

PAULINO, P.G., PIRES, M.S., SILVA, C.B., PECKLE, M. et al. Epidemiology of *Ehrlichia canis* in healthy dogs from the Southeastern region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 159, p. 135-142, 2018.

PENZHORN, B.L. Don't let sleeping dogs lie: unravelling the identity and taxonomy of *Babesia canis*, *Babesia rossi* and *Babesia vogeli*. **Parasites & vectors**, v. 13, n. 1, p. 1-9, 2020.

RANDOLPH, S.E., ROGERS, D.J. The arrival, establishment and spread of exotic diseases: patterns and predictions. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 5, p. 361-371, 2010.

RUCKSAKEN, R., MANEERUTTANARUNGRUJ, C., MASWANNA, T., SUSSADEE, M., KANBUTRA, P. Comparison of conventional polymerase chain reaction and routine blood smear for the detection of *Babesia canis*, *Hepatozoon canis*, *Ehrlichia canis*, and *Anaplasma platys* in Buriram Province, Thailand. **Veterinary world**, v. 12, n. 5, p. 700, 2019.

SAINZ, Á., ROURA, X., MIRÓ, G., ESTRADA PEÑA, A., KOHN, B., HARRUS, S., SOLANO GALLEGO, L. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 1-20, 2015.

SAITO, T.B., WALKER, D.H. Ehrlichioses: An important one health opportunity. **Veterinary sciences**, v. 3, n. 3, p. 20, 2016.

SEMENZA, J.C., SUK, J.E. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. **FEMS microbiology letters**, v. 365, n. 2, p. fnx244, 2018.

SERRA-FREIRE, N.M, SENA, L.M.M, BORSOI, A.B. Parasitismo humano por carrapatos na Mata Atlântica do Rio de Janeiro, Brasil. **Ebras Bio**, 2011.

SILVA, L.S. Erliquiose e anaplasnose canina em Teresina, Piauí. Piauí, 2010.

SILVA, S.R. Levantamento epidemiológico de carrapatos em cães assistidos em duas unidades privadas de serviço de saúde animal na zona oeste da cidade de Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2016.

SILVEIRA, J.A., PASSOS, L.M., RIBEIRO, M.F. Population dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Latrielle, 1806) in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 161, n. 3-4, p. 270-275, 2009.

SOLANO-GALLEGO, L., BANETH, G. Babesiosis in dogs and cats—expanding parasitological and clinical spectra. **Veterinary parasitology**, v. 181, n. 1, p. 48-60, 2011.

TOMMASI, A.S., OTRANTO, D., DANTAS-TORRES, F., CAPELLI, G. et al. Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs? **Parasites & vectors**, v. 6, n. 1, p. 1-5, 2013.

UILENBERG, G., FRANSSSEN, F.F.J., PERIÉ, N.M., SPANJER, A.A.M. Three groups of *Babesia canis* distinguished and a proposal for nomenclature. **Veterinary Quarterly**, v. 11, n. 1, p. 33-40, 1989.

USPENSKY, I. Ticks (Acari: Ixodoidea) as urban pests and vectors with special emphasis on ticks outside their geographical range. In: SIXTH INTERNATIONAL CONFERENCE ON URBAN PESTS, 2008, Veszprém. pp. 333–347.

VIEIRA, R.F.C., BIONDO, A.W.A., GUIMARÃES, A.M.S., SANTOS, A.P., SANTOS, R.P., DUTRA, L.H., DINIZ, P.P., MORAIS, H.A., MESSICK, J.B., LABRUNA, M.B., VIDOTTO, O., 2011. Ehrlichiosis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, p. 01-12, 2011.

VOJTA, L., MRLJAK, V., ĆURKOVIĆ, S., ŽIVIČNJAK, T., MARINCULIĆ, A., et al. Molecular epizootiology of canine hepatozoonosis in Croatia. **International journal for parasitology**, v. 39, n. 10, p. 1129-1136, 2009.

WALKER, J.B.; KEIRANS, J.E.; HORAK, I.G. (ed.). The genus *Rhipicephalus* (Acari: Ixodidae): a guide to the brown ticks of the world. Cambridge University Press: Cambridge, 2000. 655p.

WELZL, C., LEISEWITZ, A.L., JACOBSON, L.S., VAUGHAN-SCOTT, T. MYBURGH, E. Systemic inflammatory response syndrome and multiple-organ damage/dysfunction in complicated canine babesiosis. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 72, n. 3, p. 158-162, 2001.

ZARDO, I.L., PEREIRA, M.L. Segurança, eficácia e praticidade dos ectoparasitas para pulgas e carrapatos de cães e gatos. **Investigação**, v.18, n.4, 2019.

