

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Programa de Pós Graduação em
Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo

Aluno: Maria Carolina de Azevedo Serpa
Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Co-Orientador: Prof. Dr. Jonas Moraes Filho

São Paulo
Fevereiro/2024

Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Programa de Pós Graduação em
Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título Doutor em Ciências.

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

Co-Orientador: Prof. Dr. Jonas Moraes Filho

São Paulo

Fevereiro/2024

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínia Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

Serpa, Maria Carolina de Azevedo
Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo / Maria Carolina de Azevedo Serpa ; orientador Marcelo Bahia Labruna ; coorientador Jonas Moraes Filho. – São Paulo, 2024.
96 f. : il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2024.

1. *Rhipicephalus sanguineus* s.l.. 2. *Ehrlichia canis*. 3. Estabelecimento veterinário. 4. Infestação. 5. Áreas verdes. I. Título.



Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

São Paulo, 22 de junho de 2021
CEUAx N 7494141019

Ilmo(a). Sr(a).

Responsável: Marcelo Bahia Labruna

Área: Doenças Parasitárias

Equipe envolvida: Marcelo Bahia Labruna - (orientador); Maria Carolina De Azevedo Serpa - (executante);

Título do projeto: "Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo".

Parecer Consubstanciado da CEUA FMVZ

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, na reunião de 25/09/2020, **ANALISOU** e **APROVOU** o protocolo de estudo acima referenciado. A partir desta data, é dever do pesquisador:

1. Comunicar toda e qualquer alteração do protocolo.
2. Comunicar imediatamente ao Comitê qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento do protocolo.
3. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.
4. **Relatórios parciais** de andamento deverão ser enviados **anualmente** à CEUA até a conclusão do protocolo.

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Camilla Mota Mendes
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: SERPA, Maria Carolina de Azevedo

Título: **Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título Doutor em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

*Dedico a Tese a minha mãe, Maria José
(in memoriam) que sempre me apoiou durante
essa etapa e que certamente estaria
comemorando o fim dessa jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a minha família que me deu todo o suporte e apoio necessários para conclusão dessa etapa da minha vida, sem eles nada seria possível. Em especial a minha irmã que me acompanhou em uma das coletas mais complicadas do doutorado.

Agradeço ao meu orientador, Marcelo Labruna, por todas as oportunidades dadas dentro do laboratório, não só no que diz respeito a tese, mas todas as outras “tarefas” que me ajudaram a adquirir novos conhecimentos e novas competências, me fazendo crescer como profissional.

Ao meu coorientador, Jonas, por absolutamente tudo. Todo o empenho durante as coletas do doutorado, mesmo sendo difícil conciliar todos os seus compromissos; por todas as vezes que ouviu meus choros e reclamações e por todas as oportunidades dadas para que eu me capacitasse cada vez mais.

Jamais posso deixar de agradecer a Amália por tudo o que me ensinou desde o meu primeiro dia de VPS, sem ela eu jamais teria chegado até aqui.

Agradeço também a Isabella que esteve presente em coletas junto comigo, por toda a sua ajuda durante a elaboração da tese, por todo o companheirismo, amizade e animação. Muito obrigada a Valéria, Fernando, Ricardo e Gabrielle do Instituto Butantan pelo auxílio com os dados da Coleção acarológica e identificação dos ácaros. Aos meus amigos de laboratório Eve, Herbert, Igor, Lina, Felipe, Matheus, Jaciara, Glauber, Thiago, Carlos, Talita e Rinaldo; agradeço a cada um de vocês que contribuíram com amizade e companheirismo para tornar esse período mais leve.

Obrigada Renato por estar sempre presente durante todo tempo que estive no laboratório, pela ajuda, pela amizade e pelas confidências. À dra. Hilda agradeço pelos ensinamentos, pelas contribuições e pelo socorro sempre dado quando pedido,

sem dúvidas um exemplo de profissional a ser seguido. Agradeço ao Márcio e ao Pedrinho pela ajuda com os “panos” das coletas e por sempre fazerem dos meus dias mais alegres. Meu muito obrigada ao Arlei que tentou ajudar de todas as formas que pode na parte prática deste trabalho e que sempre tinha uma palavra amiga nos momentos necessários.

Agradeço aos funcionários do VPS que estão sempre à disposição para ajudar e que mantêm o departamento funcionando.

Sou extremamente grata ao Ryan, a Marina e a Mara, amigos que fiz durante a pós graduação e que seguem me acompanhando e me auxiliando em todas as esferas da minha vida. Agradeço muito a minha amiga de longuíssima data Laís, que esteve presente em muitas etapas da minha vida, que ouviu e aconselhou em cada percalço durante o doutorado também, e que sempre me apoia em todos os meus passos.

Às todas as minhas meninas da Mahasin. Nane, Victória e Ester que se aventuraram em caçar carrapatos comigo todas as vezes em que precisei, que se preocuparam em levar lanches e deixaram o Jonas mal acostumado. A Joyce que sempre foi compreensiva com o estresse causado por essa fase, que sempre ouviu tudo o que eu tinha para dizer e sempre teve um conselho para me dar. Às meninas da Companhia Cigana e as professoras da escola, dançar sempre foi uma terapia que me ajudava a passar por essa etapa e vocês contribuíram muito pra tornar isso mais leve. Obrigada Monalisa e Gabi por fazerem meus dias divertidos e terem sempre ótimas ideias para me arrastar.

Um agradecimento especial aos meus ICs Theodora e Pietro que encheram meu trabalho de fofura.

Por fim, agradeço à CAPES pelo apoio na realização desse trabalho.

RESUMO

SERPA, M. C. A. **Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo. 2024.** 96 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) é considerado um dos principais ectoparasitos de cães nas regiões tropicais e subtropicais do mundo, incluindo o Brasil. Uma vez que *R. sanguineus* s.l. é o único vetor da bactéria *Ehrlichia canis* (agente da erliquiose monocítica canina), a forma mais eficaz de prevenir esta importante doença é impedir o contato de cães com o carrapato vetor. Dada a adaptação desse parasito às áreas construídas pelo homem, sobretudo em áreas urbanas, este estudo avaliou as possibilidades de dispersão passiva dessa espécie de carrapato na cidade de São Paulo, buscando uma maior compreensão sobre os mecanismos de entrada do carrapato nas residências humanas. Para isso, foram vistoriados 32 estabelecimentos veterinários, em que foi mensurada a contaminação ambiental por fases de vida livre desses carrapatos em suas instalações. Da mesma forma, um total de 51 áreas verdes na cidade, incluindo praças e parques municipais, também foram avaliados através das técnicas de arraste de flanela e armadilha de gelo seco, para presença de *R. sanguineus* s.l. Dos 32 estabelecimentos visitados, foram coletados carrapatos no dia da visita em cinco deles, representando uma taxa de infestação de 15,6%. Dois desses locais estavam situados na Zona Leste, dois na Zona Sul e um na Zona Norte, e todos os 72 carrapatos coletados nesses locais foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l. Das 51 áreas verdes visitadas, seis foram positivas para presença de carrapatos no dia da visita, três na Zona Norte, dois na Zona Sul e um na Zona Oeste. Nestes locais foram coletados 82 carrapatos sendo 42 na armadilha de gelo seco e 40 no arraste de flanela, todos pertencentes ao gênero *Amblyomma* e identificados morfológicamente da seguinte forma: dez *A. sculptum*, 20 *A. dubitatum*, quatro *A. aureolatum* e 48 *Amblyomma* sp. Os carrapatos *R. sanguineus* s.l. coletados nos estabelecimentos veterinários foram testados na PCR Real Time para presença da bactéria *E. canis* e 17,8% das amostras foram positivas, oriundas das Zonas Leste, Norte e Sul. Por fim, foram analisadas as informações contidas em duas importantes coleções acarológicas sobre a presença de *R. sanguineus* s.l. na cidade de São Paulo, através dos dados de exemplares tombados dessa espécie. Os dados compilados mostraram que 91,4% dos registros que continham hospedeiros, estes eram cães domésticos, o restante teve como origem o interior de residências ou canil; não houve qualquer registro em áreas verdes do município.

Palavras Chave: *Rhipicephalus sanguineus* s.l., *Ehrlichia canis*, estabelecimento veterinário, infestação, áreas verdes.

ABSTRACT

SERPA, M. C. A. **Assessment of passive dispersion possibilities of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato tick in the city of São Paulo.** 2024. 96 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Rhipicephalus sanguineus sensu lato (s.l.) ticks are considered the main ectoparasites in dogs in tropical and subtropical areas, including Brazil. Given that the *R. sanguineus* s.l. is the single vector of the *Ehrlichia canis* bacterium (causative agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis), the most effective way to prevent such disease is to prevent dogs from contact with vector ticks. Because this parasite is well adapted to urban areas, this study assessed the possibilities of passive dispersion of this tick in the city of São Paulo, aiming to understand the tick's input mechanisms in human households. 32 veterinary facilities were inspected to measure environmental contamination by free-living phases of these ticks. Also, 51 green areas in the city, which included squares and city parks, were assessed through flagging and dry-ice traps for *R. sanguineus* s.l. Ticks were collected in 5 out of 32 facilities visited, which represent an infestation rate of 15,6%. Two of these facilities were located in the East, two in the South, and one in the North zones. All 72 ticks collected were morphologically identified as *R. sanguineus* s.l. Six of the 51 green areas visited were positive for ticks, three in the North, two in the South, and one in the West zones. 82 ticks were collected, 42 in dry-ice traps, and 40 in flagging, all belonging to the genus *Amblyomma*, and morphologically identified as follows: 10 *A. sculptum*, 20 *A. dubitatum*, 4 *A. aureolatum* and 48 *Amblyomma* sp. *R. sanguineus* s.l. ticks collected in veterinary facilities were tested by PCR Real Time for the bacterium *E. canis*, and 17,8% of samples tested positive, from the East, North, and South zones. Finally, information within two important acarological collections about the presence of *R. sanguineus* s.l. in the city of São Paulo was analyzed. The compiled data show that 91,4% of the registers containing hosts occurred in domestic dogs; the remaining were found in households or kennels. There were no other registers in green areas of the city.

Keywords: *Rhipicephalus sanguineus* s.l., *Ehrlichia canis*, veterinary facilities, infestation, green areas.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – A) Ninfa ingurgitada de <i>R. sanguineus</i> s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede / B) Ninfa de <i>R. sanguineus</i> s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede.....	39
FIGURA 2 – Ninfas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> s.l. sob canaleta plástica para passagem de fiação elétrica no alto da parede	40
FIGURA 3 – A) Ninfas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> s.l. sob placa de EVA colada na parede. B) Macho, larvas e exsúvia de <i>R. sanguineus</i> s.l. sob placa de EVA colada na parede. C) Larvas de <i>R. sanguineus</i> s.l. sob placa de EVA colada na parede	41
FIGURA 4 – A) Larva de <i>R. sanguineus</i> s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede. B) Ninfa ingurgitada de <i>R. sanguineus</i> s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede. C) Larva de <i>R. sanguineus</i> s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede.....	42
FIGURA 5 – Ninfas ingurgitadas de <i>R. sanguineus</i> s.l. próximas à saída da tubulação do ar-condicionado.....	42
FIGURA 6 – Ninfa ingurgitada de <i>R. sanguineus</i> s.l. no canto entre o teto e a parede na sala de internação	43
FIGURA 7 – Ninfa de <i>R. sanguineus</i> s.l. na parede da sala de internação	44
FIGURA 8 – Ninfas de <i>R. sanguineus</i> s.l. em baias de internação	45
FIGURA 9 – Mapa de distribuição dos pontos de coleta realizados nos estabelecimentos veterinários e locais em que foram coletados carrapatos da espécie <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (s.l.).....	47
FIGURA 10 – A) Armadilha de gelo seco colocada próxima a aparelhos para atividade física. B) Armadilha de gelo seco colocada próxima a estrutura construída para uso de cães nos espaços pet de praças públicas. C) Armadilha de gelo seco colocada sob banco de descanso	53
FIGURA 11 – A) Armadilha de gelo seco colocada próxima a vegetação arbustiva. B) Armadilha de gelo seco colocada próxima a base de árvores. C) Armadilha de gelo seco colocada sobre vegetação rasteira.	53
FIGURA 12 – A) Cão SRD residente na área P008. B) Armadilha de gelo seco colocada na porta da casinha de madeira. C) Casinha de madeira sendo vistoriada a procura de carrapatos	54

FIGURA 13 – A) Local escolhido para arraste na área P008 com árvores e vegetação arbustiva próximas. B) Local escolhido para arraste na área P006 com alternância de vegetação arbustiva e substrato de folhas oriundas das árvores do local. C) Local escolhido para arraste na área P001 com vegetação rasteira abundante e área aberta com maior incidência solar	55
FIGURA 14 – Mapa de distribuição dos pontos de coleta realizados nos parques e praças e locais em que foram coletados carrapatos	56
FIGURA 15 – Mapa de distribuição dos pontos de amostras de <i>R. sanguineus</i> s.l. positivos para presença de <i>E. canis</i> no exame de PCR em tempo real	58
FIGURA 16 – Número de tombos de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> sensu lato conforme os meses do ano para o município de São Paulo, registrados na Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva” e na Coleção Acarológica do Instituto Butantan, durante o período de 1935 a 2022	63

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Códigos de Classificação dos diferentes ramos de atividades exercidos pelos estabelecimentos veterinários visitados.....	29
---	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Identificação, localização, classificação por ramo de atividade dos estabelecimentos visitados, data e estação do ano de cada visita	35
TABELA 2 – A média de atendimentos, parâmetros de presença de <i>R. sanguineus</i> s.l. no ambiente, parâmetros de presença de <i>R. sanguineus</i> s.l. nos animais em cada local visitado e locais positivos para presença de <i>R. sanguineus</i> s.l. o dia da visita	37
TABELA 3 – Relação da quantidade, estágio de vida e local de coleta dos carrapatos <i>R. sanguineus</i> s.l. encontrados nos estabelecimentos veterinários positivos	46
TABELA 4 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Leste	48
TABELA 5 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Norte	48
TABELA 6 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Sul	49
TABELA 7 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Oeste	49
TABELA 8 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada no Centro.....	50
TABELA 9 – Área, espécie, estágio de vida e técnica de coleta de cada carrapato coletado.....	57
TABELA 10 – Quantidade, estágio de vida, hospedeiro ou local de coleta, data da coleta e número do tombo de todos os exemplares de <i>R. sanguineus</i> s.l. coletados no município de São Paulo e registrados na Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva”	59
TABELA 11 – Quantidade, estágio de vida, hospedeiro ou local de coleta, data da coleta e número do tombo de todos os exemplares de <i>R. sanguineus</i> s.l. coletados no município de São Paulo e registrados na Coleção Acarológica do Instituto Butantan	60

