

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E DE POTENCIAIS
BIOMARCADORES NA INFECÇÃO CANINA POR *Leishmania* spp. E
Ehrlichia canis

NATÁLIA ALMEIDA FROTA SANTOS

Aracaju
Junho – 2023

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E DE POTENCIAIS
BIOMARCADORES NA INFECÇÃO CANINA POR *Leishmania* spp. E
*Ehrlichia canis***

Dissertação de mestrado submetida à banca
examinadora para a obtenção do título de
Mestre em Saúde e Ambiente, na área de
concentração Saúde e Ambiente

NATÁLIA ALMEIDA FROTA SANTOS

Orientadoras
Prof^a Dr^a. Cláudia Moura de Melo
Prof^a Dr^a. Mara Cristina Pinto

Aracaju
Junho – 2023

S237i Santos, Natália Almeida Frota
Investigação epidemiológica e de potenciais biomarcadores na
infecção canina por Leishmaniose spp. e Ehrlichia canis/ Natália Almeida Frota
Santos; orientação [de] Prof.^a Dr.^a Claudia Moura de Melo, Prof.^a Dr.^a Mara Cristina
Pinto – Aracaju/ SE: UNIT, 2023.

100 f. il; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Tiradentes 2023

1.Composo orgânico volátil 2. Fatores de risco 3. Leishmaniose visceral
canina 4. NDVI I. Santos, Natália Almeida Frota II. Melo, Claudia Moura de (orient.).
III. Pinto, Mara Cristina (orient.). IV. Universidade Tiradentes. V. Título.

CDU: 616.993.161

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E DE POTENCIAIS BIOMARCADORES NA INFECÇÃO CANINA POR *Leishmania* spp. E *Ehrlichia canis*

Natália Almeida Frota Santos

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA À BANCA EXAMINADORA PARA A
OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM SAÚDE E AMBIENTE, NA ÁREA DE
CONCENTRAÇÃO SAÚDE E AMBIENTE.

Aprovada por:

Documento assinado digitalmente
 CLAUDIA MOURA DE MELO
Data: 27/06/2023 19:07:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Cláudia Moura de Melo (Orientadora PSA/Unit)

Mara Cristina
Pinto:11940588847

 Assinado de forma digital por Mara Cristina
Pinto:11940588847
Dados: 2023.06.30 09:31:50 -03'00'

Dra. Mara Cristina Pinto (Coorientadora Unesp/Araraquara)

Documento assinado digitalmente
 JAIRO TORRES MAGALHAES JUNIOR
Data: 28/06/2023 10:51:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dr. Jairo Torres Magalhães Júnior (Examinador Externo/UFOB)

Documento assinado digitalmente
 MARIA NOGUEIRA MARQUES
Data: 27/06/2023 13:11:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Maria Nogueira Marques (Examinadora Interna PSA/Unit)

Aracaju
Junho – 2023

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Cláudia Moura de Melo, minha orientadora, por acreditar sempre em mim, desde a iniciação científica até o mestrado, pela parceria construída nesses anos, por ter transformado um ambiente acadêmico em um ambiente familiar, so tenho a agradecer;

À Prof^a Dr^a Veronica e ao Prof^o Dr^o Rubens, também pela parceria, carinho, pelas caronas até interior para fazer coleta e aguentar as minhas dúvidas de estatística;

À Prof^a Dr^a Mara, pela orientação e persistência em um tema inovador e relevante. A Dr^a Flávia e ao Dr^o Christian, pela parceria no desenvolvimento do trabalho;

Aos amigos do LDIP e LBT, em especial Aline, Bianca, Douglas e Felipe;

Ao aluno de iniciação científica Fábio, por ter encarado o tema e me ajudado principalmente nas coletas com os cães, que não foi fácil. Desejo todo sucesso;

Ao Laboratório Central de Saúde Pública de Sergipe pela realização do diagnóstico e pela parceria;

À CAPES/PROSUP pela bolsa concedida;

À Fapitec pela bolsa de iniciação científica concedida;

Ao CNPq pelo auxílio financeiro;

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Ambiente da Universidade Tiradentes.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos Específicos	11
3. REVISÃO DE LITERATURA	12
3.1 Leishmaniose Visceral Canina	12
3.2 Aspectos Eco-epidemiológicos da Leishmaniose Visceral Canina	15
3.3 Leishmaniose Visceral no Nordeste do Brasil	18
3.4 Erliquiose Monocítica Canina	21
3.5 Aspectos Eco-epidemiológicos da Erliquiose Monocítica Canina	23
3.6 Interação Parasito-Hospedeiro	25
3.7 Compostos Orgânicos Voláteis como Biomarcadores para a Leishmaniose	27
4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1 Área de estudo	29
4.2 Animais	30
4.3 Coleta de Amostras Biológicas	30
4.4 Análise Geoespacial	31
4.4.1 Análise dos dados geoespaciais	32
4.5 Condições de criação e Avaliação Clínica	32
4.5.1 Análise dos dados clínico-laboratoriais	32
4.6 Avaliação de infecção canina por <i>Ehrlichia canis</i>	32
4.6.1 Análise dos dados	33
4.7 Extração e Identificação de Compostos Orgânicos Voláteis (COV) de Pelos Caninos	33
4.7.2 Análise de dados Cromatográficos	34
4.8 Aspectos Éticos	34
5 RESULTADOS	35
5.1 Artigo 1 - Análise espacial do risco para leishmaniose visceral canina em área urbana do estado de Sergipe	36
5.2 Artigo 2 - Avaliação dos sinais clínicos e COVS em cães naturalmente infectados para Erliquiose no Estado de Sergipe	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	83
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	84
ANEXOS	93
ANEXO I - Certificado de aprovação do CEUA	94
ANEXO II - Comprovante de cadastro no SisGen	95
ANEXO III - Parecer Comitê de Ética em Pesquisa.....	96
ANEXO IV - Siglas dos compostos orgânicos voláteis identificados	100

RESUMO

Dentre as doenças transmitidas por artrópodes, a Leishmaniose Visceral (LV) Canina e a Erliquiose Monocítica Canina (EMC) vem crescendo no mundo inteiro, tornando-se enfermidades de importância zoonótica e compreendem problemas de saúde pública. A LV Canina é causada por um tripanossomatídeo da espécie *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e a EMC, pela bactéria *Ehrlichia canis*, sendo o cão principal hospedeiro. Com a expansão dessas doenças, faz-se necessário a compreensão da dinâmica e relação do vetor flebotomíneo e carrapato, e o hospedeiro canino. Uma vez que, há compostos cairomônios que podem induzir o comportamento do vetor em cães que estejam infectados. Assim sendo utilizado uma nova abordagem para avaliação dos Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) produzidos pelos hospedeiros infectados. Dessa forma, o objetivo do estudo foi avaliar os aspectos epidemiológicos e os compostos orgânicos voláteis, presentes em pelos de cães, associados à infecção canina por *Leishmania* spp. e *Ehrlichia canis* em área endêmica do Nordeste brasileiro. Foram coletadas amostras sanguíneas dos cães para a realização do teste Ensaio Imunoenzimático indireto e teste rápido para *Ehrlichia canis*, como também de amostras de pelos para associação dos COVs identificados por GC-MS à infecção, avaliação dos fatores de risco relacionados a criação do cão, sinais clínicos externos e ambiental. Dos cães avaliados, 13 (18,05%; n = 72) foram reagentes para LV canina e 40 (52,63%; n = 76) reagentes para *Ehrlichia canis*, sendo 7 (10,14%) coinfectados para as duas enfermidades. Os fatores de risco associados a infecção para LV canina, foram ter entre 06 meses a 1 ano (p = 0.0207), sintomatologia aparente (p = 0.0276), alterações no focinho (p = 0.0149), oftalmológicas (p = 0.0056), nos ouvidos (p = 0.0173), na pele e anexos (p = 0.0365), na mucosa (p = 0.0224) e a cobertura vegetal (p < 0.0001). Já para EMC, foram associados ao tipo de criação (p = 0.0028), alimento preparado em casa (p = 0.0484) e mista (p = 0.0030), o não uso da coleira antiparasitária (p = 0.0011), não encaminhar ao veterinário (p = 0.0039), raça não definida (p = 0.0058), ter entre 2 anos e 4 anos (p = 0.0375) e estar com carrapato (p = 0.0010). Foram identificados 58 compostos, nove foram encontrados somente em cães soropositivos para LV canina e 10 para EMC. Não foi possível associar a infecção aos COVs, mesmo que na EMC tenha apresentado uma tendência a agrupamento entre algumas substâncias. A postura do tutor frente aos cuidados ao animal, tem se revelado cada vez mais importante, sendo necessária mais atenção à sinais clínicos externos do cão e ações direcionadas a gestão ambiental na tentativa de diminuir os casos de LV canina e EMC no estado. Os COVs aqui identificados não foram relacionados a infecção, contudo, foi encontrado compostos isolados em cães soropositivos, abrindo margens para novos trabalhos.

Palavra-chave: Composto Orgânico Volátil; Fatores de risco; Leishmaniose Visceral Canina; NDVI

ABSTRACT

Among the diseases transmitted by arthropods, Canine Visceral Leishmaniasis (VL) and Canine Monocytic Ehrlichiosis (CME) have been growing worldwide, becoming diseases of zoonotic importance and comprising public health problems. Canine VL is caused by a trypanosomatid of the species *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* and CME is caused by the bacterium *Ehrlichia canis*, the dog being the main host. With the expansion of these diseases, it is necessary to understand the dynamics and relationship between the sandfly vector and tick, and the canine host. Since there are kairomone compounds that can induce vector behavior in dogs that are infected. Therefore, a new approach was used to evaluate Volatile Organic Compounds (VOCs) produced by infected hosts. Therefore, the objective of the study was to evaluate the epidemiological aspects and volatile organic compounds, present in dog hair, associated with canine infection by *Leishmania* spp. and *Ehrlichia canis* in an endemic area of Northeastern Brazil. Blood samples were collected from the dogs to perform the indirect immunoenzymatic assay test and rapid test for *Ehrlichia canis*, as well as hair samples to associate the VOCs identified by GC-MS with the infection, evaluation of risk factors related to dog breeding, external and environmental clinical signs. Of the dogs evaluated, 13 (18.05%; n = 72) were reactive for canine VL and 40 (52.63%; n = 76) were reactive for *Ehrlichia canis*, with 7 (10.14%) co-infected for both diseases. The risk factors associated with canine VL infection were being between 06 months and 1 year old (p = 0.0207), apparent symptoms (p = 0.0276), changes in the muzzle (p = 0.0149), ophthalmological changes (p = 0.0056), in the ears (p = 0.0173), skin and appendages (p = 0.0365), mucosa (p = 0.0224) and vegetation cover (p < 0.0001). As for EMC, they were associated with the type of rearing (p = 0.0028), food prepared at home (p = 0.0484) and mixed (p = 0.0030), not using an antiparasitic collar (p = 0.0011), not referring to the veterinarian (p = 0.0039), race not defined (p = 0.0058), being between 2 years and 4 years old (p = 0.0375) and having a tick (p = 0.0010). 58 compounds were identified, nine were found only in dogs seropositive for canine VL and 10 for CME. It was not possible to associate the infection with VOCs, even though CME showed a tendency for some substances to group together. The guardian's attitude towards animal care has become increasingly important, requiring more attention to the dog's external clinical signs and actions aimed at environmental management in an attempt to reduce cases of canine VL and CME in the state. The VOCs identified here were not related to infection, however, compounds isolated in seropositive dogs were found, opening scope for new work.

Keywords: Canine Visceral Leishmaniasis; Risk factors; Volatile Organic Compound; NDVI

1 INTRODUÇÃO

As Doenças Transmitidas por Artrópodes afetam cerca de um bilhão de indivíduos e representam 17% dentre as doenças infecciosas (TIBAYRENC, 2017). As Doenças transmitidas por Artrópodes são reemergentes em todo o mundo, sendo um grande desafio na medicina humana e veterinária, devido a fatores como mudanças climáticas, urbanização, desenvolvimento econômico e globalização que podem interferir na abundância e dispersão dos vetores de caráter global (GOTTWALT, 2013; SEMENZA; SUK, 2018; ROCKLOV; DUBROW, 2020).

A ocorrência das doenças caninas transmitidas por artrópodes também vem crescendo no mundo inteiro. Ao observar a dinâmica de transmissão, torna-se mais complexa as estratégias de controle dessas doenças por apresentarem fatores relacionados a demografia de hospedeiro, condições ecológicas do vetor que inclui presença de vegetação, pluviometria e temperatura, recursos econômicos, entre outros (PAULINO *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2020; QUEIROZ *et al.*, 2020; BATISTA *et al.*, 2021).

Algumas doenças transmitidas por artrópodes, como as causadas por *Leishmania infantum chagasi* e *Ehrlichia canis* são de importância zoonótica e compreendem problemas de saúde pública, principalmente nos animais. A sobreposição epidemiológica das duas doenças e o impacto da coinfeção, permanecem desconhecidos devido à similaridade da atividade vetorial e dos períodos de transmissão desses patógenos (GAUNT *et al.*, 2010; CORTESE *et al.*, 2011).

A Leishmaniose Visceral (LV) canina e a Erliquiose Monocítica Canina (EMC) são causadas por patógenos intracelulares obrigatórios, *L. infantum chagasi* e *E. canis*, respectivamente. A LV canina é transmitida por um vetor flebotômico, *Lutzomyia longipalpis* e a EMC, pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (DANTAS-TORRES *et al.*, 2004; 2009; BRASIL, 2014B), sendo o cão o principal hospedeiro das duas enfermidades.

Em 2021, A LV canina apresentou 34,69% dos cães soropositivos em nove municípios do estado de Sergipe (OLIVEIRA *et al.*, 2021), com manifestações variadas entre onicogribose, hepatoesplenomegalia, secreção ocular, lesões ao redor das orelhas (EVARISTO *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2021A). Já a EMC alcançou a prevalência de 60% em estudo (SILVA *et al.*, 2020), podendo desenvolver febre, hepatoesplenomegalia, mucosas pálidas e secreção ocular, leucopenia e trombocitopenia (MEGID *et al.*, 2016).

Uma vez que o cão possui grande importância no ciclo biológico da *Leishmania* spp. e da *E. canis*, os compostos voláteis liberados pelo hospedeiro vertebrado poderiam auxiliar na compreensão entre o agente patológico e hospedeiro, além da prospecção gerada pelos compostos para as infecções transmitidas pelos vetores. Uma vez que os flebotômicos são

mais atraídos ao hospedeiro canino quando estão infectados em comparação aos não infectados (STANIEK; HAMILTON, 2021).

É de conhecimento que o mecanismo primário de orientação dos insetos para hematofagia é baseado no reconhecimento dos odores (KNOLS; MEIJERINK, 1997). Esses compostos, produzidos por uma espécie e que desencadeiam uma resposta benéfica para organismos de outra espécie, são chamados de cairomônios (PITTS *et al.*, 2014). Alguns estudos têm mostrado que o protozoário pode interferir nos odores dos hospedeiros infectados, sendo assim, o vetor passa a ter preferência ao realizar o repasto sanguíneo, a fim de aumentar as oportunidades de transmissão do protozoário (MAUCK *et al.*, 2016; GANDON, 2018).

Esses cairomônios podem ser extraídos a partir de pelos animais, exercendo funções secretórias e excretórias de metabólitos, que por difusão passiva encontrar-se no folículo piloso do pelo (ENDERSON, 1993; JEROMEL *et al.*, 2022), já sendo também estudado a diferenciação do perfil de COVs de cães soropositivos e soronegativos para leishmaniose visceral canina (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

Diante da problemática da LV canina que afeta 40 municípios do estado de Sergipe; inclusive a área metropolitana de Aracaju (capital do Estado) e da EMC que é uma das principais doenças caninas que afeta a região nordeste com 43% dos cães infectados, além da escassez de estudos sobre a doença no estado de Sergipe, torna-se evidente a necessidade de compreender a ocorrência e a dinâmica desta enfermidade.

Portanto, o presente estudo visa avançar na busca de evidências na identificação de COVs específicos para a LV canina e é pioneiro para a EMC. Paralelamente, o estudo investiga a presença de *Leishmanis* spp. e *Ehrlichia canis* nos cães observados e os fatores epidemiológicos ligados às duas enfermidades.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os aspectos epidemiológicos e os compostos orgânicos voláteis, presentes em pelos de cães, associados à infecção canina por *Leishmania* spp. e *Ehrlichia canis* em área endêmica do Nordeste brasileiro.

2.2 Objetivos Específicos

Rastrear a infecção canina por *Leishmania* spp. e *Ehrlichia canis* via métodos diagnósticos sorológicos;

Correlacionar a ocorrência da Leishmaniose Visceral Canina com a cobertura vegetal do ambiente

Determinar os fatores de risco para Leishmaniose Visceral Canina e Erliquiose Monocítica Canina

Associar os compostos orgânicos voláteis com a presença/ausência de *Leishmania* spp. e *Ehrlichia canis*

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Leishmaniose Visceral Canina

A LV canina é causada pelo protozoário unicelular, *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* Nicole (1908), pertencente à família Trypanosomatidae, ordem Kinetoplastida, que se apresenta em dois estágios de desenvolvimento: flagelado ou promastigota, que se instala no tubo digestivo do flebotomíneo; e amastigota, encontrado em células do sistema fagocitário mononuclear do cão, hospedeiro vertebrado (BRASIL, 2014B).

A transmissão acontece a partir da hematofagia da fêmea infectada da espécie vetora para a maturação dos ovos, onde ocorre a liberação e ingestão de parasitas. Este repasto sanguíneo é realizado no cão, seu principal hospedeiro em ambiente urbano, no qual o infecta. Nele o parasita se diferencia até a forma amastigota se instalando nos macrófagos. Existem outras vias alternativas de transmissão da LV canina, tais como a via sexual, de modo que o protozoário foi observado nos órgãos reprodutores dos machos, como também, por via intragástrica em teste de ingestão com camundongos (EVANGELISTA *et al.*, 2019; REIMANN *et al.*, 2022).

São caracterizados três ciclos de transmissão para as leishmanioses no continente americano: o silvestre, o doméstico-rural e o doméstico-urbano. Nos dois últimos, o vetor se insere na área peridomiciliar avançando para o espaço domiciliar, podendo transmitir a infecção ao hospedeiro vertebrado. O homem, animais domésticos e os animais sinantrópicos apresentam grande influência na proximidade do vetor a áreas peridomiciliar e domiciliar (OPS, 2019).

Lutzomyia longipalpis Lutz & Neiva (1912) é considerada a principal espécie vetora do agente etiológico, *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*, no Brasil, sendo encontrada nas cinco regiões geográficas do país. A espécie *Lutzomyia cruzi* tem importância vetorial no centro-oeste brasileiro, nos estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2014B). Estes dípteros - denominados flebotomíneos - da família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, são popularmente conhecidos como mosquito palha, birigui. Eles medem de dois a três milímetros de comprimento, tórax com muitas pilosidades, apresentam coloração marrom claro, as asas de formato lanceolar mantêm-se eretas e semiabertas e realizam a postura dos ovos em habitat úmido, quente e com matéria orgânica (nutrientes) para fornecer alimento para as larvas (FORATTINI, 1960).

Animais clinicamente assintomáticos são potenciais fontes de infecção para flebotomos, porém infectam um número menor de vetores, em comparação aos sintomáticos (SILVA *et al.*, 2005). A LV canina se manifesta de maneira sistêmica e crônica, devido

principalmente à função imunológica baixa, desenvolvendo sinais clínicos como emagrecimento, onicorrigose, hepatoesplenomegalia, lesões oculares, secreção ocular, lesões ao redor das orelhas, face e membros, alterações nos linfonodos pré-escapulares, linfonodos poplíteos e linfonodos submandibulares (EVARISTO *et al.*, 2020; SOUZA *et al.*, 2021A).

O aparecimento de manifestações clínicas variadas na LV canina pode gerar confusões diagnósticas com outras enfermidades, como a babesiose e a erliquiose. A ausência de sinais clínicos nos cães, que podem levar anos para o aparecimento, dificulta o diagnóstico precoce e o tratamento imediato (PAULAN *et al.*, 2013; FERREIRA; MONTICELLI, 2022).

Os principais métodos de diagnóstico da LV canina são os sorológicos, parasitológicos e moleculares (DUTHIE *et al.*, 2018). De acordo com o Ministério da Saúde, o TR DPP® (Teste Rápido Dual Path Platform) é utilizado como teste de triagem para o ser humano e cães, ao detectar anticorpos anti-*Leishmania*, enquanto ELISA é um teste confirmatório (BRASIL, 2014B). As metodologias mencionadas são mais baratas e não tão invasivas, porém, vem apresentando uma baixa sensibilidade quando comparado aos testes moleculares (CARVALHO *et al.*, 2018).

O tratamento para os cães que foram testados como positivos foi regulamentado pela Nota Técnica Nº 11/2016 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Anteriormente a utilização de fármacos humanos ou não registrados pelo MAPA não eram permitidos, somente sendo indicada a eutanásia canina (BRASIL, 2016A).

A medida de controle homologada pelo MAPA regulamenta o tratamento com o fármaco Miltefosina (BRASIL, 2016A) sendo relatada a eficácia na diminuição da carga parasitária (ROSAR, 2022), assim como o tratamento com os antimoniais pentavalentes, antimoniato de N-metilglucamina e desoxicolato de anfotericina B (BRASIL, 2016B). Após a medicação, o animal deve ser encaminhado para a realização de exames clínicos, laboratoriais e parasitológicos periódicos para avaliar a carga parasitária, visto que a LV canina não tem cura.

A fim de interromper o ciclo de transmissão, o Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) estabelece três vertentes de controle: a vetorial, a canina e a educação em saúde. Com ações de pulverização residual, inquéritos soroepidemiológicos canino, eutanásia animal e ações educativas com a população em área endêmica (BRASIL, 2014B). Além disso, foi licenciada pelo MAPA a vacina Leish-Tec que proporciona proteção parcial contra a infecção parasitária (FERNANDES *et al.*, 2011).

Outras medidas profiláticas podem ser desenvolvidas por parte da população como o

uso da coleira antiparasitária nos seus cães, de repelentes, de mosquiteiro e manutenção da área peri/extradomiciliar sempre limpas, sem acúmulo de matéria orgânica (OLIVEIRA NETO *et al.*, 2018).

3.2 Aspectos Eco-epidemiológicos da Leishmaniose Visceral Canina

A LV canina enquadra-se na categoria de infecção de notificação compulsória, ou seja, os médicos e profissionais de saúde públicas ou privadas, são obrigados a notificar os casos (BRASIL, 2014A). Esta zoonose está incluída entre as doenças negligenciadas, estando diretamente relacionada a condições de vulnerabilidade social (WHO, 2015).

Os altos índices de casos de LV humana e canina têm sido relacionados a urbanização, saneamento básico em condições inadequadas, além de alterações no padrão de precipitação e temperatura devido a mudanças climáticas (QUEIROZ *et al.*, 2020). O avanço dessa expansão iniciou pelo agronegócio e estabeleceu-se com o crescimento populacional levando a aproximação dos flebótomos às áreas peridomiciliares, havendo aumento de casos sob desmatamento no maciço da Pedra Branca localizado no Parque Estadual da Pedra Branca/RJ (MARZOCHI *et al.*, 2009).

Outros fatores de risco têm sido relacionados a infecção por LV humana e canina como, aptidão de caça, proximidade com açudes (SILVA *et al.*, 2016), contato com outros cães, contato com animais de criação (bovinos, felinos, caprino e ovelha) e animais silvestres, condições ambientais, higiene ambiental, viagem com o cão, presença de roedores, habitação com solo e solo/cimento exposto (FERNANDES *et al.*, 2016), abandono de cães, baixo índice de desenvolvimento regional, presença de animais em áreas de alta concentração de flebotomíneos, falta de políticas públicas (BATISTA *et al.*, 2021), quintais com árvores, pássaros, sombra e fezes de animais (RODRIGUES *et al.*, 2020).

Em um estudo com tutores de cães e gatos, 74% desconheciam o conceito de zoonose e 80% não receberam informações de profissionais de órgão público (agente de endemia e agente comunitário de saúde) sobre o tema. Quando abordadas sobre quais doenças podem ser transmitidas aos humanos, elencaram a raiva e a leishmaniose. Apesar de mencionar a leishmaniose, não sabiam do ciclo de transmissão (OLIVEIRA NETO *et al.*, 2018). Essa população que não possui conhecimento sobre a LV tem oito vezes mais chances de contrair a doença e as que dizem conhecer pelo menos o nome do vetor tem 1,58 vezes mais chance de desenvolverem a doença (BORGES *et al.*, 2008), partindo do princípio de somente saberem o nome por já terem se infectado ou pessoas próximas (CARVALHO *et al.*, 2020).

Indivíduos que tomam qualquer tipo de ação preventiva tem 1,94 vezes de não se infectar. Os entrevistados citam medidas como limpeza do domicílio, porém a maioria descreve como prática que são realizadas todos os dias, também relata o uso da citronela e outros repelentes (BORGES *et al.*, 2008), uso de coleiras repelentes (22%), controle de criadouros do “mosquito” (15%) e 63% não sabiam como prevenir a doença (OLIVEIRA NETO *et al.*, 2018). Apesar da população saber o que é a leishmaniose, não sabem informar com

precisão como ocorre a transmissão, o transmissor e as medidas preventivas relacionadas a esta zoonose, necessitando de ações educativas voltadas à saúde única (SILVA *et al.*, 2022).

Os fatores mencionados anteriormente podem contribuir para a dispersão do vetor, afetando a qualidade de vida e a suscetibilidade à doença na população animal local (QUEIROZ *et al.*, 2020). Com isto é de fundamental importância a criação de medidas mais eficientes no controle e prevenção da zoonose a fim de reduzir o impacto gerado pelos fatores ambientais e peridomiciliares como o saneamento básico precário, a ruralização de áreas urbanas e a presença do vetor (MICHEL *et al.*, 2011), para suceder na redução da intensidade de cães eutanasiados (BRUHN *et al.*, 2018)

Parcerias entre instituições de ensino e políticas públicas efetivas são indispensáveis para a prevenção da LV canina, comprovando estudo desenvolvido em Belo Horizonte, Brasil, onde a doença foi controlada e obteve resultados positivos em função das parcerias intersetoriais (BRUHN *et al.*, 2018). Isto também foi observado em Maceió, capital de Alagoas, onde a vigilância epidemiológica desempenhou um papel efetivo, já que no período de 2007 a 2013, os casos humanos e caninos decresceram (ROCHA *et al.*, 2018).

O uso de Sistema de Informação Geográfica (SIG) e ferramentas espaciais são bastante utilizadas em estudos de caracterização ambiental para configurar as áreas que apresentam maior potencial para a disseminação da Leishmaniose. Dessa forma, as ações de vigilância, monitoramento e controle dos programas de saúde pública podem ser revisadas para desempenhar atividades que sejam mais adequadas à comunidade identificada (MORAIS *et al.*, 2020).

Essas ferramentas de geoprocessamento, como o Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (NDVI), utilizado para classificar o solo de acordo com refletância solar, pode observar a utilização do solo para determinar áreas que foram desmatadas, a cobertura vegetal e produtividade da planta com a finalidade de compreender melhor as informações sobre a vegetação (HUANG *et al.*, 2021). Outra muito frequente é o Índice Global de Moran, que através da autocorrelação espacial pode estabelecer se o padrão é agrupado, disperso ou aleatório da variável que se propõem avaliar (SHARMA *et al.*, 2018).

Assim como foi realizado no município de São Luís, que por meio da autocorrelação espacial associada aos casos diagnosticados de LV humana e canina, foram identificadas áreas prioritárias para a implementação do programa de vigilância sanitária para o controle de LV (BARBOSA *et al.*, 2014). Além disso, outro estudo indicou a vulnerabilidade social em áreas com muitos casos de LV, demonstrando a ausência de assistência à saúde e a expansão urbana desordenada, favorecendo o contato direto no ciclo de transmissão da infecção parasitária (MIRANDA *et al.*, 2021).

Através da classificação do NDVI, foi possível identificar que os *hotspots* encontravam-se próximos as áreas de vegetação densa, remanescentes da Mata Atlântica, sendo associado o aumento da transmissão, a proximidade das residências a vegetação (ARAÚJO *et al.*, 2022). Da mesma forma que os pequenos fragmentos de vegetação ao entorno das habitações seriam suficientes para que o flebótomo complete o ciclo de vida e consequentemente ocasione o aumento da incidência para LV humana e canina (APARICIO; BITENCOURT, 2004).

3.3 Leishmaniose Visceral no Nordeste do Brasil

Após a descoberta da LV no Brasil, o Norte e Nordeste foram as primeiras regiões a se tornarem endêmicas, e ao longo dos anos contribuíram com 54,3% no número de óbitos, dentre as doenças negligenciadas (SOUZA *et al.*, 2021B). Segundo o Ministério da Saúde, no período de 2011 a 2020, a região Nordeste se destaca no número de casos humanos notificados, alcançando quase dois mil casos no ano de 2014 (BRASIL, 2021) (Figura 1).