APÊNDICES

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Título da pesquisa: Doenças transmitidas por vetores em cães no semiárido potiguar - Epidemiologia e alterações clinicopatológicas

Pesquisador responsável: Juliana Fortes Vilarinho Braga

Telefone para contato: (84) 3317-8540 (ramal 1433) / (84) 99700-5667

Instituição/Departamento: Universidade Federal Rural do Semi-Árido/Departamento de Ciências Animais

Local da coleta de dados: Hospital Veterinário Jerônimo Dix-huit Rosado Maia (HOVET)/UFERSA

- Você está sendo convidado(a) a participar desta pesquisa de forma totalmente **voluntária**.
- Antes de concordar em participar desta pesquisa, é muito importante que você compreenda as informações e instruções que lhe foram repassadas.
- Os pesquisadores deverão responder todas as suas dúvidas antes de você decidir participar.
- Você tem o direito de **desistir** de participar da pesquisa a qualquer momento, sem nenhuma penalidade e sem perder os benefícios aos quais tenha direito.

Objetivo do estudo: Determinar a ocorrência de patógenos transmitidos por vetores e os aspectos epidemiológicos e alterações clinicopatológicas associados à infecção em cães sob suspeita clínica no semiárido potiguar.

Procedimentos: Sua participação nesta pesquisa consistirá apenas em autorizar a coleta de amostras de sangue para pesquisa de DNA de patógenos por Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) e Dual Plath Platarform (TR DPP®, Bio-Manguinhos, Fiocruz) e amostras de sangue periférico e medula de seu cão, além de responder aos questionamentos sobre histórico e sinais clínicos que o seu animal está e/ou esteve manifestando.

Benefícios: Esta pesquisa trará conhecimento sobre a ocorrência das doenças transmitidas por vetores em cães de nosso estado, o que resultará em benefícios no diagnóstico, tratamento e prevenção dessas enfermidades. A pesquisa não trará benefício direto para você.

Riscos: A participação nesta pesquisa não representará qualquer risco de ordem física ou psicológica para você ou para o seu animal. Para ele, pode haver um desconforto mínimo durante a realização da coleta de amostras, caso o animal fique agitado.

Custos/Reembolso para os participantes: Os participantes da pesquisa não arcarão com nenhum gasto decorrente da sua participação (questionário, exames laboratoriais e acesso ao resultado de seu animal), assim como não receberão qualquer espécie de reembolso ou gratificação devido à participação na pesquisa.

Sigilo: As informações fornecidas por você serão confidenciais e de conhecimento apenas dos pesquisadores responsáveis. Os dados dos cães da pesquisa não serão divulgados de forma individual, mas sim como grupos, no que se refere a sexo, raça e idade dos mesmos no final de pesquisa.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, RG _____, CPF _____, declaro que li as informações contidas nesse documento e fui devidamente informado(a) dos procedimentos que serão utilizados, riscos e desconfortos, benefícios, custo/reembolso dos participantes e confidencialidade da pesquisa, Concordo em participar da pesquisa e, portanto, autorizo a coleta das amostras de meu cão NOME _____, IDADE _____, SEXO _____ e RAÇA _____. Foi-me garantido que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade. Declaro, ainda, que recebi uma cópia deste Termo de Consentimento.

Mossoró/RN, _____ de _____ de _____

Assinatura do responsável

APÊNDICE B

FICHA CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

IDENTIFICAÇÃO		
Animal Nº:	Nome:	Ficha clínica:
Sexo:	Idade:	Raça:
Peso:	Outras informações:	
Tutor:		Fone:
Endereço:		
Suspeita clínica:		

HISTÓRICO DO ANIMAL			
<i>Questionamento</i>	<i>Sim</i>	<i>Não</i>	<i>Observações</i>
Tem acesso à rua?			
É vacinado? Qual?			
Convive com outros animais?			
Sadios?			
Histórico de carrapatos?			
Usa medicação para controle de carrapatos?			

EXAME CLÍNICO			
<i>Alteração clínica</i>	<i>Si</i>	<i>Nã</i>	<i>Observações</i>
	<i>m</i>	<i>o</i>	
Sem alterações			
Ectoparasitas			
Apatia			
Anorexia/hiporexia			
Perda de peso			
Desidratação			
Polidipsia			
Poliúria			
Hemoglobinúria			
Claudicação			
Onicogribose			
Mucosas hipocoradas			
Icterícia			
Edema			
Petéquias			
Epistaxe			
Febre			
Conjuntivite			
Esplenomegalia			
Hepatomegalia			
Linfadenomegalia			

<i>Alteração clínica</i>	<i>Si m</i>	<i>Nã o</i>	<i>Observações</i>
Alterações nervosas			
Alterações oftálmicas			
Alterações digestivas			
Alterações respiratórias			
Alterações urinárias			
Alterações reprodutivas			
Alterações dermatológicas			Localização:
Úlceras			
Nódulos			
Seborreia			
Outras:			

RESULTADOS DOS EXAMES

<i>Esfregaço de sangue periférico</i>	<i>Positiv o</i>	<i>Negati vo</i>	<i>Observação</i>
<i>Anaplasma platys</i>			
<i>Babesia sp.</i>			
<i>Ehrlichia sp.</i>			
<i>Hepatozoon sp.</i>			
<i>Leishmania sp.</i>			
<i>Outros</i>			
<i>PCR</i>	<i>Positiv o</i>	<i>Negati vo</i>	<i>Observação</i>
<i>Anaplasma platys</i>			
<i>Babesia sp.</i>			
<i>Ehrlichia sp.</i>			
<i>Hepatozoon sp.</i>			
<i>Leishmania sp.</i>			