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 COMPLEXO RHIPICEPHALUS SANGUINEUS	15
1.2 <i>RHIPICEPHALUS SANGUINEUS</i> S.L.: CARACTERÍSTICAS GERAIS.....	18
1.3 INTERAÇÃO PARASITA-HOSPEDEIRO	19
1.4 <i>RHIPICEPHALUS SANGUINEUS</i> S.L.: IMPORTÂNCIA MÉDICO-VETERINÁRIA	21
1.5 ESTABELECIMENTOS VETERINÁRIOS E ÁREAS VERDES	23
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 MATERIAL E MÉTODOS	26
3.1 ASPECTOS ÉTICOS	26
3.2 AVALIAÇÃO DE ESTABELECIMENTOS VETERINÁRIOS PARA A PRESENÇA DE CARRAPATOS <i>R. SANGUINEUS</i> S.L. NO AMBIENTE	26
3.3 AVALIAÇÃO DE PARQUES E PRAÇAS PÚBLICAS PARA A PRESENÇA DE CARRAPATOS <i>R. SANGUINEUS</i> S.L. NO AMBIENTE	30
3.4 EXAME DOS CARRAPATOS PARA PRESENÇA DE <i>EHRLICHIA CANIS</i>	30
3.5 AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE EXEMPLARES DE <i>R. SANGUINEUS</i> S.L. EM COLEÇÕES ACAROLÓGICAS	31
3.6 ANÁLISES DOS RESULTADOS	32
4 RESULTADOS	33
4.1 ANÁLISE DOS ESTABELECIMENTOS VETERINÁRIOS	33
4.2 ANÁLISE DAS ÁREAS VERDES	47
4.3 EXAME DOS CARRAPATOS PARA PRESENÇA DE <i>EHRLICHIA CANIS</i>	58
4.4 ANÁLISE DAS COLEÇÕES ACAROLÓGICAS	59
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	63
5 DISCUSSÃO	64
6 CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS	79
ANEXOS	87

1 INTRODUÇÃO

1.1 Complexo *Rhipicephalus sanguineus*

O chamado Complexo *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) abrange um total de 12 espécies, a saber:

- *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)
- *Rhipicephalus sulcatus* Neumann, 1908
- *Rhipicephalus rossicus* Yakimov e Kohl-Yakimov, 1911
- *Rhipicephalus schulzei* Olenov, 1929
- *Rhipicephalus pumilio* Shulze, 1935
- *Rhipicephalus pusillus* Gil Collado, 1936
- *Rhipicephalus turanicus* Pomerantzev, 1940
- *Rhipicephalus leporis* Pomerantzev, 1946
- *Rhipicephalus guilhoni* Morel e Vassiliades, 1963
- *Rhipicephalus moucheti* Morel, 1965
- *Rhipicephalus bergeoni* Morel e Balis, 1976
- *Rhipicephalus camicasi* Morel, Mouchet e Rodhain, 1976

Dentre todas as espécies pertencentes a esse complexo, o *R. sanguineus* (Latreille, 1806) é a de maior destaque devido a sua ampla distribuição e sua importância econômica e em saúde pública (Nava et al. 2015).

Ainda de acordo com Nava e colaboradores (2015), existe uma relação intrincada entre as populações das espécies pertencentes a esse complexo, bem como entre populações da própria espécie *R. sanguineus* encontradas em diferentes

localidades do mundo. Um exemplo disso seriam os resultados obtidos por Zahler et al. (1997), que realizaram análises de sequências de DNA do espaçador interno transcrito (ITS2) provenientes de espécimes de *R. sanguineus* e de *R. turanicus* originários da Ásia e do Norte da África, sendo essas sequências idênticas, evidenciando assim a estreita relação genética entre as duas espécies, o que fez com que se pudesse sugerir uma coespecificidade entre elas. Essa coespecificidade também foi sugerida na Europa através de estudos filogenéticos envolvendo os genes 16S rDNA (Mangold et al., 1998) e 12S rDNA (Beati e Keirans, 2001), ambos mitocondriais, de *R. sanguineus* provenientes da Espanha e da França.

Com relação a região neotropical, pesquisas envolvendo *R. sanguineus* sempre foram muito frequentes dada a sua importância médico-veterinária, e à medida que os resultados foram sendo divulgados algumas diferenças puderam ser observadas, como por exemplo: diversidade de patógenos transmitidos, variação no tamanho entre espécimes coletados em diferentes regiões e também a capacidade dos cães em desenvolverem resistência após seguidas infestações (Szabó et al., 2005).

Comparações morfológicas feitas entre exemplares de *R. sanguineus* adultos oriundos dos municípios de Rafaela na Argentina e de Jaboticabal no Brasil, acabaram por confirmar essa diferença de tamanho citada anteriormente, e também diferenças no formato da abertura genital nas fêmeas e no número de cerdas anais entre eles, fazendo com que fosse possível pressupor que talvez *R. sanguineus* pudesse ser representado por pelo menos duas espécies na região neotropical (Oliveira et al., 2005).

Essa suposição se torna mais forte quando as mesmas populações de carrapatos vindas de Brasil e Argentina apresentaram diferenças significativas em

suas sequências de DNA do gene 12S rDNA, e quando testes de cruzamento entre eles resultaram em descendentes inférteis (Szabó et al., 2005)

Desde então, diferentes estudos baseados em análises genéticas (Szabó et al. 2005, Burlini et al. 2010, Moraes-Filho et al. 2011, Dantas-Torres et al. 2013, Sanches et al. 2016), morfológicas (Oliveira et al. 2005, Dantas-Torres et al. 2013, Sanches et al. 2016) e biológicas (Szabó et al. 2005, Sanches et al. 2016, Labruna et al. 2017) concluíram que o táxon *R. sanguineus* está representado no Brasil por duas espécies de carrapatos, que foram classificadas por Moraes-Filho et al. (2011) como “espécie temperada” (restrita ao Rio Grande do Sul e possivelmente parte de Santa Catarina) e “espécie tropical” (prevalente nas demais partes do território nacional).

Em um estudo sobre a validade do táxon desta espécie de carrapato, Nava et al. (2018) concluíram que a chamada “espécie temperada” corresponde ao verdadeiro *R. sanguineus*, originário da Europa Ocidental (Espanha, França e Itália), sendo daí em diante chamado de *R. sanguineus sensu stricto* s.s. Já a “espécie tropical” está associada a carrapatos originários da África do Sul e Moçambique mantendo-se como *R. sanguineus sensu lato* s.l., conforme critérios preestabelecidos (Nava et al. 2015, 2018).

Estudos mais recentes propuseram uma nova classificação taxonômica da linhagem tropical de *R. sanguineus* s.l., que foi reclassificada como *Rhipicephalus linnaei* (Slapeta et al. 2021, 2022). No entanto, estes estudos não contemplaram muitas amostras da região Neotropical. Por esta razão, o presente trabalho, por prudência, continuará a usar a denominação *R. sanguineus* s.l. para os espécimens do Brasil, exceto o Rio Grande do Sul. Neste último, conforme já mencionado, foi definido que há uma predominância de *R. sanguineus* s.s. (“espécie temperada”).

De acordo com Moraes-Filho et al. (2011) e Labruna et al. (2017) a adaptação de cada uma das espécies de *R. sanguineus* s.l. no continente americano, incluindo o Brasil, se deve as exigências particulares de cada uma delas, sendo a temperatura média de cada localidade um fator de extrema importância. A linhagem tropical, de *R. sanguineus* s.l. é o objeto do presente estudo.

1.2 *Rhipicephalus sanguineus* s.l.: características gerais

O carrapato *R. sanguineus* foi descrito inicialmente por Latreille em 1806 sendo nomeado primeiramente como *Ixodes sanguineus*, enquanto que sua classificação como Ixodida que resultou na sua re colocação no gênero *Rhipicephalus* foi feita por Koch (1844). Trata-se de um artrópode, parasita, hematófago, que possui distribuição cosmopolita e é associado quase que exclusivamente ao cachorro doméstico, sendo estes os únicos hospedeiros de importância primária para manutenção das populações deste carrapato (Walker et al., 2000; Labruna & Pereira, 2001)

É trivialmente chamado de “carrapato marrom do cão” devido a sua coloração marrom-avermelhada e a sua especificidade por hospedeiro; são de tamanho pequeno, possuem um formato corporal alongado e são classificados como uma espécie de carrapato trioxeno (Dantas-Torres et al., 2008; Gray et al., 2013).

O repasto sanguíneo é feito uma única vez por larvas, ninfas e fêmeas, que após isso se desprendem do hospedeiro para realizar o processo de ecdise (larvas e ninfas) e postura (fêmeas). Por sua vez, os machos podem permanecer sobre o cão por semanas e com isso se alimentar diversas vezes (Dantas-Torres et al. 2008; Dantas-Torres, 2010; Dantas-Torres et al., 2011).

O processo de queda, que é o desprendimento do parasita de seu hospedeiro após a alimentação, acontece tanto de dia quanto de noite para as larvas, o que teoricamente ajudaria na sua dispersão para outros ambientes. Já as ninfas e fêmeas ingurgitadas se desprendem majoritariamente durante a noite facilitando o contato com sua espécie hospedeira, a fim de garantir um ciclo de vida completo (Jacobs et al., 2004; Paz et al., 2008; Gray et al., 2013).

As fases de vida do *R. sanguineus* s.l. se desenvolvem em ambientes fechados e secos, e esse desenvolvimento pode acontecer dentro da própria casinha do cachorro, nos canis e até mesmo em quintais em que haja a presença de um cão. Sabe-se também que em um ambiente infestado por *R. sanguineus* s.l. apenas 5% dos carrapatos estão em sua fase parasitária, ou seja, sobre o animal, enquanto que 95% estão no ambiente em sua fase de vida livre (Labruna & Pereira, 2001).

Por fim, sugere-se que este carrapato possa completar duas ou mais gerações em um ano pois, ao que tudo indica, nenhuma fase de vida da linhagem tropical parece entrar em diapausa uma vez que seu ciclo parece ser controlado por regimes de temperatura, ou seja, temperaturas elevadas resultam em mais gerações durante o ano. Esse fator faz com que o crescimento da sua população seja muito rápido, o que expõe seus hospedeiros à altas infestações (Cruz-Vasquez & Garcia-Vasquez, 1999; Labruna & Pereira, 2001; Louly et al., 2007; Labruna et al., 2017).

1.3 Interação Parasita-Hospedeiro

Como citado anteriormente, o *R. sanguineus* s.l. apresenta um comportamento endofílico, ou seja, tem preferência por ambientes fechados sendo encontrado basicamente em tocas e abrigos de seus hospedeiros ou, por vezes, em seus

arredores. Contudo é importante citar que já houve relatos de que quando o seu habitat usual apresenta umidade elevada ele pode exibir comportamento exofílico, emboscando seus hospedeiros a partir da vegetação nas áreas em que haja presença maciça de cães (Dantas-Torres et al., 2008; Parola et al., 2008; Gray et al., 2013).

Ainda baseado no exposto acima, é considerado um carrapato de hábito nidícola, isto é, que estabelece seu ciclo de vida dentro dos ninhos, tocas e abrigos dos seus hospedeiros, assim, quando não estão se alimentando sobre cães, as formas de vida livre estão escondidas em frestas e buracos das tocas, geralmente em locais com uma certa distância do chão uma vez que o *R. sanguineus* s.l. tem a tendência de andar para cima após o desprendimento (Labruna & Pereira, 2001).

É sabido que essa espécie de carrapato era originalmente um parasita de carnívoros silvestres de clima quente que eram escavadores, como raposas e mustelídeos, e possivelmente evoluiu dessa forma até o momento em que, com a domesticação do cão, acabou por utilizar o habitat do seu hospedeiro (Gray et al., 2013) adaptando-se assim às moradias humanas e também aos abrigos do próprio cão, como casinhas de madeira por exemplo (Labruna & Pereira, 2001), fato esse que evidencia sua excelente capacidade adaptativa e também a sua estreita relação evolutiva com seu hospedeiro (Gray et al., 2013)

É importante frisar que o todo o ciclo do *R. sanguineus* s.l. ocorre nesses ambientes citados, desde a percepção do hospedeiro pelo carrapato que ao notar a presença do cão sai de seu esconderijo e se direciona ativamente até ele; até o final do repasto sanguíneo em que o parasita se desprende do hospedeiro enquanto este se encontra dentro do abrigo ou em área segura, e busca um local para continuação do ciclo garantindo assim que as próximas fases de vida não tenham dificuldade em encontrar o hospedeiro (Labruna & Pereira, 2001). Sendo assim, pode-se afirmar que

por possuir hábitos nidícolas e estar associado ao cão doméstico o *R. sanguineus* s.l. pode facilmente colonizar abrigos protegidos que derivam de habitações humanas (Gray et al., 2013)

1.4 *Rhipicephalus sanguineus* s.l.: importância médico-veterinária

O carrapato *R. sanguineus* sensu lato s.l., objeto do presente estudo, é considerado um dos principais ectoparasitos de cães nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Gray et al. 2013, Nava et al. 2015), incluindo o Brasil, onde há relatos deste parasito em praticamente todas as unidades federativas (Aragão 1936, Labruna et al. 2005, Dantas-Torres et al. 2008, Moraes-Filho et al. 2011). Essa espécie possui grande relevância em saúde pública em determinadas localidades uma vez que é implicado como vetor para humanos de *Rickettsia conorii*, agente etiológico da Febre Maculosa do Mediterrâneo na África, Ásia e Europa; e de *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas na América Central, México e EUA (Dantas-Torres et al., 2012).

Contudo, a grande importância do *R. sanguineus* s.l. está na medicina veterinária visto que essa espécie é vetor de diversos patógenos para os cães como, por exemplo, *Babesia vogeli*, agente etiológico da Babesiose Canina, e *Ehrlichia canis*, agente etiológico da Erliquiose Monocítica Canina, entre outros (Dantas-Torres et al., 2008; Dantas-Torres et al., 2012; Gray et al., 2013). Além disso, também pode causar diversos problemas aos cães domésticos, quando estes apresentarem infestação acentuada, como anemia, abscessos e a chamada paralisia do carrapato (Otranto et al., 2012).