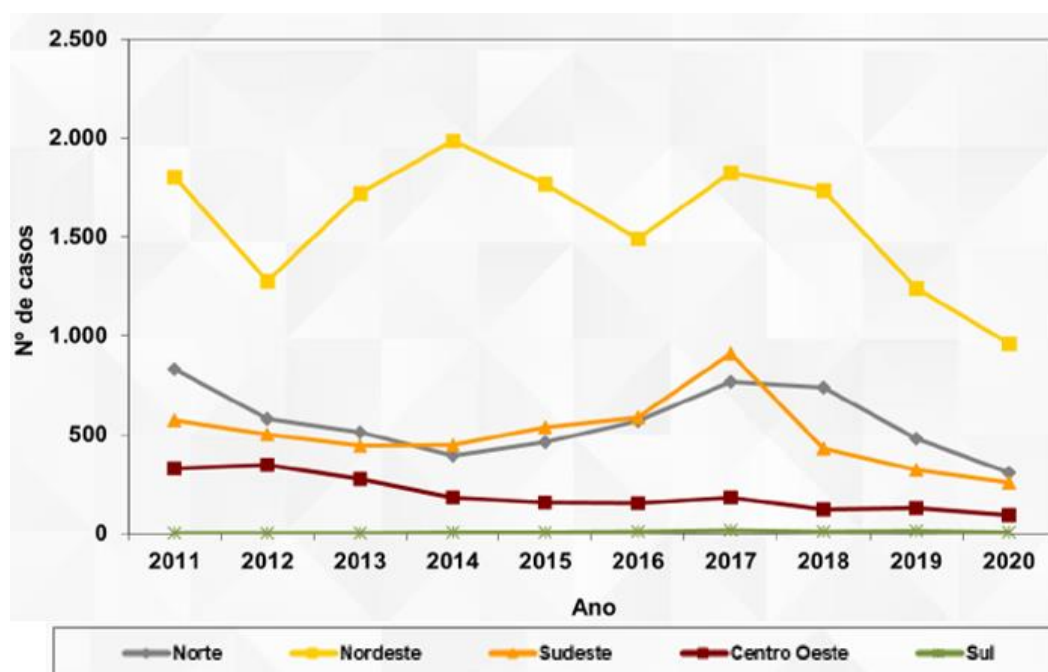


Figura 1: Casos de Leishmaniose Visceral humana por região. Brasil, 2011 a 2020.

Fonte: SVS/MS

Entre 2010 a 2020, o Nordeste brasileiro foi responsável pela notificação de 17.422 casos de LV humana distribuídos no Maranhão (5.637 casos), Ceará (3.903 casos), Bahia (2.940 casos), Piauí (1.996 casos), Pernambuco (864 casos), Rio Grande do Norte (655 casos), Sergipe (612 casos), Alagoas (488 casos) e Paraíba (327 casos) (BRASIL, 2021).

Em Fortaleza, no Estado do Ceará, foram testados 12.132 cães e gatos que resultaram em 1.490 animais positivos (BATISTA *et al.*, 2021). Em Alagoas, entre os anos de 2007 a 2013 foram notificados 231 casos humanos e 4.466 casos caninos para LV, com os picos de incidência em 2007 e 2011, respectivamente. Em São José da Tapera, localizado na zona rural de Alagoas, por apresentar a média de 4,4 casos humanos entre 2007 e 2013, foi estabelecido como município de transmissão intensa associado à ausência de saneamento, acúmulo de lixo, matas e criação de animais próximas às residências (ROCHA *et al.*, 2018).

No Estado da Paraíba, foram avaliados cães em oito municípios e a prevalência dos soropositivos foi de 29,3% (n-120/409) dos cães analisados (BERNARDINO *et al.*, 2020). Em outro estudo, 11,60% (42/362) dos cães foram reagentes no teste Dual Path Platform (DPP)

e na Imunofluorescência indireta (RIFI); desses, trinta testaram positivos pela análise molecular (SILVA *et al.*, 2016). Dos 1.043 cães, 81 foram positivos para *Leishmania* spp., 83 para *Trypanosoma cruzi* e 49 apresentaram infecção concomitante (FERNANDES *et al.*, 2016).

No estado de Sergipe, frente às mudanças epidemiológicas existentes, a LV vem se disseminando. Entre as doenças infecciosas negligenciadas, a LV humana alcançou a quarta posição em óbitos (7,4%; n=72) entre 2007 e 2017, ultrapassada somente por tuberculose (46,1%), esquistossomose (21,6%) e doença de Chagas (19,3%) (PANTALEÃO *et al.*, 2018).

O município de Aracaju, capital de Sergipe, foi classificado como área de intensa transmissão para casos de LV canina e positividade dos cães de companhia. Oliveira *et al.* (2021) constataram também que cães de guarda e de caça têm mais chance de se infectar que os errantes, por permanecer mais tempo em ambientes ricos em matéria orgânica. Devido à alta positividade, os municípios de Aracaju e São Francisco receberão coleiras impregnadas com inseticida a serem distribuídas à população como medida de evitar a disseminação da LV canina, promovido pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2022).

Essa distribuição de coleiras configura-se medida essencial visto que foram encontradas espécies vetoras, *Lutzomyia longipalpis* e *Evandromyia lenti*, nos bairros de Aracaju principalmente nos meses mais chuvosos, de abril a junho (JERALDO *et al.*, 2012; ANDRADE *et al.*, 2022). Conforme dados do PCLV canina de Aracaju, a busca ativa teve como resultado 67.458 cães submetidos aos exames sorológicos sendo 3.063 animais positivos. No intervalo de 1999 a 2010, foi observado o avanço da LV canina entre os bairros de Aracaju, comprometendo a zona sul, que engloba a zona de expansão avançando para o bairro Farolândia e Inacio Barbosa (OLIVEIRA, 2011).

Entre 1972 e 1998, foram identificados 1.874 casos para LV humana distribuídos em 65 municípios sergipanos, destacando-se Aracaju, Itaporanga d'Ajuda, Estância, São Cristóvão, Nossa Senhora do Socorro, Japaratuba, Areia Branca e Japoatã. A incidência na década de 70 foi de 1,98, com aumento progressivo até a década de 90, alcançando incidência de 8,87, com a aglomeração desses casos na região Leste de Sergipe, onde o clima é úmido e próximo ao nível do mar (TAVARES; TAVARES, 1999). No período de 2007 a 2016, foram notificados 577 casos com letalidade de 12,3% (71), distribuídos em Aracaju com 337 casos, seguida por Nossa senhora do Socorro com 66 e Propriá com 33 casos (SANTOS *et al.*, 2018).

Góes *et al.* (2014) detectaram em Sergipe 128 novos casos humanos entre 2007 e 2011, com incidência de 23,5 casos por 100 mil habitantes e letalidade de 7,8%. Estes casos de infecção leishmaniótica foram diagnosticados no Hospital de Urgência de Sergipe (51,6%),

nas Unidades de Saúde da Família (9,7%) e em unidades de pronto atendimento municipais (2,5%), conforme relatado por Santos *et al.* (2018). O déficit na rede de atendimento primária revelou que menos de 10% da população foi encaminhada a este nível de atendimento, devido também a carência de conhecimento desses indivíduos sobre a LV humana. Observa-se que há no estado deficiência na relação de conduta entre os médicos da atenção primária e os pacientes, contribuindo para que a doença alcance um nível mais crítico (SILVA *et al.*, 2022).

3.4 Erliquiose Monocítica Canina

A Erliquiose Monocítica Canina (EMC) é causada pela bactéria intracelular da espécie *Ehrlichia canis* Donatien & Lestoquard, (1935), família Anaplasmataceae, ordem Rickettsiales. Considera-se esta enfermidade entre as mais importantes doenças infecciosas transmitidas por carrapatos, devido ao seu potencial zoonótico, com alta prevalência nas regiões tropicais e subtropicais (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2007). O principal vetor transmissor é a espécie *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato Latreille (1806) em canídeos, em ambientes urbanos e rurais (SZABÓ *et al.*, 2001; DANTAS-TORRES *et al.*, 2004; 2009).

Rhipicephalus sanguineus pertence a ordem Ixodida, família Ixodidae, e apresenta distribuição por quase todo o Brasil, por causa das condições climáticas ideais para manutenção do ciclo biológico do vetor (LABRUNA; PEREIRA, 2011). Popularmente conhecido como carrapato vermelho, possui quatro estágios evolutivos – ovo, larva, ninfa e adulto, hábitos nidícolas, dimorfismo sexual, intervalo de gerações curtas que permanecem dentro de ambiente intradomiciliares como em casas e canis, proporcionando uma fonte constante de infecção para cães (DRYDEN; PAYNE, 2004; DANTAS-TORRES, 2008).

O hospedeiro vertebrado, o cão, se infecta através do repasto sanguíneo de um carrapato fêmea infectado. A bactéria, quando alojada no carrapato, permanece no intestino médio e na glândula salivar no momento da infecção. Uma vez infectado, o carrapato vermelho transmite de forma transestadial, onde ninfa e adultos podem transmitir a *E. canis*, ao cão para a maturação dos ovos. No cão, o carrapato pode transmitir em até três horas a bactéria, com período de incubação entre oito e vinte dias para o aparecimento de manifestações clínicas (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2022).

As manifestações clínicas dessa infecção envolvem três estágios: aguda, subclínica e crônica. A fase aguda dura de duas a quatro semanas e o cão pode desenvolver febre, hepatoesplenomegalia, mucosas pálidas e secreção ocular. A fase subclínica começa de seis a nove semanas, não apresentando sinais e sintomas evidentes devido às alterações serem hematológicas (leucopenia e trombocitopenia), podendo permanecer por meses nessa situação. Na fase crônica, os sinais e sintomas reaparecem na forma grave como supressão medular, icterícia, piodermite e hemorragias acarretando o óbito do animal (MEGID *et al.*, 2016).

Para que não haja agravamento dos sintomas no cão, o tutor do animal deve manter-se atento e realizar o diagnóstico precoce. Os métodos mais eficazes dependem de qual fase o animal se encontra para uma melhor detecção. Os testes utilizando a imunofluorescência indireta são considerados de triagem padrão ouro entre os testes sorológicos (WANER *et al.*, 2001). Os testes comerciais dot-ELISA e rMAP2-ELISA Kit desempenham eficácia similar na

detecção de anticorpos anti-*E. canis*, quando comparado ao RIFI (HARRUS *et al.*, 2002) e o teste da Alere Erliquiose Ac Test apresentando sensibilidade de 98,2% e especificidade de 100% (ALERE, 2019).

A terapêutica para EMC visa o acompanhamento inicial dos aspectos clínicos, hematológicos e sorológicos para uma melhor abordagem e o não tratamento de um cão que possa ter debelado imunologicamente a infecção (NEER *et al.*, 2002). As substâncias medicamentosas mais eficazes no tratamento clínico ou experimental são a doxiciclina, minociclina e rifampicina (MYLONAKIS *et al.*, 2019). Após uma a três semanas do tratamento sem resposta canina, deve-se atentar ao diagnóstico de outros organismos co-infecciosos (HARRUS *et al.*, 2004; THEODOROU *et al.*, 2013).

A prevenção e o controle de doenças transmissíveis por carrapato, pode ser estabelecida a partir do controle químico, mecânico e biológico. Com a utilização de produtos químicos -fipronil, permetrina, lambda-cialotrina e beta-cipermetrina, o uso de drogas via oral como o Afoxolaner, coleiras de lenta liberação, escovação no cão e a eliminação de frestas no ambiente. Essas medidas devem ser realizadas a posteriori, da identificação das espécies vetorais que possam transmitir os agentes infecciosos, a fim de desenvolver práticas de saúde pública e uma melhor abordagem de controle (LU *et al.*, 2015; CVEJIC *et al.*, 2017; JOHNSON, 2023).

3.5 Aspectos Eco-epidemiológicos da Erliquiose Monocítica Canina

A EMC foi descrita inicialmente por Donatien e Lestoquard, ao identificar células com *Rickettsia canis* em cães da raça Pastor Alemão, em 1935. Posteriormente, em 1945 foi reclassificada como *Ehrlichia canis* pelas características morfológicas e biológicas mais similares ao gênero *Ehrlichia* (KRIEG, 1984). Esta infecção ficou conhecida através do surto ocorrido em cães do exército americano durante a guerra do Vietnã, onde foi responsável por centenas de óbitos caninos (HUXSOLL *et al.*, 1970).

O gênero *Ehrlichia* contempla cinco espécies, sendo três destas identificadas no Brasil em hospedeiros caninos e outros animais. A espécie *E. canis* foi registrada em cães (COSTA *et al.*, 1973), gambás (MELO *et al.*, 2016) e gatos (OLIVEIRA *et al.*, 2009A); a *E. ewingii* em cães (OLIVEIRA *et al.*, 2009B) e a *E. chaffeensis* em veados (MACHADO *et al.*, 2006).

No Brasil, o primeiro caso registrado foi em Belo Horizonte, Minas Gerais (COSTA *et al.*, 1973). Ao longo dos anos, foram registrados casos nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e Nordeste, sendo este último o mais prevalente com 43% de cães infectados (LABARTHE *et al.*, 2003). Em Aracaju, Sergipe, foram diagnosticados 119 cães dos 1.565 atendidos nos anos de 2006 a 2007 (FAIERSTEIN *et al.*, 2008).

A bactéria tem sido relatada em diversas regiões do país, sendo diretamente relacionado a vasta distribuição do *R. sanguineus*, devido as condições ambientais favoráveis, a grande população canina, o comportamento do animal e seu habitat (DANTAS-TORRES, 2008; LABRUNA; PEREIRA, 2011; LIMA *et al.*, 2021). Por conta disto, altos índices de prevalência em cães são relatados em áreas urbanas ou rurais, via diagnóstico sorológico ou molecular (PEREIRA, 2016; BRANDÃO *et al.*, 2019).

No município de Nanuque, Minas Gerais, onde apresenta elevadas temperaturas, expressou prevalência de 65,6% e foi encontrado carrapato em 75% dos cães analisados (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2007). Assim como o cão pode se encontrar com carrapato, os tutores também apresentam esse risco. No estudo de Trapp *et al.* (2006) foi relatado o ectoparasitismo em tutores que tiveram contato frequente ou muito frequente com os seus animais.

Alguns aspectos de criação do animal como contato com outros cães, criação semiconfinada/solta, estar envolvido em atividades ao ar livre, estando infestado por carrapato, não apresentar nenhuma medida de combate ao vetor, más condições de higiene ambiental, população rural e periurbana são fatores que podem predispor a infecção por *Ehrlichia canis*. (TRAPP *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2010; AZEVEDO *et al.*, 2011; PAULINO *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2020).

Outros fatores como sexo, raça e idade pode apresentar significância de acordo com o estudo desenvolvido, porém não é associado a EMC. Há relatos que o cão macho e sem raça definida ao ser destinado a guarda da residência ou adentrar a mata com o tutor, esteja mais propenso a se infectar (COSTA JÚNIOR *et al.*, 2007). Assim como em cães sem raça definida, demonstraram ser mais atrativos ao vetor em relação aos cães de raça definida (LOULY *et al.*, 2009).

O fator idade, quando jovens, pode justificar a infectividade pela permanência na área domiciliar e por conta do cartão vacinal não estar completo, visto que, o sistema imunológico ainda se encontra comprometido e o maior cuidado do tutor a essa faixa etária, sem acesso livre à rua. Já em cães adultos, apresentam mais chances devido ao maior tempo de exposição a bactéria ao longo dos anos (AZEVEDO *et al.*, 2011).

3.6 Interação Parasito-Hospedeiro

Sabe-se que os artrópodes interagem com o meio ambiente através de percepções químicas, mecânicas e térmicas recepcionada por órgãos sensoriais ou receptores, para auxiliar no acasalamento, na procura de fonte alimentar, substrato para a oviposição e evitar situações de perigo (KNOLS; MEIJERINK, 1997). Esses animais utilizam as sensilas encontradas nas quelíceras, antenas e palpos para transportar estímulos da natureza, de modo que os dendritos sensoriais encaminham até o sistema nervoso central do animal para obter uma resposta comportamental (WALADDE; RICE, 1977).

Nos carrapatos, a percepção química era somente associada ao órgão de Haller, encontrado no primeiro par de pernas. Posteriormente as quelíceras foram adicionadas a esse grupo por conter sensilas gustativas e percepção de feromônios, além da função de fixação no hospedeiro (WALADDE; RICE, 1977; CARR et al., 2017). Nos insetos a percepção olfativa é relacionada as sensilas distribuídas nas antenas, lábios e palpos maxilares (HANSSON; STENSMYR, 2011).

Essas substâncias químicas que acarretam a resposta comportamental do vetor são chamadas de semioquímicos. Dentro desse grupo, os compostos podem ser divididos de acordo com a função exercida por eles: os feromônios, que estão associados principalmente à atração sexual (interação intraespecífica) e os aleloquímicos que incluem os cairomônios, alomônios e sinomônios (interação interespecífica) (ZARBIN et al., 2009). Os COVs cairomônios são liberados pelo hospedeiro e induzem uma resposta de atração ao vetor na busca de uma fonte alimentar, nesse caso os flebotomíneos e carrapatos (KELLY et al., 1997; PITTS et al., 2014). A eficácia da atratividade desses compostos requer a quantidade exalada ao meio ambiente, a distância entre o inseto e o hospedeiro, a fim da dispersão do protozoário e manutenção do ciclo parasitário (KNOLS; MEIJERINK, 1997).

Estudos apontam que cães de raças diferentes podem ser mais ou menos atrativos para carrapatos. Foi demonstrado que cães da raça beagle foram menos suscetíveis a carrapatos da espécie *Rhipicephalus microplus* do que a raça cocker spaniel inglês (LOULY et al., 2009). Os compostos benzaldeído e 2-hexanona foram identificados e quantificados nos cães da raça beagle como sendo os responsáveis pela repelência apresentada (aleloquímico) (BORGES et al., 2015; OLIVEIRA FILHO et al., 2016). No entanto, não há estudos envolvendo os COVs produzidos por cães infectados com *Ehrlichia canis*.

Ao investigar a atratividade do vetor *Phlebotomus perniciosus*, observaram a atração de fêmeas e machos em cães infectados com *L. infantum* em teste em laboratório e em campo (CHELBI et al., 2021). Do mesmo modo que, a espécie *Lu. longipalpis* foi mais atraído ao odor do hospedeiro canino quando estavam infectados em comparação aos não infectados,

sugerindo que o parasita altera a composição de compostos por afetar mais as fêmeas (STANIEK; HAMILTON, 2021), também observado em patógenos, influenciando na taxa de picadas do vetor e na quantidade de sangue ingerido (MAUCK *et al.*, 2016; GANDON, 2018).

Cozzarolo *et al.* (2020) relataram algumas linhas que envolve a orientação do vetor a hospedeiros infectados. Uma das linhas abordadas é a taxa de picadas do vetor, no qual o agente patológico manipula a liberação de odor pelo hospedeiro, para que atraia outros vetores o suficiente para manter a transmissão e não ocasionar prejuízo pelo alto índice de picadas somente em animais infectados. Outro fator é o estágio em que os parasitas são transmissíveis ao vetor, uma vez que o *Plasmodium* sp. em estágio de gametócito foi mais atraente para o mosquito *Anopheles* sp.. Em estudos que avaliam a manipulação do parasita não se preocupam com isso, gerando divergência de resultados, ainda que atrair vetores em estágios não transmissíveis não seja favorável para o parasita, podendo provocar competição com outros parasitas indesejáveis.

Ainda segundo Cozzarolo *et al.* (2020), em que descreveu algumas substâncias que podem desencadear uma resposta comportamental do vetor da infecção. O octenol e o dióxido de carbono podem atrair alguns insetos, como os mosquitos, flebotomíneos, carrapatos, triatomíneos, moscas e percevejos. Expõe também a alteração que o *Plasmodium* sp. gera no metabolismo do hospedeiro para produzir substâncias atraentes como o dióxido de carbono, aldeídos e monoterpenos.

Esses compostos podem ser identificados quimicamente utilizando técnicas cromatográficas. A Cromatografia Gasosa é um método químico-físico que permite separar e isolar as substâncias e com a associação do espectrômetro de massas proporciona a identificação e quantificação dos analitos orgânicos (SKOOG; LEARY, 1992). O pelo de animais como propulsor dessa análise, viabiliza a identificação desses caimões liberados por cães infectados, devido a processos metabólicos transportados por difusão passiva da corrente sanguínea até o folículo piloso (ENDERSON, 1993; JEROMEL *et al.*, 2022). O benefício da utilização dos pelos encontra-se por não causar desconforto ao cão, ser prático e sem grandes métodos de armazenamento, como o controle de pH e conservantes (RIVIER, 2000; ANCHIETA, 2016).

O uso de semioquímico pode auxiliar no monitoramento de efeitos de substâncias com a finalidade da prospecção de repelentes, inseticidas e para detectar infecções parasitárias e seus fatores associados (AMORIM, 2003). Com isto, reduz o risco de acidentes ambientais, resistência nos insetos, além de serem atóxicos, quando comparados aos inseticidas convencionais (AMORA *et al.*, 2009).

3.7 Compostos Orgânicos Voláteis como Biomarcadores para a Leishmaniose

Estudos com base na identificação e atratividade de compostos liberados a partir da infecção leishmaniótica vem sendo desenvolvidos. Anchietta (2016) observou compostos relacionados a uma possível atração de vetores, por meio da análise de culturas de leucócitos mononucleados de baço de hamster infectados com *L. infantum*. O'Shea *et al.* (2002) também detectaram odores exalados que revelaram a presença de dez picos cromatográficos em hamster infectados, os quais não foram encontrados em animais sadios.

Quando analisado pelos humanos de habitantes de área endêmica de leishmaniose tegumentar americana identificaram COVs. Alguns desses compostos apresentaram efeito repelente para *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia whitmani*, principais vetores da espécie *Leishmania (Viannia) braziliensis*. (TAVARES, 2016).

Com relação à análise dos COVs de pelos caninos infectados com *L. infantum*, Magalhães Júnior *et al.* (2014), detectaram seis COVs que podem se configurar biomarcadores da infecção leishmaniótica e o octanal, nonanal e decanal foram atraentes para flebotomíneos (Magalhães Júnior *et al.*, 2019). Bem como Oliveira *et al.* (2008), que distinguiram COVs de cães a partir dos aspectos clínicos e presença da infecção. Dos 24 compostos associados, o benzaldeído, 2-hexanona e 2,4-nonadienal apresentaram o maior potencial de associação.

Embora o número de estudos nessa área ainda seja reduzido, o quadro abaixo sintetiza as classes dos compostos já identificados em pelos de cães infectados com *L. infantum* (Quadro 1).

Quadro 1: Compostos orgânicos voláteis (COVs) presentes nos odores do pelo canino infectados por *Leishmania* spp. e o comportamento em flebotomíneos relatados na literatura.

Função orgânica	Compostos	Comportamento	Referências
Álcool	b-hidroxietil fenil éter	NA	Magalhães Junior <i>et al.</i> , 2014
Aldeído	2,4-nonadienal; Hexanal; 2-octenal; 2-heptenal; Heptanal	NA	Oliveira <i>et al.</i> , 2008
	Nonanal; Decanal; Octanal	Ativação e atração de machos e fêmeas de <i>Lu. longipalpis</i>	Oliveira <i>et al.</i> , 2008 Magalhães Júnior <i>et al.</i> , 2014; Magalhães Júnior <i>et al.</i> , 2019
Cetona	2-hexanona; 2-decanona; 2-octanona; 2-nonanona	NA	Oliveira <i>et al.</i> , 2008
Ester	2-Etilhexil Salicilato	NA	Magalhães Júnior <i>et al.</i> , 2014
Hidrocarboneto	Heptadecane; Benzaldeído	Ativação e atração de machos e fêmeas de <i>Lu. longipalpis</i>	Oliveira <i>et al.</i> , 2008; Magalhães Júnior <i>et al.</i> , 2014;

			Magalhães Júnior <i>et al.</i> , 2019
	Pentadecano; Hexadecano; Dodecano; Eicosano; Tridecano; Heneicosano; Pentadecano; Nonadecano; Octadecano; Tetradecano	NA	Oliveira <i>et al.</i> , 2008

OBS: Métodos de coleta e extração de odores: Coleta de pelo; Técnica de headspace com fibra de polidimetilsiloxano divinilbenzeno (PDMS-DVB) e análise por GC-MS

NA: Não Avaliado

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

As áreas de rastreamento dos cães amostrados foram os municípios de Aracaju e Propriá, localizados no Estado de Sergipe (Figura 2). A capital sergipana, Aracaju, apresenta estimativa populacional de 672.614 habitantes distribuídos em 182,163 km² (IBGE, 2021A), com altitude de 4 metros acima do nível do mar e umidade relativa de 71% (INPE, 2022). O povoado Areia Branca e o bairro Jabotiana se encontram em desenvolvimento habitacional, com abundância de vegetação nas áreas de domicílio e ausência de saneamento básico, enquanto nos bairros Inácio Barbosa e Palestina, que apesar de não apresentarem altos índices de casos de LV canina, proporcionam ambientes propícios para o desenvolvimento do inseto vetor.

O município de Propriá, situado no leste sergipano, com área territorial de 96,320km², possui uma densidade demográfica de 319,24 hab/km² e estimativa populacional de 29.756 habitantes (IBGE, 2021B). As áreas amostradas foram o Centro de Controle de Zoonoses de Propriá que desenvolve atividades de Inquérito canino e sorológico, com média de aproximadamente 100 cães/ano, com ocorrência de casos positivos e óbito; No Conjunto Maria do Carmo, bairro periférico com vegetação esparsa ao entorno, ruas sem pavimentação, algumas residências com criação de galinhas e gatos, considerada como área endêmica.

As análises parasitológicas foram desenvolvidas no Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias (LDIP) do Instituto de Tecnologia e Pesquisa, enquanto as análises cromatográficas foram desenvolvidas no Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) - Campus de Araraquara, e no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP) – Campus Matão.

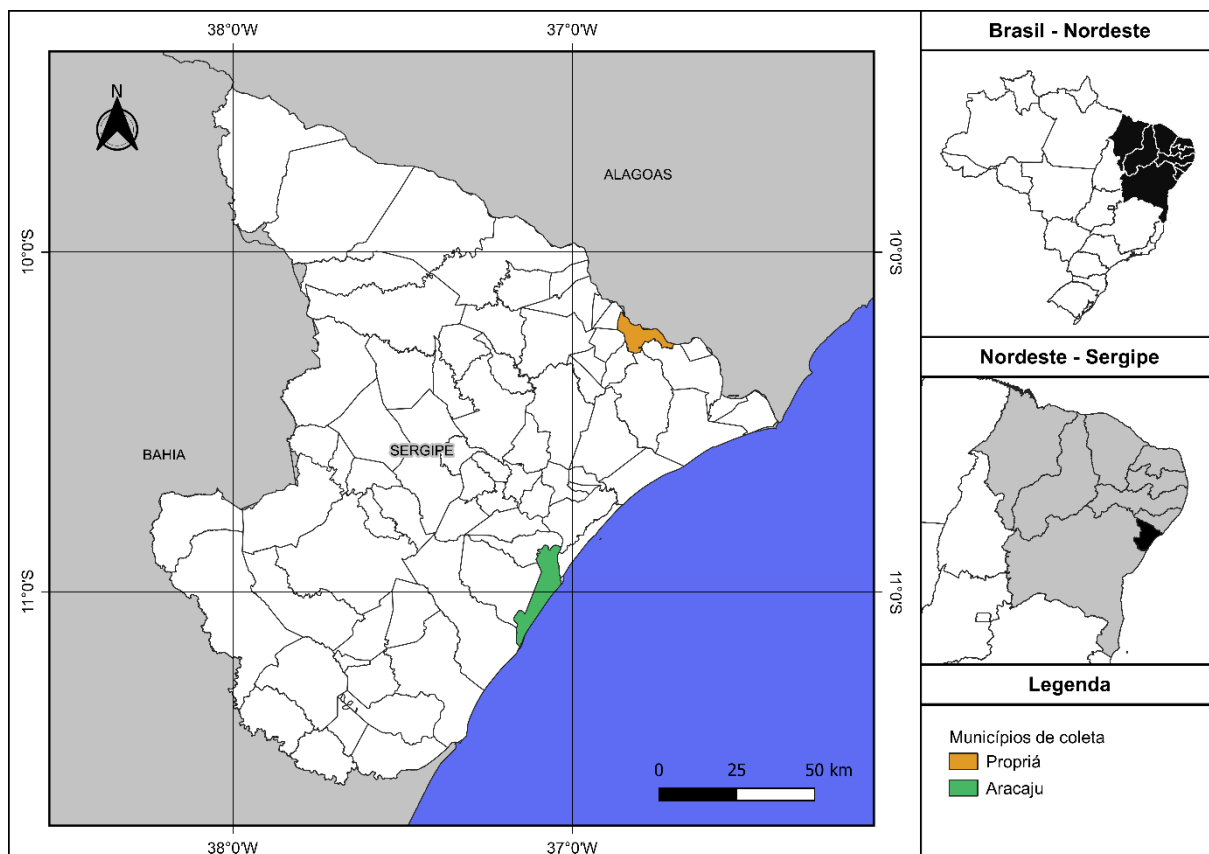


Figura 2: Localização dos municípios de coleta das amostras biológicas de cães, no estado de Sergipe, Brasil, 2023.