Outras informações relevantes

APÊNDICE C

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – CLASSIFICAÇÃO DE IMÓVEIS

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMIÁRIDO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE

Este é um convite para você participar da pesquisa: **Validação de Protocolo de Manejo Ambiental Para Controle de *Lutzomyia longipalpis* Em Áreas Endêmicas Para Leishmaniose Visceral**, a qual é coordenada por Prof.^a Dr.^a Sthenia Santos Albano Amora, e que segue as recomendações da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares.

Sua participação é voluntária, o que significa que você poderá desistir a qualquer momento, retirando seu consentimento, sem que isso lhe traga nenhum prejuízo ou penalidade.

Esse trabalho tem como objetivo validar o protocolo de manejo ambiental para controle da população de flebotomíneos no município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Caso decida aceitar o convite, você será submetido(a) ao(s) seguinte(s) procedimentos: ter o seu imóvel classificado quanto a parâmetros ambientais favoráveis ao desenvolvimento de vetores.**

Os riscos envolvidos com sua participação são: desconforto, medo e constrangimento, que serão minimizados através das seguintes providências: esclarecimento sobre a finalidade da pesquisa, garantia de privacidade durante a realização da classificação, do sigilo de identidade pessoal e das informações obtidas. Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: a realização de práticas de manejo ambiental para controlar o vetor da Leishmaniose Visceral no seu domicílio e peridomicílio; assim como a participação em atividades de educação e saúde com base nos resultados da classificação e esclarecimento de dúvidas sobre a Leishmaniose Visceral (Calazar).

Todas as informações obtidas serão sigilosas e seu nome não será divulgado em nenhum momento. Os dados obtidos nessa pesquisa serão consolidados em material impresso e arquivados na sala da profa coordenadora do projeto na instituição proponente por um período de 05 anos e serão obtidos especificamente para os propósitos da pesquisa, tudo sobre a responsabilidade da Prof.^a Sthenia S. A. Amora.

Se você tiver algum gasto que seja devido à sua participação na pesquisa, você será ressarcido pela pesquisadora responsável pelo projeto, a Prof.^a Sthenia S. A. Amora, caso solicite. Em qualquer momento, se você sofrer algum dano comprovadamente decorrente desta pesquisa, você terá direito a indenização.

Você ficará com uma via deste Termo e toda a dúvida que você tiver a respeito desta pesquisa, poderá perguntar diretamente a: Prof.^a Dr.^a Sthenia Santos Albano Amora, no endereço: Av. Francisco Mota, 572, Costa e Silva, Mossoró-RN ou pelo telefone (84) 3317-8538.

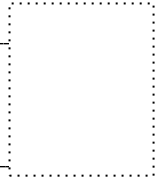
Declaramos que Dúvidas a respeito da ética dessa pesquisa poderão ser questionadas ao Comitê de Ética em Pesquisa da UERN no endereço Avenida Professor Antônio Campos, s/nº, BR 110, km 48 – Campus Central – UERN, Bairro Presidente Costa e Silva, ou pelo telefone (84) 3312-7032.

Consentimento Livre e Esclarecido

Declaro que compreendi os objetivos desta pesquisa, como ela será realizada, os riscos e

benefícios envolvidos e concordo em participar voluntariamente da pesquisa “Validação de Protocolo de Manejo Ambiental Para Controle de *Lutzomyia longipalpis* Em Áreas Endêmicas Para Leishmaniose Visceral”.

Nome Completo: _____



Assinatura do Participante da Pesquisa

Pesquisador responsável:

Prof^a. Dr^a. Sthenia Santos Albano Amora

Endereço profissional: Av. Francisco Mota, 572, Bairro Costa e Silva, fone: (84) 3317-8538/ Comitê de Ética e Pesquisa: Avenida Professor Antônio Campos, s/nº, BR 110, km 48 – Campus Central – UERN, (84) 3312-7032.

APÊNDICE D

FATORES DE RISCO PARA DOENÇAS TRANSMITIDAS POR *Rhipicephalus sanguineus*

Característica/Fator	Sim	Não	Detalhar o que foi observado
Presença de animais domésticos			() cão () outro Quantos? _____
Tipo de ambiente			() casa () apartamento
Presença de árvores ou madeira em decomposição			
Presença de vegetação na residência			() pasto () grama () arbustos () jardim
Área verde próximo a residência			
Cão com acesso à rua			
Presença de canil			
Presença de rio, lago ou córrego próximo a residência			
Presença de rachadura nas paredes			
Presença de pedras ou materiais de construção acumulados			
O ambiente é dedetizado para carrapatos?			() a cada três meses () a cada seis meses () uma vez por ano Qual princípio ativo? _____