No Brasil, somente *R. sanguineus* s.l. é vetor da bactéria *E. canis*, (Moraes-Filho et al. 2015), uma bactéria gram-negativa intracelular obrigatória que parasita leucócitos mononucleares e pertence à família Anaplasmataceae. Sua transmissão ocorre durante o repasto sanguíneo do vetor nos cães (Dumler et al., 2001). Trata-se de uma afecção multissistêmica que apresenta sinais inespecíficos como febre alta, anorexia, emagrecimento, alterações hematológicas entre outros (Little, 2010; Castro et al., 2022).

A erliquiose monocítica canina pode se apresentar de três formas clínicas: (I) fase aguda em que os sinais inespecíficos citados anteriormente estão presentes somados a linfadenomegalia, esplenomegalia e tendências hemorrágicas observadas na forma de petéquias; (II) fase subclínica em que nenhum sinal clínico é observado; e (III) fase crônica, em que os sinais vistos na fase aguda podem se apresentar de forma mais grave sendo comum o animal acometido apresentar mucosas pálidas, fraqueza e sangramento (Harrus et al., 1997; Waner et al, 1997; Komnenou et al. 2007).

Uma vez que *R. sanguineus* s.l. está distribuído na maior parte do país, a erliquiose monocítica canina está relatada, muitas vezes com altas prevalências locais, em quase todos os estados da federação (Vieira et al. 2011, Costa et al. 2015, Spolidorio et al. 2013, Gonçalves et al. 2014, Tanikawa et al. 2013, Vieira et al. 2018). Isto faz da erliquiose canina uma das doenças infecciosas mais importantes em cães no Brasil, pois somando-se à distribuição ampla do vetor, não existem vacinas para tal enfermidade e o tratamento terapêutico nem sempre é efetivo para eliminar o estado de portador/reservatório dos cães.

Deste modo, a forma mais eficaz de prevenir a erliquiose canina e outras doenças transmitidas por *R. sanguineus* s.l., é impedir o contato dos cães com este

parasita, que na prática, consiste em evitar a introdução dessa espécie de carrapato dentro das residências. Diferentemente dos carrapatos nativos no Brasil, como os pertencentes ao gênero *Amblyomma*, que infestam cães que frequentam áreas verdes, sobretudo em ambientes rurais, as populações de *R. sanguineus* s.l. estão estabelecidas principalmente em ambientes urbanos, dada a adaptação deste carrapato às residências humanas (Labruna & Pereira 2001). Sendo assim, torna-se imprescindível o conhecimento dos mecanismos de introdução de *R. sanguineus* s.l. nas residências, que resulta na colonização deste ambiente e posterior incremento das infestações da população local de cães.

1.5 Estabelecimentos veterinários e áreas verdes

Dados de 2022 indicavam que o Brasil possuía cerca de 144,3 milhões de animais de estimação, sendo que aproximadamente 55,9 milhões desses são cães (<http://institutopetbrasil.com>). Além disso, em 2022, o segmento Pet movimentou em torno de R\$ 60,2 bilhões em 285 mil empresas do ramo, o que faz com que o Brasil ocupe a terceira colocação mundial nesse segmento, representando 4,95% do mercado. A maior fatia do setor pet é representada por pet shops de pequeno médio porte que representam 48% das vendas, seguidos por clínicas e hospitais veterinários (18%), lojas agropecuárias (9,8%), varejo alimentar (8,6%), pet shops de grande porte (8%), e-commerce (5,4%) e outros (2,1%) (SEBRAE, <http://institutopetbrasil.com>).

Estima-se que somente na cidade de São Paulo haja cerca de 10 mil estabelecimentos veterinários, o que a coloca na primeira posição nacional desse segmento (<http://institutopetbrasil.com>; <http://www.comacvet.org.br>).

Numa pesquisa realizada em 2023, 85% dos tutores relataram dar muita importância para a saúde do seu cão de estimação e que por isso procuram serviços veterinários de caráter básico e preventivo, seja em clínicas veterinárias ou pet shops, regularmente e não apenas em situações de emergência (<http://www.comacvet.org.br/novo/dados-de-mercado>). Esses dados indicam que existe uma intensa movimentação de cães nas áreas urbanas do Brasil, especialmente para visitas regulares a estabelecimentos veterinários como pet shops e clínicas; no entanto, a importância desta movimentação para a epidemiologia das infestações por *R. sanguineus* s.l. nunca fora avaliada.

Dada a adaptação de *R. sanguineus* s.l. às áreas construídas pelo homem, uma hipótese central deste estudo é que os estabelecimentos pet shops e clínicas veterinárias, locais com fluxo intenso de cães de diferentes origens, sejam importantes focos de disseminação do carrapato para as residências. Em paralelo, contrariando a cultura popular de associar os carrapatos de cães sempre a áreas verdes, uma segunda hipótese deste estudo é que as áreas verdes dos centros urbanos não oferecem riscos de aquisição de infestações por *R. sanguineus* s.l., uma vez que este carrapato não estaria adaptado a áreas verdes no país, conforme previamente relatado (Labruna & Pereira 2001).

2 OBJETIVOS

Avaliar possibilidades de dispersão passiva do carrapato *R. sanguineus* s.l. na maior área urbana do Brasil, buscando uma maior compreensão sobre os mecanismos de entrada do carrapato nas residências humanas.

2.1 Objetivos específicos

- Quantificar a contaminação ambiental por fases de vida livre de carrapatos *R. sanguineus* s.l. em instalações de estabelecimentos veterinários na cidade de São Paulo.
- Quantificar a contaminação ambiental por fases de vida livre de carrapatos *R. sanguineus* s.l. em praças e parques públicos (áreas verdes) na cidade de São Paulo.
- Avaliar a ocorrência de carrapatos *R. sanguineus* s.l. infectados por *Ehrlichia canis* em instalações de estabelecimentos veterinários na cidade de São Paulo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Aspectos éticos

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob o parecer nº 7494141019. Por envolver coleta de dados de entrevistas com seres humanos (responsáveis pelos estabelecimentos), também foi submetido à Plataforma Brasil sendo aprovado sob o parecer nº 4.153.625 (Anexo 1).

O projeto foi submetido a Comissão de Pesquisa da Secretaria Municipal do Verde e Meio Ambiente para realização das coletas nos Parques Municipais com aprovação sob o parecer nº 6027.2021/0012057-4. A identidade das pessoas entrevistadas, assim como os nomes e endereços dos estabelecimentos comerciais serão mantidos em sigilo.

3.2 Avaliação de estabelecimentos veterinários para a presença de carrapatos

***R. sanguineus* s.l. no ambiente**

Como citado anteriormente, existem cerca de 10 mil estabelecimentos veterinários na cidade de São Paulo (<http://institutopetbrasil.com>; <http://www.comacvet.org.br>), que oferecem além das atividades clínica e hospitalar, serviços de hotel, “day-care”, e também os típicos serviços de higiene e estética dos cães. Desta forma, o número de estabelecimentos planejados de serem incluídos neste estudo, calculado pelo programa Epi Info™ 7, seria de no mínimo 34, levando-se em consideração uma frequência esperada de 10%, margem de erro de 90%, intervalo de confiança de 95% e uma “população” de 10.000. Esses 34 estabelecimentos deveriam ser amostrados de forma relativamente

proporcional nas cinco grandes áreas da cidade de São Paulo, a saber: Centro, Norte, Sul, Leste e Oeste.

A abordagem utilizada para contatar os estabelecimentos variou de acordo com a situação. Na maioria das vezes a conversa aconteceu por telefone, e-mail ou pelo aplicativo de mensagens WhatsApp com contatos indicados por parceiros, sendo essa a forma que mais surtiu efeito para o aceite na participação. Em menor número de vezes foi tentado o contato através do aplicativo de rede social Instagram sendo o estabelecimento selecionado aleatoriamente. Por fim, também houve a abordagem direta que consistiu em comparecer pessoalmente aos estabelecimentos, também selecionados de forma aleatória, a fim de apresentar o projeto e tentar realizar a vistoria imediatamente após a abordagem ou em horário que os responsáveis pelo local julgassem mais apropriado.

Esses estabelecimentos foram classificados em seis ramos de atividades diferentes de acordo com os serviços oferecidos, e cada um desses ramos teve a vistoria da estrutura predial conduzida de forma a abranger os espaços e locais onde os cães permaneciam por mais tempo.

Com relação ao ramo de atividade exercido pelos estabelecimentos visitados e locais em cada um deles onde a estrutura foi vistoriada temos a seguinte divisão e classificação:

- Hospitais veterinários com internação 24hs em que a vistoria foi feita na recepção, salas de consulta, centro cirúrgico e baias de internação;
- Clínicas veterinárias que oferecem serviços de cirurgia e internação na modalidade day care em que foram vistoriadas recepção, salas de consulta e cirurgia, e baias de internação;

- Hospitais veterinários com internação 24hs e que oferecem serviços de pet shop com banho e tosa. Nesses estabelecimentos a vistoria foi feita na recepção, salas de consulta, centro cirúrgico, baias de internação, baias onde os cães aguardam os procedimentos de banho e tosa ou serem retirados pelos donos, mesa de secagem e tosa dos pelos;
- Clínicas veterinárias que oferecem além do atendimento médico e cirúrgico, serviços de pet shop com banho e tosa, creche e hotel para cães. Nesses casos passaram por vistoria a recepção, salas de consulta e cirurgia, baias de internação, baias onde os cães aguardam os procedimentos de banho e tosa ou serem retirados pelos donos, mesa de secagem e tosa dos pelos, baias onde os cães ficam durante a hospedagem (serviços de creche ou hotel) e área onde os animais hospedados ficam soltos para socialização ou atividade física quando houver;
- Pet Shops com banho e tosa com vistoria realizada na recepção, baias onde os cães aguardam os procedimentos ou serem retirados pelos donos e mesa de secagem e tosa dos pelos;
- Centros de diagnóstico veterinário (análises clínicas e exames de imagem) com vistoria realizada na recepção e salas de coleta e realização de exames.

A fim de facilitar o entendimento e futuras análises, os ramos de atividades descritos anteriormente foram classificados conforme mostra o quadro 1.

QUADRO 1 – Códigos de Classificação dos diferentes ramos de atividades exercidos pelos estabelecimentos veterinários visitados

Ramo de Atividade	Código de Classificação
Hospital Veterinário com Internação 24hs	RA1
Clínica Veterinária com Cirurgia e Internação Day Care	RA2
Hospital Veterinário com Internação 24hs e serviço de Pet Shop	RA3
Clínica Veterinária e Internação com serviço de Pet Shop, Creche e Hotel	RA4
Pet Shop	RA5
Centro de Diagnóstico	RA6

Cada estabelecimento foi examinado uma única vez, e suas estruturas físicas foram minuciosamente vistoriadas em busca de formas de vida livre do *R. sanguineus* s.l., especialmente em frestas, perfurações e rachaduras das estruturas, por serem locais típicos onde o carrapato se abriga nas residências (Labruna & Pereira 2001).

No mesmo dia da visita um questionário (Anexo 2) foi aplicado junto ao responsável pelo local a fim de se colher informações sobre média de animais atendidos durante o período de um mês, bem como informações sobre frequência de carrapatos vistos no ambiente e nos animais, entre outras. Essas visitas foram previamente autorizadas pelo proprietário de cada estabelecimento, que, em contrapartida, recebeu orientação técnica sobre as principais formas de controlar e eliminar carrapatos do ambiente de seu estabelecimento.

Os carrapatos encontrados no ambiente foram armazenados em álcool absoluto, classificados quanto à espécie (Barros-Battesti et al. 2006, Nava et al. 2015), quantificados e o tipo do local de encontro (ex. parede, teto, móveis, etc) foi anotado. A identidade de todos os Pet shops será mantida em sigilo durante e após o estudo.

3.3 Avaliação de parques e praças públicas para a presença de carrapatos *R. sanguineus* s.l. no ambiente

Em cada uma das cinco grandes áreas geográficas da cidade de São Paulo (centro, norte, sul, leste e oeste), foram amostradas apenas as praças e parques que tinham uma visita diária de pelo menos 30 cães, com o intuito de evitar amostrar áreas com menor presença desses animais. Desta forma, foram realizadas inspeções pela cidade para selecionar um mínimo de 10 áreas verdes em cada uma das cinco áreas geográficas, totalizando no mínimo 50 praças e parques na cidade de São Paulo.

Uma vez selecionadas as áreas verdes, a busca por carrapatos foi realizada uma vez em cada praça ou parque, através de dois métodos: arraste de flanela e armadilhas de gelo seco, conforme Szabó et al. (2007) e Terassini et al. (2010). Em cada área verde, foi realizado arraste por uma pessoa por pelo menos 60 minutos e foram colocadas 10 armadilhas de gelo seco ao longo das vegetações de maior uso pelos cães. Os carrapatos coletados foram armazenados em álcool absoluto, classificados quanto à espécie (Barros-Battesti et al. 2006, Nava et al. 2015), quantificados e o tipo de coleta (arraste ou armadilha de gelos seco) foi anotado.

3.4 Exame dos carrapatos para presença de *Ehrlichia canis*

Os carrapatos *R. sanguineus* s.l. coletados neste estudo, armazenados em álcool absoluto, foram submetidos a extração de DNA pelo método de isotiocianato de guanidina (Sangioni et al. 2005) e submetidos a um protocolo de PCR em tempo real usando os oligonucleotídeos iniciadores Dsb-321 (5'-TTG CAA AAT GAT GTC TGA AGA TAT GAA ACA-3') e Dsb-671 (5'-GCT GCT CCA CCA ATA AAT GTA TCY

CCT A-3'), além de sonda específica para *E. canis* Taqman probe FAM-5'-AGC TAG TGC TGC TTG GGC AAC TTT GAG TGA A-3'BHQ-1, conforme previamente descrito (Moraes-Filho et al. 2015). A frequência de carrapatos infectados foi determinada para cada uma das áreas amostradas no estudo.

3.5 Avaliação da presença de exemplares de *R. sanguineus* s.l. em coleções acarológicas

A fim de coletar informações adicionais sobre hábitos e comportamento do *R. sanguineus*.s.l. foram analisados dados de duas coleções acarológicas:

- Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva” (CNC) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, fundada em 1997 e inserida fisicamente dentro do Laboratório de Doenças Parasitárias da mesma faculdade. Possui cerca de 3500 lotes de carrapatos tombados, coletados de animais domésticos e silvestres, sendo considerada uma das maiores coleções de Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae da América Latina e uma das mais representativas da Região Neotropical.
- Coleção Acarológica do Instituto Butantan iniciada em 1931 dentro do Laboratório de Parasitologia do mesmo Instituto. Possui cerca de 5663 lotes tombados entre ácaros e carrapatos, coletados tanto de animais domésticos e silvestres, quanto cedidos por outros institutos e pesquisadores.