4.2 Animais

Os cães de companhia, de criação e errantes foram selecionados por conveniência não probabilística nas áreas endêmicas para LV e EMC (Quadro 2). Foram incluídos cães adultos (acima de 6 meses) de ambos os sexos e não foram incluídas fêmeas em gestação e lactantes. Os cães foram considerados sintomáticos quando apresentaram dois ou mais sintomas compatíveis e de área endêmica (BRASIL, 2014).

Quadro 2: Distribuição dos cães amostrados por grupo de criação e região.

Tipo de animal	Região
Companhia	Bairro Inácio Barbosa, Palestina, Jabotiana, Farolândia e Treze de Julho (Aracaju); Conjunto Maria do Carmo (Propriá)
Criação	Povoado Areia Branca (Aracaju)
Errantes	Centro de Controle de Zoonoses (Propriá)

4.3 Coleta de Amostras Biológicas

O tutor do animal assinou o termo de consentimento livre e esclarecido e de autorização para dar início a coleta.

A coleta das amostras biológicas foi realizada por punção sanguínea da veia cefálica dos cães e acondicionadas em ambiente refrigerado para análises posteriores. As amostras sanguíneas foram encaminhadas para o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/SE) para realização do teste Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA).

As amostras de pelos dos cães foram obtidas por corte rente à superfície corpórea do cão, utilizando lâminas de bisturi descartáveis e individuais, totalizando aproximadamente 130 mg de pelo/animal. Os pelos foram envolvidos imediatamente após a extração em papel alumínio e em seguida acondicionados em sacos plásticos tipo zip lock e armazenados a 4 °C no laboratório até a realização das análises cromatográficas dos COVs. Essas amostras foram transportadas até a UNESP em garrafas térmicas, conservando a temperatura de 4° C em até oito horas.

Foi realizado o cadastro do projeto no SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético), sob o número AE41417 (Anexo II).

4.4 Análise Geoespacial

A geocodificação das residências dos cães foi feita com o auxílio do aplicativo Timestamp Câmera (Susamp infotech Surate, Índia), sendo configurados os dados para UTM. Os mapas foram elaborados utilizando o software Qgis 3.28.2.

Para estabelecer as áreas de vegetação do município de Aracaju foi utilizado o Índice de Vegetação com Diferença Normalizada (NDVI) utilizando imagens de satélite CBERS4A de 2022, extraídas do site do Instituto Nacional de Pesquisa Espaciais (INPE). O cálculo para obter o NDVI é através da diferença do Infravermelho Próximo (NIR) e do Vermelho (Red), pela razão da soma dos mesmos.

$$NDVI = \frac{NIR - Red}{NIR + Red}$$

O NDVI tem variação de -1.0 a 1.0, onde os valores negativos permitem visualizar áreas com ausência de vegetação e os valores positivos permitem visualizar áreas de vegetação verde. A análise foi classificada em: telhado metálico em vermelho ($NDVI \leq -0,10$), telhado de cerâmica em laranja ($0,00 \leq NDVI \leq 0,19$), solo exposto em cinza ($0,2 \leq NDVI \leq 0,39$) ($NDVI \leq 0,20$), vegetal rasteira ou esparsa em verde claro ($0,40 \leq NDVI \leq 0,59$), vegetação densa em verde escuro ($0,60 \leq NDVI \leq 1,0$), baseado na classificação de Abrantes *et al.* (2018).

A partir da classificação do NDVI, foi extraído a área vegetada utilizando o plugin semi-automatic classification - postprocessing – classification to vector.

Foi calculado o ponto médio a partir da triangulação da localização de cada cão, nos

bairros onde os cães não estavam na mesma residência, com auxílio do software GPS TrackMaker Pro® (Geo Studio Technology).

Para relacionar a área vegetada e os casos de LV canina, foi realizado um buffer de 300 metros de raio com base no ponto médio ao redor das residências (área = 282.361,338m²), visto que, é aproximadamente a distância que o flebotômico pode alcançar, e os cães deste estudo não têm livre acesso a rua, permanecendo a maior parte do tempo na área residencial. Em seguida, foi calculada a área total e a área vegetal dentro dos 300 metros estabelecido e classificada por bairro de coleta.

4.4.1 Análise dos dados geoespaciais

Para avaliação da relação entre as áreas vegetadas e o número de cães infectados por unidade territorial de cada bairro, foi utilizado o teste G com correção de Williams. O teste foi realizado no programa BioEstat v. 5.0, com nível de significância de 5%.

4.5 Condições de criação e Avaliação Clínica

Foram observadas características relacionadas ao tipo de criação, alimentação, criação de outros animais, ambiente em que passa mais tempo, uso de coleira antiparasitária e encaminhamento ao veterinário, tipo de raça, livre acesso à rua, idade, sexo, grau de escolaridade e renda familiar do tutor, conhecimento sobre a leishmaniose e a importância do cão na transmissão da doença.

A avaliação clínica seguiu a observação dos seguintes sinais clínicos externos: se o cão foi vacinado para a leishmaniose, coloração das mucosas, linfonodos palpáveis, achados oftálmicos, ouvidos e focinho. Na pele e anexos foram considerados dermatopatias, alopecia, seborréia, eritema, pústulas e onicogribose, ainda foi observado se há presença de ectoparasitas.

4.5.1 Análise dos dados clínico-laboratoriais

A avaliação da associação entre as variáveis estudadas e o resultado do ELISA foi processada via teste G com correção de Williams e *Odds Ratio* (OR), sendo estabelecido uma variável de referência nas categorias avaliadas. Todos os testes foram realizados no programa BioEstat v. 5.0, com nível de significância de 5%.

4.6 Avaliação de infecção canina por *Ehrlichia canis*

O teste imunocromatográfico para erliquiose foi realizado através do Alere Erliquiose Ac Test Kit que utiliza 10µL de sangue total, soro ou plasma em 2 gotas do tampão (50 mM Tris-HCL buffer 'pH 8.5', Azido de sódio, TritonX-100), obtendo a visualização do resultado após 20 minutos. O cão estava positivo, com anticorpo IgG e/ou IgM, quando duas linhas

vermelhas aparecem no cassete (C e T) e negativo, apenas com uma linha vermelha do controle (C), apresentando sensibilidade de 98,2% e especificidade de 100% (Figura 3).

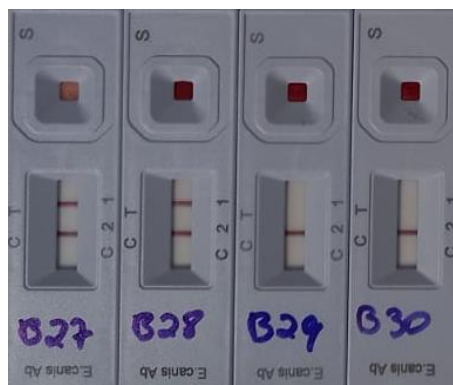


Figura 3: Teste imunocromatográfico para *Ehrlichia canis* dos cães de companhia analisados. B27 e B28: anticorpos IgM/IgG detectados (positivo); B29 e B30: amostras negativas.

4.6.1 Análise dos dados

A avaliação da associação entre as variáveis estudadas e o resultado do teste imunocromatográfico foi realizada pelo teste Exato de Fisher, utilizando o programa BioEstat v. 5.0, com nível de significância de 5%. Para a identificação de fatores de risco, foi calculada *odds ratio* (OR), com intervalo de confiança de 95%. Por se tratar de testes com Tabela de contingência 2x2, foi adotado uma variável de referência em casos de mais de duas variáveis nas categorias analisadas. Foi calculado o teste G (Williams) para avaliar se o tipo de criação tem influência nos casos de erliquiose.

4.7 Extração e Identificação de Compostos Orgânicos Voláteis (COV) de Pelos Caninos

Para esta etapa metodológica, foram destinados aproximadamente 130 mg de pelo de cada animal, para cada análise dos Compostos Orgânicos Voláteis pela técnica de extração, Solid Phase Micro Extration (SPME). A massa de pelos de cada animal foi acondicionada individualmente em *vials* de vidro (20 mL) devidamente lacrados. Em seguida, os *vials* com as amostras de pelos foram incubados em banho-maria à 90°C com uma fibra revestida de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB, 24 Ga Pink, 65 µM, Supelco, Bellefonte) inserida no septo de cada *vial* por 18 minutos para adsorção dos COV, de acordo com metodologia descrita por Magalhães Júnior *et al.* (2014).

Posteriormente, a fibra foi retraída e após cada uma das extrações a fibra foi inserida por três minutos no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas – CG-EM (Shimadzu GC-MS QP2010 Plus) a 240 °C para dessorção do COV em modo *splitless* sob fluxo de gás de arraste (He 0,7 mL min⁻¹) e separados na coluna cromatográfica capilar RTx-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm – sílica fundida 5% difenil/95% dimetil polissiloxano).

A temperatura da coluna cromatográfica foi programada da seguinte maneira para análise dos COV presentes nas amostras: 40 °C por 3 minutos; 40-130 °C a 2 °C min⁻¹; 130 °C por 15 minutos; 130-245 °C a 2 °C min⁻¹; 245 °C por 4 minutos (total de 124,5 minutos). As temperaturas da fonte de íons e da interface foram ajustadas em 240 °C: a energia de impacto de ionização de elétrons foi de 70 eV e a frequência de varredura de espectros foi de 40 a 400 m/z. A partir dos espectros de massas obtidos para cada um dos picos dos cromatogramas, foi feita a identificação dos COV com auxílio de bibliotecas de espectros próprias do *software* (NIST 08, NIST 98v101, Wiley MS 229 e FFNSC 1.3), considerando similaridade acima de 80%, e também pelo cálculo dos índices de retenção (IR) de cada composto, feito a partir dos tempos de retenção de uma mistura de *n*-alcanos comercial (C8-C20 – Sigma-Aldrich®) analisada sob as mesmas condições cromatográficas das amostras. O índice de retenção (IR) de cada composto foi calculado de acordo com a equação Van den Dool and Kratz. Os IR calculados foram comparados com dados da literatura por meio das bases de dados <<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>> e <<http://www.odour.org.uk/lriindex.html>>.

4.7.1 Análise de Dados Cromatográficos

Foi realizada a análise multivariada de Componentes Principais (PCA), para observar as tendências de agrupamento dos COV em relação à positividade dos cães para LV canina, adotando-se os cães infectados como variável ativa e não infectados como suplementar, utilizando o Software Statistica 7.0 (Stat Soft Inc.).

4.8 Aspectos Éticos

Todos os procedimentos envolvendo o uso de amostras biológicas de animais obedeceram às normas do Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Tiradentes, sendo esta pesquisa foi aprovada sob o número de cadastro nº 011121 (Anexo I). Este trabalho foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tiradentes, sob parecer número 4.654.181 (CAAE 36447220.9.0000.5371) (Anexo III)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados estão apresentados e discutido no formato de artigos:

5.1 Artigo 1 - Análise espacial do risco para leishmaniose visceral canina em área urbana do estado de Sergipe¹

RESUMO

A Leishmaniose Visceral (LV) está incluída entre as doenças negligenciadas diretamente relacionada às condições de vulnerabilidade social, sendo o cão o seu principal hospedeiro em ambientes urbanos. O objetivo do estudo foi avaliar a presença de cães com leishmaniose visceral em municípios do estado de Sergipe, Brasil, os fatores de risco relacionados e identificar compostos orgânicos voláteis (COVs) de cães infectados. Amostras de sangue periférico de 72 cães foram coletadas para a detecção do parasita por meio do teste ELISA e amostras de pelos para análise por GC-MS. Dos cães avaliados, 13/72 (18,05%) foram reagentes para LV canina, sendo sete em Aracaju e seis em Propriá. Fatores relacionados à vegetação, à idade, ao local de permanência do cão e ao livre acesso à rua, foram associados a maior chance do cão em se infectar. Foram identificados 53 compostos, dentre os quais o 2-butoxietanol, benzaldeído, decano, 2-fenilacetaldeído, nonan-1-ol, 2-fenoxietanol, ácido nonanóico, 8-heptadeceno e eicosano foram encontrados em cães soropositivos para leishmaniose. A postura do tutor frente aos cuidados caninos tem-se revelado cada vez mais importante, sendo necessária mais atenção à saúde do cão e às ações direcionadas a gestão ambiental na tentativa de diminuir os casos de LV canina no estado. Mesmo que os COVs identificados não tenham sido associados à infecção leishmaniótica, a presença e a quantificação dos COVs são de grande utilidade para a compreensão das substâncias em pelos caninos.

Palavra-chave: Epidemiologia; GC-MS; Leishmaniose Visceral Canina; NDVI

¹ Formatado de acordo com a revista *Brazilian Journal of Biology*

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV), conhecida popularmente por calazar, é uma zoonose causada por protozoário intracelular da espécie *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* Nicole (1908). *Lutzomyia longipalpis* Lutz e Neiva (1912) é considerado o principal vetor do agente etiológico da LV no Brasil, sendo encontrada em quase todas as regiões geográficas do país, com exceção dos estados de Santa Catarina e Amazonas. A transmissão ocorre via hematofagia do vetor infectado no seu principal hospedeiro em ambientes urbanos, o cão (Brasil, 2014B; OPS, 2019).

A LV é uma doença negligenciada, de grande importância na saúde pública, principalmente devido à sua alta letalidade. No Brasil, esta zoonose apresenta ampla distribuição geográfica, onde envolve as regiões Norte, Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul, referente aos números de casos notificados (Graepp-Fontoura et al., 2020). Devido também ao favorecimento climático da região Nordeste, com alterações no padrão de precipitação e temperatura, condições inadequadas de saneamento básico e o avanço da urbanização (Queiroz et al., 2020), torna-se o principal foco de transmissão com um percentual de 49,60% dos casos confirmados na década de 2010 a 2020 humana, enquanto no mesmo período, Sergipe confirmou 612 casos de LV humana (Brasil, 2014B; 2021).

Os fatores intervenientes para LV humana e canina relacionados ao uso do solo, como agricultura, vegetação conservada, desmatamento e urbanização das cidades necessitam ser considerados quando se faz avaliação epidemiológica desta zoonose. Portanto, o uso de metodologias geoespaciais para o monitoramento e melhor compreensão de doenças vem se tornando cada vez mais frequente. Com base nessas metodologias pode-se identificar *hotspots* e classificar a região a fim observar pontos de influência (Araújo et al., 2022). Bem como Oliveira (2011) e Campos et al. (2017) verificaram áreas de intensa transmissão e o avanço dos

casos de LV canina e humana ao longo dos anos (1999-2010; 2008-2014) na capital de Sergipe. Outra ferramenta, agora para contribuir no entendimento da dinâmica entre o parasito, o hospedeiro e o vetor, são os compostos orgânicos voláteis (COVs) liberados pelo hospedeiro vertebrado. Alguns estudos mostraram que o patógeno pode interferir nos odores produzidos pelos hospedeiros infectados (Gandon, 2018) e há presença de determinados compostos em cães infectados podem ser mais atrativos aos flebotomíneos (Staniek e Hamilton, 2021). Em razão do mecanismo primário de orientação dos insetos para hematofagia seja baseado no reconhecimento dos odores (Knols e Meijerink, 1997). A utilização de amostras biológicas, como pelos, pode auxiliar no monitoramento dos efeitos dessas substâncias e seus fatores associados (Amorim, 2003). Com isto, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de cães infectados com LV em municípios de Sergipe, os fatores de risco relacionados e identificar compostos orgânicos voláteis em pelos desses animais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Declaração ética e área de estudo

Todos os procedimentos envolvendo o uso de amostras biológicas de animais obedecem às normas do Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Tiradentes, sendo este estudo aprovado sob o número de cadastro nº 011121 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sob parecer número 4.654.181 (CAAE 36447220.9.0000.5371). A coleta das amostras biológicas foi iniciada posteriormente a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo tutor.

As áreas de rastreamento dos cães foram os municípios de Aracaju e Propriá, localizados no Estado de Sergipe. A capital sergipana, Aracaju, apresenta estimativa populacional de 672.614 habitantes distribuídos na área territorial de 182,163 km² (IBGE, 2021A). O censo canino em 2008 realizado pelo Centro de Controle de Zoonoses foi correspondente a 7,69% da população aracajuana. Se utilizar esse percentual para a população atual seriam, 51.724 cães. As áreas de

origem dos animais foram a Zona de Expansão com características de transição rural-urbana (povoado Areia Branca) e bairros centrais (Jabotiana, Inácio Barbosa e Palestina, Farolândia e Treze de Julho).

O município de Propriá, situado no leste sergipano, possui uma densidade demográfica de 3.140,65 hab/km² (IBGE, 2021B). Os animais eram oriundos do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) e do Conjunto Maria do Carmo, área de alta endemicidade.

2.2 Desenho do estudo

Os cães de companhia, de criação e errantes foram selecionados por conveniência não probabilística nas áreas endêmicas para LV em estudo. Foram incluídos cães adultos (acima de 6 meses) de ambos os sexos e não foram incluídas fêmeas em gestação e lactantes. Os cães foram considerados sintomáticos quando apresentaram dois ou mais sintomas específicos.

Foi realizada a coleta do sangue periférico dos cães e encaminhada para o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN/SE) para realização do teste Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA). As amostras de pelos caninos foram obtidas por corte rente à superfície corpórea do cão, utilizando lâminas de bisturi descartáveis e individuais. Os pelos foram envolvidos imediatamente após a extração em papel alumínio e em seguida acondicionados em sacos plásticos tipo zip lock e armazenados a 4 °C até a realização das análises cromatográficas dos COVs.

2.3 Análise Geoespacial

As residências dos cães amostrados foram georreferenciadas com o auxílio do aplicativo Timestamp Câmera (Susamp infotech Surate, India). Os mapas elaborados foram utilizando o software Qgis 3.28.2

Para estabelecer as áreas de vegetação do município de Aracaju foi utilizado o Índice de Vegetação com Diferença Normalizada (NDVI) utilizando imagens de satélite CBERS4A de

2022, extraídas do site do Instituto Nacional de Pesquisa Espaciais (INPE). O cálculo para obter o NDVI é através da diferença do Infravermelho Próximo (NIR) e do Vermelho (Red), pela razão da soma dos mesmos.

Foi classificado da seguinte maneira: telhado metálico em vermelho ($\text{NDVI} \leq -0,10$), telhado de cerâmica em laranja ($0,00 \leq \text{NDVI} \leq 0,19$), solo exposto em cinza ($0,2 \leq \text{NDVI} \leq 0,39$) ($\text{NDVI} \leq 0,20$), vegetal rasteira ou esparsa em verde claro ($0,40 \leq \text{NDVI} \leq 0,59$), vegetação densa em verde escuro ($0,60 \leq \text{NDVI} \leq 1,0$), baseado na classificação de Abrantes et al. (2018).

A partir dessa classificação, foi extraída a parte vegetada para o cálculo da área vegetal dentro do buffer de cada bairro analisado. O bairro jabotiana foi dividido em duas áreas, Largo da aparecida e Juscelino Kubitschek por motivos de distanciamento entre os cães analisados e um fator de saneamento básico precário, com o esgoto a céu aberto no Largo da Aparecia.

A partir da classificação do NDVI, foi extraído a área vegetada utilizando o plugin semi-automatic classification - postprocessing – classification to vector. Foi calculado o ponto médio a partir da triangulação da localização de cada cão, nos bairros onde os cães não estavam na mesma residência, com auxílio do software GPS TrackMaker Pro[®] (Geo Studio Technology).

Para relacionar a área vegetada e os casos de LV canina, foi realizado um buffer de 300 metros de raio com base no ponto médio ao redor das residências ($\text{área} = 282.361,338\text{m}^2$), visto que, é aproximadamente a distância que o flebotomíneo pode alcançar, e os cães deste estudo não têm livre acesso a rua, permanecendo a maior parte do tempo na área residencial. Em seguida, foi calculada a área total e a área vegetal dentro dos 300 metros estabelecido e classificada por bairro de coleta.

2.4 Avaliação Clínica e de Condições de Criação

Foram observadas características relacionadas ao tipo de criação, alimentação, criação de outros animais, ambiente em que passa mais tempo, uso de coleira antiparasitária e encaminhamento

ao veterinário, tipo de raça, livre acesso à rua, idade, sexo, grau de escolaridade e renda familiar do tutor, conhecimento sobre a leishmaniose e a importância do cão na transmissão da doença.

A avaliação clínica seguiu a observação dos seguintes sinais clínicos externos: se o cão foi vacinado para a leishmaniose, coloração das mucosas, linfonodos palpáveis, achados oftálmicos, ouvidos e focinho. Na pele e anexos foram considerados dermatopatias, alopecia, seborréia, eritema, pústulas e onicogribose, ainda foi observado se há presença de ectoparasitas.

2.5 Extração e Identificação de Compostos Orgânicos Voláteis (COV) de Pelos Caninos

Foram encaminhados 130 mg de pelo/animal para o Laboratório de Parasitologia da Universidade Estadual Paulista - UNESP, Araraquara e para o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo (IFSP) – Campus Matão para a análise dos Compostos Orgânicos Voláteis pela técnica de extração, Solid Phase Micro Extration (SPME). A massa de pelos de cada animal foi acondicionada individualmente em *vials* de vidro (20 mL) devidamente lacrados. Em seguida, os *vials* com as amostras de pelos foram incubados em banho-maria à 90°C com uma fibra revestida de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB, 24 Ga Pink, 65 µM, Supelco, Bellefonte) inserida no septo de cada *vial* por 18 minutos para adsorção dos COV, de acordo com metodologia descrita por Magalhães-Júnior et al. (2014).

Posteriormente, a fibra foi retraída e após cada uma das extrações a fibra foi inserida por três minutos no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas – CG-EM (Shimadzu GC-MS QP2010 Plus) a 240 °C para dessorção do COV em modo *splitless* sob fluxo de gás de arraste (He 0,7 mL min⁻¹) e separados na coluna cromatográfica capilar RTx-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm – sílica fundida 5% difenil/95% dimetil polissiloxano).

A temperatura da coluna cromatográfica foi programada da seguinte maneira para análise dos COV presentes nas amostras: 40 °C por 3 minutos; 40-130 °C a 2 °C min⁻¹; 130 °C por 15 minutos; 130-245 °C a 2 °C min⁻¹; 245 °C por 4 minutos (total de 124,5 minutos). As

temperaturas da fonte de íons e da interface foram ajustadas em 240 °C. A energia de impacto de ionização de elétrons foi de 70 eV e a frequência de varredura de espectros foi de 40 a 400 m/z. A partir dos espectros de massas obtidos para cada um dos picos dos cromatogramas, foi feita a identificação dos COV com auxílio de bibliotecas de espectros próprias do *software* (NIST 08, NIST 98v101, Wiley MS 229 e FFNSC 1.3), considerando similaridade acima de 80%, e também pelo cálculo dos índices de retenção (IR) de cada composto, feito a partir dos tempos de retenção de uma mistura de *n*-alcanos comercial (C8-C20 – Sigma-Aldrich®) analisada sob as mesmas condições cromatográficas das amostras. O índice de retenção (IR) de cada composto foi calculado de acordo com a equação Van den Dool and Kratz. Os IR calculados foram comparados com dados da literatura por meio das bases de dados <<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>> e <<http://www.odour.org.uk/lriindex.html>>.

4.6 Avaliação de infecção canina por *Ehrlichia canis*

O teste imunocromatográfico para erliquiose foi realizado através do Alere Erliquiose Ac Test Kit que utiliza 10µL de sangue total, soro ou plasma em 2 gotas do tampão (50 mM Tris-HCL buffer 'pH 8.5', Azido de sódio, TritonX-100), obtendo a visualização do resultado após 20 minutos.

2.7. Análise dos dados

Para avaliação da relação entre as áreas vegetadas e o número de cães infectados por unidade territorial de cada bairro foi utilizado o teste G com correção de Williams. A avaliação da associação entre as variáveis estudadas e o resultado do ELISA foi processada via teste G para as variáveis de alimentação, grau de escolaridade, renda familiar, ectoparasitas, tipo de criação e *Odds Ratio* (OR) para as demais, sendo estabelecido uma variável de referência nas categorias avaliadas. Todos os testes foram utilizados no programa BioEstat v. 5.0 (Fundação Mamirauá), com nível de significância de 5%.

Foi realizada a análise multivariada de Componentes Principais (PCA), para observar as

tendências de agrupamento dos COV em relação à positividade dos cães para LV canina, adotando-se os cães infectados como variável ativa e não infectados como suplementar, utilizando o Software Statistica 7.0 (Stat Soft Inc.).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Avaliação espacial da infecção canina para *Leishmania* spp.

Um total de 72 cães foram amostrados e categorizados em três grupos amostral, composto por animais de companhia, de criação e errantes, oriundos de áreas endêmicas para LV canina (Aracaju e Propriá) no estado de Sergipe. A avaliação dos cães foi realizada por meio de teste sorológico ELISA, sendo detectados 13 cães positivos (18,05%) para LV canina, sendo sete no município de Aracaju e seis em Propriá (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos cães avaliados quanto a infecção leishmaniótica em áreas endêmicas do Estado de Sergipe, Brasil, 2023.

do Estado de Sergipe, Brasil, 2023.

Região	Tipo de animal	Área vegetal (m²)*	Soropositivos		Total
			P	N	
Município de Aracaju					
Povoado Areia Branca	Criação	1.814,89	2	11	13
Juscelino Kubitschek/Bairro Jabotiana	Companhia	933,268	0	1	1
Largo da Aparecida/Bairro Jabotiana	Companhia	1.195,500	1	10	12
Inácio Barbosa	Companhia	788,460	0	3	3
Palestina	Companhia	125,409	2	1	3
Farolândia	Companhia	620,990	1	0	1
Treze de Julho	Companhia	149,246	1	0	1
Município de Propriá					
Centro de Controle de Zoonoses	Errante	-	3	2	5
Conjunto Maria do Carmo	Companhia	-	3	30	33

*Área vegetal calculado presente no buffer de 282.361,338m²; raio de 300m

O Largo da Aparecida e o Povoado Areia Branca que são as regiões mais vegetadas e com maior aglomeração de cães, deixando-os mais susceptível a infecção e necessitando de maior atenção à saúde canina (Tabela 1). Porém, mesmo que nas áreas A e B não apresentem grande parte vegetal, foi diagnosticado a infecção (Figura 2), demonstrando que mesmo os pequenos fragmentos de vegetação ao entorno das habitações seriam suficientes para que o flebótomo

complete o ciclo de vida e consequentemente ocasione o aumento da incidência para LV humana e canina (Aparicio e Bitencourt, 2004). Já que as espécies vetoras foram identificadas neste município (Andrade et al. 2022).

A urbanização de áreas vegetadas, acarreta no aumento da interação entre inseto vetor e o hospedeiro canino (Djibougou et al., 2022). Diminui a abundância de espécies vetoras nas áreas vegetadas (mata) (Oca-Aguilar et al., 2022), seguindo em direção a outros micros habitats mais próximos a população, as residências. Como no presente estudo que associou a transmissão, a proximidade das residências a vegetação ($p < 0.0001$).

Em relação aos bairros coletados observa-se uma distribuição da LV canina por todas as regiões de Aracaju, mesmo com presença de um cão positivo em alguns bairros (Figura 1). Esta permanência de cães infectados mostra que nesses bairros encontra-se ambiente favorável para a proliferação do vetor, visto que, são áreas que estão em desenvolvimento urbano, com saneamento básico precário e com extensa vegetação, terreno baldio nas proximidades e criação de outros animais, como foi encontrado nesse estudo.

No relato de Oliveira (2011), onde identificou as áreas de saúde mais prevalente ($>20\%$) de Aracaju entre os anos de 1999 a 2010, englobam alguns bairros aqui analisados, como o povoado Areia Branca, o bairro Jabotiana e Farolândia. Nas áreas de saúde que os bairros Inácio Barbosa, Palestina e Treze de Julho se encontram a prevalência foi até 10%. Observou também a expansão da LV canina da região Sul (área vegetal alta) para o Norte (pequenos fragmentos de vegetação) ao decorrer dos anos, alcançando quase todos os bairros da capital sergipana, demonstrando a permanência da circulação dessa infecção nessas áreas até o momento.