3.6 Análises dos resultados

As frequências de estabelecimentos veterinários e áreas verdes com presença de carrapatos foram comparadas conforme a região geográfica da cidade de São Paulo (centro, norte, sul, leste, oeste) e conforme a estação do ano, pelo Teste de Chi-Quadrado ou pelo Teste Exato de Fischer. A associação de estabelecimentos com carrapatos e número médio de cães atendidos por dia foi avaliada pelo Teste de Correlação Spearman. Todas as análises foram realizadas pelo programa “R Environment for Statistical Computing” (R Core Team 2014).

4 RESULTADOS

4.1 Análise dos estabelecimentos veterinários

Devido as implicações decorrentes da pandemia de Covid-19 a seleção e o contato com os estabelecimentos veterinários foram iniciados em janeiro de 2021. Ao todo foram contatados 150 estabelecimentos entre clínicas, hospitais, pet shops e centros de diagnóstico. É importante citar que foi feito contato com grandes redes de estabelecimentos veterinários que possuem dezenas de unidades na cidade, e esse contato foi considerado único apesar de representar um número maior de visitas.

As vistorias nos locais que aceitaram participar do experimento aconteceram de fevereiro de 2021 até setembro de 2023 e, no total, foram visitados 32 estabelecimentos veterinários em quatro das cinco regiões da cidade de São Paulo, distribuídos da seguinte forma: 17 na zona Leste, seis na zona Oeste, cinco na zona Sul e três na zona Norte. Não foi possível realizar a visita em nenhum estabelecimento da região Central da cidade.

De todos os estabelecimentos visitados 11 eram hospitais com internação 24h, quatro eram clínicas com cirurgia e internação day care, cinco eram hospitais com internação 24h e serviço de pet shop, quatro eram clínicas com internação e serviço de pet shop, creche e hotel; quatro eram pet shops e quatro eram centros de diagnóstico. Com relação a estação do ano vigente na data de cada coleta temos a seguinte divisão: seis estabelecimentos visitados durante o verão, 10 durante o outono, 14 durante o inverno e dois durante a primavera.

Os dados de identificação, localização por região da cidade, classificação por ramo de atividade, data e estação do ano à época da visita dos 32 estabelecimentos veterinários visitados estão dispostos na tabela 1.

A variação de porte empresarial entre os estabelecimentos visitados resultou na conseqüente variação da média de atendimentos por mês entre eles, sendo a menor média de cerca de 40 atendimentos/mês, e a maior de aproximadamente 3500 atendimentos/mês. A média de atendimentos por mês em cada estabelecimento está descrita na tabela 2.

Com relação às respostas dadas pelos responsáveis de cada estabelecimento no dia da visita, a frequência com que um carrapato é encontrado no ambiente estrutural dos estabelecimentos foi descrita como NUNCA por 20 dos 32 locais visitados e como TODO DIA por apenas um. Além deles, seis locais relatam presença de carrapato no ambiente uma vez a cada quatro meses, três uma vez a cada dois meses e dois uma vez por mês.

Já quando questionados sobre a frequência de carrapatos encontrados nos cães que frequentam o local esses parâmetros são dados como UMA VEZ A CADA DOIS MESES por oito dos 32 estabelecimentos e TODO DIA por um deles apenas. As demais frequências foram relatadas da seguinte forma: uma vez na semana também por oito estabelecimentos, uma vez ao mês em cinco estabelecimentos, uma vez a cada quatro meses em seis, e nunca em quatro deles. Os parâmetros de presença de carrapatos no ambiente e nos animais em cada local visitado estão dispostos na tabela 2.

TABELA 1 – Identificação, localização, classificação por ramo de atividade dos estabelecimentos visitados, data e estação do ano de cada visita

Código do Estabelecimento	Região de Localização	Classificação do Ramo de Atividade	Data da Visita	Estação do Ano
C001	Zona Oeste	RA1	01/02/2021	Verão
C002	Zona Norte	RA1	02/02/2021	Verão
C003	Zona Norte	RA5	02/02/2021	Verão
C004	Zona Leste	RA1	17/02/2021	Verão
C005	Zona Leste	RA2	05/03/2021	Verão
C006	Zona Leste	RA4	05/03/2021	Verão
C007	Zona Norte	RA1	08/05/2021	Outono
C008	Zona Sul	RA1	08/05/2021	Outono
C009	Zona Leste	RA3	20/05/2021	Outono
C010	Zona Leste	RA3	20/05/2021	Outono
C011	Zona Leste	RA3	27/05/2021	Outono
C012	Zona Leste	RA3	27/05/2021	Outono
C013	Zona Leste	RA2	07/07/2021	Inverno
C014	Zona Leste	RA5	07/07/2021	Inverno
C015	Zona Sul	RA1	13/07/2021	Inverno
C016	Zona Sul	RA1	13/07/2021	Inverno
C017	Zona Sul	RA2	13/07/2021	Inverno
C018	Zona Leste	RA1	15/07/2021	Inverno
C019	Zona Leste	RA4	15/07/2021	Inverno
C020	Zona Leste	RA2	01/09/2021	Inverno
C021	Zona Oeste	RA2	08/09/2021	Inverno
C022	Zona Oeste	RA4	22/09/2021	Inverno
C023	Zona Oeste	RA6	22/09/2021	Inverno
C024	Zona Oeste	RA4	30/09/2021	Primavera
C025	Zona Leste	RA5	09/11/2021	Primavera
C026	Zona Leste	RA5	22/03/2022	Outono
C027	Zona Sul	RA6	17/05/2022	Outono
C028	Zona Leste	RA1	24/05/2022	Outono
C029	Zona Leste	RA1	17/06/2022	Outono
C030	Zona Leste	RA1	17/08/2023	Inverno
C031	Zona Oeste	RA6	18/09/2023	Inverno
C032	Zona Oeste	RA5	18/09/2023	Inverno

RA1: hospital veterinário com internação 24h; RA2: clínica veterinária com cirurgia e internação day care; RA3: hospital veterinário com internação 24h e serviço de pet shop; RA4: clínica veterinária e internação com serviço de pet shop, creche e hotel; RA5: pet shop; RA6: centro de diagnóstico.

Dos 32 estabelecimentos visitados, foram encontrados carrapatos no dia da visita em cinco deles, representando uma taxa de infestação de 15,6%. Dois desses locais estavam situados na Zona Leste, dois na Zona Sul e um na Zona Norte. Os locais positivos para presença de *R. sanguineus* s.l. no dia da visita estão discriminados na Tabela 2.

Quando questionados sobre a forma como os carrapatos encontrados, tanto no ambiente quanto nos animais que frequentam os estabelecimentos, são descartados, os responsáveis por cada local mencionam algumas maneiras pelas quais essa ação é feita. A grande maioria (n=20) recolhe o parasito e deposita em um recipiente com álcool 70% e após “constatada a morte do carrapato” é feito o descarte no lixo comum, lixo branco ou no vaso sanitário. Uma parcela (n=7) declara que também deposita o carrapato encontrado em um recipiente com álcool 70%, porém, após isso, atea fogo para só então descartar no lixo comum ou branco. Em outros locais (n=4) os responsáveis “espremem” o carrapato recolhido para então fazer o descarte no lixo comum ou branco. Por fim, um único local (n=1) recolhe o carrapato, envolve em gaze, umedece essa gaze com desinfetante comercial Herbalvet T.A.® e descarta no ralo.

TABELA 2 – A média de atendimentos, parâmetros de presença de *R. sanguineus* s.l. no ambiente, parâmetros de presença de *R. sanguineus* s.l. nos animais em cada local visitado e locais positivos para presença de *R. sanguineus* s.l. o dia da visita

Identificação do Estabelecimento	Média de Atendimentos Mensal	Frequência de <i>R. sanguineus</i> s.l. no ambiente	Frequência de <i>R. Sanguineus</i> s.l. nos animais	Presença de <i>R. sanguineus</i> s.l. no dia da visita
C001	850	1 vez a cada dois meses	1 vez a cada dois meses	-
C002	380	Nunca	1 vez a cada dois meses	-
C004	3500	1 vez a cada quatro meses	1 vez por semana	Sim
C005	50	Nunca	1 vez a cada quatro meses	-
C006	40	Nunca	1 vez a cada dois meses	-
C007	2000	Todo dia	Todo dia	Sim
C008	2000	1 vez por mês	1 vez por semana	Sim
C009	1500	Nunca	1 vez por semana	-
C010	1600	Nunca	1 vez a cada dois meses	-
C011	400	Nunca	1 vez a cada dois meses	-
C012	900	Nunca	1 vez a cada dois meses	-
C013	45	Nunca	Nunca	-
C014	70	Nunca	1 vez a cada dois meses	-
C015	40	1 vez a cada dois meses	1 vez a cada dois meses	-
C016	600	1 vez a cada dois meses	1 vez por semana	Sim
C017	100	1 vez por mês	1 vez por mês	-
C018	300	1 vez a cada quatro meses	1 vez por semana	Sim
C019	400	1 vez a cada quatro meses	1 vez por mês	-
C020	40	Nunca	1 vez a cada quatro meses	-
C021	170	Nunca	1 vez por semana	-
C022	500	1 vez a cada quatro meses	1 vez a cada quatro meses	-

C023	150	Nunca	1 vez a cada quatro meses	-
C024	175	Nunca	1 vez por mês	-
C025	120	Nunca	1 vez a cada quatro meses	-
C026	60	Nunca	1 vez por mês	-
C027	720	Nunca	Nunca	-
C028	2000	1 vez a cada quatro meses	1 vez a cada quatro meses	-
C029	800	1 vez a cada quatro meses	1 vez por semana	-
C030	2000	Nunca	1 vez por semana	-
C031	800	Nunca	Nunca	-
C032	600	Nunca	Nunca	-

Como mencionado anteriormente, foram encontrados carrapatos em diferentes fases de vida em cinco estabelecimentos veterinários distribuídos em três regiões da cidade. Todos os espécimes avistados na maioria desses locais foram coletados. No estabelecimento C004, situado na Zona Leste, os carrapatos foram encontrados nos cantos entre a parede e o teto, presos nas fitas adesivas que seguravam cartazes informativos (figuras 1A e 1B) e nas canaletas plásticas em que passa a fiação elétrica no alto da parede (figura 2). Nesse estabelecimento foram coletados ovos, fêmeas que haviam realizado postura, ninfas, ninfas ingurgitadas e exsúvias. Todos os carrapatos foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l.. A quantidade, estágio de vida e local em que foram coletados os carrapatos nesse estabelecimento então dispostos na Tabela 3.

FIGURA 1 – A) Ninfa ingurgitada de *R. sanguineus* s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede / B) Ninfa de *R. sanguineus* s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede

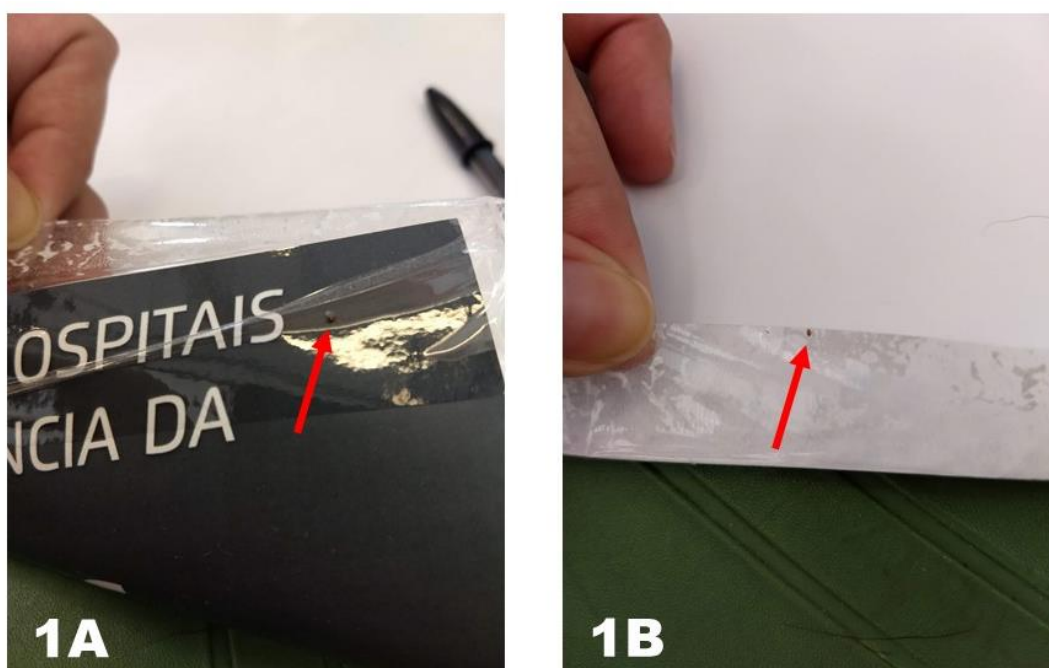
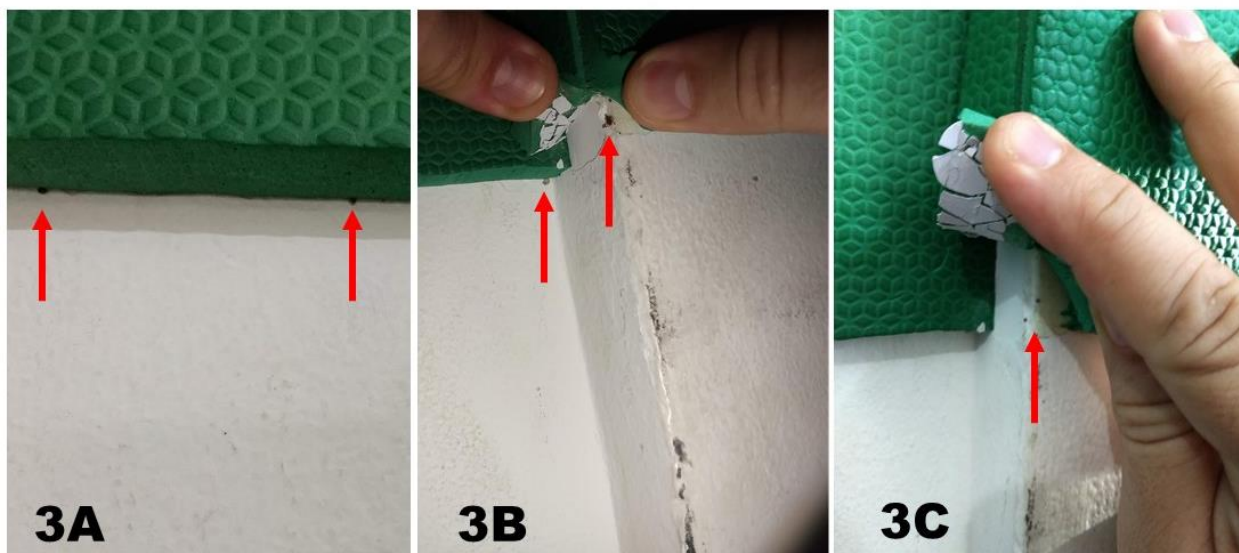


FIGURA 2 – Ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l. sob canaleta plástica para passagem de fiação elétrica no alto da parede



Na zona Norte, no estabelecimento C007 os carrapatos foram encontrados exclusivamente presos nas placas de EVA (figuras 3A, 3B e 3C colocadas nas paredes para evitar atrito das macas com as mesmas (aproximadamente um metro do chão) e todos os locais vistoriados estavam infestados (recepção, consultórios, corredores). Nesse estabelecimento foram coletados exemplares de machos, fêmeas, ninfas, ninfas ingurgitadas, larvas, larvas ingurgitadas, larvas em processo de muda e exsúvias. Todos os carrapatos foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l.. A quantidade, estágio de vida e local em que foram coletados os carrapatos nesse estabelecimento então dispostos na Tabela 3.

FIGURA 3 – A) Ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l. sob placa de EVA colada na parede. B) Macho, larvas e exsúvia de *R. sanguineus* s.l. sob placa de EVA colada na parede. C) Larvas de *R. sanguineus* s.l. sob placa de EVA colada na parede



No estabelecimento C008, localizado na zona Sul, os carrapatos estavam colados nas fitas adesivas que prendem os cartazes informativos na parede (figuras 4A, 4B e 4C), próximos à saída da tubulação do ar-condicionado (figura 5), no balcão da recepção (entre a tábua e alvenaria) e também foi encontrado um espécime no canto entre o teto e a parede na sala de internação (figura 6). Nesse estabelecimento foram coletadas ninfas, ninfas ingurgitadas, larvas ingurgitadas e exsúvias. Todos os carrapatos foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l.. A quantidade, estágio de vida e local em que foram coletados os carrapatos nesse estabelecimento então dispostos na Tabela 3.

FIGURA 4 – A) Larva de *R. sanguineus* s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede. B) Ninfa ingurgitada de *R. sanguineus* s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede. C) Larva de *R. sanguineus* s.l. presa em fita adesiva de cartaz informativo na parede

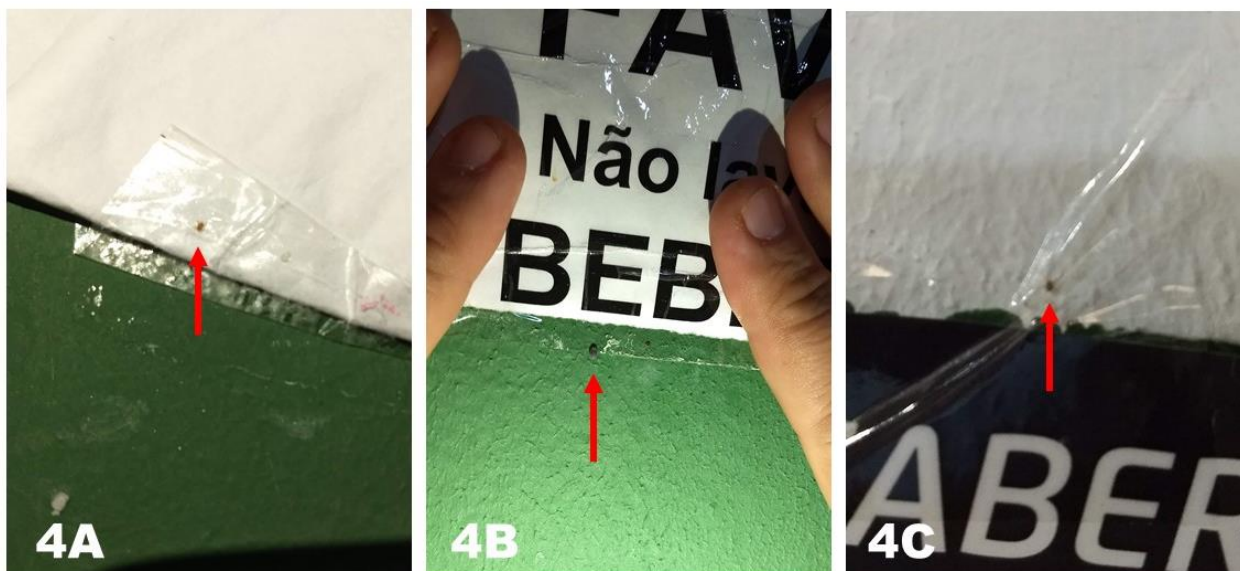
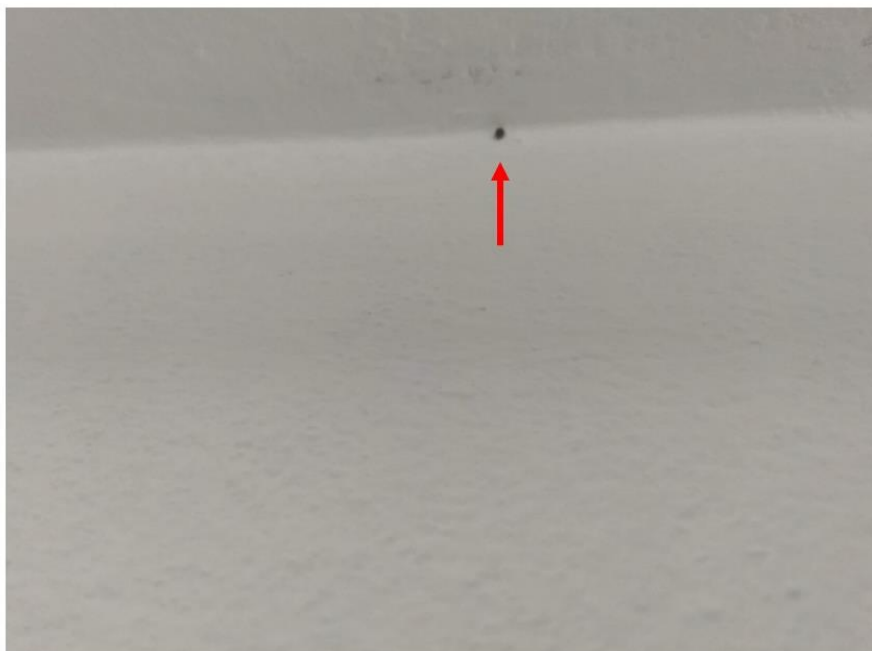


FIGURA 5 – Ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l. próximas à saída da tubulação do ar-condicionado



FIGURA 6 – Ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* s.l. no canto entre o teto e a parede na sala de internação



Também situado na Zona Sul, o estabelecimento C016 teve espécimes coletados na parede na sala de internação apenas. Nesse caso foram coletados machos e fêmeas, além de ninfas conforme mostra a figura 7. Todos os carrapatos foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l.. A quantidade, estágio de vida e local em que foram coletados os carrapatos nesse estabelecimento então dispostos na Tabela 3.

FIGURA 7 – Ninfa de *R. sanguineus* s.l. na parede da sala de internação



Por último, no estabelecimento C018 localizado na Zona Leste foram encontrados carrapatos nos cantos das baias de internação como é possível observar nas figuras 8A e 8B. Foram coletadas ninfas ingurgitadas e todos os carrapatos foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l.. A quantidade, estágio de vida e local em que foram coletados os carrapatos nesse estabelecimento então dispostos na Tabela 3.

FIGURA 8 – Ninfas de *R. sanguineus* s.l. em baias de internação

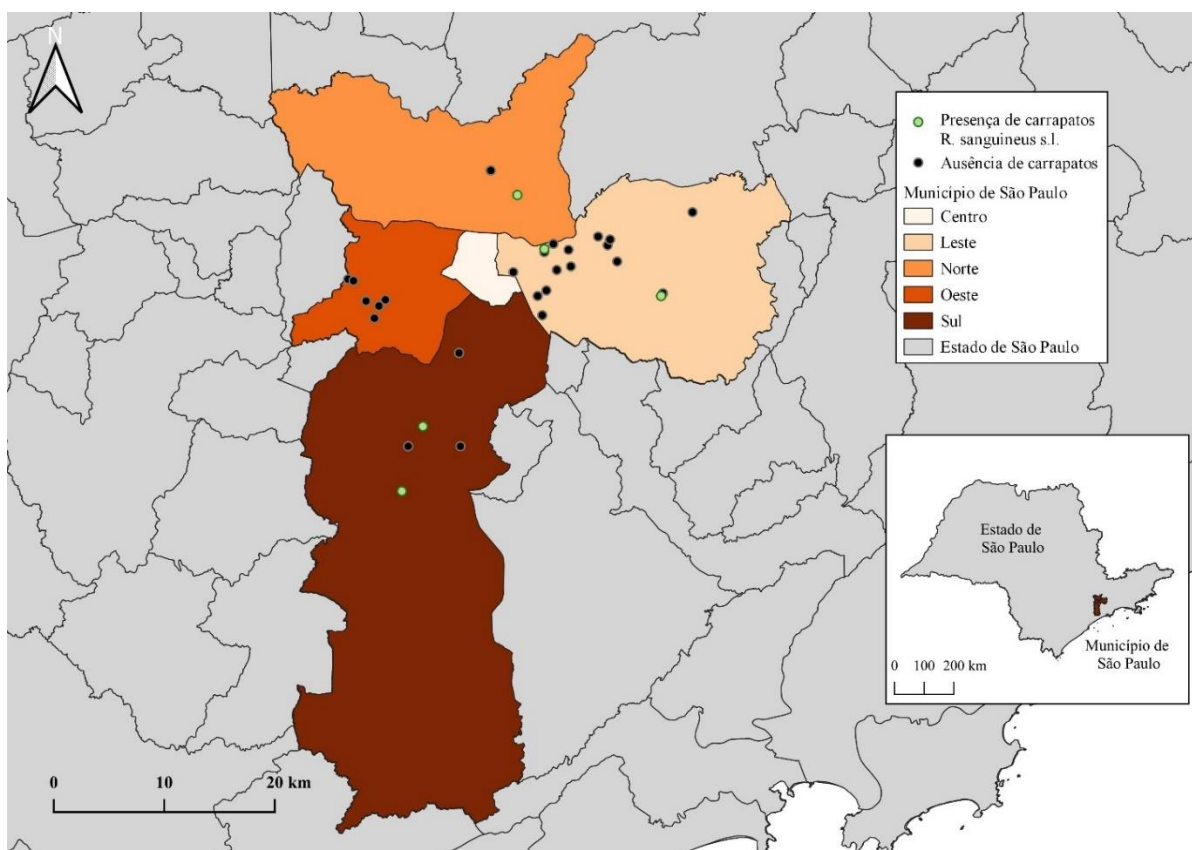


TABELA 3 – Relação da quantidade, estágio de vida e local de coleta dos carrapatos *R. sanguineus* s.l. encontrados nos estabelecimentos veterinários positivos

Identificação do Estabelecimento	Espécimes Coletados		Localização na Estrutura
	Estágio de Vida	Quantidade	
C004	Fêmea pós postura	2	Canto da parede e canto do teto na recepção
	Ninfa Ingurgitada	6	Canaleta de fiação elétrica na recepção
	Ninfa	3	Fita adesiva de cartazes informativos na recepção
	Massa de Ovos	2	Canto da parede na recepção
	Exúvias	4	Fita adesiva de cartazes informativos na recepção
C007	Macho	3	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção
	Fêmea pós postura	3	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção e no corredor de acesso aos consultórios
	Ninfa Ingurgitada	2	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção
	Larva Ingurgitada	6	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção e no corredor de acesso aos consultórios
	Larva em Processo de muda	3	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção e no corredor de acesso aos consultórios
	Larva	4	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção e no corredor de acesso aos consultórios
C008	Exúvia	4	Presos a placa de EVA que protege a parede na recepção e no corredor de acesso aos consultórios
	Ninfa Ingurgitada	7	Fita adesiva de cartazes informativos na recepção, vão no balcão da recepção, saída da tubulação de ar condicionado e canto do teto da sala de internação
	Ninfa	1	Saída da tubulação de ar condicionado
	Larva Ingurgitada	3	Fita adesiva de cartazes informativos na recepção
C016	Exúvia	2	Fita adesiva de cartazes informativos na recepção
	Macho	8	Parede da sala de internação
	Fêmea	5	Parede da sala de internação
C018	Ninfa Ingurgitada	2	Parede da sala de internação
	Ninfa Ingurgitada	2	Cantos das gaiolas de internação

Os pontos de localização de todos os estabelecimentos visitados, bem como dos estabelecimentos em que foram coletados carrapatos da espécie *R. sanguineus* s.l. estão apresentados no mapa da figura 9.

FIGURA 9 – Mapa de distribuição dos pontos de coleta realizados nos estabelecimentos veterinários e locais em que foram coletados carrapatos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (s.l.)



4.2 Análise das áreas verdes

As vistorias ocorreram entre fevereiro de 2022 e setembro de 2023 e foram visitadas 51 áreas verdes nas cinco regiões da cidade de São Paulo. Destas, seis foram positivas para presença de carrapato. As localidades amostradas foram classificadas em Parque Municipal, Parque Estadual, Praça Pública e Área Pet Privada e as duas técnicas de coleta para carrapatos citadas na metodologia foram

realizadas em todas as áreas. Em todas as visitas era entregue uma cópia do Termo de Responsabilidade da Secretaria Municipal do Verde e Meio Ambiente (Anexo 3) com o número do parecer que autorizava as coletas do projeto nessas áreas. O código de identificação, classificação e presença ou não de carrapato no dia da coleta estão dispostos na tabela 4 para zona Leste, na tabela 5 para zona Norte, na tabela 6 para zona Sul, na tabela 7 para zona Oeste e na tabela 8 para o Centro.