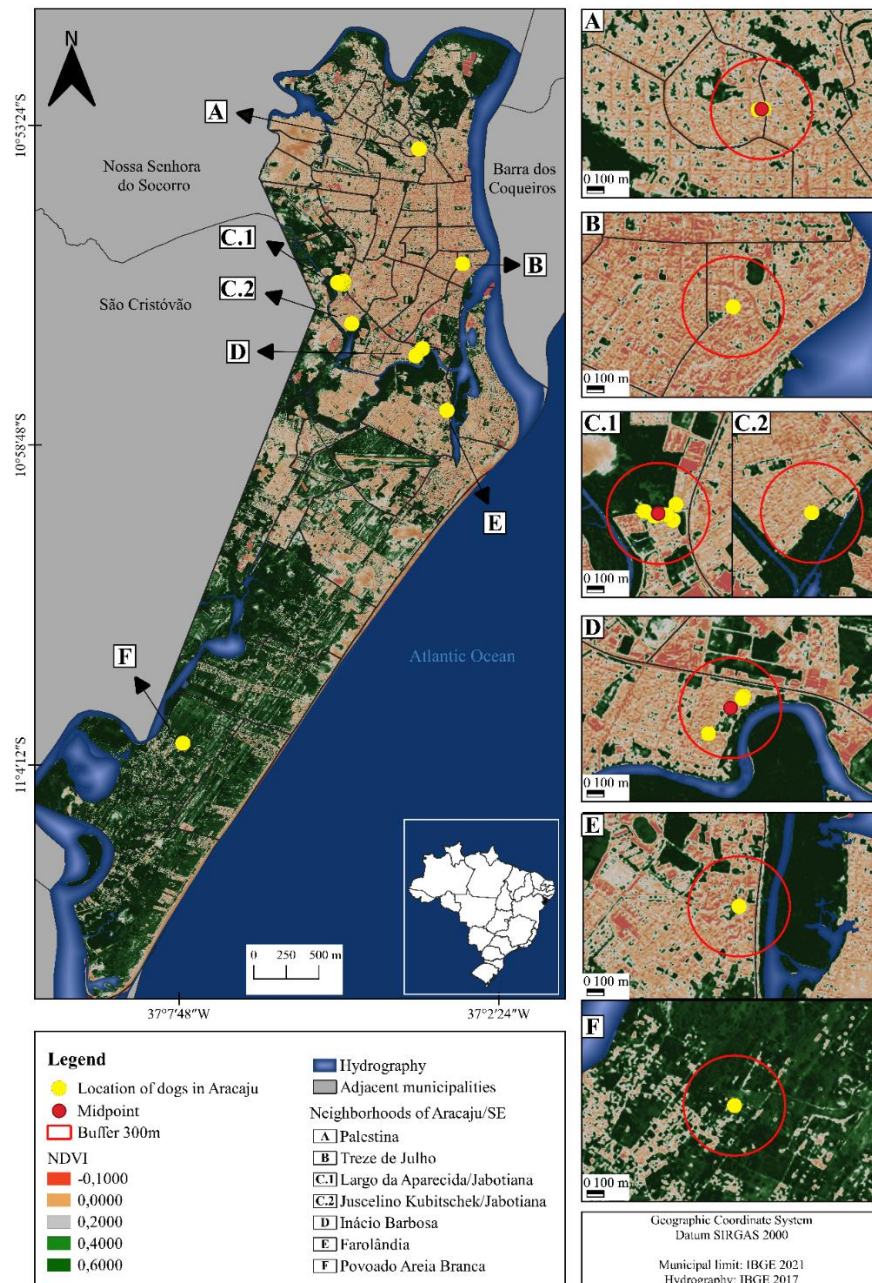


Figura 1: Classes de uso e cobertura do solo e localização dos cães coletados, Aracaju, Sergipe, 2022.

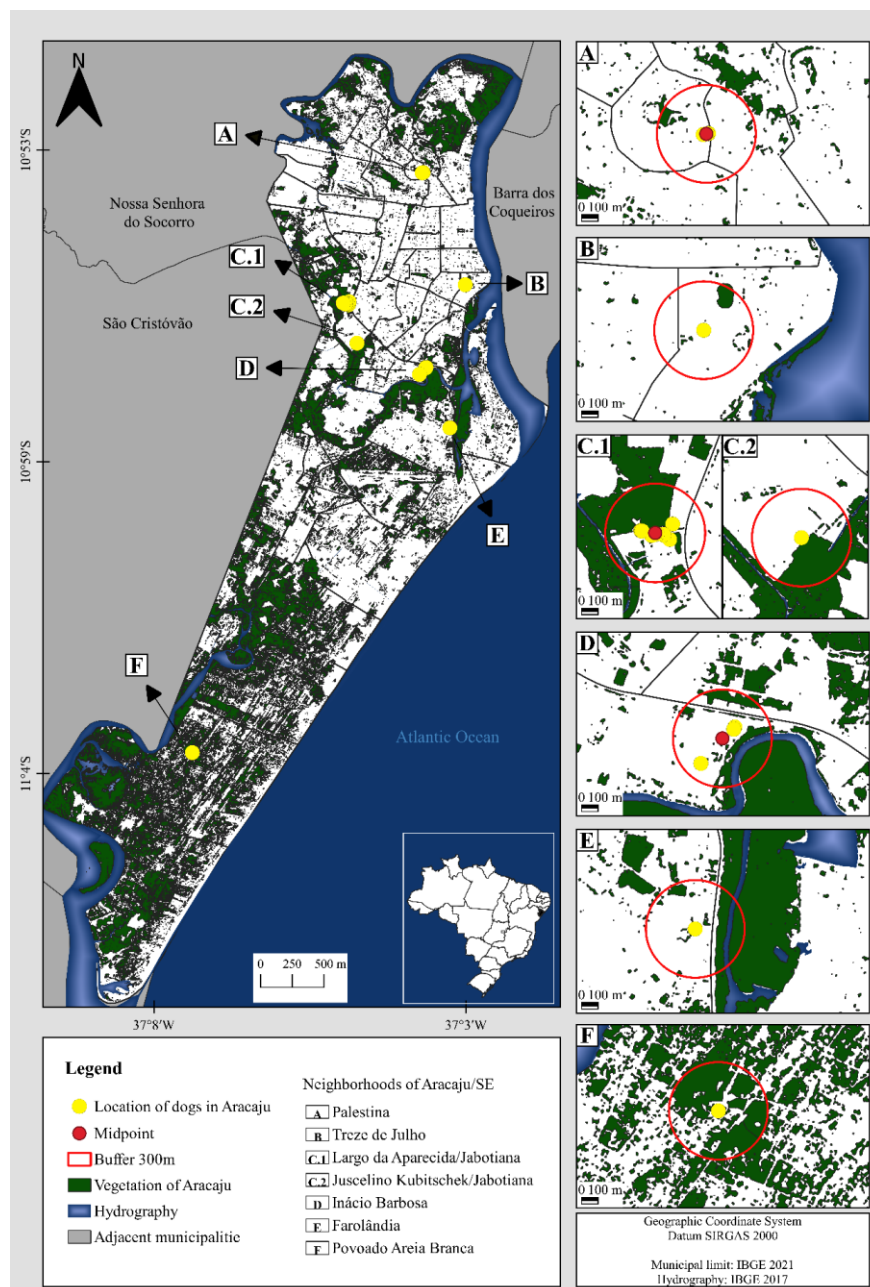


Figura 2: Cobertura vegetal e localização dos cães coletados, Aracaju, Sergipe, 2022.

Já em relação a Propriá, não tem estudos sobre a fauna de flebotomíneos (Andrade et al., 2022) e infecção canina, apenas casos humanos notificados (Pantaleão et al., 2018). Porém, observa-se nesse trabalho a presença LV canina no município, mesmo com a soropositividade baixa é uma região endêmica, por isso há a necessidade de investigação para melhor compreensão da dinâmica nessa área.

Alguns cães apresentaram coinfectados com *Ehrlichia canis* Donatien & Lestoquard, (1935) e *Leishmania* spp. (n=7; 9,72%). A coinfecção desses microrganismos é bastante comum e pode

gerar consequências negativas ao cão, ao comprometer a imunidade drasticamente e o desenvolvimento de sintomas mais severos (Baxarias et al., 2018; Beasley et al., 2021). Esse diagnóstico diferencial da LV canina para hemoparasitoses transmitidas por carrapatos, tais como erliquiose e babesiose, é de grande importância dada à similaridade das manifestações clínicas, da urbanização dos vetores e da existência de reação cruzada em testes sorológicos (Gomes e Cordeiro, 2004). Em alguns estados do Nordeste brasileiro 41,67% dos cães estavam infectados e com aspectos clínicos para *L. infantum* e *Ehrlichia canis* (Toepp et al., 2019). Por essa razão, os patógenos podem ocasionar danos teciduais pelo processo inflamatório e aumento de formas amastigotas de *Leishmania* spp. (Andrade et al., 2014).

3.2 Avaliação dos fatores ambientais e clínicos associados a infecção canina por *Leishmania* spp.

Entre os fatores intervenientes relacionados a LV canina, observou-se que há diferença estatística em cães com idade entre 06 meses a 1 ano ($p=0.0207$), tal como Evaristo et al. (2020) que associou ao sistema imunológico imaturo, ocasionando maior suscetibilidade a essa faixa etária. Porém, outros autores relatam a soroprevalência tanto em cães mais jovens (Gouvêa et al., 2016), quanto em cães mais velhos (Michelin et al., 2018), expressando a não predisposição ou suscetibilidade etária à infecção leishmaniótica (Tabela 2).

Os cães sem raça definida (OR = 2.48) foram mais soropositivos, assim como nos resultados de Jiang et al. (2016). Este dado pode estar relacionado ao estilo de criação dos animais, sendo necessário considerar os cuidados com a saúde, métodos de proteção individual do animal. Visto que, os cães de raça desse estudo utilizavam coleiras antiparasitárias e ambiente mais higienizados, mesmo que situados em área endêmica. No entanto, não deve desconsiderar as diferenças entre raças, pois pesquisas indicam que certas raças podem ser resistentes à infecção leishmaniótica (Vasconcelos et al., 2019).

O livre acesso do cão a rua faz com que o animal tenha maior chance de se infectar do que quando não tem livre acesso (OR = 1.83) e de pelo curto (OR = 1.15), visto que, esse cão pode circular por áreas mais propensas e manter proximidade com residências que apresentam criação de outros animais (OR = 1.35) como galinhas, gatos, patos e outros cães e pelo fato desses cães ficarem mais tempo em espaço extradomiciliar (OR = 1.71), que inclui o quintal das residências, onde há presença desses outros animais mencionados.

A presença de instalações destinado a criação comercial ou abrigo de animais nas proximidades das residências humanas, foram associadas a duas vezes maior chance de infecção leishmaniótica (Veloso et al., 2021), assim como a presença de anexos de criação de outros animais, bovino, caprino, coelho, principalmente aves (Oliveira et al., 2012; Silva et al., 2016) (Tabela 2).

No presente estudo, observou-se que, mesmo cães fêmeas apresentando maior chance de infecção (OR = 1.43), não houve diferença significativa entre os sexos, sugerindo que não há predisposição sexual para infecção leishmaniótica (Veloso et al., 2021; Djibougou et al., 2022).

Em relação as variáveis estudadas, o tipo de criação, grau de escolaridade, renda familiar, saber o que é leishmaniose, saber da importância do cão na transmissão da doença, a alimentação, o uso da coleira antiparasitária e a frequência ao veterinário, não apresentaram significância no estudo, porém são fatores que podem sim influenciar a infecção canina, de um contexto amplo, necessitando atenção a eles.

De acordo com o tipo de criação dos cães, os animais errantes, cães de vida livre, foram os mais soropositivos (60%), seguidos por aqueles de criação comercial (15,38%) e de companhia (cão domiciliado) (14,81%) (Tabela 2). Estes dados corroboram com Oliveira et al. (2021) que relata os animais errantes os mais soropositivos e sintomáticos quando comparado aos de companhia, de guarda e de caça e relaciona essa positividade ao hábito de vida livre e fatores nutricionais.

Os tutores não iniciaram ou concluíram o ensino básico (n = 43/67), resultando na renda familiar de menos de um salário mínimo (n = 34/67). Quando indagados sobre o que é a LV canina, os tutores responderam que não sabiam (n = 39/67) e que não sabiam a importância do cão na transmissão da doença (n = 48/67). Eles ainda relataram que a sintomatologia principal era a coceira e poderia ser transmitida por contato (Tabela 2).

Tutores que são analfabetos ou com o ensino fundamental incompleto, tem uma prevalência 0,57 vezes maior de chance que tutores com ensino fundamental completo de serem infectados (Bernardino et al., 2020). Por não terem recebido educação básica nas escolas ou informações do agente de endemia ou agente comunitário da saúde, faz com que a população tenha oito vezes mais chance de desenvolver a doença (Borges et al., 2008; Oliveira-Neto et al., 2018)

Tabela 2: Distribuição de fatores intervenientes sociodemográficos e de criação para Leishmaniose Visceral Canina, Sergipe, Brasil, 2022.

Variáveis epidemiológicas	N	P	Soroprevalência (%)	Análise estatística	
Grau de escolaridade*					
Analfabeto	7	0	0,00	G = 3.12	p = 0.3730●
Ensino fundamental	13	3	18,75		
Ensino médio	18	2	10,00		
Ensino superior completo	19	5	20,83		
Renda familiar*					
Menos de 1 salário mínimo	30	4	11,76	G = 4.98	p = 0.0827●
1 a 2 salários mínimos	10	0	0,00		
2 a 6 salários mínimos	17	6	26,09		
Sabe o que é Leishmaniose*					
Sim	23	5	17,86	**	
Não	34	5	12,82	OR=0.67 (0.17-2.60)	p = 0.4072 ▼
Sabe da importância do cão na transmissão da doença*					
Sim	15	4	21,05	**	
Não	42	6	12,50	OR=0.53 (0.13-2.16)	p = 0.2973 ▼
Tipo de criação					
Criação	11	2	15,38	G =1.47	p = 0.4795●
Errante	2	3	66,67		
Companhia	46	8	14,81		

Alimentação				
Ração comercial	10 3	23,08	G = 0.26	p = 0.8754●
Alimento preparado em casa	11 2	15,38		
Mista	38 8	17,39		
Criação de outros animais				
Sim	32 8	20,00	OR = 1.35 (0.39- 4.61)	p = 0.4352 ▼
Não	27 5	15,63	**	
Livre acesso à rua				
Sim	15 5	25,00	OR = 1.83 (0.51-6.47)	p = 0.2652 ▼
Não	44 8	15,38	**	
Onde passa a maior parte do tempo				
Extradomicílio	45 11	19,64	OR = 1.71 (0.33-8.66)	p = 0.4046 ▼
Intradomicílio	14 2	12,50	**	
Uso da coleira antiparasitária				
Sim	13 4	23,53	**	
Não	46 9	16,36	OR = 0.63 (0.16- 2.40)	p = 0.3642 ▼
Tipo de raça				
Sem raça definida	38 9	19,15	OR = 2.48 (0.49-12.59)	p = 0.2224 ▼
Raça definida	21 2	8,70	**	
Idade				
Filhote (06 meses a 1 ano)	22 2	8,33	OR = 0.10 (0.01-0.70)	p = 0.0207 ▼
Jovem (2 anos a 4 anos)	14 3	17,65	OR = 0.25 (0.04-1.43)	p = 0.1232 ▼
Adulto (5 anos a 7 anos)	6 5	45,45	**	
Idoso (mais de 8 anos)	17 3	15,00	OR = 0.21 (0.03-1.16)	p = 0.0787 ▼
Sexo				
Macho	23 4	14,81	**	
Fêmea	36 9	20,00	OR = 1.43 (0.39-5.21)	p = 0.4132 ▼
Pelo				
Curto	39 9	18,75	OR = 1.15 (0.31- 4.21)	p = 0.5523 ▼
Médio/longo	20 4	16,67	**	
Frequência ao Veterinário*				
Sim	20 4	16,67	**	
Ao aparecer sintomas	12 2	14,29	OR = 0.83 (0.13-5.25)	p= 0.6146 ▼
Não	25 4	13,79	OR = 0.80 (0.17-3.60)	p= 0.5338 ▼
Vacina - Leishmaniose				
Sim	7 1	12,50	**	
Não	52 12	18,75	OR = 1.61 (0.18-14.39)	p = 0.5558 ▼
Outras	37 9	19,57	-	

N- Negativo; P- Positivo; OR: Odds Ratio (Intervalo de Confiança)

*retirados os cães errantes por não terem tutor; n=67

**Categoria de referência

▼ Teste Exato de Fisher

● Teste G (Williams)

Conforme a avaliação dos sinais clínicos externos, 35,00% (n=7) dos cães foram classificados como sintomáticos (OR = 4.12; p = 0.0276) e 11,54% (n=6) como assintomáticos. Foi observada infestação de carrapatos em 30,55% dos cães e pulga em 2,7%, sendo observado que 20,83% dos cães soropositivos para LV não apresentavam nenhum destes ectoparasitas, demonstrando que não precisa estar ectoparasitado para estar infectado (Tabela 3). Até porque o carrapato se fixa ao animal para a reprodução, passando a maior parte do ciclo em vida livre. Quando analisados os resultados do teste de erliquiose, identificou-se que dos 22 cães com carrapatos, 81,82% cães estavam positivos para *Ehrlichia canis*. Este alto percentual de cães com carrapato pode indicar fragilidade no atendimento do tutor a saúde do canino, deixando-o vulnerável a outras doenças (Bernardino et al., 2020).

As manifestações clínicas foram associados a sintomatologia da LV canina, sendo mais provável a ocorrência em cães que estão infectados em relação aos que não estão infectados. Manifestações clínicas do focinho ressecado ou lesionado (OR = 5.46; p = 0.0149), globo ocular com uveíte, úlcera e secreção (OR = 7.57; p = 0.0056), ouvido com otite, lesão e descamação (OR = 4.66; p = 0.0173), mucosa hipocorada (OR = 4.76; p = 0.0224), linfonodos (OR = 1.06; p = 0.5894) e pele e anexo com lesões crostosas, alopecia, seborréia e onicogribose (OR = 3.78; p = 0.0365) (Figura 3) (Tabela 3).

A sintomatologia característica da leishmaniose foi observada neste estudo tal como em outros estudos que descreveram cães com linfadenomegalia, onicogribose, alopecia e descamação (Pasanisi, 2020). Mesmo que haja diferença entre os sinais clínicos e a infecção, sabe-se que cães sintomáticos como assintomáticos tem a capacidade de transmitir a doença caso o vetor esteja presente (Djibougou et al., 2022).



Figura 3: Sinais e sintomas dos cães coletados. A e E (errantes) – Alopecia, desidratado, ectoparasita e lesões cutâneas; B, C, D e F (companhia) – Uveíte, alopecia, lesões cutâneas, alopecia ocular e secreção ocular.

Tabela 3: Distribuição dos sinais clínicos conforme a positividade da Leishmaniose Visceral Canina, Sergipe, Brasil, 2022.

Sinais clínicos por região corpórea					
N	P	Soroprevalência (%)	Análise estatística		
Sintomatologia					
Sintomático	13	7	35,00	OR = 4.12 (1.18- 14.44)	p = 0.0276 ▼
Assintomático	46	6	11,54		
Ectoparasitas					
Pulga	2	0	0,00	G = 1.06	p = 0.5867 ●
Carrapato	19	3	13,64		
Ausente	38	10	20,83		
Focinho					
Normal	51	7	12,07	**	p = 0.0149 ▼
Alterado	8	6	42,86	OR = 5.46 (1.45-20.47)	
Globo ocular					
Normal	53	7	11,67	**	

Alterado	6	6	50,00	OR = 7.57 (1.90-30.06)	p = 0.0056 ▼
Ouvidos					
Normal	56	9	13,85	**	
Alterado	3	4	57,14	OR = 4.66 (0.89-24.40)	p = 0.0173 ▼
Linfonodos*					
Normal	46	10	17,86	OR = 1.06 (0.25-4.43)	p = 0.5894 ▼
Alterado	13	3	18,75	**	
Pele e Anexos					
Normal	37	4	9,76	**	
Alterado	22	9	29,03	OR = 3.78 (1.04-13.75)	p = 0.0365 ▼
Mucosa					
Normal	50	7	12,28	**	
Hipocorada	9	6	40,00	OR = 4.76 (1.29-7.49)	p = 0.0224 ▼

N- Negativo; P- Positivo; OR: Odds Ratio (Intervalo de Confiança)

**Categoria de referência

▼ Teste Exato de Fisher

● Teste G (Williams)

3.3 Avaliação dos Compostos Orgânicos Voláteis (COVs) de Pelos Caninos

Dentre as amostras de pelos analisadas por CG-MS, quatro cães testaram positivo para *Leishmania* spp. pelo teste de ELISA (A04, A13, B01 e E01). O total de 53 compostos foram identificados com seus respectivos índices de retenção e concentração encontrados (Tabela 4). Estes COVs pertencem a seis funções orgânicas: hidrocarboneto (39,62%; n= 21), aldeído (24,52%; n= 13), álcool (16,98%; n= 9), cetona (9,43%; n= 5), éster (5,66%; n= 3) e Ácido carboxílico (1,89%; n= 1) e éter (1,89%; n= 1).

Foi possível observar que os compostos 2-butoxietanol, benzaldeído, decano, 2-fenilacetaldeído, nonan-1-ol, 2-fenoxietanol, ácido nonanóico, 8-heptadeceno e eicosano foram encontrados somente em cães positivos (destacados em verde), mesmo não sendo identificados em concomitância as amostras soropositivas. O 6-metil-5-hepten-2-ona, pentadecanal, 2,6,10-trimetilpentadecano, tetradecan-1-ol e metil *n*-hexadecanoato foram encontrados em pelo menos um cão negativo (destacados em amarelo). Foram identificados 10 compostos em todos os animais avaliados, soropositivos e soronegativos (destacado em rosa) (Tabela 4).

Tabela.4: COV identificados, em ordem crescente de tempo (t_R), com seus respectivos índices de retenção (IR) calculados e obtidos a partir das bases de dados. números: indicam a área

relativa do composto na amostra a soma de todas as áreas; -: indica ausência do composto na amostra.

	IR Exp	IR lit	Compostos	A03	A04	A05	A07	A08	A13	B01	B24	C01	E01
1	892	880	ciclooctatetraeno	-	-	-	0,27	0,54	-	4,72	-	-	-
2	905	902	heptanal*	-	0,24	-	0,46	1,26	0,56	0,47	-	1,34	-
3	905	909	2-butoxietanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,86
4	965	960	benzaldeído*	-	-	-	-	-	-	0,66	-	-	-
5	992	987	6-metil-5-hepten-2-ona	-	-	-	-	-	-	-	-	0,85	-
6	1007	1005	octanal	-	-	-	-	-	0,21	-	1,89	-	1,00
7	1016	1000	decano*	-	-	-	-	-	-	1,49	-	-	-
8	1036	1029	2-etilhexan-1-ol	1,60	3,12	2,06	3,64	2,70	2,44	39,39	5,53	1,84	0,82
9	1041	1043	álcool benzílico	6,10	3,09	2,59	3,07	4,79	3,53	3,73	3,44	1,68	12,29
10	1046	1049	2-fenilacetaldeído	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,18
11	1072	1068	1-feniletanona*	3,69	2,17	1,61	2,17	2,42	2,35	2,02	-	0,98	-
12	1079	1072	octan-1-ol*	-	0,36	-	0,33	0,43	-	0,46	1,61	1,06	0,92
13	1107	1109	nonanal*	5,70	6,57	7,47	8,18	20,70	16,19	16,42	25,89	17,96	18,80
14	1165	1163	(E)-non-2-enal*	0,20	-	0,28	0,70	0,89	-	-	1,42	2,56	1,73
15	1174	1172	nonan-1-ol	-	-	-	-	-	0,67	-	-	-	0,75
16	1183	1183	naftaleno*	2,36	-	-	2,40	2,48	2,55	5,93	0,61	2,55	0,52
17	1196	1191	decan-2-ona*	-	1,13	0,73	0,40	-	-	-	1,64	-	0,88
18	1200	1200	dodecano*	1,97	3,79	1,29	2,45	4,14	2,66	1,36	1,71	2,10	-
19	1208	1208	decanal*	1,73	3,19	2,62	1,62	2,77	3,47	3,47	2,41	10,30	3,50
20	1216	1220	2-fenoxietanol*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,24
21	1266	1266	decan-1-ol	-	1,48	1,46	0,92	-	0,79	-	0,79	-	0,52
22	1284	1278	ácido nonanóico	-	-	-	-	-	-	0,52	-	-	1,36
23	1292	1295	undecan-2-ona*	-	-	-	-	0,18	-	-	-	-	0,24
24	1300	1300	tridecano*	-	-	-	-	1,00	-	1,35	-	0,61	-
25	1310	1306	undecanal*	-	1,30	1,33	0,80	1,48	1,27	1,51	0,84	1,28	0,79
26	1373	1372	3-metiltridecano	-	-	3,00	5,35	4,59	3,93	-	2,55	-	-
27	1400	1400	tetradecano*	14,47	17,70	7,86	12,08	11,55	11,06	3,55	11,13	8,98	1,21
28	1410	1408	dodecanal*	1,40	2,30	1,92	1,05	2,02	2,26	1,64	3,61	1,30	-
29	1453	1455	geranilacetona	2,75	2,48	1,43	2,26	1,05	2,48	0,48	3,82	6,19	1,87
30	1478	1473	dodecan-1-ol*	2,39	-	1,16	0,96	1,00	-	1,36	11,70	-	4,81
31	1500	1500	pentadecano*	4,88	2,77	2,52	1,11	2,87	2,31	1,40	0,87	1,10	3,68
32	1512	1513	tridecanal	0,64	1,75	1,42	1,09	0,91	-	0,85	-	-	2,50
33	1568	1570	3-metilpentadecano*	10,67	11,79	6,26	8,75	5,91	7,73	1,62	6,18	4,42	0,96
34	1600	1600	hexadecano*	15,19	13,33	10,22	9,95	7,03	8,55	2,65	5,19	6,05	2,15
35	1617	1612	tetradecanal	1,69	1,43	1,28	2,14	0,98	1,69	0,59	-	0,56	5,76
36	1654	1649	2,6,10-trimetilpentadecano	-	-	5,90	-	0,98	-	-	-	-	-
37	1679	1676	8-heptadeceno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,80
38	1679	1680	tetradecan-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	2,51	-	-
39	1700	1700	heptadecano*	5,28	2,47	3,13	1,49	1,69	1,64	0,76	-	2,94	3,96
40	1710	1703	2,6,10,14-tetrametilpentadecano	-	-	8,14	1,19	0,98	2,75	-	-	-	-
41	1718	1715	pentadecanal	-	-	-	-	0,55	-	-	-	-	-
42	1751	1746	2-benzilideneoctanal	11,94	7,99	-	-	-	-	0,91	-	2,82	-
43	1774	1770	3-metilheptadecano	-	5,57	5,32	6,52	3,13	3,84	-	-	-	0,75

44	1801	1800	octadecano*	3,71	2,84	3,17	2,02	1,29	1,53	0,69	0,86	3,39	0,97
45	1806	1810	2-fenoxietoxibenzeno	-	-	11,39	11,91	4,97	11,06	-	-	-	-
46	1820	1821	hexadecanal	-	-	-	0,66	0,35	-	-	-	0,28	1,15
47	1832	1826	tetradecanoato de propano-2-ila*	1,64	1,14	1,41	0,71	0,58	0,52	-	-	0,50	-
48	1869	1857	2-hidroxibenzoato de benzila	-	-	3,03	2,03	1,79	1,97	-	-	-	-
49	1885	1880	hexadecanol	-	-	-	-	-	-	-	3,80	12,10	15,09
50	1901	1900	nonadecano*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,92	1,11
51	1931	1926	metil <i>n</i> -hexadecanoato	-	-	-	0,85	-	-	-	-	3,34	-
52	1993	1991	hexadecanoato de etila	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	0,41
53	1999	2000	eicosano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,42

* COV previamente identificados a partir de amostras de pelos de cães (Magalhães-Junior et al., 2014).
A: Cães de criação; B e E: Cão de companhia; C: Cão errante
Cães soropositivos: A04,A13,B01,E01

Foi realizada a análise de agrupamento considerando a concentração de cada substância, porém não demonstrou diferenciação de cães positivos dos negativos. Observa-se uma tendência de agrupamento em dois cães sororeagentes, B01 e E01. O cão B01 foi encontrado coinfectado com a *Ehrlichia canis* e o E01 foi o único cão com sintomatologia encontrada, apresentando maior quantidade de compostos identificados, isto pode ser relacionado ao processo metabólico inflamatório ocorrido pelas infecções (Figura 4).