TABELA 4 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Leste

Cód. Da Área	Classificação da Área	Presença de Carrapato no dia da Coleta
P002	Praça Pública	NÃO
P003	Área Pet em Praça Pública	NÃO
P004	Parque Municipal	NÃO
P005	Parque Municipal	NÃO
P006	Parque Municipal	NÃO
P007	Área Pet em Praça Pública	NÃO
P008	Praça Pública	NÃO
P009	Área Pet em Praça Pública	NÃO
P012	Parque Municipal	NÃO
P013	Praça Pública	NÃO

TABELA 5 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Norte

Cód. Da Área	Classificação da Área	Presença de Carrapato no dia da Coleta
P010	Parque Estadual	SIM
P014	Parque Municipal	NÃO
P015	Parque Municipal	NÃO
P016	Parque Municipal	NÃO
P017	Parque Municipal	NÃO
P018	Parque Municipal	NÃO
P019	Parque Municipal	SIM
P020	Praça Pública	NÃO
P021	Parque Municipal	SIM
P022	Parque Municipal	NÃO

TABELA 6 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Sul

Cód. Da Área	Classificação da Área	Presença de Carrapato no dia da Coleta
P024	Parque Municipal	NÃO
P025	Parque Municipal	NÃO
P026	Praça Pública	NÃO
P030	Parque Municipal	NÃO
P031	Parque Municipal	SIM
P032	Área Pet Privada	NÃO
P033	Parque Municipal	NÃO
P034	Parque Municipal	NÃO
P035	Parque Municipal	SIM
P050	Praça Pública	NÃO

TABELA 7 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada na zona Oeste

Cód. Da Área	Classificação da Área	Presença de Carrapato no dia da Coleta
P001	Parque Municipal	NÃO
P011	Parque Municipal	NÃO
P042	Praça Pública	NÃO
P043	Praça Pública	NÃO
P044	Parque Municipal	NÃO
P045	Parque Municipal	NÃO
P046	Praça Pública	NÃO
P047	Parque Municipal	NÃO
P048	Parque Municipal	NÃO
P049	Parque Municipal	NÃO
P051	Área Pet Privada	SIM

TABELA 8 – Código, classificação e presença de carrapato no dia da coleta em cada área verde amostrada no Centro

Cód. Da Área	Classificação da Área	Presença de Carrapato no dia da Coleta
P023	Parque Municipal	NÃO
P027	Parque Municipal	NÃO
P028	Praça Pública	NÃO
P029	Praça Pública	NÃO
P036	Parque Municipal	NÃO
P037	Parque Municipal	NÃO
P038	Praça Pública	NÃO
P039	Parque Municipal	NÃO
P040	Parque Municipal	NÃO
P041	Parque Municipal	NÃO

Os parques municipais representaram mais da metade das áreas verdes amostradas (n=31) e foram escolhidos em detrimento aos parques estaduais pois estes são, em sua maioria, reservas ecológicas situadas em locais mais afastados e assim não atenderiam totalmente aos critérios do projeto. Os parques municipais estão mais inseridos dentro da área urbana, aumentando assim a possibilidade de cães frequentarem esses locais. A única exceção foi a área P010 que se trata de um parque estadual, mas que tem centenas de cães da vizinhança frequentando o local diariamente, possui partes de seu território inserido em área urbana, e já possuía uma autorização de coleta de ectoparasitas em suas dependências para outra finalidade pelo presente grupo de pesquisa.

Dessa forma, foram selecionados parques municipais em todas as regiões da cidade de São Paulo. Além do critério da visita diária de ao menos 30 cães, também foi usado como parâmetro o ano de inauguração de cada local. Dessa forma foi dada preferência para parques instituídos há até 10 anos, sendo o mais recente inaugurado em 2014 e o mais antigo em 1882. De acordo com dados de 2021 da

Secretaria do Verde e Meio Ambiente da cidade de São Paulo (SVMA), os parques mais visitados da cidade eram exatamente os que possuíam data de inauguração mais antiga, e uma visitação maior em número de pessoas resulta conseqüentemente numa visitação maior em número de cães.

Já as praças públicas foram selecionadas de acordo com seus arredores, e nesse sentido foi observado principalmente o número de edifícios de apartamento ao redor dessas áreas. É notório que a metragem das residências na cidade vem caindo, dados do Sindicato das Empresas do Setor Imobiliário (Secovi – SP) mostram que lançamentos imobiliários de até 30m² foram de 10% a 22% do total entre 2018 e 2020, já os de até 45m² subiram de 49% para 57% no mesmo período. Com os espaços cada vez menores a saída para o passeio com os cães se faz mais necessária, assim quanto mais edifícios próximos a área selecionada, maiores as chances de aumento no número de cães frequentando o local.

Foram selecionadas duas áreas pet privadas de interesse para o estudo, essas áreas são situadas em ambiente particular e somente os cães que frequentam ou residem no local têm acesso a elas. A área P032 foi selecionada por ser um espaço externo amplo, com gramado, árvores e arbustos, além de bancos de alvenaria, muros que cercam o local levantados com tijolos cobertos com chapiscado, e que funciona como sala de espera para o estabelecimento C016, e uma vez ligada a ele, também recebe uma média de 600 cães/mês que frequentam o local para atendimento, exames e internação.

Na maioria das áreas visitadas foram colocadas 10 armadilhas de gelo seco, exceto nas áreas P001 em que foram colocadas 11 armadilhas e P002 em que foram colocadas nove. Em todas as áreas as armadilhas foram distribuídas próximas aos locais mais frequentados pelos cães e seus proprietários, o que inclui áreas com pista

de caminhada, bancos para descanso, aparelhos para exercícios físicos e quando presentes, em espaços reservados para realização de festas. Nas praças e parques em que há o chamado Espaço Pet foram colocadas armadilhas próximas as estruturas construídas para uso dos cães. Exemplos dessas áreas podem ser vistos nas Figuras 10A, 10B e 10C.

Foram priorizados também locais em que existia vegetação rasteira, além da base de árvores e próximos à vegetação arbustiva como visto nas Figuras 11A, 11B e 11C. As armadilhas ficaram armadas por cerca de uma hora, com exceção da área P006 em que as armadilhas permaneceram em funcionamento por 40 minutos apenas devido à iminência de chuva forte. Uma vez colocadas, as armadilhas eram vistoriadas a cada 10 minutos para presença de carrapato.

Vale a pena citar que na área verde P008 residia um cão de porte médio sem raça definida e que o mesmo possuía uma casinha de madeira usada para se abrigar. Essa casinha teve uma armadilha de gelo seco colocada em sua porta e após o tempo de espera das armadilhas ela foi vistoriada a procura de carrapatos, porém nenhum espécime foi encontrado (Figuras 12A, 12B e 12C).

FIGURA 10 – A) Armadilha de gelo seco colocada próxima a aparelhos para atividade física. B) Armadilha de gelo seco colocada próxima a estrutura construída para uso de cães nos espaços pet de praças públicas. C) Armadilha de gelo seco colocada sob banco de descanso



FIGURA 11 – A) Armadilha de gelo seco colocada próxima a vegetação arbustiva. B) Armadilha de gelo seco colocada próxima a base de árvores. C) Armadilha de gelo seco colocada sobre vegetação rasteira.



FIGURA 12 – A) Cão SRD residente na área P008. B) Armadilha de gelo seco colocada na porta da casinha de madeira. C) Casinha de madeira sendo vistoriada a procura de carrapatos



O arraste de flanela foi realizado sem intercorrências em quase todas as áreas, a única exceção foi novamente a área P006, pois devido à forte chuva, a técnica não foi realizada no dia da colocação das armadilhas de gelo seco, mas sim no dia seguinte. A escolha dos transectos para todas as áreas também foi feita levando-se em consideração locais com maior frequência e presença de cães. Dessa forma foram amostrados trechos com diferentes tipos de vegetação e conformação ambiental, ou seja, áreas com vegetação rasteira mais ou menos abundante, maior ou menor cobertura de copa de árvores e mais ou menos presença de vegetação arbustiva por exemplo.

O arraste foi efetuado pela mesma pessoa na maioria das áreas, e a cada dez passos dados se fazia pausa para observação da flanela em busca de possíveis carrapatos coletados. Nas Figuras 13A, 13B e 13C estão exemplos de locais nas áreas verdes que foram escolhidos para execução da técnica de arraste.

FIGURA 13 – A) Local escolhido para arraste na área P008 com árvores e vegetação arbustiva próximas. B) Local escolhido para arraste na área P006 com alternância de vegetação arbustiva e substrato de folhas oriundas das árvores do local. C) Local escolhido para arraste na área P001 com vegetação rasteira abundante e área aberta com maior incidência solar



É importante salientar que em todas as coletas realizadas nas áreas verdes houve curiosidade de frequentadores e passantes que vinham conversar com a equipe. Essas pessoas frequentemente relataram que as praças e parques estavam infestadas de carrapatos e que os cães “pegariam carrapatos” ao frequentar o local.

No total foram coletados 82 carrapatos em seis parques, sendo três na zona Norte e dois na zona Sul; e em uma área pet particular na zona Oeste. Todos os carrapatos coletados foram identificados como pertencentes ao gênero *Amblyomma*, divididos em três espécies (*Amblyomma sculptum*, *Amblyomma dubitatum* e *Amblyomma aureolatum*) e representaram todos os estágios de vida (larva, ninfa, fêmea adulta e macho adulto). Dos espécimes recolhidos, 42 foram na armadilha de gelo seco e 40 no arraste de flanela. A tabela 9 mostra a área, espécie, estágio de vida e técnica de coleta de cada carrapato amostrado.

Além dos carrapatos mencionados acima, vale a pena citar que na área P004 foi coletado um ácaro da família Oribatidae com a técnica de arraste de flanela, na área P018 um ácaro do gênero *Charletonia* com a técnica de armadilha de gelo seco, e, na área P023 um ácaro que ainda está pendente de identificação também com a técnica de armadilha de gelo seco.

Os pontos de localização de todas as áreas visitadas, bem como dos locais em que foram coletados carrapatos estão apresentados no mapa da figura 14.

FIGURA 14 – Mapa de distribuição dos pontos de coleta realizados nos parques e praças e locais em que foram coletados carrapatos

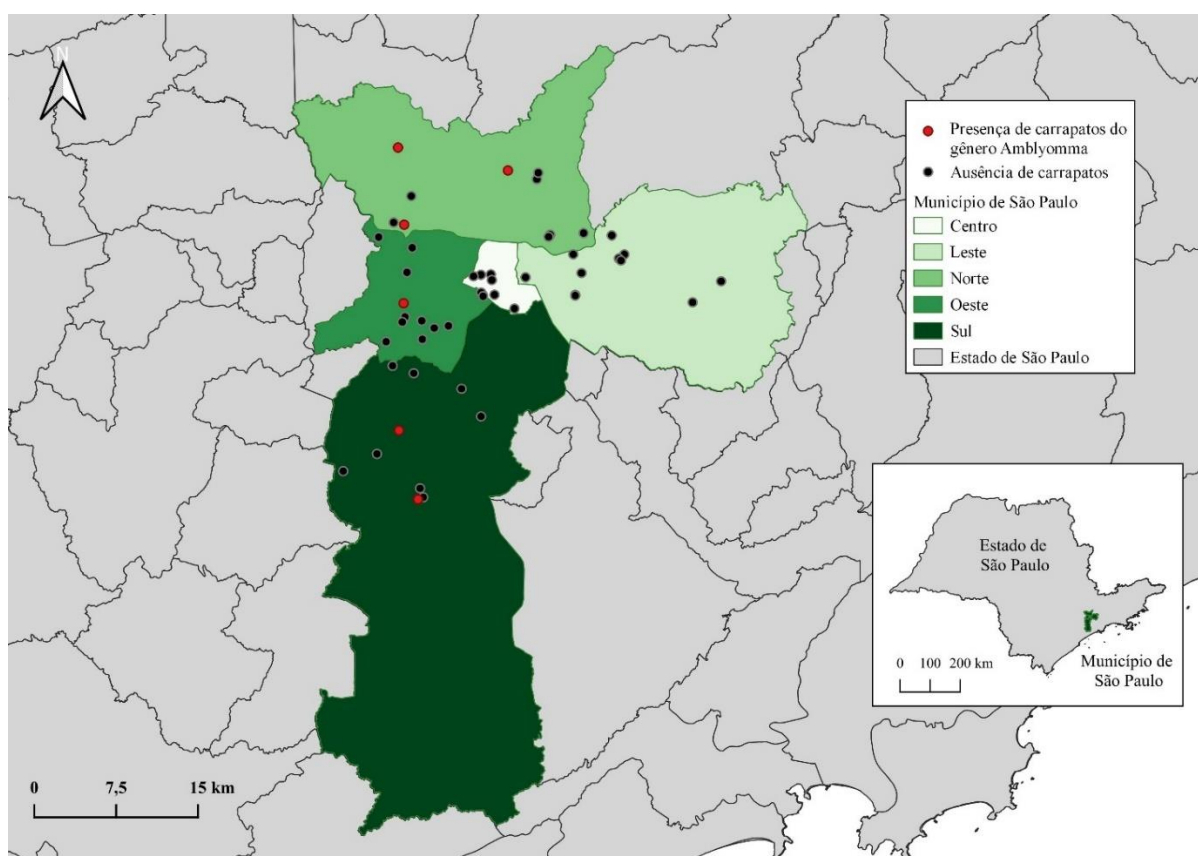


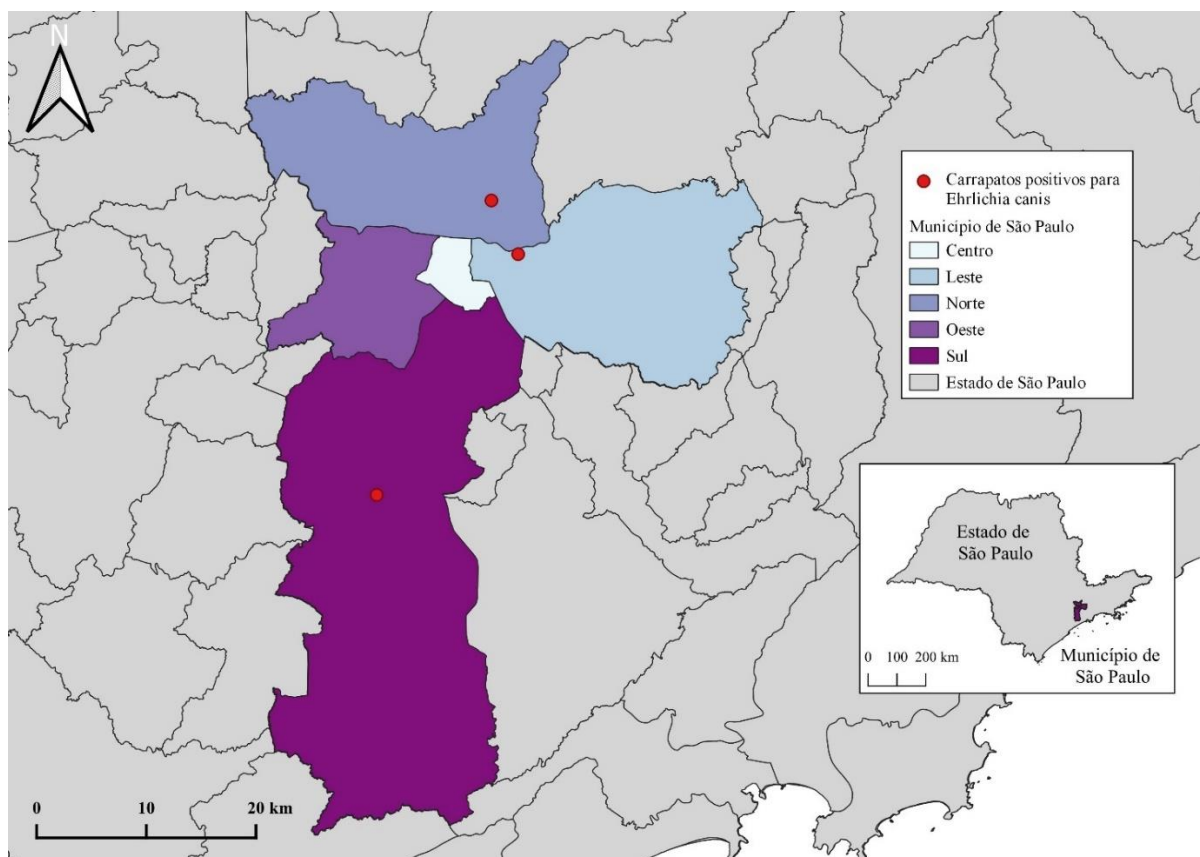
TABELA 9 – Área, espécie, estágio de vida e técnica de coleta de cada carrapato coletado

Código da Área	Gelo Seco			Arraste de Flanela			
	<i>A. sculptum</i>	<i>A. dubitatum</i>	<i>Amblyomma</i> sp	<i>A. sculptum</i>	<i>A. dubitatum</i>	<i>Amblyomma</i> sp	<i>A. aureolatum</i>
P010	-	3 Ninfas	7 Larvas	-	-	-	-
P019	-	-	-	1 Fêmea	-	-	-
P021	2 Machos	3 Machos 4 Fêmeas 4 Ninfas	14 Larvas	-	-	27 Larvas	-
P031	-	2 Ninfas	-	-	-	-	-
P035	1 Machos 2 Fêmeas	-	-	4 Fêmeas	1 Machos 1 Fêmeas 1 Ninfa	-	-
P051	-	-	-	-	1 Ninfa	-	4 Ninfas

4.3 Exame dos carrapatos para presença de *Ehrlichia canis*

Ao todo foram coletados 72 carrapatos em estabelecimentos veterinários, todos exemplares de *R. sanguineus* s.l., que foram submetidos à PCR em tempo real específica para *E. canis*, conforme descrito na metodologia. Esses carrapatos foram divididos em amostras individuais ou pools de no máximo três espécimes a depender do estágio de vida. No total, então, foram testadas 45 amostras sendo que oito delas foram consideradas positivas para *E. canis* representando uma taxa de infecção de 17,8%. Das amostras positivas para *E. canis* duas eram oriundas do estabelecimento C004 situado na zona Leste, duas do C007 situado na zona Norte e quatro do C016 situado na zona Sul.

FIGURA 15 – Mapa de distribuição dos pontos de amostras de *R. sanguineus* s.l. positivos para presença de *E. canis* no exame de PCR em tempo real



4.4 Análise das coleções acarológicas

Foi realizado o contato com o responsável por cada coleção acarológica e foram solicitados dados sobre todos os exemplares tombados identificados como *R. sanguineus* s.l., apenas para os espécimes coletados no município de São Paulo.

Foram disponibilizadas informações sobre quantidade e estágio de vida dos carrapatos *R. sanguineus* s.l. pertencentes a cada lote, hospedeiro ou local em que cada um deles foi colado, a data em que as coletas foram realizadas e também o número de tombo de cada um dos lotes. Todos estes dados referentes a Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva” estão dispostos na tabela 10, e para a Coleção Acarológica do Instituto Butantan na tabela 11.

TABELA 10 – Quantidade, estágio de vida, hospedeiro ou local de coleta, data da coleta e número do tombo de todos os exemplares de *R. sanguineus* s.l. coletados no município de São Paulo e registrados na Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva”

Macho Adulto	Estágio de Vida			Hospedeiro/Local da Coleta	Data da Coleta	Nº de Tombo
	Fêmea Adulta	Ninfa	Larva			
5	-	14	-	Hospedeiro não identificado	26/08/2001	CNC549
-	3	6	-	Cão doméstico	08/02/2006	CNC955
-	3	20	-	Ambiente Canil IPEN- USP	30/05/2006	CNC969
-	3	5	-	Cão doméstico	mar/15	CNC3018
-	2	-	-	Cão doméstico	mai/15	CNC3103
1	5	2	-	Cão doméstico	fev/16	CNC3246
-	1	-	-	Parede de residência	26/05/2022	CNC4486

TABELA 11 – Quantidade, estágio de vida, hospedeiro ou local de coleta, data da coleta e número do tombo de todos os exemplares de *R. sanguineus* s.l. coletados no município de São Paulo e registrados na Coleção Acarológica do Instituto Butantan

Macho Adulto	Fêmea Adulta	Estágio de Vida			Não especificado	Hospedeiro/Local da Coleta	Data da Coleta	Nº de Tombo
		Ninfa	Larva					
-	-	-	-	1	Cão doméstico	13/01/1935	827	
2	-	-	-	-	Cão doméstico	07/01/1931	1284	
-	2	-	-	-	Cão doméstico	07/01/1935	1285	
1	-	-	-	-	Não especificado	Não especificado	1770	
-	1	-	-	-	Cão doméstico	02/07/1956	3598	
-	2	-	-	-	Cão doméstico	06/03/1960	5797	
-	2	-	-	-	Cão doméstico	21/03/1960	5798	
1	-	-	-	-	Capivara	30/06/1998	6918	
1	-	-	-	-	Livre	02/01/1998	6939	
1	2	-	-	-	Livre em automóvel	08/05/1995	6945	
-	1	-	-	-	Cão doméstico	1998	7155	
10	7	-	-	-	Cão doméstico	set/98	7172	
1	4	-	-	-	Cão doméstico	04/06/1999	7183	
-	-	3	-	-	Dentro de residência	26/03/2001	7276	
3	8	-	-	-	Dentro de residência	02/05/2001	7301	
1	-	-	-	-	Dentro de residência	05/05/2001	7303	
-	2	-	-	-	Dentro de residência	25/05/2001	7312	
5	17	-	-	-	Dentro de residência	04/06/2011	7313	
-	2	-	-	-	Cão doméstico	25/10/2001	7437	
3	7	56	-	-	Cão doméstico	22/12/2001	7456	
-	2	-	-	-	Dentro de residência	25/02/2002	7485	
-	1	-	-	-	Humano	27/11/2002	8041	
1	-	-	-	-	Cão doméstico	06/02/2003	8403	
-	-	-	-	150	Cão doméstico	jun/04	8752	
-	2	-	-	-	Cão doméstico	28/04/2004	8939	
-	-	-	1	-	Cão doméstico	18/04/2005	9699	
-	1	-	-	-	Coelho	15/11/2005	9703	
1	-	-	-	-	Cão doméstico	17/11/2005	9704	

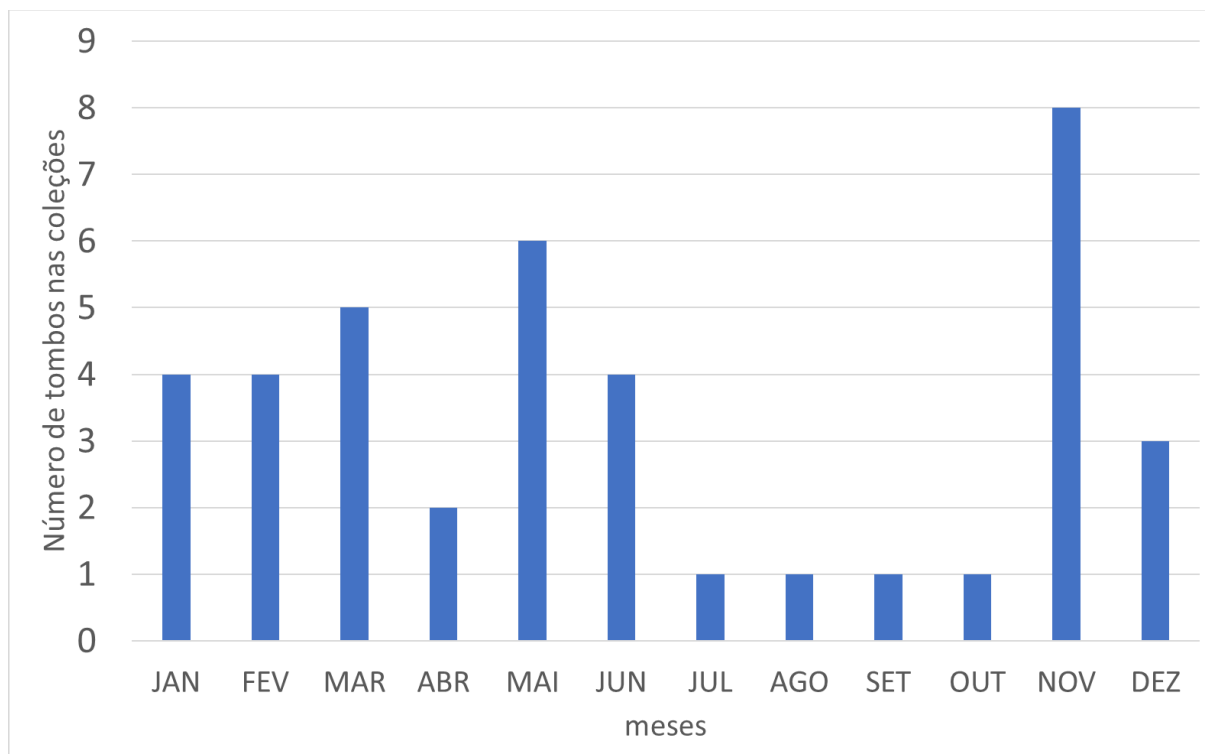
-	1	-	-	-	Amostra 1	18/11/2005	9707
1	1	-	-	-	Amostra 3	18/11/2005	9707
5	6	-	-	-	Amostra 4	18/11/2005	9707
3	5	-	-	-	Amostra 5	18/11/2005	9707
-	1	-	-	-	Não especificado	25/11/2005	9714
1	7	-	-	-	Não especificado	02/12/2005	9715
1	-	-	-	-	Não especificado	05/12/2005	9716
-	1	-	-	-	Não especificado	09/12/2005	9717
-	3	-	-	-	Não especificado	16/11/2006	9718
1	1	-	-	-	Não especificado	Não especificado	9719
-	1	-	-	-	Não especificado	Não especificado	9720
-	1	-	-	-	Não especificado	18/01/2006	9721
-	1	-	-	-	Não especificado	30/01/2006	9723
1	1	-	-	-	Não especificado	07/02/2006	9725
16	11	-	-	-	Não especificado	30/01/2006	9726
40	4	-	-	-	Não especificado	08/09/2006	9727
-	1	-	-	-	Não especificado	09/02/2006	9728
-	1	-	-	-	Não especificado	14/02/2006	9729
5	8	-	-	-	Não especificado	22/02/2006	9731
-	1	-	-	-	Não especificado	15/03/2006	9733
-	-	2	58	-	Cão doméstico	27/03/2006	9735
-	1	-	-	-	Não especificado	25/04/2006	9749
1	1	-	-	-	Não especificado	02/08/2006	9756
-	3	-	-	-	Não especificado	11/09/2006	9769
-	-	126	349	-	Não especificado	19/12/2006	9795
-	1	-	-	-	Cão doméstico	10/11/2005	9864
-	11	-	-	-	Cão doméstico	17/02/2005	9943
-	1	-	-	-	Cão doméstico	31/01/2010	10333
-	-	-	-	-	Cão doméstico	14/07/2009	10376
-	1	-	-	-	Cão doméstico	Não especificado	10629
-	1	2	-	-	Cão doméstico	01/04/2011	10644
-	-	-	-	1	Não especificado	03/09/2012	10958
-	-	-	-	-	Não especificado	04/09/2012	10967
-	-	-	-	-	Não especificado	18/09/2012	10971

-	1	-	-	-	Não especificado	09/11/2012	11066
8	14	-	-	-	Não especificado	Não especificado	11070
-	1	-	-	-	Não especificado	28/10/2012	11071
-	3	-	-	1	Cão doméstico	04/03/2013	11140
-	1	-	-	-	Cão doméstico	21/05/2013	11244
-	1	4	-	-	Não especificado	16/07/2013	11341
1	1	-	-	-	Cão doméstico	22/08/2013	11346
1	10	-	-	-	Não especificado	17/01/2014	11625
2	6	-	-	-	Não especificado	Não especificado	11665
-	-	-	-	9	Não especificado	jan/15	12021
-	1	-	-	-	Não especificado	Não especificado	12024
-	-	12	-	-	Cão doméstico	Não especificado	12383
2	3	2	-	-	Cão doméstico	abr/17	13148
-	1	-	-	-	Não especificado	Não especificado	13852

Na Figura 16 estão listados o número de tombos de *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato conforme os meses do ano para o município de São Paulo, registrados tanto na Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva” quanto na Coleção Acarológica do Instituto Butantan, durante o período de 1935 a 2022.

Somando os lotes das duas coleções, quando informados com data de coleta, observa-se um total de 40 registros de *R. sanguineus* s.l., distribuídos ao longo dos 12 meses do ano, sendo 25 (62,5%) no primeiro semestre e 15 (37,5%) no segundo semestre. Dentre os 35 tombos com registro de hospedeiro, 32 (91,4%) foram em cão doméstico. Outros oito tombos tiveram como origem dos carrapatos, o interior de residências ou canil. Não houve qualquer registro em áreas verdes do município.

FIGURA 16 – Número de tombos de *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato conforme os meses do ano para o município de São Paulo, registrados na Coleção Nacional de Carrapatos “Danilo Gonçalves Saraiva” e na Coleção Acarológica do Instituto Butantan, durante o período de 1935 a 2022



4.5 Análise estatística

Houve uma correlação estatisticamente significativa e positiva entre o número de animais atendidos por dia com a presença de carrapatos *R. sanguineus* s.l. nos estabelecimentos veterinários ($R_s: 0,40502$; $P = 0,02148$). Por outro lado, não houve associação estatística entre a região geográfica da cidade (sul, norte, leste e oeste) ou com as estações do ano (primavera, verão, outono e inverno) com a presença de carrapatos *R. sanguineus* s.l. em estabelecimentos veterinários. Também não houve associação entre as estações do ano com a presença de carrapatos *Amblyomma* spp. em áreas verdes. Em todos os casos, os valores de P foram maiores que 0.05 pelo teste de Chi-Quadrado ou pelo Teste Exato de Fischer.