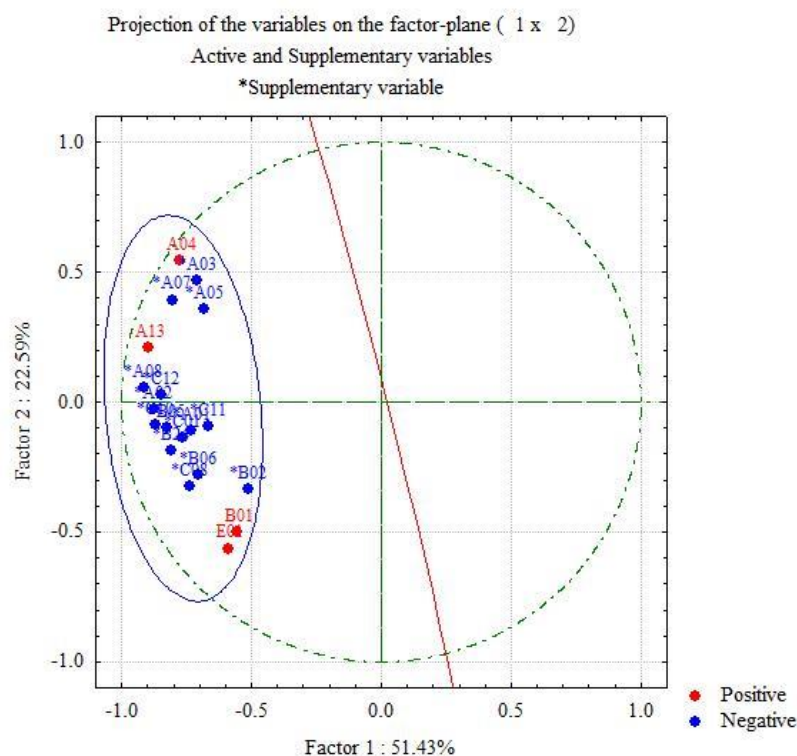


Figura 4: Análise de PCA das amostras de pelos de cães infectados e não infectados

Apesar da existência de estudos com a identificação e a avaliação da atratividade de COVs associados as leishmanioses (Oliveira et al., 2008; Magalhães-Júnior et al., 2014; Tavares et al., 2018; Magalhães-Júnior et al., 2019), a presente pesquisa é uma das poucas que se propôs a avaliar compostos voláteis em pelo de cães e pode contribuir para a compreensão da relação do inseto-hospedeiro canino, pois poderá identificar estímulos atrativos ou repelentes para os flebotomíneos.

A partir dos COVs em pelos caninos, foi possível diferenciar o perfil de cães com base em características clínicas e infecção leishmaniótica, sendo eles: pentadecano, hexadecano, 2-hexanona, 2-decanona, dodecano, 2-octanona, 2-nonanona, eicosano, 2-octenal, benzaldeído, tridecano, 2-heptenal, heneicosano, nonadecano, heptanal, 2,4-nonadienal, pentadecano, nonanal, decanal, octadecano, heptadecano, tetradecano, hexanal e octanal. Os compostos benzaldeído, 2-hexanona e 2,4-nonadienal identificados apresentaram maior potencial de associação a cães infectados (Oliveira et al., 2008).

Como também no relato de Magalhães-Júnior et al. (2014) que relacionou os compostos octanal, nonanal, undecano, éter β -hidroxietilfenil, decanal, tetradecano, nonilciclopentano, 8-pentadecanona, heptadecano e 2-etil-hexil-salicilato a cães parasitados. Quando utilizado alguns desses compostos para avaliar a atratividade de *Lu. longipalpis* foi observada a ativação e atração de machos e fêmeas de *Lu. longipalpis* ao octanal, nonanal, decanal e heptadecano (Magalhães-Júnior et al., 2019).

Em outro estudo, pode-se relacionar os COVs e a LV canina utilizando um olfatômetro de tubo em Y, onde observou a ativação/atração da espécie vetora à cães infectados aos não infectados. Sugere-se que o patógeno pode alterar o odor dos seus hospedeiros para atrair o vetor (Gandon, 2018).

Os compostos pentadecano, hexadecano, dodecano, eicosano, benzaldeído, tridecano,

nonadecano, heptanal, pentadecano, nonanal, decanal, octadecano, heptadecano, tetradecano e octanal, foram relacionados a infecção, de acordo com os trabalhos mencionados, e estavam presentes nos animais aqui analisados.

O eicosano e benzaldeído foram identificados neste trabalho em um cão positivo, sendo o último importante para a orientação da espécie *Lu. longipalpis* (Dougherty et al., 1999). Os outros compostos correlacionados foram encontrados em cães negativos, ainda não sendo possível estabelecer um padrão de liberação de voláteis para esta enfermidade no presente estudo.

Esses trabalhos mostram um caminho promissor para a identificação de bioquímicos associados a LV canina, com o aprimoramento de técnicas pode alcançar métodos de diagnóstico assim como o câncer, diabetes, doenças pulmonares e neurogenerativas (Fitzgerald e Fenniri, 2017).

4 CONCLUSÃO

Observou-se transmissão ativa para *Leishmania* spp. nos municípios de Aracaju e Propriá no estado de Sergipe. Alguns aspectos relacionados à presença da vegetação nas proximidades, idade, criação dos cães, o livre acesso a rua e criação de outros animais podem contribuir para a manutenção do ciclo de transmissão leishmaniótica. Devido a isto, medidas de controle direcionadas a gestão ambiental peridomiciliar e cuidado com a saúde dos cães podem auxiliar na redução dos índices de LV canina. Os compostos orgânicos voláteis identificados foram compatíveis com a literatura, demonstrando um possível caminho para discriminação de cães positivos para LV, porém não foi possível associar os COVs com a infecção por *Leishmania* spp.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos tutores dos animais e ao Centro de Controle de Zoonoses do município de

Propriá e de Aracaju pela colaboração para a coleta das amostras. Este trabalho foi financiado pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e a bolsa de Iniciação Científica pela FAPITEC (Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do estado de Sergipe).

REFERENCIAS

ABRANTES, T.R., WERNECK, G.L., ALMEIDA, A.S. e FIGUEIREDO, F.B., 2018. Environmental factors associated with canine visceral leishmaniasis in an area with recent introduction of the disease in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 34, no. 1, pp. e00021117. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00021117> . PMID: 29412315

AMORIM, L.C.A., 2003. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, vol. 6, no. 2, pp. 158-170. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2003000200009>.

ANDRADE, D.C., LIMA, A.F.V.A., JERALDO, V.L.S., MELO, C.M., PINTO, M.C. e MADI, R.R., 2022. Phlebotominae Fauna (Diptera: Psychodidae) and the Spatial Distribution of Species in Sergipe, Brazil. *Journal of Medical Entomology*, vol. 60, no. 2, pp. 401-407. <https://doi.org/10.1093/jme/tjac180>. PMID: 36462189.

ANDRADE, G.B., BARRETO, W.T.G., SANTOS, L.L., RIBEIRO, L.R.R., MACEDO, G.C., SOUSA, K.C.M., ANDRE, M.R., MACHADO, R.Z., HERRERA, H.M., 2014. Pathology of dogs in Campo Grande, MS, Brazil naturally co-infected with *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, vol. 23, no. 4, pp. 509-515. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014081>. PMID: 25517530.

- APARICIO, C. e BITENCOURT, M. D., 2004. Spacial modeling of cutaneous leishmaniasis risk zones. *Revista de Saúde Pública*, vol. 38, no. 4, pp. 511-516. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102004000400005>. PMID: 15311290.
- ARAÚJO, A.R., EBBERS, W.B.H., FEITOSA, A. P. S., SILVA, D.A., BANDEIRA, R.A.M., VELÁSQUEZ, C.M.R., PESSOA, F.A.C., ALVES, L.C. e BRAYNER, F.A., 2022. Definition of the main vector of cutaneous leishmaniasis: Ecology and mapping in endemic area of Northeast Brazil. *Acta Tropica*, vol. 233, pp. 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106572>. PMID: 35753387.
- BAXARIAS, M., ÁLVAREZ-FERNÁNDEZ, A., MARTÍNEZ-ORELLANA, P., MONTSERRAT-SANGRÀ, S., ORDEIX, L., ROJAS, A., NACHUM-BIALA, Y., BANETH, G., SOLANO-GALLEGU, L., 2018. Does co-infection with vector-borne pathogens play a role in clinical canine leishmaniosis? *Parasites and Vectors*, vol. 11, no. 1, pp. 1-16. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2724-9>. PMID: 29554918.
- BEASLEY, E.A., PESSÔA-PEREIRA, D., SCORZA, B.M. e PETERSEN, C.A., 2021. Epidemiologic, Clinical and Immunological Consequences of Co-Infections during Canine Leishmaniosis. *Animals*, vol. 11, no. 11, pp. 3206-3234. <https://doi.org/10.3390/ani11113206>. PMID: 34827938.
- BERNARDINO, M.G.S., ANGELO, D.F.S., SILVA, R.B.S., SILVA, E.G., SILVA, L.F.F., VAZ, A.F.M., MELO, M.A., SANTOS, C.S.A.B., ALVES, C.J. e AZEVEDO, S.S., 2020. High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 29, no. 2, pp. e016919. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020014>. PMID: 32428183.
- BORGES, B.K.A., SILVA, J.A., HADDAD, J.P.A., MOREIRA, E.C., MAGALHÃES, D.F., RIBEIRO, L.M.L. e FIÚZA, V.O.P., 2008. Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes

preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Caderno de Saúde Pública*, vol. 24, no. 4, pp. 777-784. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2008000400007>. PMID: 18392354.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2021 [acesso em 20 janeiro de 2022]. *Casos confirmados de leishmaniose visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2020* [online]. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/novembro/16/lv-casos.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2014 [acesso em 15 março de 2021]. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral* [online]. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscerale_1edicao.pdf

CAMPOS, R., SANTOS, M., TUNON, G., CUNHA, L., MAGALHÃES, L., MORAES, J., RAMALHO, D., LIMA, S., PACHECO, J.A., LIPSCOMB, M., JESUS, A.R. e ALMEIDA, R.P., 2017. Epidemiological aspects and spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in an endemic area in northeastern Brazil. *Geospatial Health*, vol. 12, no. 1, p. 67-73. <https://doi.org/10.4081/gh.2017.503>. PMID: 28555473

DJIBOUGOU, A.D., NIKIÈMA, A.S., HIEN, A.S., SANGARÉ, I., YAMEOGO, B.K., KOALA, L., OUARI, A., DIAGBOUGA, S.P., DIABATÉ, A., PRICE, H., FOURNET, F. e DABIRÉ, R.K., 2022. Serological and molecular detection of *Leishmania* species in dog peripheral blood from Bobo-Dioulasso city, a confirmation of canine leishmaniasis enzootic area for Burkina Faso. *Infection, Genetics and Evolution.*, vol. 103, pp. 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2022.105327>. PMID: 35811035.

DONATIEN, A. e LESTOQUARD, F., 1935. Existence en Algérie d'une Rickettsia du chien. *Bull Societe of Pathology Exotic*, vol. 28, pp. 418-419.

- DOUGHERTY, M.J., GUERIN, P.M., WARD, R.D. e HAMILTON, J.G.C., 1999. Behavioural and electrophysiological responses of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) when exposed to canid host odour kairomones. *Physiological Entomology*, vol. 24, no. 3, pp. 251-262. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3032.1999.00139.x>.
- EVARISTO, A.M.C.F., SEVÁ, A.P., OLIVEIRA, G.M.B., SILVA, I.W.G., FERREIRA, M.S., SOUZA, E.A.R., SILVA, J.A.M., AZEVEDO, S.S. e HORTA, M.C., 2020. Canine leishmaniasis in the semi-arid region of Pernambuco, northeastern Brazil: epidemiology, factors associated with seropositivity and spatial analysis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol 29, no. 2, pp. e001120. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020027>. PMid: 32490894.
- FITZGERALD, J. e FENNIRI, H., 2017. Cutting edge methods for non-invasive disease diagnosis using e-tongue and e-nose devices. *Biosensors*, vol. 7, no. 4, pp. 59-98. <https://doi.org/10.3390/bios7040059>. PMid: 29215588.
- GANDON, S., 2018. Evolution and Manipulation of Vector Host Choice. *The American Naturalist*, vol. 192, no. 1, pp. 23-34. <https://doi.org/10.1086/697575>. PMid: 29897804.
- GIUSEPPE, A., ANNASTELLA, F., GIANNETTO, C., ELISABETTA, G., GIUSEPPE, P., BARBARA, T., CICERO, L. e CASSATA, G., 2022. Preliminary study for the application of Raman spectroscopy for the identification of *Leishmania* infected dogs. *Scientific Reports*, vol. 12, no. 1, pp. 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11525-w>. PMid: 35523983.
- GOMES, A.P.S. e CORDEIRO, R.L.R., 2004. Reação cruzada no diagnóstico sorológico de leishmaniose canina. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, vol. 23, no. supl. 1, pp. 238.
- GOUVÊA, M.V., MENDONÇA, I.L., CRUZ, M. do S.P., COSTA, C.H.N., BRAGA, J.U. e WERNECK, G.L., 2016. Predictive factors for *Leishmania infantum* infection in dogs

examined at a veterinary teaching hospital in Teresina, State of Piauí, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 49, no. 1, pp. 107-111. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0187-2015>. PMID: 27163573.

GRAEPP-FONTOURA, I., BARBOSA, D.S., NASCIMENTO, L.F.C., FONTOURA, V.M., FERREIRA, A.G.N., SANTOS, F.A.A.S., SOUSA, B.S., SANTOS, F.S., SANTOS-NETO, M., SANTOS, L.H. e ABREU-SILVA, A.L., 2020. Epidemiological aspects and spatial patterns of human visceral leishmaniasis in Brazil. *Parasitology*, vol. 147, no. 14, pp. 1665-1677. <https://doi.org/10.1017/s0031182020001754>. PMID 32951622.

HUANG, S., TANG, L., HUPY, J.P., WANG, Y., e SHAO, G., 2021. A commentary review on the use of normalized difference vegetation index (NDVI) in the era of popular remote sensing. *Journal of Forestry Research*, vol. 32, no. 1, pp. 1-6. <https://doi.org/10.1007/s11676-020-01155-1>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatístico – IBGE, 2021A [acesso em 15 abril de 2022]. Cidades, Brasil, Sergipe, Aracaju *Panorama* [online]. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/aracaju/panorama>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatístico– IBGE, 2021B [acesso em 15 abril de 2022]. Cidades, Brasil, Sergipe, Propriá. *Panorama* [online]. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/propria/panorama>.

JIANG, W., WANG, Y., LIU, Y., LI, T., CHEN, Y., WANG, S., HAN, X. e WANG, Q., 2016. Seroepidemiological study of canine *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* infections in Shanghai, China, and analysis of risk factors. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2016; vol. 23, no. 3, pp. 420-424. <https://doi.org/10.5604/12321966.1219180>. PMID: 27660861.

KNOLS, B.G.J. e MEIJERINK, J., 1997. Odors influence mosquito behaviour. *Science &*

medicine, vol. 4, pp. 56-63.

LUTZ, A. e NEIVA, A., 1912. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol. 4, no. 1, pp. 84-95.

MAGALHÃES-JUNIOR, J.T., MESQUITA, P.R.R., OLIVEIRA, W.F.S., OLIVEIRA, F.S., FRANKE, C.R., RODRIGUES, F.M., ANDRADE, J.B. e BARROUIN-MELO, S.M., 2014. Identification of biomarkers in the hair of dogs: new diagnostic possibilities in the study and control of visceral leishmaniasis. *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 406, no. 26, pp. 6691-6700. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8103-2>. PMid: 25171830.

MAGALHÃES-JUNIOR, J.T., OLIVA-FILHO, A.A., NOVAIS, H.O., MESQUITA, P.R.R., RODRIGUES, F.M., PINTO, M.C. e BARROUIN-MELO, S.M., 2019. Attraction of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to possible biomarker compounds from dogs infected with *Leishmania infantum*. *Medical and veterinary entomology*, vol. 33, no. 2, pp. 322-325. <https://doi.org/10.1111/mve.12357>. PMid: 30652325.

MICHELIN, A.F., MACIEL, M.O.S., OKAJIMA, M., NUNES, C.M., PERRI, S.H.V. e BONFIETTI, L.X., 2018. Factors associated with positivity for canine visceral leishmaniosis in an endemic area in Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, vol. 12, pp. 13-16. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2017.12.006>. PMid: 31014800.

OCA-AGUILAR, A.C.M., REBOLLAR-TÉLLEZ, E.A., SOSA-BIBIANO, E.I., LÓPEZ-AVILA, K.B., TORRES-CASTRO, J.R. e LORÍA-CERVERA, E.N., 2022. Effect of land use change on the phlebotomine sand fly assemblages in an emergent focus of cutaneous leishmaniasis in Yucatan, Mexico. *Acta Tropica*, vol. 235, pp. 106628. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106628>. PMid: 35952923.

OLIVEIRA, A.G., GALATI, E.A.B., Fernandes, C.E., Dorval, M.E. e Brasil, R.P., 2012.

Aspectos ecológicos de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em área endêmica de leishmaniose visceral, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Journal of Medical Entomology*, vol. 49, pp. 43–50.

OLIVEIRA, L.M., 2011. Avaliação espaço-temporal da leishmaniose visceral canina em Aracaju/Se. Aracaju: Universidade Tiradentes, 48p. Dissertação de Mestrado em Saúde e Ambiente.

OLIVEIRA, L.S., RODRIGUES, F.M., OLIVEIRA, F.S., MESQUITA, P.R.R., LEAL, D.C., ALCÂNTARA, A.C., SOUZA, B.M., FRANKE, C.R., PEREIRA, P.A. e ANDRADE, J.B., 2008. Headspace solid phase microextraction/gas chromatography–mass spectrometry combined to chemometric analysis for volatile organic compounds determination in canine hair: A new tool to detect dog contamination by visceral leishmaniasis. *Journal of Chromatography B*, vol. 875, no. 2, pp. 392-398. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2008.09.028>. PMID: 18945650.

OLIVEIRA, M.R., OLIVEIRA-NETO, M.B., BEZERRA, T.L., SILVA, W.S.I., PAZ, W.S., SANTOS, I.G., BEZERRA-SANTOS, M. e LIMA, V.F.S., 2021. Canine leishmaniasis in an endemic region, Northeastern Brazil: a comparative study with four groups of animals. *Parasitology Research*, vol. 120, no. 11, pp. 3915-3923. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07319-0>. PMid: 34626235.

OLIVEIRA-NETO, R.R., SOUZA, V.F., CARVALHO, P.F.G. e FRIAS, D.F.R., 2018. Level of knowledge on zoonoses in dog and cat owners. *Revista de Salud Pública*, vol. 20, no. 2, pp. 198-203. <https://doi.org/10.15446/rsap.v20n2.68155>. PMid: 30570001.

Organización Panamericana de la Salud – OPS, 2019 [acesso em 15 março de 2021]. *Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas* [online]. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/50524>.

- PANTALEÃO, S.M.S., FIGUEIREDO, M.N., SOARES, A.F. e VASCONCELOS, C.R., 2018. Análise dos indicadores de leishmaniose em Sergipe: um estudo no período de 2007 a 2017. *Revista de Administração Hospitalar e Inovação em Saúde*, vol. 15, no. 4, pp. 1-15. <http://dx.doi.org/10.21450/rahis.v%25vi%25i.5397>.
- PASANISI, C.C., 2020. Inquérito epidemiológico sobre a leishmaniose visceral canina no Município de Itapevi: relato do primeiro inquérito sorológico. *Pubvet*, vol. 14, no. 3, pp. 1-7. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n3a539.1-7>.
- QUEIROZ, T.C.C., MAGALHÃES, A.A., PEREIRA, F.G., ABREU, I.F., CAMPOS, R.A. e AMÂNCIO, N.F.G., 2020. Relação das mudanças climáticas com o aumento da incidência de doenças tropicais. *Saúde em Foco*, vol. 3, pp. 579-591. <https://dx.doi.org/10.37885/201001687>.
- SILVA, R.B.S., MENDES, R.S., SANTANA, V.L., SOUZA, H.C., RAMOS, C.P.S., SOUZA, A.P. ANDRADE, P.P. e MELO, M.A., 2016. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 36, no. 7, pp. 625-629. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2016000700011>.
- STANIEK, M.E. e HAMILTON, J.G.C., 2021. Odour of domestic dogs infected with *Leishmania infantum* is attractive to female but not male sand flies: Evidence for parasite manipulation. *PLoS Pathogens*, vol. 17, no. 3, pp. e1009354. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009354>. PMID: 33735302.
- TAVARES, D.S., SALGADO, V.R., MIRANDA, J.C., MESQUITA, P.R.R., RODRIGUES, F.M., BARRAL-NETTO, M., ANDRADE, J.B. e BARRAL, A., 2018. Attraction of phlebotomine sandflies to volatiles from skin odors of individuals residing in an endemic area of tegumentary leishmaniasis. *PLoS One*, vol. 13, no. 9, pp. e0203989. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0203989>. PMID: 30248113.

TOEPP, A.J., MONTEIRO, G.R.G., COUTINHO, J.F.V., LIMA, A.L., LARSON, M., WILSON, G., GRINNAGE-PULLEY, T., BENNET, C., MAHACHI, K., ANDERSON, B., OZANNE, M.V., ANDERSON, M., FOWLER, H., PARRISH, M., WILLARDSON, K., SAUCIER, J., TYRELL, P., PALMER., BUCH, J., CHANDRASHEKAR, R., BROWN, G.D., OLESON, J.J., JERONIMO, S.M.B. e PETERSEN, C.A., 2019. Comorbid infections induce progression of visceral leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, vol. 12, no. 1, pp. 1-12. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3312-3>. PMID: 30674329.

VASCONCELOS, T.C.B., FURTADO, M.C., BELO, V.S., MORGADO e F.N., FIGUEIREDO, F.B., 2019. Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: a systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution*, vol. 74, pp. 103293. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.10.005>. PMID: 28987807.

VELOSO, E.C.M., NEGREIROS, A.S., SILVA, J.P., MOURA, L.D., NASCIMENTO, L.F.M., SILVA, T.S., WERNECK, G.L. e PIRES-CRUZ, M.S., 2021. Socio-economic and environmental factors associated with the occurrence of canine infection by *Leishmania infantum* in Teresina, Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, vol. 24, pp. 100561. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100561>. PMID: 34024377.

5.2 Artigo 2 - Avaliação dos sinais clínicos e COVS em cães naturalmente infectados para Erliquiose no Estado de Sergipe

1 INTRODUÇÃO

Dentre as doenças veterinárias com maior incidência em cães no Brasil, encontra-se a Erliquiose Monocítica Canina (EMC), onde cerca de 70% dos cães em algumas regiões do país apresentam anticorpos anti-*Ehrlichia canis*. Em Sergipe, no biênio 2006 e 2007, 119 cães (7,6%) foram diagnosticados no hospital veterinário universitário Dr. Vicente Borelli, em Aracaju (FAIERSTEIN *et al.*, 2008). A EMC é causada principalmente por uma bactéria gram-negativa do grupo α -Proteobacteria, ordem Rickettsiales e da espécie *Ehrlichia canis*. Além da importância veterinária, *E. canis* possui risco de transmissão zoonótico, uma vez que via vetor *Rhipicephalus sanguineus* se dissemina em diversas espécies de mamíferos, sendo a principal *Canis familiaris* (PAULINO *et al.*, 2018).

A prevalência da doença se relaciona a condições geográficas e climáticas, onde áreas rurais são mais relevantes, além de regiões onde o clima predominante é tropical ou subtropical, favorecendo assim na disposição do vetor, do cão e da população atingida (COSTA JR *et al.*, 2007). A inoculação, ocorre no momento em que os carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* e *Amblyoma* sp. realizam repasto sanguíneo ou após os mesmos serem ingeridos por um indivíduo, se disseminando pelo corpo através do sistema linfático ou pela corrente sanguínea. Entre 5 a 14 dias os sinais começam a aparecer, sendo febre, anemia, letargia, anorexia, caquexia e as vezes erupção cutânea, podendo evoluir ao óbito. (SALJE, 2021; BITTENCOURT *et al.*, 2022).

O diagnóstico possui dois tipos de pesquisas, direta e indireta. A pesquisa direta é por meio de análise de lâminas hematológicas, detectando mais facilmente durante a fase aguda da doença (BITTENCOURT *et al.*, 2022). A pesquisa indireta é representada pelo teste sorológico, onde por meio de kit's, os anticorpos IgM e/ou IgG são detectados tendo 98,2% de sensibilidade e 100% de especificidade (MIRANDA *et al.*, 2022) durante o período de 4 a 10 dias após inoculação do mesmo (MEDEIROS *et al.*, 2020).

Além disso, outras formas de diagnósticos vêm sendo observadas, como a análise de Compostos Orgânicos Voláteis (COVs). Os COVs surgem de processos patológicos do corpo, como inflamações, infecções, patologias metabólicas e estresse oxidativo. Sendo liberados pelos excrementos corporais tais como urina, fezes, pelos, suor e saliva, onde a análise dos COVs desses excrementos gera um monitoramento rápido e não invasivo sobre as alterações bioquímicas que ocorrem naquele momento (JANSSENS *et al.*, 2020).

Os pelos além de serem coletados de maneira simples, funcionam como apêndices da pele, armazenando compostos metabólicos que podem indicar uma série de processos. Além disso, estudos apontam diferença entre os COVs de cães positivos e negativos para *Leishmania infantum*, agente etiológico da LV canina. Sendo assim, o agrupamento por meio da identificação e diferenciação desses compostos (MAGALHÃES-Júnior *et al.*, 2014). Alguns compostos identificados demonstraram repelência do carrapato (benzaldeído e 2-hexanona) quando comparados ao padrão ouro o DEET (N,N-dietil-3-metilbenzamida) (BORGES *et al.*, 2015).

Diante disso, se torna notável a importância da pesquisa e identificação dos compostos orgânicos voláteis no diagnóstico de doenças e fatores atrativos de seus vetores, como é o caso do *Rhipicephalus sanguineus* causador da EMC. Não foram encontrados estudos na literatura sobre esse assunto, salientando a importância desse trabalho. O objetivo deste trabalho foi avaliar os fatores de risco associados a infecção por *Ehrlichia canis* e identificar COVs nos pelos dos cães avaliados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Desenho do estudo

Um estudo por conveniência foi realizado para avaliar a exposição a *Ehrlichia canis* em amostras de sangue canina e identificar possíveis biomarcadores em pelos de cães. A coleta foi realizada no período de fevereiro a junho de 2022 nos municípios de Aracaju (37° 04 ' 29 " W; 10° 54 ' 34 " S) e Propriá (36° 50' 22" W; 10° 13' 48" S), localizados no Estado de Sergipe.

Foram incluídos no trabalho cães de companhia, de criação e errantes, que não estivessem em gestação, lactantes, acima de 6 meses de idade e ambos os sexos. Para o agrupamento da sintomatologia, foram considerados cães sintomáticos aqueles que apresentavam dois ou mais sintomas.

2.2 Aspectos Éticos

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética de Uso Animal da Universidade Tiradentes, sob o número de protocolo nº 011121 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sob parecer número 4.654.181 (CAAE 36447220.9.0000.5371).

2.3 Avaliação Clínica e de Condições de Criação

O tutor do animal assinou o termo de consentimento livre e esclarecido e de autorização concordando com a participação voluntária. Em seguida foram observadas características relacionadas ao tipo de criação, alimentação, tipo de raça, idade, sexo, criação

de outros animais, ambiente em que passa mais tempo, uso de coleira antiparasitária e encaminhamento ao veterinário foram analisadas, comprimento do pelo, vermifugado e presença de ectoparasitas. Também foi avaliado as mucosas, linfonodos, globo ocular, conduto auditivo, músculo esquelético, abdômen, focinho e alterações na pele, porém não apresentou significância nos testes estatísticos.

2.4 Avaliação de infecção canina por *Ehrlichia canis*

O teste imunocromatográfico para erliquiose foi realizado através do Alere Eriquiose Ac Test Kit que utiliza 10µL de sangue total, soro ou plasma em 2 gotas do tampão (50 mM Tris-HCL buffer 'pH 8.5', Azido de sódio, TritonX-100), obtendo a visualização do resultado após 20 minutos. O cão estava positivo, com anticorpo IgG e/ou IgM, quando duas linhas vermelhas aparecem no cassete (C e T) e negativo, apenas com uma linha vermelha do controle (C)

2.5 Extração e Identificação de Compostos Orgânicos Voláteis (COV)

Foram encaminhados 130 mg de pelo/animal para a análise dos Compostos Orgânicos Voláteis pela técnica de extração, Solid Phase Micro Extration (SPME). A massa de pelos de cada animal foi acondicionada individualmente em *vials* de vidro (20 mL) devidamente lacrados. Em seguida, os *vials* com as amostras de pelos foram incubados em banho-maria à 90°C com uma fibra revestida de polidimetilsiloxano/divinilbenzeno (PDMS/DVB, 24 Ga Pink, 65 µM, Supelco, Bellefonte) inserida no septo de cada *vial* por 18 minutos para adsorção dos COV, de acordo com metodologia descrita por Magalhães-Júnior et al. (2014).

Posteriormente, a fibra foi retraída e após cada uma das extrações a fibra foi inserida por três minutos no injetor do cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas – CG-EM (Shimadzu GC-MS QP2010 Plus) a 240 °C para dessorção do COV em modo *splitless* sob fluxo de gás de arraste (He 0,7 mL min⁻¹) e separados na coluna cromatográfica capilar RTx-5MS (30 m x 0,25 mm; 0,25 µm – sílica fundida 5% difenil/95% dimetil polissiloxano).

A temperatura da coluna cromatográfica foi programada da seguinte maneira para análise dos COV presentes nas amostras: 40 °C por 3 minutos; 40-130 °C a 2 °C min⁻¹; 130 °C por 15 minutos; 130-245 °C a 2 °C min⁻¹; 245 °C por 4 minutos (total de 124,5 minutos). As temperaturas da fonte de íons e da interface foram ajustadas em 240 °C: a energia de impacto de ionização de elétrons foi de 70 eV e a frequência de varredura de espectros foi de 40 a 400 m/z. A partir dos espectros de massas obtidos para cada um dos picos dos cromatogramas, foi feita a identificação dos COV com auxílio de bibliotecas de espectros próprias do *software* (NIST 08, NIST 98v101, Wiley MS 229 e FFNSC 1.3), considerando

similaridade acima de 80%, e também pelo cálculo dos índices de retenção (IR) de cada composto, feito a partir dos tempos de retenção de uma mistura de *n*-alcanos comercial (C8-C20 – Sigma-Aldrich®) analisada sob as mesmas condições cromatográficas das amostras. O índice de retenção (IR) de cada composto foi calculado de acordo com a equação Van den Dool and Kratz. Os IR calculados foram comparados com dados da literatura por meio das bases de dados <<https://webbook.nist.gov/chemistry/name-ser/>> e <<http://www.odour.org.uk/lriindex.html>>.

2.6 Análise de Dados

A avaliação da associação entre as variáveis estudadas e o resultado do teste imunocromatográfico foi realizada pelo teste Exato de Fisher, utilizando o programa BioEstat, com nível de significância de 5%. Para a identificação de fatores de risco, foi calculada *odds ratio* (OR), com intervalo de confiança de 95%. Por se tratar de um teste que utiliza variáveis dicotômicas, foi aderido uma variável de referência. Foi calculado o teste G (Williams) para avaliar se o tipo de criação tem influência nos casos de erliquiose.

Foi realizada a análise multivariada de Componentes Principais (PCA), para observar as tendências de agrupamento dos COV em relação à positividade dos cães para EMC, adotando-se os cães infectados como variável ativa e não infectados como suplementar, utilizando o Software Statistica 7.0 (Stat Soft Inc.). Para a análise de cluster, foi transformado a tabela dos COVs em dados binários (presença e ausência) e agrupado conforme afinidade dos cães em relação aos COVs, utilizando o Software R. A outra análise dos COVs foi realizada através o Teste T de Student, que comparou as médias de concentração com a infecção.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Erliquiose Monocítica Canina é endêmica no Brasil, com prevalência de 7,6% em Sergipe (FAIERSTEIN *et al.*, 2008), 17% no Rio Grande do Norte (LOPES *et al.*, 2019), 23,75% e 23% no Paraná (PEREIRA, 2016; TRAPP *et al.*, 2006), 37,9% em Rondônia (AGUIAR *et al.*, 2007), 42,5% no Mato Grosso (SILVA *et al.*, 2010), 39,4% no Pará (BRANDÃO *et al.*, 2019), 60% no Distrito Federal (SILVA *et al.*, 2020). Esta distribuição geográfica da infecção está relacionada ao clima tropical favorável para a proliferação do vetor, o carrapato *R. sanguineus* em todo o país (DANTAS-TORRES, 2008).

No presente trabalho, dos 76 cães avaliados, obteve a prevalência de 52,63% (n=40) de cães reagentes para o teste imunocromatográfico para *E. canis*. A distribuição de cães positivos foi a seguinte: cão de companhia 31/57, criação 3/13 e errantes 6/6. As regiões que apresentaram maior quantidade de cães positivos foi a área periférica do município e a urbana

central, que se encontra em desenvolvimento urbano e sanitário, ambos do grupo de cães de companhia (77,50%) (Tabela 1). No trabalho de Brandão *et al.*, (2019) diagnosticaram a bactéria *E. canis* em 32,1% dos cães errantes e 19,2% em cães de companhia, superior na infecção em cães errantes por causa do quantitativo neste estudo.

Cães que apresentam a infecção e sintomatologia relacionada desenvolveram alterações na pele (n=18) como alopecia, seborreia, vermelhidão, lesões, prurido, onicogribose, linfonodos aumentados (n=15) e mucosa hipocorada (n=8), o que pode indicar anemia (HARRUS *et al.*, 1997). Foram avaliados visualmente também músculo esquelético, abdômen, condutos auditivos, cavidade oral, globo ocular e focinho, porém não foram significativos. O critério de diagnóstico para a erliquiose canina tem como embasamento a associação dos sinais clínicos apresentados aos exames laboratoriais, ao histórico e à presença dos carrapatos no momento da consulta, devido a isto, o tutor do animal deve observar a sintomatologia recorrente para relatar e encaminhar ao médico veterinário o mais brevemente.

Afim de não evoluir para fase crônica da doença, onde o animal está mais debilitado em função do comprometimento imunológico, podendo desenvolver sangramentos, oftalmopatias, nefropatias, tosse, conjuntivite, uveíte bilateral, vômito, apatia, anemia, trombocitopenia. Ocorre também dermatopatias decorrentes de desordens sistêmicas e evoluir ao óbito (ALMOSNY, 2002; ORIÁ *et al.*, 2008; MARQUES; GOMES 2020).

Tabela 1: Positividade para o teste imunocromatográfico para *Ehrlichia canis* por grupo de coleta, Sergipe, Brasil, 2022.

Grupo	Soropositivos (%)	Total
Criação	3(23,08%)	13
Errante	6 (100,00%)	6
Companhia	31(54,39%)	57

O fator de risco mais associado à infecção dos cães por *E. canis* foi a forma de alimentação mista, que integra alimentos preparados em casa e ração comercial (OR = 8.97; p = 0,0030), alimentos preparados em casa (OR = 6.41; p = 0,0484) e seguida pelo não uso de coleira antiparasitária (OR = 7.84; p = 0,0011). O desbalanceamento nutricional canino ocasionado pela má alimentação pode resultar na diminuição imunológica do animal (MOTTA, 2009), favorecendo o adoecimento por infecções.

Cães de companhia, criação e errantes demonstram que o grupo o qual o animal pertence pode influenciar na infecção (p=0.0028), sendo o errante o mais soropositivo (100%), provavelmente, em função do maior risco de contato cão-carrapato no manejo solto/semiconfinado (AZEVEDO *et al.*, 2011) (Tabela 2).

Outros fatores que podem ter contribuído para a infecção por *E. canis* relacionados ao

animal foram não encaminhar o animal ao veterinário (OR = 4.05; p = 0,0039), concordando com o relato de Pérez-Macchi *et al.* (2019). Essa ausência de cuidado com a saúde do animal, deixa vulnerável a doenças virais, parasitária e bacterianas. Que torna necessário encaminhar ao veterinário pelo menos uma vez ao ano, quando não há sintomatologia aparente (HIDALGO *et al.*, 2014) e estar parasitado por carrapatos (OR = 6.64; p = 0,0010), pois um cão estar parasitado predispõe a alta prevalência e intensidade de infestação por *R. sanguineus* (DANTAS-TORRES, 2010), o que provoca o aparecimento de doenças transmitidas por carrapato (PÉREZ-MACCHI *et al.*, 2019).

A criação de outros animais (gatos, galinhas, preá e cavalo) na mesma residência e o sexo dos animais (fêmea e macho) não apresentou significância, assim como outros autores não evidenciam a associação entre essas variáveis mencionadas (RODRIGUEZ-VIVAS *et al.*, 2005; AGUIAR *et al.*, 2007; HII *et al.*, 2015; PÉREZ-MACCHI *et al.*, 2019), o que indica que fatores ambientais, ecológicos e sociais influenciam mais na predisposição do cão ao patógeno (STICH *et al.*, 2014; FAOUZI, *et al.*, 2018).

O cão ser classificado como jovem, aproximadamente entre dois a quatro anos de idade, tem mais chances de se infectar com a bactéria (OR = 4.00; p = 0.0375), devido a permanência dos cães desta idade ou menores na área domiciliar e por conta da fragilidade do sistema imunológico, deixando mais susceptível a infecção (BANETH *et al.*, 1998; FAIERSTEIN *et al.*, 2008; AZEVEDO *et al.*, 2011).

Tabela 2: Distribuição de fatores intervenientes para erliquiose, Sergipe, Brasil, 2022.

Variáveis epidemiológicas	Negativo	Soropositivo Erliquiose (%)	OR (IC 95%)	Exato de Fisher/ p-valor
Aspectos epidemiológico do ambiente				
Tipo de criação				
Criação	10	3(23,08%)	G=11.7893	0.0028 ▼
Errante	0	6 (100,00%)		
Companhia	26	31(54,39%)		
Alimentação				
Alimento preparado em casa	6	7 (53,85%)	6.41 (0.99-41.21)	0.0484
Mista	19	31 (65,00%)	8.97 (1.79-44.95)	0.0030
Ração comercial	11	2 (15,38%)	**	
Criação de outros animais				
Sim	24	20 (45,45%)	0.50 (0.19-1.26)	0.1079
Não	12	20 (62,50%)	**	
Aspectos epidemiológico do animal				
Onde passa a maior parte do tempo				
Extradomicílio	25	34 (57,63%)	2.49 (0.81-7.64)	0.0885
Intradomicílio	11	6 (35,29%)	**	
Uso da coleira antiparasitária				
Sim	14	3 (17,65%)	**	

Não	22	37 (62,71%)	7.84 (2.02-30.39)	0.0011
Encaminha ao veterinário				
Sim	27	17 (38,64%)	**	
Não	9	23 (71,88%)	4.05 (1.52-10.82)	0.0039
Anamnese				
Raça				
Raça não definida	18	32 (64,00%)	4.00 (1.45-11.02)	0.0058
Raça definida	18	8 (30,77%)	**	
Idade				
Filhote (06 meses a 1 ano)	15	9 (37,50%)	**	
Jovem (2 anos a 4 anos)	5	12 (70,59%)	4.00 (1.05-15.13)	0.0375
Adulto (5 anos a 7 anos)	7	7 (50,00%)	1.66 (0.43-6.32)	3.390
Idoso (mais de 8 anos)	9	12 (57,14%)	2.22 (0.67-7.34)	1.543
Sexo				
Fêmea	24	24 (50,00%)	0.75 (0.29-1.91)	0.3587
Macho	12	16 (57,14%)	**	
Pelo				
Curto	27	24 (47,06%)	**	
Médio/longo	9	16 (64,00%)	2.00 (0.74-5.35)	0.1259
Vermifugado				
Sim	28	24 (46,15%)	**	
Não	8	16 (66,67%)	2.33 (0.85-6.39)	0.0776
Ectoparasitas				
Pulga	1	1 (50,00%)	1.47 (0.08-24.93)	6.5340
Carrapato	4	18 (81,82%)	6.64 (1.96-22.42)	0.0010
Não	31	21 (40,38%)	**	

OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de Confiança

**Categoria de referência

▼Teste G (Williams)

Foi possível analisar 19 amostras de pelo canino e identificou 58 compostos. Estes COVs pertencem a seis funções orgânicas: hidrocarboneto (36,21%; n = 21), aldeído (29,31%; n = 17), álcool (15,52%; n = 9), cetona (8,62%; n = 5), éster (5,17%; n = 3), Éter (3,45%; n = 2) e Ácido carboxílico (1,72%; n = 1).

Dentre as amostras de pelos avaliadas, 10 estavam positivas para o teste imunocromatográfico (A01, A02, B01, B02, B05, B06, C08, C10, C11 e C12). Os compostos Hexanal, benzaldeído, (E)-oct-2-enal, (E)-dec-2-enal, decano, (E)-undec-2-enal e 1-octoxioctano foram encontrados somente nas amostras soropositivas (destacado em verde). Os compostos 6-metil-5-hepten-2-ona, 2-fenoxietoxibenzeno, 8-heptadeceno, 2-fenoxietoxibenzeno e eicosano só foram encontrados no cão soronegativo (destacado em amarelo). Dentre o total de COVs identificados (58), 7 estavam presentes nos pelos de todos os animais avaliados, independentes de serem soropositivos ou soronegativos (destacado em rosa) (Tabela 3).

Tabela 3: COV identificados, em ordem crescente de tempo (t_R), com seus respectivos índices de retenção (IR) calculados e obtidos a partir das bases de dados. números: indicam a área relativa do composto na amostra; -: indica ausência do composto na amostra.

	IR exp	IR lit	Compostos	A01	A02	A03	A04	A05	A07	A08	A13	B01	B02	B05	B06	B24	C01	C08	C10	C11	C12	E01
1	800	800	hexanal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,76	-	-	0,42	-	0,56	0,34	-
2	892	880	ciclooctatetraeno	-	-	-	-	-	0,27	0,54	-	4,72	4,60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	905	902	heptanal*	2,00	0,90	-	0,24	-	0,46	1,26	0,56	0,47	-	-	1,20	-	1,34	4,31	5,68	-	-	-
4	905	909	2-butoxietanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,45	3,86
5	965	960	benzaldeído*	-	-	-	-	-	-	-	-	0,66	-	-	-	-	-	-	-	0,36	0,22	-
6	992	987	6-metil-5-hepten-2-ona	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,85	-	-	-	-	-
7	1007	1005	octanal	-	-	-	-	-	-	0,21	-	-	-	0,94	1,19	1,89	-	2,13	1,09	1,89	1,78	1,00
8	1016	1000	decano*	-	-	-	-	-	-	-	-	1,49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	1036	1029	2-etilhexan-1-ol	1,04	7,41	1,60	3,12	2,06	3,64	2,70	2,44	39,39	37,39	5,39	3,18	5,53	1,84	4,76	10,32	8,46	8,41	0,82
10	1041	1043	álcool benzílico	4,65	6,93	6,10	3,09	2,59	3,07	4,79	3,53	3,73	2,27	2,18	1,61	3,44	1,68	1,35	0,62	1,16	1,54	12,29
11	1046	1049	2-fenilacetaldeído	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,34	0,18
12	1061	1061	(E)-oct-2-enal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,42	-	-	-	-	1,13	1,23	-
13	1072	1068	1-feniletanona*	0,98	3,77	3,69	2,17	1,61	2,17	2,42	2,35	2,02	1,36	0,46	-	-	0,98	0,24	-	0,22	-	-
14	1079	1072	octan-1-ol*	-	-	-	0,36	-	0,33	0,43	-	0,46	-	0,71	0,89	1,61	1,06	2,40	0,75	1,31	1,43	0,92
15	1107	1109	nonanal*	26,54	17,37	5,70	6,57	7,47	8,18	20,70	16,19	16,42	7,33	20,20	26,81	25,89	17,96	26,80	20,92	14,06	12,32	18,80
16	1165	1163	(E)-non-2-enal*	0,83	0,69	0,20	-	0,28	0,70	0,89	-	-	-	1,07	4,62	1,42	2,56	2,88	1,04	1,53	1,26	1,73
17	1174	1172	nonan-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	0,67	-	-	0,34	0,34	-	-	1,14	0,58	0,53	0,83	0,75
18	1183	1183	naftaleno*	1,62	-	2,36	-	-	2,40	2,48	2,55	5,93	6,22	1,15	0,78	0,61	2,55	0,59	2,71	2,07	3,05	0,52
19	1196	1191	decan-2-ona*	-	-	-	1,13	0,73	0,40	-	-	-	-	-	0,33	1,64	-	0,78	-	0,64	0,60	0,88
20	1200	1200	dodecano*	0,50	0,92	1,97	3,79	1,29	2,45	4,14	2,66	1,36	2,18	0,93	0,73	1,71	2,10	0,98	2,12	1,90	1,96	-
21	1208	1208	decanal*	2,71	4,66	1,73	3,19	2,62	1,62	2,77	3,47	3,47	2,49	3,22	8,63	2,41	10,30	8,43	5,24	4,88	3,82	3,50
22	1216	1220	2-fenoxietanol*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,24
23	1263	1262	(E)-dec-2-enal*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,20	-	-	-	2,44	3,98	4,17	-
24	1266	1266	decan-1-ol	-	-	-	1,48	1,46	0,92	-	0,79	-	-	1,14	-	0,79	-	1,28	-	-	-	0,52
25	1284	1278	ácido nonanóico	-	-	-	-	-	-	-	-	0,52	0,33	-	-	-	-	-	-	-	-	1,36
26	1292	1295	undecan-2-ona*	-	-	-	-	-	-	0,18	-	-	-	-	-	-	-	0,47	-	-	-	0,24
27	1300	1300	tridecano*	-	-	-	-	-	-	1,00	-	1,35	1,60	-	0,30	-	0,61	-	-	1,18	0,54	-
28	1310	1306	undecanal*	2,00	2,05	-	1,30	1,33	0,80	1,48	1,27	1,51	1,11	1,67	1,35	0,84	1,28	1,32	2,17	1,31	1,28	0,79
29	1365	1364	(E)-undec-2-enal	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,44	-	-
30	1373	1372	3-metiltridecano	-	-	-	-	3,00	5,35	4,59	3,93	-	2,56	1,60	-	2,55	-	1,69	2,53	1,37	2,06	-
31	1400	1400	tetradecano*	4,58	7,08	14,47	17,70	7,86	12,08	11,55	11,06	3,55	7,70	8,72	4,99	11,13	8,98	6,56	13,79	10,10	12,46	1,21
32	1410	1408	dodecanal*	1,73	3,15	1,40	2,30	1,92	1,05	2,02	2,26	1,64	0,75	2,73	2,67	3,61	1,30	4,03	4,20	2,17	3,01	-
33	1453	1455	geranilacetona	1,52	2,48	2,75	2,48	1,43	2,26	1,05	2,48	0,48	0,82	3,54	2,86	3,82	6,19	4,83	2,98	2,30	4,01	1,87
34	1478	1473	dodecan-1-ol*	1,51	-	2,39	-	1,16	0,96	1,00	-	1,36	1,19	2,63	10,09	11,70	-	2,30	2,05	2,71	1,78	4,81
35	1500	1500	pentadecano*	2,19	2,92	4,88	2,77	2,52	1,11	2,87	2,31	1,40	0,95	-	6,38	0,87	1,10	0,63	1,17	18,40	5,75	3,68
36	1512	1513	tridecanal	1,94	2,78	0,64	1,75	1,42	1,09	0,91	-	0,85	-	3,52	1,80	-	-	-	-	1,79	3,42	2,50
37	1568	1570	3-metilpentadecano*	-	5,96	10,67	11,79	6,26	8,75	5,91	7,73	1,62	3,30	-	2,83	6,18	4,42	-	5,80	3,38	5,05	0,96
38	1600	1600	hexadecano*	10,88	9,82	15,19	13,33	10,22	9,95	7,03	8,55	2,65	5,51	12,58	4,11	5,19	6,05	4,66	6,49	4,16	6,84	2,15
39	1617	1612	tetradecanal	3,17	2,12	1,69	1,43	1,28	2,14	0,98	1,69	0,59	-	2,68	0,82	-	0,56	-	1,46	0,59	2,64	5,76
40	1654	1649	2,6,10-trimetilpentadecano	-	-	-	-	5,90	-	0,98	-	-	-	2,57	-	-	-	-	-	-	-	-
41	1666	1657	1-octoxioctano*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,04	-	-	-	-	-	-	-	-
42	1679	1676	8-heptadeceno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,80
43	1679	1680	tetradecan-1-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,52	3,08	2,51	-	1,61	-	-	-	-
44	1700	1700	heptadecano*	5,59	2,92	5,28	2,47	3,13	1,49	1,69	1,64	0,76	1,22	5,90	4,12	-	2,94	-	-	3,42	1,90	3,96

	IR exp	IR lit	Compostos	A01	A02	A03	A04	A05	A07	A08	A13	B01	B02	B05	B06	B24	C01	C08	C10	C11	C12	E01
45	1710	1703	2,6,10,14-tetrametilpentadecano	-	-	-	-	8,14	1,19	0,98	2,75	-	4,71	-	-	-	-	-	-	-	-	-
46	1718	1715	pentadecanal	1,86	-	-	-	-	-	0,55	-	-	-	1,59	-	-	-	-	1,03	-	0,71	-
47	1751	1746	2-benzilideneoctanal	10,72	9,38	11,94	7,99	-	-	-	-	0,91	-	-	-	-	2,82	-	-	-	-	-
48	1774	1770	3-metilheptadecano	-	-	-	5,57	5,32	6,52	3,13	3,84	-	1,10	2,27	-	-	-	1,67	-	-	1,28	0,75
49	1801	1800	octadecano*	5,82	3,45	3,71	2,84	3,17	2,02	1,29	1,53	0,69	0,74	3,67	0,66	0,86	3,39	0,78	0,79	-	-	0,97
50	1806	1810	2-fenoxietoxibenzeno	-	-	-	-	11,39	11,91	4,97	11,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
51	1820	1821	hexadecanal	1,31	0,66	-	-	-	0,66	0,35	-	-	-	1,00	-	-	0,28	-	-	-	0,52	1,15
52	1832	1826	tetradecanoato de propano-2-ila*	2,04	1,35	1,64	1,14	1,41	0,71	0,58	0,52	-	-	-	-	-	0,50	-	-	-	-	-
53	1869	1857	2-hidroxibenzoato de benzila	-	-	-	-	3,03	2,03	1,79	1,97	-	-	-	-	-	-	0,96	-	-	-	-
54	1885	1880	hexadecanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,91	1,25	3,80	12,10	8,15	2,03	-	-	15,09
55	1901	1900	nonadecano*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,70	-	-	0,92	-	-	-	-	1,11
56	1931	1926	metil n-hexadecanoato	2,27	1,23	-	-	-	0,85	-	-	-	-	-	-	-	3,34	0,63	-	-	-	-
57	1993	1991	hexadecanoato de etila	-	-	-	-	-	0,47	-	-	-	-	-	-	-	-	1,22	-	-	-	0,41
58	1999	2000	eicosano	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,42

*COV previamente identificados a partir de amostras de pelos de cães (Magalhães-Junior et al., 2014).

A01 - A04: Cães de criação; B01: Cão de companhia; C01: Cão errante;

Foi realizada a análise de componentes principais (PCA) levando em conta a concentração de cada composto. Não foram observados grupos distintos nos animais positivos e negativos, porém dois cães positivos (B01 e B02) mostraram-se mais isolados do restante (figura 1).

É interessante notar que no dendrograma há uma aparente proximidade entre cães positivos e negativos (figura 2).

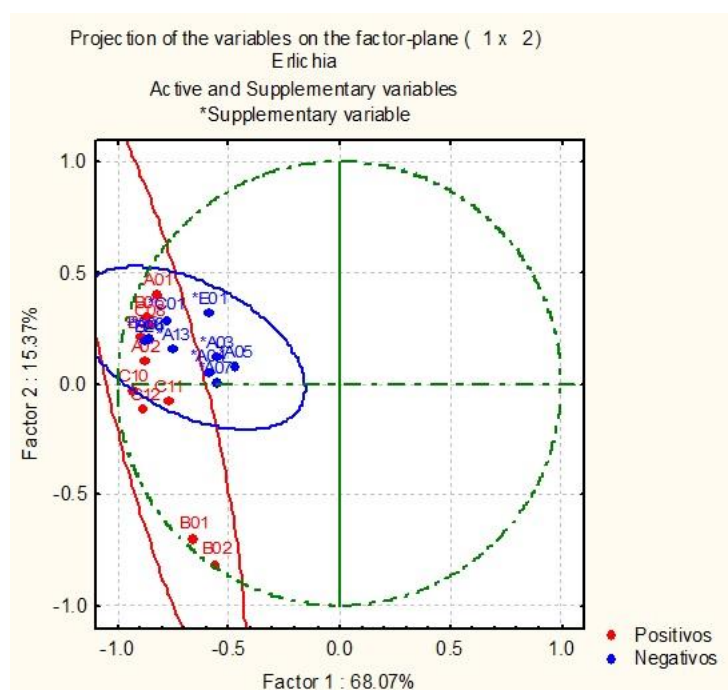


Figura 1: Análise de PCA das amostras de pelos de cães infectados e não infectados.

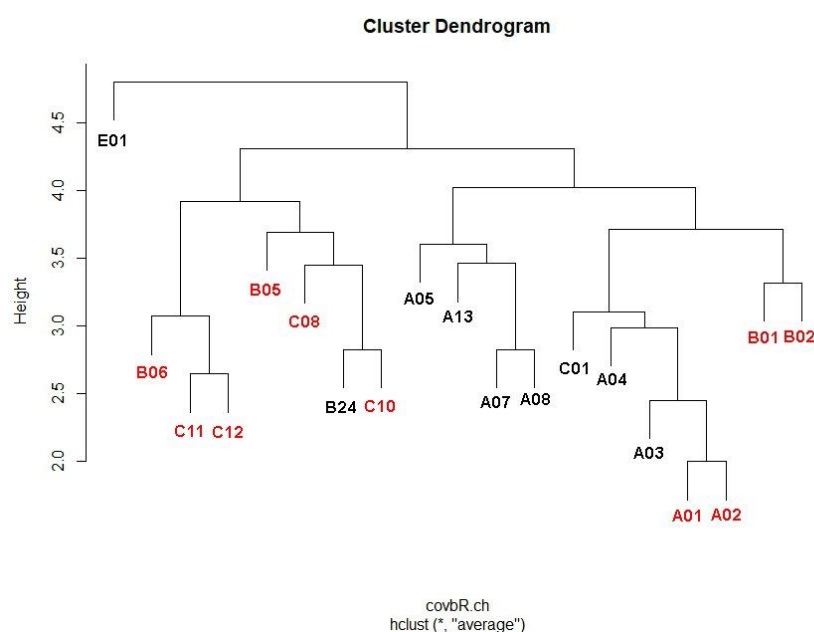


Figura 2: Dendrograma dos cães coletados. Os positivos para *Erlichia canis* estão em vermelho.

Em uma tentativa de se comparar as áreas dos picos dos compostos encontrados foi realizado o teste estatístico T de Student para as médias de concentração dos COVs separado

pela infectividade, cães positivos e negativos para *Ehrlichia canis* (Figura 3 A). Em sete compostos as diferenças estatísticas foram consideradas significativas (Figura 3 B). Os compostos etilhexanol, hexanal e undecanal se apresentaram em maior concentração em animais positivos em relação aos negativos. Vale destacar que o etilhexanol apresentou uma área muito maior nos cães positivos que nos negativos.

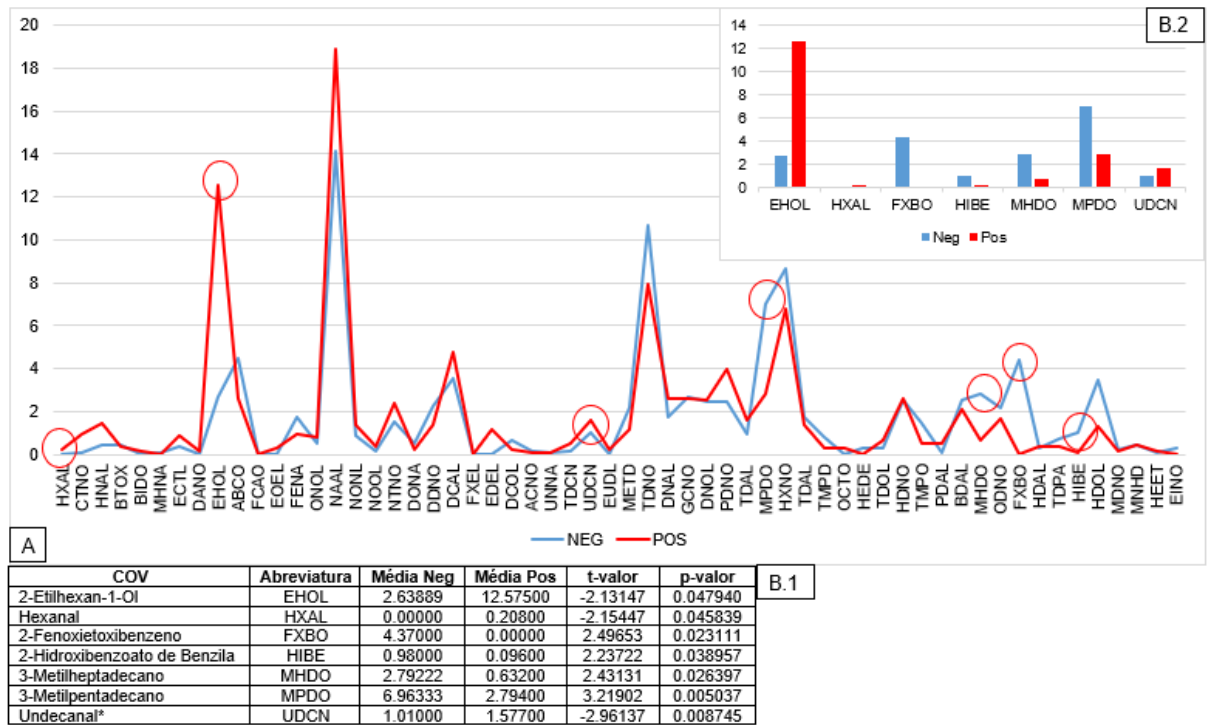


Figura 3: As médias de concentração dos COVs destacando os cães positivos e negativos para *Ehrlichia canis*, considerando o tempo de retenção (A). Os COVs com diferença significativa entre cães positivos e negativos (B.1 e B.2). A especificação de cada sigla encontra-se no anexo IV.

Sabe-se que a orientação de vetores para suas fontes sanguíneas é baseada em estímulos, que podem ser visuais, táteis ou olfativos, sendo estes últimos mediados por estímulos químicos. (GUERENSTEIN; LAZZARI, 2009).

No caso de carrapatos, já foram detectadas diferenças na composição dos estímulos químicos em animais resistente ou suscetíveis. A resposta inflamatória, em decorrência da picada do carrapato, também pode colaborar para que o animal seja mais atrativo (WAMBURA *et al.*, 1998; BORGES *et al.*, 2015; FRANZIN *et al.*, 2017).

Os carrapatos têm uma menor preferência para bovinos da raça *B. taurus indicus* e estes animais apresentam menores infecções de parasitas como *Babesia* e a *Anaplasma* (BOCK *et al.*, 1999; JONSSON *et al.*, 2008). Da mesma maneira que em beagles são observadas menor quantidade de formas imaturas de carrapato, mostrando seu potencial de repelência (LOULY *et al.*, 2009), o que corrobora com o presente estudo no qual os cães sem raça definida tinham mais chances de se infectar.

Os compostos benzaldeído e 2-hezanona foram identificados como alomônios, isto é,

compostos que beneficiam o emissor, em cães, quando avaliado contra a espécie *R. sanguineus* (BORGES *et al.*, 2015). A partir desses dois alomônios impregnados em coleiras em cães naturalmente e artificialmente infectados por carrapato, pode-se observar a redução da população de carrapato (larva, ninfa e adulto) (OLIVEIRA FILHO *et al.*, 2016; 2017; 2018; BARRETO *et al.*, 2021). De acordo com Borges *et al* (2015) na análise realizada com decano, nonano e undecano, apenas o último causou a repelência do vetor.

López-López *et al.* (2023) avaliaram alguns COVs extraídos de pelo de cães que estimularam os receptores neurais olfativos do *R. sanguineos*, sendo eles: Ácido isovalérico, hexanal, heptanal e 6-metil-5-hepten-2-ona. Em bioensaio, observou que ao agrupar o ácido isovalérico, hexanal e heptanal desencadeou uma resposta atrativa à fêmeas de *R. sanguineos*. Percebe-se que a relação da atratividade pelos COVs não deve somente ser observada isoladamente, e sim, que a junção desses compostos possam acarretar em uma resposta comportamental também.

Estudos relacionando a infecção por *Ehrlichia canis* e os COVs identificados em pelos caninos não foram encontrados na literatura, tornando este estudo pioneiro.

Apesar de encontrar o benzaldeído em um único cão positivo, os outros químicos também encontrados podem alterar a resposta deste alomônio, uma vez que os aleloquímicos podem ser influenciados pela atividade microbiana, dieta, variação sazonal e condições ambientais (POLDY, 2020), requerendo mais estudos sobre aleloquímicos e seu potencial a associação a atratividade ou a repelência de carrapatos em cães infectados com *Ehrlichia canis*.

4 CONCLUSÃO

A infecção por *E. canis* encontrada neste estudo demonstra a significância que essa enfermidade consta entre os cães no estado de Sergipe. Os fatores intervenientes associados indicam a vulnerabilidade ecológica e da saúde individual canina a esta bactéria. Faz-se necessário o desenvolvimento de ações de vigilância para evitar o ectoparasitismo e inquéritos epidemiológicos, com a intenção de realizar o diagnóstico precoce e evitar a fase crônica da infecção nos cães. Outra medida a ser tomada é em relação a atividades educativas com a população no estado, principalmente em áreas periféricas, com finalidade de reverter os casos e melhorar a saúde canina.

Os compostos aqui identificados não foram encontrados na literatura relacionados a *E. canis*, visto que, não existem estudos com enfoque similar a este trabalho. O benzaldeído foi o único composto identificado que pode ser associado à repelência de *R. sanguineos*. Três compostos foram relacionados à maior concentração nos cães com EMC e quatro aos cães negativos, sugerindo que deve ser considerar não somente a presença dos COVs, mas

também a concentração deles encontrada.

5 REFERÊNCIAS

- 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. *J Med Entomol* 2007; 44(1): 126-132.
- ALMOSNY, N.R.P. *Hemoparasitoses em pequenos animais domésticos e como zoonoses*. L.F. Livros; 2002.
- AZEVEDO, S.S. de; AGUIAR, D.M.; AQUINO, S.F de; ORLANDELLI, R.C.; FERNANDES, A.R da F.; UCHÔA, I.C.P. Seroprevalence and risk factors associated to *Ehrlichia canis* in dogs from the semiarid of Paraíba State, Northeastern Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2011; 48(1): 14-18.
- BANETH, G.; BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; PAPPALARDO, B.; RYAN, J. A survey of tick-borne bacteria and protozoa in naturally exposed dogs from Israel. *Vet parasitol* 1998; 74(2-4): 133-142.
- BARRETO, L.P.; RIBEIRO-SILVA, C.S.; MACHADO, L.D.C.; LIMA, V.H.; PINTO, S.M.N.; PEREIRA-JUNIOR, R.A. *et al.* Efficacy of collars with allomones on dogs to control *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato infestations under field conditions. *Ticks Tick borne Dis* 2021; 12(5): e101769.
- BITTENCOURT, J.; HIURA, E.; SOBRAL, S. A.; VIEIRA, F. de T.; BRAGA, F. R.; TOBIAS, F. L. *et al.* Occurrence of *Babesia* sp., *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* in domiciled dogs in two municipalities in the state of Espírito Santo – Brazil. *Vet Anim Sci* 2022; 29: 1-9.
- BOCK, R.E.; KINGSTON, T.G.; VOS, A.J. de. Effect of breed of cattle on transmission rate and innate resistance to infection with *Babesia bovis* and *B. bigemina* transmitted by *Boophilus microplus*. *Aust Vet J* 1999; 77(7): 461-464.
- BORGES, L.M.F.; DUARTE, S.C.; LOULY, C.C.B. Cattle tick differentiates between the odors of Holstein Friesian and Nelore cattle. *Ciênc Rural* 2015; 45(11): 2023-2025.
- BRANDÃO, V.M.D.; BARROZO, P.H.M.; SOUSA, L.O.; SANTOS, R.C. dos; SCHWANKE, K.; SAMPAIO JUNIOR, F.D. *et al.* Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs from municipality of Belém, State of Pará, Brazil. *Ciênc Rural* 2019; 49(12): e20190414.
- COSTA JR, L.M.; REMBECK, K.; RIBEIRO, M.F.B.; BEELITZ, P.; PFISTER, K.; PASSOS, L.M.F. Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. *Vet J* 2007; 174(3): 673-676.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet Parasitol* 2008; 152(3-4): 173-185.
- DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites Vectors* 2010; 3(1): 1-11.
- FAIERSTEIN, C.C.; SILVA, E.P.; FEBRÔNIO, A.M.B. Notas Sobre A Erliquiose Canina No Município De Aracaju, Sergipe (2006-2007). *Biol Ger Exper* 2008; 2(8): 1-4.
- FAOUZI, M.; AHMED, B.N.; SAIDA, M. Inventory of ticks on dogs in rural areas of the northeast

of Algeria and its relationship with influences some ecological and climatic parameters. *Iraqi J Vet Sci* 2018; 32(2): 175-182.

FRANZIN, A.M.; MARUYAMA, S.R.; GARCIA, G.R.; OLIVEIRA, R.P.; RIBEIRO, J.M.C.; BISPO, R. *et al.* Immune and biochemical responses in skin differ between bovine hosts genetically susceptible and resistant to the cattle tick *Rhipicephalus microplus*. *Parasites Vectors* 2017; 10(1): 51-75.

GUERENSTEIN, P.G.; LAZZARI, C.R. Host-seeking: how triatomines acquire and make use of information to find blood. *Acta Trop* 2009; 110(2-3): 148-158.

HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T. Canine Monocytic ehrlichiosis: an update. *Continuing Education Article* 1997; 19: 431- 438.

HIDALGO, M.T.; LÓPEZ, M.V.J.; SOLARI, M.V.; JOFRÉ, L.; ABARCA, K.; PERRET, C. Recomendaciones para el cuidado y manejo responsable de mascotas y su impacto en salud humana. *Soc Chil Infec* 2014; 24-8.

HII, S.F.; TRAUB, R.J.; THOMPSON, M.F.; HENNING, J.; O'LEARY, C.A.; BURLEIGH, A. *et al.* Canine tick-borne pathogens and associated risk factors in dogs presenting with and without clinical signs consistent with tick-borne diseases in northern Australia. *Aust Vet J* 2015; 93(3): 58-66.

JANSSENS, E.; VAN MEERBEECK, J.P.; LAMOTE, K. Volatile organic compounds in human matrices as lung cancer biomarkers: a systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2020; 153: e103037.

JONSSON, N.N.; BOCK, R.E.; JORGENSEN, W.K. Productivity and health effects of anaplasmosis and babesiosis on *Bos indicus* cattle and their crosses, and the effects of differing intensity of tick control in Australia. *Vet Parasitol* 2008; 155(1-2): 1-9.

LOPES, M.G.; KRAWCZAK, F. da S.; LIMA, J.T.R. de; FOURNIER, G.F. da S.R.; ACOSTA, I. da C.L.; RAMIREZ, D.G. *et al.* Occurrence of *Ehrlichia canis* and *Hepatozoon canis* and probable exposure to *Rickettsia amblyommatis* in dogs and cats in Natal, RN. *Rev Bras Parasitol Vet* ; 28(1): 151-156.

LOULY, C. C.; SOARES, S. F.; SILVEIRA, D. N.; NETO, O. J.; SILVA, A. C; BORGES, L. M. Differences in the susceptibility of two breeds of dogs, English cocker spaniel and beagle, to *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Int J Acarology* 2009; 35(1); 25-32.

MAGALHÃES-JUNIOR, J.T.; MESQUITA, P.R.R.; OLIVEIRA, W.F. dos S.; OLIVEIRA, F.S.; FRANKE, C.R.; RODRIGUES, F. de M. *et al.* Identification of biomarkers in the hair of dogs: new diagnostic possibilities in the study and control of visceral leishmaniasis. *Anal Bioanal Chem* 2014; 406(26): 6691-6700.

MARQUES, D.; GOMES, D.E. Erliquiose Canina. *Rev Científic* 2020; 1(1): 1-11.

MEDEIROS, M.Â. da S.; SILVA, M.H. da; MATTA, M.A do V; FERREIRA, E. de O; MACHADO, S.L.; SOARES, J.F. *et al.* Expression and antigenic analysis of the recombinant TRP36 protein from *Ehrlichia canis* São Paulo strain for serologic tests. *Rev Bras Parasitol Vet* 2020; 29(3): e005820.

MIRANDA, E.A.; HAN, S.W.; RIM, J.M.; CHO, Y.K.; CHOI, K.S.; CHAE, J.S. Serological evidence of *Anaplasma* spp., *Borrelia burgdorferi* and *Ehrlichia canis* in dogs from the Republic of Korea by rapid diagnostic test kits. *The Korean Soc Vet Science* 2022; 23(2): 1-8.

MOTTA, RR. Bom Pra Cachorro. São Paulo Gente, 2009.

OLIVEIRA FILHO, J.G. de; SARRIA, A.L.F.; FERREIRA, L.L.; CAULFIELD, J.C.; POWERS, S.J.; PICKETT, J.A. *et al.* Quantification of brown dog tick repellents, 2-hexanone and benzaldehyde, and release from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. *J Chromatogr B* 2016; 1022: 64-69.

OLIVEIRA FILHO, J.G. de.; FERREIRA, L.L., SARRIA, A.L.F.; PICKETT, J.A.; BIRKETT, M.A.; MASCARIN, G.M. *et al.* Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato, infestation of susceptible dog hosts is reduced by slow release of semiochemicals from a less susceptible host. *Ticks Tick Borne Dis* 2017; 8(1): 139-145.

OLIVEIRA FILHO, J.G. de; FERREIRA, L.L.; SILVA, F. de O.; MENEZES, K.M.F.; MUNIZ, E.R.; PAULA, L.G.F. de. Persistence and efficacy of a new formulation based on dog allomonal repellents against *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato tick. *Rev Bras Parasitol Vet* 2018; 27(3): 313-318.

ORIÁ, A.P.; NETO, F.A.D.; MACHADO, R.Z.; SANTANA, Á.E.; GUERRA, J.L.; SILVA, V.L. da. *et al.* Achados oftalmológicos, hematológicos e sorológicos em cães com suspeita de infecção por *Ehrlichia canis*. *Rev Bras Ciênc Vet* 2008; 15(2): 1-10.

PAULINO, P.G.; PIRES, M.S.; SILVA, C.B. da; PECKLE, M.; COSTA, R. L. da; VITARI, G.V. *et al.* Epidemiology of *Ehrlichia canis* in healthy dogs from the Southeastern region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Prev Vet Med* 2018; 159: 135-142.

PEREIRA, P. *Prevalência da Ehrlichia spp. e da Babesia spp. e fatores associados, em cães domiciliados em Palotina, Paraná, Brasil* [Dissertação]. Palotina: Universidade Federal do Paraná; 2016.

PÉREZ-MACCHI, S.; PEDROZO, R.; BITTENCOURT, P.; MÜLLER, A. Prevalence, molecular characterization and risk factor analysis of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in domestic dogs from Paraguay. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2019; 62: 31-39.

POLDY, J. Volatile Cues Influence Host-Choice in Arthropod Pests. *Animals* 2020; 10(11): 1984.

RODRIGUEZ-VIVAS, R.I.; ALBORNOZ, R.E.F.; BOLIO, G.M.E. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Vet Parasitol* 2005; 127(1): 75-79.

SALJE, J. Cells within cells: Rickettsiales and the obligate intracellular bacterial lifestyle. *Nat Rev Microbiol* 2021; 19(6): 1-16.

SILVA, J.N. da; ALMEIDA, A. do B.P.F. de.; SORTE, E. da C.B; FREITAS, A.G. de.; SANTOS, L.G.F. do.; AGUIAR, D.M. *et al.* Soroprevalência de anticorpos anti *Ehrlichia canis* em cães de Cuiabá, Mato Grosso. *Rev Bras Parasitol Vet* 2010; 19(2): 108-111.

SILVA, F.F.A. da; SILVA, A.H.C. da; LUNEDO, J.; OLIVEIRA, L.B. de; PINTO, S.B.; ZABOTT, M.V. Soroprevalência de *Ehrlichia canis* em cães de abrigos e associações de proteção, do oeste do Paraná, Brasil. *Arq Ciênc Vet Zool* 2020; 23(1): e2312-e2312.

STICH, R.W.; BLAGBURN, B.L.; BOWMAN, D.D.; CARPENTER, C.; CORTINAS, M.R.; EWING, S.A. *et al.* Quantitative factors proposed to influence the prevalence of canine tick-borne disease agents in the United States. *Parasites Vectors* 2014; 7(417): 1-8.

TRAPP, S.M; DAGNONE, A.S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R.L.; AMUDE, A.M.; MORAIS, H.S.A de. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Vet Parasitol* 2006; 140(3-4): 223-230.

WAMBURA, P.N.; GWAKISA, P.S.; SILAYO, R.S.; RUGAIMUKAMU, E.A. Breed-associated resistance to tick infestation in *Bos indicus* and their crosses with *Bos taurus*. *Vet Parasitol* 1998; 77(1): 63–70.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se transmissão ativa para *Leishmania* spp. e *Ehrlichia canis* nos municípios de Aracaju e Propriá no estado de Sergipe.

Os fatores intervenientes identificados nesse estudo podem contribuir para a manutenção do ciclo de transmissão leishmaniótica e da Erliquiose Monocítica Canina. Devido a isto, medidas de controle direcionadas a gestão ambiental peridomiciliar e cuidado com a saúde dos cães podem auxiliar na redução dos índices dessas infecções.

O aumento da cobertura vegetal, mesmo que pequenos fragmentos, pode estabelecer uma crescente de casos de LV.

Esse trabalho mostra um caminho promissor para a identificação de bioquímicos associados a LV canina e a EMC, com a identificação de compostos em cães positivos e também pela influência da concentração de cada composto.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANTES, T.R.; WERNECK, G.L.; ALMEIDA, A.S.; FIGUEIREDO, F.B. 2018. Environmental factors associated with canine visceral leishmaniasis in an area with recent introduction of the disease in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Cad Saúd Pú* 2018; 34(1): e00021117.
- ALERE. *Erliquiose Ac Test Kit* [online]. 2019 [acessado em 15 de abr 2023]. Disponível em: <https://alerevet.com.br/Erliquiose.html>.
- AMÓRA, S.S.; BEVILAQUA, C.M.; FEIJÓ, F.; ALVES, N.D.; MACIEL, M.D.V. Control of phlebotomine (Diptera: Psychodidae) leishmaniasis vectors. *Neotrop entomol* 2009; 38: 303-310.
- AMORIM, L.C.A. Os biomarcadores e sua aplicação na avaliação da exposição aos agentes químicos ambientais. *Rev Bras Epidemiol* 2003; 6(2): 158-170.
- ANCHIETA, N.F. *Caracterização do perfil de compostos orgânicos voláteis produzidos por cultura de células e animais infectados com Leishmania infantum* [Dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo; 2016.
- ANDRADE, D.C.; LIMA, A.F.V.A.; JERALDO, V.L.S.; MELO, C.M.; PINTO, M.C.; MADI, R.R. Phlebotominae Fauna (Diptera: Psychodidae) and the Spatial Distribution of Species in Sergipe, Brazil *J Med Entomol* 2023; 60(2): 401-407.
- APARICIO, C.; BITENCOURT, M.D. Spacial modeling of cutaneous leishmaniasis risk zones. *Rev Saude Pub* 2004; 38(4): 511-516.
- ARAÚJO, A.R.; EBBERS, W.B.H.; FEITOSA, A.P.S.; SILVA, D.A.; BANDEIRA, R.A.M.; VELÁSQUEZ, C.M.R.; et al. Definition of the main vector of cutaneous leishmaniasis: Ecology and mapping in endemic area of Northeast Brazil. *Acta Trop* 2022; 233: 1-6.
- AZEVEDO, S.S. de; AGUIAR, D.M.; AQUINO, S.F de; ORLANDELLI, R.C.; FERNANDES, A.R da F.; UCHÔA, I.C.P. Seroprevalence and risk factors associated to *Ehrlichia canis* in dogs from the semiarid of Paraíba State, Northeastern Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2011; 48(1): 14-18.
- BARBOSA, D.S.; BELO, V.S.; RANGEL, M.E.S.; WERNECK, G.L. Spatial analysis for identification of priority areas for surveillance and control in a visceral leishmaniasis endemic area in Brazil. *Acta Trop* 2014; 131: 56-62.
- BATISTA, T.M.A.; LIMA, G.R.F.; SALES, M.C.L.; FREITAS, A.Í.P. de; SALDANHA, M.E.P.; OLIVEIRA, M.J.; et al. Aspectos epidemiológicos e sociais da Leishmaniose Visceral Canina no Município de Fortaleza, Estado do Ceará, Brasil. *Res Soc Dev* 2021; 10(11): e287101119664.
- BERNARDINO, M.D.G.D.S.; ANGELO, D.F.D.S.; SILVA, R.B.S.; SILVA, E.G.D.; SILVA, L.F.F.; VAZ, A.F.D.M.; et al. High seroprevalence and associated factors for visceral leishmaniasis in dogs in a transmission area of Paraíba state, Northeastern Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2020; 29(2): e016919
- BORGES, B.K.A.; SILVA, J.A. da; HADDAD, J.P.A.; MOREIRA, E.C.; MAGALHÕES, D.F. de; RIBEIRO, L.M.L.; et al. Avaliação do nível de conhecimento e de atitudes preventivas da população sobre a leishmaniose visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Cad Saude Publica* 2008; 24(4): 777-784.

BORGES, L.M.; OLIVEIRA FILHO, J.G.; FERREIRA, L.L.; LOULY, C.C.; PICKETT, J.A.; BIRKETT, M.A. Identification of non-host semiochemicals for the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari Ixodidae), from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. *Ticks Tick Borne Dis* 2015; 6(5): 676-682.

BRANDÃO, V.M.D.; BARROZO, P.H.M.; SOUSA, L.O.; SANTOS, R.C. dos; SCHWANKE, K.; SAMPAIO JUNIOR, F.D. *et al.* Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs from municipality of Belém, State of Pará, Brazil. *Ciênc Rural* 2019; 49(12): e20190414.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **Portaria nº 1.271, de 6 de junho de 2014**. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. Diário Oficial [da] União, Brasília, DF, 9 jun. 2014. A. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 1. ed., 5. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2014B.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ministério da Saúde. **Nota técnica Nº 11/2016**. MAPA. MS. Brasília, 2016.A

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde**. MS. 2016B;

BRASIL. Ministério da saúde. *Casos confirmados de leishmaniose visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2020* [online]. 2021 [acessado em 20 jan 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/media/pdf/2021/novembro/16/lv-casos.pdf>.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Municípios prioritários para incorporação das coleiras impregnadas com inseticida fornecidas pelo Ministério da Saúde – Estratificação 2018 a 2020* [online]. 2022 [acessado em 20 set 2022]. Disponível em: www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/leishmaniose/2022-municipios-prioritarios-para-incorporacao-das-coleiras-impregnadas-com-inseticida-fornecidas-pelo-ministerio-da-saude-2013-estratificacao-2018-a-2020/view.

BRUHN, F.R.P.; MORAIS, M.H.F.; CARDOSO, D.L.; BRUHN, N.C.P.; FERREIRA, F.; ROCHA C.M.B. M. da. Spatial and temporal relationships between human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais, 2006–2013. *Parasites Vectors* 2018; 11(1): 1-11.

CARR, A.L.; MITCHELL III, R.D.; DHAMMI, A.; BISSINGER, B.W.; SONENSHINE, D.E.; ROE, R.M. Tick Haller's organ, a new paradigm for arthropod olfaction: how ticks differ from insects. *International journal of molecular sciences* 2017; 18(7): 1-35.

CARVALHO, F.L.N. de; RIBOLDI, E. de O.; BELLO, G.L.; RAMOS, R.R.; BARCELLOS, R.B.; GEHLEN, M. *et al.* Canine visceral leishmaniasis diagnosis: a comparative performance of serological and molecular tests in symptomatic and asymptomatic dogs. *Epidemiol Infect* 2018; 146(5): 571-576.

CARVALHO, M.R.; DIAS, A.F. de L.R.; ALMEIDA, A. do B.P.F de; ALVES, M.R.; PAES, A.S.; SOUSA, V.R.F. Canine visceral leishmaniasis: perception, prevalence, and spatial distribution in municipality of Nossa Senhora do Livramento, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2020; 29(2): 1-11.

- CHELBI, I.; MAGHRAOUI, K.; ZHIOUA, S.; CHERNI, S.; LABIDI, I.; SATOSKAR, A.; *et al.* Enhanced attraction of sand fly vectors of *Leishmania infantum* to dogs infected with zoonotic visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis* 2021; 15(7): e0009647.
- CORTESE, L.; TERRAZZANO, G.; PIANTEDOSI, D.; SICA, M.; PRISCO, M.; RUGGIERO, G.; *et al.* Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally co-infected by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. *Vet J* 2011;188(1): 118-121.
- COSTA JÚNIOR, L.M.; REMBECK, K.; RIBEIRO, M.F.B.; BEELITZ, P.; PFISTER, K.; PASSOS, L.M.F. Sero-prevalence and risk indicators for canine ehrlichiosis in three rural areas of Brazil. *Vet J* 2007; 174(3): 673-676.
- COSTA, J.O.S.E.; BATISTA JÚNIOR, J. A.; SILVA, M.; GUIMARÃES, M.P. *Ehrlichia canis* infection in dog in Belo Horizonte, Brazil. *Arq Esc Vet* 1973; 25:199-200
- CVEJIC, D.; SCHNEIDER, C.; NEETHLING, W.; HELLMANN, K.; LIEBENBERG, J.; NAVARRO, C. The sustained speed of kill of ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) and fleas (*Ctenocephalides felis felis*) on dogs by a spot-on combination of fipronil and permethrin (Effitix®) compared with oral afoxolaner (NexGard®). *Vet parasitol* 2017; 243: 52-57.
- COZZAROLO, C.S.; GLAIZOT, O.; CHRISTE, P.; PIGEULT, R. Enhanced attraction of arthropod vectors to infected vertebrates: a review of empirical evidence. *Front Ecol Evol* 2020; 8: 568140.
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. *Vet Parasitol* 2008; 152(3-4): 173-185.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L.A.; FAUSTINO, M.A.G. Ectoparasitos de cães provenientes de alguns municípios da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2004; 13: 151-154.
- DANTAS-TORRES, F.; MELO, M.F.; FIGUEREDO, L.A.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Infestação ectoparasitária em cães rurais no município de São Vicente Férrer, Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2009; 18: 75-77.
- DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. *Rhipicephalus sanguineus* (Brown dog tick). *Trends parasitol* 2022; 38(11): 993-994.
- DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Existence en Algerie d'une Rickettsia du chein. *Bull Soc Pathol Exot* 1935; 28: 418-419.
- DOUGHERTY, M.J.; GUERIN, P.M.; WARD, R.D.; HAMILTON, J.G.C. Behavioural and electrophysiological responses of the phlebotomine sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae) when exposed to canid host odour kairomones. *Physiol Entomol* 1999; 24(3): 251-262.
- DRYDEN, M.W.; PAYNE, P.A. Biology and control of ticks infesting dogs and cats in North America. *Vet Ther* 2004; 5(2): 139-54.
- DUTHIE, M.S.; LISON, A; COURTENAY, O. Advances toward diagnostic tools for managing zoonotic visceral leishmaniasis. *Trends Parasitol* 2018; 34(10): 881-890.
- EVANGELISTA, L.S. de M.; SOUSA FILHO, M.A.C. de; SILVA, M.N. do N.; ALVES, G.B.B.; CARVALHO, R.M. de A.; LIRA, N.S.C. de *et al.* Avaliação testicular e seminal de cães

naturalmente infectados com *Leishmania* sp. *Semina Cienc Agrar* 2019; 40(1): 217-224.

FERNANDES, A.P.; ANDRADE, H.M.; MELO, M.N.; COELHO, E.A.F.; AVELAR, D.; GAZZINELLI, R.T. Leishmaniose visceral canina: Novos antígenos para diagnóstico e vacinas. *Rev Saúde Pública do SUS/MG* 2011; 1(1): 49-50.

FERNANDES, A.R. da F.; PIMENTA, C.L.R.M.; VIDAL, I.F.; OLIVEIRA, G.C.; SARTORI, R.S.; ARAÚJO, R.B.; *et al.* Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2016; 25(1): 90-98.

FERREIRA, B.F.L.; MONTICELI, P.F. Leishmaniose visceral canina como diagnóstico diferencial para hemoparasitoses transmitidas por carrapatos: Relato de caso. *Pubvet* 2022; 16(4): 1-7.

FORATTINI, O.P. Novas observações sobre a biologia de flebótomos em condições naturais (Diptera, Psychodidae). *Arch Hyg Saúde Publ* 1960; 25: 209-215.

GANDON, S. Evolution and Manipulation of Vector Host Choice. *Am Nat* 2018; 192(1): 23-34.

GAUNT, S.D.; BEALL, M.J.; STILLMAN, B.A.; LORENTZEN, L.; DINIZ, P.P.V.P.; CHANDRASHEKAR, R.; BREITSCHWERDT, E.B. Experimental infection and co-infection of dogs with *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis*: hematologic, serologic and molecular findings. *Parasites Vectors* 2010; 3: 1-10.

GÓES, M.A.O.; JERALDO, V. de L.S; OLIVEIRA, A.S. Urbanização da leishmaniose visceral: aspectos clínicos e epidemiológicos em Aracaju, Sergipe, Brasil. *Rev Bras Med Fam Comunidade* 2014; 9(31): 119-126.

GOTTWALT, A. Impacts of deforestation on vector-borne disease incidence. *J Glob Health* 2013; 3(2): 16-19.

HARRUS, S.; ALLEMAN, A.R.; BARK, H.; MAHAN, S.M.; WANER, T. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with *Ehrlichia canis*. *Vet microbiol* 2002; 86(4): 361-368.

HARRUS, S.; KENNY, M.; MIARA, L.; AIZENBERG, I.; WANER, T.; SHAW, S. Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PCR for diagnosis and treatment of experimental *Ehrlichia canis* infection. *Antimicrob agents chemother* 2004; 48(11): 4488-4490.

HENDERSON, G.L. Mechanisms of drug incorporation into hair. *Forensic Sci Int* 1993; 63(1): 19-29.

HANSSON, B. S.; STENSMYR, M.C. Evolution of insect olfaction. *Neuron* 2011; 72(5): 698-711.

HUANG, S.; TANG, L.; HUPY, J.P.; WANG, Y.; SHAO, G. A commentary review on the use of normalized difference vegetation index (NDVI) in the era of popular remote sensing. *J For Res* 2021; 32(1): 1-6.

HUXSOLL, D.L.; HILDEBRANDT, P.K.; NIMS, R.M.; AMYX, H.L.; FERGUSON, J.A. Epizootiology of Tropical Canine Pancytopenia. *J Wildl Dis* 1970; 6(4): 220-225.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatístico. Cidades, Brasil, Sergipe, Aracaju *Panorama* [online]. 2021A [acessado em 15 abr 2022]. Disponível em:

<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/aracaju/panorama>.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades, Brasil, Sergipe, Propriá. *Panorama* [online]. 2021B [acessado em 15 abr 2022]. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/se/propria/panorama>.

INPE. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Centro de Previsão de tempo e Estudos Climáticos. *Previsão Numérica de Tempo. Aracaju-SE* [online]. 2022 [acessado em 15 abr 2022]. Disponível em: <http://tempo1.cptec.inpe.br/cidades/tempo/220>.

JERALDO, V. de L.S.; GÓES, M.A. de O.; CASANOVA, C.; MELO, C.M. de; ARAÚJO, E.D. de.; BRANDÃO FILHO, S.P. *et al.* Sandfly fauna in an area endemic for visceral leishmaniasis in Aracaju, State of Sergipe, Northeast Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45(3): 318-322.

JEROMEL, L.; OGRINC, N.; SIKETIĆ, Z.; VAVPETIČ, P.; RUPNIK, Z.; BUČAR, K. *et al.* Molecular imaging of human hair with MeV-SIMS: A case study of cocaine detection and distribution in the hair of a cocaine user. *PloS One* 2022; 17(3): e0263338.

JOHNSON, N. Controlling ticks and tick-borne disease transmission. *Tick: Biology, Ecology, and Diseases*. Chapter 13. 2023. p. 193-215.

KELLY, D.W.; MUSTAFA, Z.; DYE, C. Differential application of lambda-cyhalothrin to control the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. *Med Vet Entomol* 1997; 11(1): 13-24.

KNOLLS, B.G.J.; MEIJERINK, J. Odors influence mosquito behaviour. *Science Medicine* 1997; 4: 56-63.

KRIEG, N.R. Bergey's manual of systematic bacteriology. *The Williams & Wilkins, Baltimore*. 1 ed. London. 1984. p. 704-709.

LABARTHE, N.; de CAMPOS, P.M.; BARBARINI, O.; MCKEE, W.; COIMBRA, C.A.; HOSKINS, J. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* infections in Brazil. *Vet Therap: Res Applied Vet Med* 2003; 4(1): 67-75.

LABRUNA, M.B.; PEREIRA, M.C. Carrapatos em cães no Brasil. *Clin Vet* 2011; 30: 24-32.

LIMA, E.R.; SILVA, W.M.; TEIXEIRA, M.N.; da SILVA, V.C.L.; MARINHO, M.L.; VAN DER LINDEN, L.A.; OLIVEIRA, R.A.S. Aspectos clínicos e laboratoriais em cães naturalmente infectados pela *Ehrlichia canis*. *Braz J Anim Environl Res* 2021; 4(3): 3471-3484.

LOULY, C.C.B.; SOARES, S.F.; SILVEIRA, D.N.; OLIVEIRA NETO, J.; SILVA, A.C.; BORGES, L.M.F. Differences in the susceptibility of two breeds of dogs, English cocker spaniel and beagle, to *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: ixodidae). *Int J Acarol* 2009; 35(1): 25-32.

LU, H.; REN, Q.; LI, Y.; LIU, J.; NIU, Q.; YIN, H. The efficacies of 5 insecticides against hard ticks *Hyalomma asiaticum*, *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus sanguineus*. *Exp parasitol* 2015; 157: 44-47.

LUTZ, A.; NEIVA, A. Contribuição para o conhecimento das espécies do gênero *Phlebotomus* existentes no Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1912; 4(1): 84-95.

MACHADO, R.Z.; DUARTE, J.M.B.; DAGNONE, A.S.; SZABÓ, M.P.J. Detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Brazilian marsh deer (*Blastocerus dichotomus*). *Vet parasitol* 2006; 139(1-3):

MAGALHÃES JUNIOR, J.T.; MESQUITA, P.R.R.; OLIVEIRA, W.F. dos SANTOS; OLIVEIRA, F.S.; FRANKE, C.R.; RODRIGUES, F. de M.; ANDRADE, J.B. de *et al.* Identification of biomarkers in the hair of dogs: new diagnostic possibilities in the study and control of visceral leishmaniasis. *Anal Bioanal Chem* 2014; 406(26): 6691-6700.

MAGALHÃES JUNIOR, J.T.; OLIVA FILHO, A.A.; NOVAIS, H.O.; MESQUITA, P.R.R.; RODRIGUES, F.M.; PINTO, M.C.; BARROUIN-MELO, S.M. Attraction of the sandfly *Lutzomyia longipalpis* to possible biomarker compounds from dogs infected with *Leishmania infantum*. *Med vet entomol* 2019; 33(2): 322-325.

MARZOCHI, M.C. de A.; FAGUNDES, A.; ANDRADE, M.V. de; SOUZA, M.B. de; MADEIRA, M. de F.; MOUTA-CONFORT, E. *et al.* Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42(5): 570-580.

MAUCK, K.E.; MORAES, C.M. de; MESCHER, M.C. Effects of pathogens on sensory-mediated interactions between plants and insect vectors. *Curr Opin Plant Biol* 2016; 32: 53-61.

MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. Rio de Janeiro: Roca. 2016. p. 799-821.

MELO, A.L.T.; AGUIAR, D.M.; SPOLIDORIO, M.G.; YOSHINARI, N.H.; MATUSHIMA, E.R.; LABRUNA, M.B.; *et al.* Serological evidence of exposure to tick-borne agents in opossums (*Didelphis spp.*) in the State of São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol* 2016; 25: 348–352.

MICHEL, G.; POMARES, C.; FERRUA, B.; MARTY, P.; Importance of worldwide asymptomatic carriers of *Leishmania infantum* (*L. chagasi*) in human. *Acta Trop* 2011; 119: 69-75.

MIRANDA, C. do S.C.; GUEDES, J.A.; FILGUEIRAS, T.C.G.M.; BICHARA, C.N.C.; ARAÚJO, M. de S.; MARTINS, C.N. de S.A.T.; *et al.* Cutaneous leishmaniasis in protected environmental areas in the Eastern Amazon: the case of São Félix do Xingu, Pará, Brazil. *J Infect Dev Ctries* 2021; 15(11): 1724-1730.

MORAIS, M.H.F.; SABROZA, P.C.; PESSANHA, J.E.; SOBRAL, A. Visceral leishmaniasis control actions: epidemiological indicators for its effectiveness evaluation in a Brazilian urban area. *Cad Saude Publica* 2020; 36(6): e00060219.

MYLONAKIS, M.E.; HARRUS, S.; BREITSCHWERDT, E.B. An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Vet J* 2019; 246: 45-53.

NEER, T.M.; BREITSCHWERDT, E.B.; GREENE, R.T.; LAPPIN, M.R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *J Vet Intern Med* 2002; 16(3): 309-315.

O'SHEA, B.; REBOLLAR-TELLEZ, E.; WARD, R.D.; HAMILTON, J.G.C.; NAIEM, D. El; POLWART, A. Enhanced sandfly attraction to *Leishmania*-infected hosts. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96(2): 117-118.

OLIVEIRA FILHO, J.G. de; SARRIA, A.L.F.; FERREIRA, L.L.; CAULFIELD, J.C.; POWERS, S.J.; PICKETT, J.A. *et al.* Quantification of brown dog tick repellents, 2-hexanone and benzaldehyde, and release from tick-resistant beagles, *Canis lupus familiaris*. *J Chromatogr B* 2016; 1022: 64-69.

OLIVEIRA NETO, R.R. de; SOUZA, V.F. de; CARVALHO, P.F.G.; FRIAS, D.F.R. Nível de conhecimento de tutores de cães e gatos sobre zoonoses. *Rev Salud Pública* 2018; 20(2): 198-203.

OLIVEIRA, L.S. de; RODRIGUES, F. de M.; OLIVEIRA, F.S. de; MESQUITA, P.R.R.; LEAL, D.C.; ALCÂNTARA, A.C. *et al.* Headspace solid phase microextraction/gas chromatography–mass spectrometry combined to chemometric analysis for volatile organic compounds determination in canine hair: A new tool to detect dog contamination by visceral leishmaniasis. *J Chromatogr B* 2008; 875(2): 392-398.

OLIVEIRA, L.S. de; MOURÃO, L.C.; OLIVEIRA, K.A.; AGOSTINI, M. da M.; DE OLIVEIRA, A.C.; DE ALMEIDA, M.R. *et al.* Molecular detection of *Ehrlichia canis* in cats in Brazil. *Clin Microbiol Infect* 2009A; 15: 53-54.

OLIVEIRA, L.S. de; OLIVEIRA, K.A.D.; MOURÃO, L.C.; PESCATORE, A.M.; ALMEIDA, M.R.; CONCEIÇÃO, L.G.; *et al.* First report of *Ehrlichia ewingii* detected by molecular investigation in dogs from Brazil. *Clin Microbiol Infect* 2009B; 15: 55-56.

OLIVEIRA, L.M. de. *Avaliação espaço – temporal da leishmaniose visceral canina em Aracaju/SE* [Dissertação]. Aracaju: Universidade Tiradentes; 2011.

OLIVEIRA, M.R.; OLIVEIRA NETO, M.B.; BEZERRA, T.L.; SILVA, W.S.I. da; PAZ, W.S. da; SANTOS, I.G. dos *et al.* Canine leishmaniasis in an endemic region, Northeastern Brazil: a comparative study with four groups of animals. *Parasitol Res* 2021; 120(11): 3915-3923.

OPS. Organización Panamericana de la Salud. *Manual de procedimientos para vigilancia y control de las leishmaniasis en las Américas* [online]. 2019 [acessado em 15 mar 2021]. Disponível em: http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/50524/9789275320631_spa.pdf?ua=1.

PANTALEÃO, S.M. da S.; FIGUEIREDO, M.N. de; SOARES, A.F.; VASCONCELOS, C.R. de. Análise dos indicadores de leishmaniose em Sergipe: um estudo no período de 2007 a 2017. *Rev Adm Hosp Inov Saude* 2018; 15(4): 1-15.

PAULAN, S. de C.; LINS, A.G. de S.; TENÓRIO, M. da S.; SILVA, D.T da.; PENA, H.F. de J.; MACHADO, R.Z. *et al* Seroprevalence rates of antibodies Against *Leishmania infantum* and other protozoan and rickettsial parasites in dogs. *Rev Bras Parasitol Vet* 2013; 22(1): 162-166.

PAULINO, P.G.; PIRES, M.S.; DA SILVA, C.;B.; PECKLE, M.; DA COSTA, R.L.; VITARI, G.V.; *et al.* Epidemiology of *Ehrlichia canis* in healthy dogs from the Southeastern region of the state of Rio de Janeiro, Brazil. *Prev vet med* 2018; 159: 135-142.

PEREIRA, P. *Prevalência da Ehrlichia spp. e da Babesia spp. e fatores associados, em cães domiciliados em Palotina, Paraná, Brasil* [Dissertação]. Palotina: Universidade Federal do Paraná; 2016.

PITTS, R.J.; MOZURAITIS, R.; GAUVIN-BIALECKI, A.; LEMPERIERE, G. The roles of kairomones, synomones and pheromones in the chemically-mediated behaviour of male mosquitoes. *Acta Trop* 2014; 132: 26-34.

QUEIROZ, T.C.C. de; MAGALHÃES, A.A.; PEREIRA, F.G.; ABREU, I.F.; CAMPOS, R.A.; AMÂNCIO, N. de F. G. Relação das mudanças climáticas com o aumento da incidência de doenças tropicais. *Saúde Foco* 2020; 3: 579-591.

REIMANN, M.M.; TORRES-SANTOS, E.C.; SOUZA, C.S.F. de; ANDRADE NETO, V.V.;

JANSEN, A.M.; BRAZIL, R.P. *et al.* Oral and Intra gastric: New Routes of Infection by *Leishmania braziliensis* and *Leishmania infantum*?. *Pathogens* 2022; 11(6): 688.

RIVIER, L. Techniques for analytical testing of unconventional samples. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabolism* 2000; 14(1): 147- 165, 2000.

ROCHA, M.A.N.; MATOS-ROCHA, T.J.; RIBEIRO, C.M.B.; ABREU, S.R.O. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in State of Alagoas, Northeast, Brazil. *Rev Bras Bio* 2018; 78(4): 609-614.

ROCKLÖV, J.; DUBROW, R. Climate change: an enduring challenge for vector-borne disease prevention and control. *Nat immunol* 2020; 21(5): 479-483.

RODRIGUES, T.F.; BENITEZ, A.D.N.; SEVÁ, A.D.P.; OKAMURA, L.H.; GALVÃO, A.B.; GOMES, J.F. *et al.* Spatial and seroepidemiology of canine visceral leishmaniasis in an endemic Southeast Brazilian area. *Rev Soc Bras Med Trop* 2020; 53: e20190525.

ROSAR, A. de S. *Estudo da eficácia do Milteforan® no tratamento da leishmaniose visceral canina na região da grande Florianópolis, SC* [Dissertação]. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina; 2022.

SANTOS, M. de A.; RODRIGUES, S.L.C.; NASCIMENTO, A.L.F.; RODRIGUES, J.S.; GÓES, M.A. de O. Leishmaniose Visceral: Características clínico-epidemiológicas de casos e óbitos no estado de Sergipe. *Rev Epidemiol Controle Infecç* 2018; 8(4): 428-434.

SEMENZA, J.C.; SUK, J.E. Vector-borne diseases and climate change: a European perspective. *FEMS microbiol lett* 2018; 365(2): 1-9.

SHARMA, P.; CHANDEL, V.B.S.; KAHN, S. Spatial autocorrelation technique for landslide hot-spot analysis in the upper ravi river catchment, chambha, himachal pradesh. *Indian Geogr J* 2018; 93(1): 1-9.

SILVA, A.V.M. da; PAULA, A.A. de; CABRERA, M.A.A.; CARREIRA, J.C.A. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. *Cad Saude Publica* 2005; 21(1): 324-328.

SILVA, J. N.; DE ALMEIDA, A. do B.P.F.; SORTE, E. da C.B.; DE FREITAS, A.G.; DO SANTOS, L.G.F.; AGUIAR, D.M.; *et al.* Soroprevalência de anticorpos anti- *Ehrlichia canis* em cães de Cuiabá, Mato Grosso. *Rev Bras Parasitol Vet* 2010; 19(2): 108-111.

SILVA, R.B.S.; MENDES, R.S.; SANTANA, V.L.; SOUZA, H.C.; RAMOS, C.P.S; SOUZA, A.P. *et al.* Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. *Pesqui Vet Bras* 2016; 36(7): 625-629.

SILVA, F.F.A. da; SILVA, A.H.C. da; LUNEDO, J.; OLIVEIRA, L.B. de; PINTO, S.B.; ZABOTT, M.V. Soroprevalência de *Ehrlichia canis* em cães de abrigos e associações de proteção, do oeste do Paraná, Brasil. *Arq Ciênc Vet Zool* 2020; 23(1): e2312-e2312.

SILVA, A. de S.; NASCIMENTO, R.K.; SANTOS, V.R.N. dos; PEREIRA, E. da S.; OLIVEIRA, A. de A.; SANTOS, R.D. dos *et al.* Diagnóstico da leishmaniose visceral e percepção dos tutores de cães e gatos sobre a doença no sertão de Sergipe. *Res, Soc Dev* 2022; 11(4): e43011427643-e43011427643.

SKOOG, D.A.; LEARY, J.J. *Principels of instumental analysis*. 4.ed. Orlando: Saunders College Publishing, 1992. p. 423.

- SOUZA, B.C. de; PEDROSA, G.R.; GONÇALVES, E.S.; BATISTA, R.A.L.; LOPES, L.P.; LIMA, S.F. de *et al.* Alterações clínicas e anatomopatológicas encontradas em um cão positivo para Leishmaniose Visceral Canina no Município de Varginha, Minas Gerais. *Spei Domus* 2021A; 17(2): 1-10.
- SOUZA, C.B. de; GRALA, A.P.; VILLELA, M.M. Óbitos por moléstias parasitárias negligenciadas no Brasil: doença de Chagas, esquistossomose, leishmaniose e dengue/ deaths due to neglected parasitic diseases in Brazil. *Braz J Dev* 2021B; 7(1): 7718-7733.
- STANIEK, M.E.; HAMILTON, J.G.C. Odour of domestic dogs infected with *Leishmania infantum* is attractive to female but not male sand flies: Evidence for parasite manipulation. *PLoS Pathog* 2021; 17(3): e1009354.
- SZABÓ, M.P.; CUNHA, T.M.; PINTER, A.; VICENTINI, F. Ticks (Acari: Ixodidae) Associated with Domestic Dogs in Franca Region, São Paulo, Brazil. *Exp Appl Acarol* 2001; 25: 909-916.
- TAVARES, L.M.S. de A.; TAVARES, E.D. Incidência, Distribuição Geográfica e Aspectos Ambientais das Áreas Endêmicas da Leishmaniose Visceral em Sergipe. *Inf Epidemiol SUS* 1999; 8(1): 47-52.
- TAVARES, D. da S. *Atração de vetores de leishmaniose tegumentar americana por compostos orgânicos voláteis presentes na pele humana* [Tese]. Universidade Federal da Bahia. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz; 2016.
- THEODOROU, K.; MYLONAKIS, M.E.; SIARKOU, V.I.; LEONTIDES, L.; KOUTINAS, A.F.; KOUTINAS, C.K.; *et al.* Efficacy of rifampicin in the treatment of experimental acute canine monocytic ehrlichiosis. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(7): 1619-26.
- TIBAYRENC, M. Genetics and evolution of infectious diseases. *Elsevier*. London. 2017. p. 195-208
- TRAPP, S.M; DAGNONE, A.S.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R.L.; AMUDE, A.M.; MORAIS, H.S.A de. Seroepidemiology of canine babesiosis and ehrlichiosis in a hospital population. *Vet Parasitol* 2006; 140(3-4): 223-230.
- WALADDE, S.M.; RICE, M.J. The sensory nervous system of the adult cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) Ixodidae. Part III. Ultrastructure and electrophysiology of cheliceral receptors. *J Aust Entomol Soc* 1977; 16: 441–453.
- WANER, T.; HARRUS, S.; JONGEJAN, F.; BARK, H.; KEYSARY, A.; Cornelissen, A.W. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Vet Parasitol* 2001; 95(1): 1-15.
- WHO. World Health Organization. Newroom. *Neglected zoonotic tropical diseases* [online]. 2015 [acessado em 12 mar 2021]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/neglected-zoonotic-tropical-diseases>.
- ZARBIN, P.H.; RODRIGUES, M.A.; LIMA, E.R. Feromônios de insetos: tecnologia e desafios para uma agricultura competitiva no Brasil. *Quim Nova* 2019; 32: 722-731.

ANEXOS

ANEXO I: CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO CEUA



UNIVERSIDADE TIRADENTES
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E EXTENSÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO ANIMAL - CEUA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA

Certificamos que a proposta intitulada "Avaliação molecular e identificação de biomarcadores no pelo de cães com leishmaniose visceral", registrada com o nº011121, sob a responsabilidade de Cláudia Moura Melo, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi Aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE TIRADENTES, em reunião de 01/12/2021.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa
Vigência da autorização	06/12/2021 a 01/08/2023
Espécie/linhagem/raça	<i>Canis lupus familiaris</i> / Cães / domésticos
Nº de Animais	360
Peso/idade	Peso: 500g a 50Kg / Idade: > 6 meses
Sexo	machos e fêmeas
Origem	Residências nos municípios Sergipanos de: Riachuelo, Nossa Senhora da Glória e Lagarto

Aracaju, 01 de dezembro de 2021

UNIVERSIDADE TIRADENTES - UNIT

Prof.ª Maria Julia Nardelli
Comitê de Ética no Uso Animal

Maria Julia Nardelli

UNIVERSIDADE TIRADENTES
AV. MURILO DANTAS Nº 300 B FAROLÂNDIA
CEP: 49.032-490 | ARACAJU - SE - BRASIL

TELEFONE: (79)3218 2206
FAX: (79) 3218 21 00

ANEXO II: COMPROVANTE DE CADASTRO NO SisGen



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO
SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Comprovante de Cadastro de Acesso
Cadastro nº AE41417

A atividade de acesso ao Patrimônio Genético, nos termos abaixo resumida, foi cadastrada no SisGen, em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos.

Número do cadastro: **AE41417**
Usuário: **ITP**
CPF/CNPJ: **02.886.710/0001-96**
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Psammolestes tertius

Título da Atividade: **Dinâmica da infecção por tripanossomatídeos em populações de insetos e hospedeiros vertebrados no Estado de Sergipe**

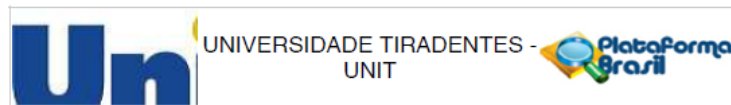
Equipe

Cláudia Moura de Melo	ITP
Rubens Riscala Madi	ITP
Jader de Oliveira	Unesp - Araraquara
João Aristeu da Rosa	Unesp - Araraquara
Mara Cristina Pinto	Unesp - Araraquara
Luiz Eduardo Roland tavares	UFMS

Parceiras Nacionais

48.031.918/0025-00 / Unesp - Campus Araraquara

ANEXO III: PARECER COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA FLEBOTOMÍNICA (DIPTERA: PSYCHODIDAE) E FATORES RELACIONADOS AS LEISHMANIOSES EM LOCALIDADES RURAIS SERGIPANAS

Pesquisador: Rubens Riscala Madi

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 36447220.9.0000.5371

Instituição Proponente: SOCIEDADE DE EDUCACAO TIRADENTES S/S LTDA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.654.181

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma pesquisa ecológica descritiva e quali-quantitativa, que reunirá informações de inventários de dípteros (Psychodidae) com armadilhas tipo CDC e questionários aplicados em residências em áreas rurais periurbanas. As pessoas serão convidadas a contribuir com a pesquisa permitindo ou não a instalação das armadilhas nas residências e em responder aos questionários, após explicação sobre os objetivos da pesquisa, tempo de coleta e funcionamento das armadilhas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Inventariar a fauna flebotomínica periurbana em diferentes faixas climáticas do estado de Sergipe e os fatores relacionados a transmissão das leishmanioses nas residências rurais.

Objetivo Secundário:

- Inventariar a fauna de Flebotomíneos (Psychodidae) em áreas naturais e antropizadas de Sergipe;
- Averiguar por meio de registros moleculares a circulação dos agentes etiológicos do gênero Leishmania em flebotomíneos coletados.
- Investigar por meio de questionário fatores que contribuem com a presença do vetor e transmissão das leishmanioses em localidades rurais sergipanas.

Endereço: Campus Farolândia - Av. Munilo Dantas, 300 - DPE - Bloco F - Térreo
Bairro: Bairro Farolândia **CEP:** 49.032-490
UF: SE **Município:** ARACAJU
Telefone: (79)3218-2206 **Fax:** (79)3218-2100 **E-mail:** cep@unit.br



UNIVERSIDADE TIRADENTES -
UNIT



Continuação do Parecer: 4.654.181

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Acredita-se que os riscos são mínimos, visto que se trata da instalação de armadilhas luminosas de baixo consumo energético e aplicação de questionários. Porém, o participante poderá sentir algum desconforto com o som ou luminosidade emitida pela armadilha durante o seu funcionamento, ou caso não consiga ler e entender alguma pergunta do questionário.

Benefícios:

Identificar a circulação de flebotomos que estão em circulação em áreas habitadas e próximas as residências, como também a circulação dos diferentes agentes etiológicos envolvidos nos ciclos da Leishmaniose Visceral e Tegumentar.

O projeto de pesquisa apresenta as relações de riscos e benefícios de forma adequada, de acordo com a Resolução CNS nº466/12.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de uma pesquisa com grande relevância científica para a área de saúde pública, com impacto na saúde e no meio ambiente, da comunidade estudada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

As documentações foram inseridas corretamente e encontram-se datadas e assinadas conforme as normas descritas na Resolução CNS nº 466/12.

Recomendações:

Incorpora na metodologia os cuidados de biossegurança que previnem a transmissão da Covid 19 na coleta de dados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As documentações foram inseridas corretamente e encontram-se datadas e assinadas conforme as normas descritas na Resolução CNS nº 466/12. Não há pendências ou inadequações para este projeto de pesquisa.

Endereço: Campus Farolândia - Av. Munilo Dantas, 300 - DPE - Bloco F - Térreo
Bairro: Bairro Farolândia **CEP:** 49.032-490
UF: SE **Município:** ARACAJU
Telefone: (79)3218-2206 **Fax:** (79)3218-2100 **E-mail:** cep@unit.br

Página 02 de 04



Considerações Finais a critério do CEP:

PB: Plataforma Brasil; PD: Projeto detalhado; FR: folha de rosto.

O CEP informa que de acordo com a Resolução CNS nº 466/12, Diretrizes e normas XI. 1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais e XI. 2 - XI.2 - Cabe ao pesquisador: a) apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP ou à CONEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa; b) elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e/ou Termo de Assentimento Livre e Esclarecido, quando necessário; c) desenvolver o projeto conforme delineado; d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final; e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento; f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa; g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMACOES_BASICAS_DO_PROJETO_1591442.pdf	10/08/2020 12:17:51		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_DCA_MODIFICADO.pdf	10/08/2020 12:16:08	Rubens Riscala Madi	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_DCA.pdf	10/07/2020 11:19:59	Rubens Riscala Madi	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	Questionario_Morador.pdf	08/07/2020 15:46:08	Rubens Riscala Madi	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhadoCEP.pdf	08/07/2020 15:45:19	Rubens Riscala Madi	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Declaracao_Instituicao_DCA.pdf	08/07/2020 15:41:50	Rubens Riscala Madi	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Pesquisadores_DCA.pdf	08/07/2020 15:34:53	Rubens Riscala Madi	Aceito
Declaração de Instituição e	Declaracao_Infraestrutura_DCA.pdf	08/07/2020 15:34:01	Rubens Riscala Madi	Aceito

Endereço: Campus Farolândia - Av. Murilo Dantas, 300 - DPE - Bloco F - Térreo
Bairro: Bairro Farolândia CEP: 49.032-490
UF: SE Município: ARACAJU
Telefone: (79)3218-2206 Fax: (79)3218-2100 E-mail: cep@unit.br

Continuação do Parecer: 4.654.181

Infraestrutura	Declaracao_Infraestrutura_DCA.pdf	08/07/2020 15:34:01	Rubens Riscala Madi	Aceito
----------------	-----------------------------------	------------------------	---------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACAJU, 16 de Abril de 2021

Assinado por:
ADRIANA KARLA DE LIMA
(Coordenador(a))

Endereço: Campus Farolândia - Av. Murilo Dantas, 300 - DPE - Bloco F - Térreo
Bairro: Bairro Farolândia CEP: 49.032-490
UF: SE Município: ARACAJU
Telefone: (79)3218-2206 Fax: (79)3218-2100 E-mail: cep@unit.br

Página 04 de 04

ANEXO IV: SIGLAS DOS COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS IDENTIFICADOS

	Compostos	COV		Compostos	COV
1	Hexanal	HXAL	30	3-metiltridecano	METD
2	Ciclooctatetraeno	CTNO	31	Tetradecano*	TDNO
3	Heptanal*	HNAL	32	Dodecanal*	DNAL
4	2-butoxietanol	BTOX	33	Geranilacetona	GCNO
5	Benzaldeído	BIDO	34	Dodecan-1-ol*	DNOL
6	6-metil-5-hepten-2-ona	MHNA	35	Pentadecano*	PDNO
7	Octanal	ECTL	36	Tridecanal	TDAL
8	Decano*	DANO	37	3-metilpentadecano*	MPDO
9	2-etilhexan-1-ol	EHOL	38	Hexadecano*	HXNO
10	Álcool benzílico	ABCO	39	Tetradecanal	TDAL
11	2-fenilacetaldeído	FCAO	40	2,6,10-trimetilpentadecano	TMPD
12	(E)-oct-2-enal	EOEL	41	1-octoxioctano*	OCTO
13	1-feniletanona*	FENA	42	8-heptadeceno	HEDE
14	Octan-1-ol*	ONOL	43	Tetradecan-1-ol	TDOL
15	Nonanal*	NAAL	44	Heptadecano*	HDNO
16	(E)-non-2-enal*	NONL	45	2,6,10,14-tetrametilpentadecano	TMPO
17	Nonan-1-ol	NOOL	46	Pentadecanal	PDAL
18	Naftaleno*	NTNO	47	2-benzilideneoctanal	BDAL
19	Decan-2-ona*	DONA	48	3-metilheptadecano	MHDO
20	Dodecano*	DDNO	49	Octadecano*	ODNO
21	Decanal*	DCAL	50	2-fenoxietoxibenzeno	FXBO
22	2-fenoxietanol*	FXEL	51	Hexadecanal	HDAL
23	(E)-dec-2-enal*	EDEL	52	Tetradecanoato de propano-2-ila*	TDPA
24	Decan-1-ol	DCOL	53	2-hidroxibenzoato de benzila	HIBE
25	Ácido nonanóico	ACNO	54	Hexadecanol	HDOL
26	Undecan-2-ona*	UNNA	55	Nonadecano*	MDNO
27	Tridecano*	TDCN	56	Metil <i>n</i> -hexadecanoato	MNHD
28	Undecanal*	UDCN	57	Hexadecanoato de etila	HEET
29	(E)-undec-2-enal	EUDL	58	Eicosano	EINO