5 DISCUSSÃO

Como é de conhecimento geral, em 11 de março de 2020 a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou estado de pandemia em consequência dos casos de síndrome respiratória aguda grave, a Covid-19, causada pelo novo coronavírus denominado SARS-Cov-2 (WHO, 2020). Em razão disso, no dia 24 de março do mesmo ano, o Governo do Estado de São Paulo decretou quarentena em todo o seu território adotando medidas de distanciamento social e também o lockdown, ou seja, a circulação de pessoas bem como o funcionamento de determinados estabelecimentos foi reduzida e/ou interrompida totalmente, sendo isento dessas medidas apenas os considerados serviços essenciais (Silva et al. 2020).

As atividades exercidas nos estabelecimentos veterinários foram enquadradas na categoria de serviços essenciais, podendo assim funcionar normalmente durante o período de distanciamento social. Apesar disso, o setor sofreu uma queda no número de atendimentos e no faturamento durante essa fase, pois a maioria dos tutores optou por não quebrar as medidas de distanciamento diminuindo assim as visitas rotineiras aos estabelecimentos veterinários. Um estudo realizado pelo Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas (Sebrae) entre 25 de novembro e 01 de dezembro de 2021 apontou que esse comportamento pode ser demonstrado com o aumento das vendas online neste segmento, os dados mostram que em maio de 2020 cerca de 59% desses locais usavam do recurso de vendas online enquanto que em maio de 2021 esse número subiu para 79% (Sebrae, 2021).

A mesma pesquisa aponta que 48% dos estabelecimentos do ramo veterinário e pet shop no Brasil funcionaram normalmente durante o período do lockdown enquanto que os 52% restantes funcionaram com restrições ou interromperam as atividades totalmente. Ainda no mesmo estudo é possível verificar que 60% desses

estabelecimentos consultados relataram que o faturamento durante esse período diminuiu, enquanto que 18% informaram que permaneceu igual e 15% afirmaram que houve um aumento no faturamento. Os 6% restantes não souberam ou não quiseram responder (SEBRAE, 2021).

Os contatos com os estabelecimentos veterinários para realização do projeto foram iniciados em fevereiro de 2020, logo após a aprovação do mesmo pelos comitês responsáveis. Em contrapartida as visitas só começaram de fato um ano depois pois, como exposto anteriormente, logo após o início desses contatos foi decretada a quarentena em virtude da Covid-19 e durante este período mais da metade dos estabelecimentos veterinários interromperam suas atividades ou funcionaram com restrições. Uma vez que estes estabelecimentos tiveram a rotina de atendimento restrita, por consequência, a circulação de cães nesses locais também foi bem reduzida.

Sabe-se que a presença do *R. sanguineus* s.l. no ambiente é associada a presença do cachorro doméstico visto que esse mamífero é o único hospedeiro primário de importância para manutenção do ciclo desse parasita (Labruna & Pereira, 2001). Sendo assim foi feita a opção de aguardar a normalização das rotinas de atendimento com o afrouxamento das medidas de distanciamento social, para que as visitas fossem iniciadas com a circulação de cães nesses ambientes acontecendo o mais próximo da normalidade possível.

Apesar do número de contatos com estabelecimentos veterinários ter sido relativamente alto, o total de locais que foram efetivamente vistoriados ficou um pouco abaixo do que foi proposto, sendo possível notar uma certa relutância por parte dos responsáveis pelos negócios quando foi dito, ao contato, que se tratava de um projeto para avaliar a dispersão de *R. sanguineus* s.l. na cidade. Ficou subentendido que,

para o estabelecimento, participar de um projeto com esse tema poderia dar a entender, para o público em geral, que o local estaria sofrendo com infestações de carrapato, o que poderia fazer com que a clientela optasse por procurar um local mais “adequado” para levar seus animais. Esse pensamento foi muito comum mesmo com a equipe fornecendo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 4) reiterando o compromisso de manter sigilo dos dados dos estabelecimentos participantes.

Isto posto, ficou claro que a maior parte dos estabelecimentos que aceitaram participar do estudo e foram vistoriados (75%), tinham como proprietário ou responsável alguém que possuía algum tipo de contato com um dos membros da equipe de realização do projeto, fato esse que passava segurança e dava garantias de que nenhuma informação sobre o estabelecimento seria divulgada, e assim não haveriam prejuízos no negócio com o aceite da participação. Esse fator também foi o responsável pela disparidade da distribuição dos locais visitados pela cidade, sendo a Zona Leste a região mais amostrada com mais da metade dos estabelecimentos ali situados.

Mesmo com as dificuldades encontradas para atingir o número de estabelecimentos propostos inicialmente, foi possível conseguir uma amostragem diversificada de locais quanto ao ramo de atividade, média de atendimento mensal e também com relação a percepção de carrapatos tanto no ambiente quanto nos animais que frequentavam o local. Além disso, os estabelecimentos visitados também estavam distribuídos por áreas que possuem diferentes aspectos socioeconômicos, fatores esses que favorecem as análises por abranger uma quantidade maior de cenários que possam ser encontrados pela cidade.

Todos os carrapatos coletados nos cinco estabelecimentos positivos para presença desse parasita no dia da visita foram identificados morfológicamente como *R. sanguineus* s.l. Esse fato é condizente com as características atribuídas a essa espécie uma vez que a mesma está intimamente ligada com a presença do cão doméstico, seu principal hospedeiro e mantenedor de seu ciclo de vida, e com a sua capacidade de colonizar abrigos protegidos derivados das construções humanas (Walker et al., 2000; Labruna & Pereira, 2001; Gray et al., 2013). Esta espécie de carrapato é a principal envolvida quando se trata de infestações em cães domiciliados em zonas urbanas. Vieira e colaboradores (2018b) relatam que 100% dos carrapatos que foram encontrados parasitando cães que frequentavam o Hospital Veterinário Universitário de Vila Velha, localizado em uma zona urbana em que os cães não tinham acesso a mata no Espírito Santo, foram identificados como *R. sanguineus* s.l.

Szabó e colaboradores (2010) também relataram uma infestação maciça por *R. sanguineus* s.l. em cães oriundos da zona urbana de Uberlândia, em Minas Gerais, em que 99,6% dos carrapatos coletados eram pertencentes a essa espécie. O mesmo estudo analisou da mesma forma cães da zona rural de Uberlândia e *R. sanguineus* s.l. também foi a espécie de carrapato mais encontrada nesse cenário representando 71.7% dos espécimes recolhidos. No entanto os autores explicam esse fato afirmando que os cães domiciliados em ambiente rural e parasitados por *R. sanguineus* s.l. estavam restritos a áreas cercadas ou presos as suas casas, o que propicia um microambiente semelhante aos dos cães urbanos.

Todos os estabelecimentos em que foram encontrados os carrapatos *R. sanguineus* s.l. no dia da visita foram classificados como hospitais com internação e funcionamento 24h (RA1), ou seja, haviam animais que permaneciam no local durante um período de horas prolongado, podendo se estender para o período noturno e

pernoite. Sabe-se que a dinâmica de desprendimento desse carrapato de seu hospedeiro acontece tanto de dia quanto de noite para larvas e principalmente de noite para ninfas e adultos, e que após a queda o parasita procura um local seguro para se estabelecer (Jacobs et al., 2004; Paz et al., 2008; Gray et al., 2013). O funcionamento 24h de locais que possuem rotina de internação acaba por facilitar esse processo de dispersão do *R. sanguineus* s.l. uma vez que, hospedeiros possivelmente infestados permanecem por mais tempo no local atingindo o limiar de queda de todas as fases de vida do carrapato.

Outro ponto em comum entre esses estabelecimentos é que todos tem uma alta rotatividade de animais uma vez que apresentam elevadas médias de atendimento mensal, podendo chegar a 3500 atendimentos/mês no mais movimentado e a 300 atendimento/mês no menos movimentado, fazendo com que fiquem acima da média de atendimento de cerca de metade dos locais visitados. Da mesma forma todos esses mesmos estabelecimentos relataram a presença de *R. sanguineus* s.l. tanto infestando os animais que frequentam o local quanto nas estruturas do ambiente em frequências que variaram de todo dia a uma vez a cada quatro meses.

Por fim, todos os locais positivos atendem um público de tutores que possui índices socioeconômicos mais baixos quando comparados a outros estabelecimentos visitados para o projeto. Sabe-se que fatores socioeconômicos podem influenciar no risco de propagação de doenças transmitidas por vetores em humanos, como a malária por exemplo, em que modelos matemáticos sugerem que o aumento do Produto Interno Bruto (PIB) é fator determinante para a queda no número de casos dessa doença (Parham et al., 2015).

Para doenças transmitidas por vetores em animais, isso não é diferente. Um estudo realizado por Figueredo et al. (2017) com tutores de cães de diferentes regiões no Brasil, com diferentes índices socioeconômicos, mostra que as maiores taxas de positividade para essas enfermidades estão nas regiões com menor Índice de Desenvolvimento Humano (IDH). Ainda nesse estudo os autores chamam atenção para o fato de que os maiores níveis de infestação por carrapatos, bem como os menores índices de uso de carrapaticidas estão nas regiões com menor IDH e com menor taxa escolaridade, podendo assim supor que esses fatores podem influenciar na capacidade/disposição do tutor para prevenir o contato de artrópodes transmissores de patógenos e seus cães (Figueredo et al., 2017).

Todos os carrapatos coletados nos estabelecimentos estavam em locais que ficavam a no mínimo um metro do chão e, dependendo da estrutura predial, podendo chegar até locais com quase três metros de altura. Isso se deve basicamente ao fato de que o *R. sanguineus* s.l. possui geotropismo negativo, ou seja, assim que se desprende do hospedeiro esse parasita tem a tendência de se mover para cima a procura de locais para se abrigar (Labruna & Pereira, 2001). Além disso, todos os estabelecimentos positivos para presença desse artrópode no dia da visita, relataram que realizam limpeza pesada com uso de água em toda a estrutura que recebe cães ao menos uma vez na semana, e é de conhecimento científico que essa espécie de carrapato tem preferência por ambientes fechados e com baixa umidade (Labruna & Pereira, 2001), podendo então esse fator ter contribuído para que fossem encontrados em locais cada vez mais altos.

No estabelecimento identificado como C007 foram encontradas todas as fases de vida pós-embriônica do *R. sanguineus* s.l. sendo coletados espécimes de machos, fêmeas, ninfas, larvas e também exsúvias. O achado confirma que essa espécie de

carrapato está perfeitamente adaptada às construções sendo capaz de realizar todo seu ciclo de vida nesses locais (Labruna et al., 2023).

Assim como os estabelecimentos veterinários, a pandemia causada pela Covid-19 também alterou o funcionamento dos parques na cidade de São Paulo, sendo que os mesmos permaneceram fechados por mais tempo, quando comparados aos estabelecimentos. A reabertura gradual dos parques na cidade de São Paulo se deu em abril de 2021 com início da fase de transição das medidas de distanciamento social, sendo esses locais abertos inicialmente apenas para práticas esportivas (SEMIL- SP, 2021). Dessa forma o início das coletas nessas áreas também teve de ser adiado até que a circulação de cães nesses locais estivesse reestabelecida, sendo as atividades iniciadas em fevereiro de 2022.

Como visto, o estabelecimento C016 foi positivo para coleta de *R. sanguineus* s.l. no dia da visita e foram recolhidos 15 espécimes de carrapatos todos na sala de internação. É possível afirmar que os mesmos animais que frequentam as dependências internas da área construída, também frequentam invariavelmente a área externa relatada mais acima, podendo permanecer por longos períodos no local, o que seria tempo suficiente para o desprendimento do parasita do corpo do hospedeiro. Porém, como visto também, a área externa P032 foi negativa para coleta de carrapatos no dia da visita com nenhum exemplar recolhido em nenhuma técnica de coleta (arraste e gelo seco) e nem a inspeção visual feita nos bancos e muros no local. Tal fato mostra mais uma vez que essa espécie de carrapato está perfeitamente adaptada as construções humanas e estabelece seu ciclo em locais fechados, secos e protegidos (Labruna & Pereira, 2001, Dantas-Torres et al., 2008; Parola et al., 2008; Gray et al., 2013).

A área P051 está localizada dentro de um condomínio de prédios residenciais e se caracteriza como uma área destinada somente aos pets que residem no local. Trata-se de um ambiente que possui uma parte de seu piso calçado com concreto, muros de alvenaria, e portão que cercam o local separando o mesmo das demais dependências do condomínio. O condomínio faz divisa com uma área de mata Atlântica preservada e o espaço pet está justamente situado nessa divisa, tendo inclusive abrangido uma faixa estreita da vegetação da mata em sua construção. Os cães do local têm acesso a esse pequeno fragmento de vegetação durante o momento em que frequentam a área pet e alguns tutores reclamam da presença de carrapatos em seus cães, avistados sempre após a visita ao local. No dia da coleta foram recolhidos carrapatos das espécies *A. dubitatum* e *A. aureolatum* todos com a técnica de arraste e todos em fase de ninfa. Este é um fato que desperta um sinal de alerta pois, *A. aureolatum* é reconhecidamente o vetor natural de *Rangelia vitalli* (Soares et al., 2018), um piroplasma que parasita leucócitos e o endotélio vascular, provocando da rangeliase canina, uma hemoparasitose que afeta cães domésticos e silvestres, caracterizada por um distúrbio hemolítico extracelular e imunomediado, que causa depressão, anorexia, anemia, esplenomegalia e diátese hemorrágica com sangramentos persistentes na superfície auricular (Fighera et al, 2010; Soares et al., 2011; Gottlieb et al., 2016).

O arraste de flanela e as armadilhas de gelo seco são técnicas amplamente empregadas em coletas de carrapatos apresentando altas taxas de sucesso, mesmo assim, nenhum espécime de *R. sanguineus* s.l. foi coletado nas áreas verdes amostradas na cidade de São Paulo.

Em contrapartida, com o auxílio das duas técnicas citadas, foram coletados carrapatos das espécies *A. dubitatum*, *A. sculptum* e *A. aureolatum* em seis áreas

verdes distribuídas em três regiões da capital paulista. O carrapato *A. dubitatum* está associado a áreas de Mata Atlântica no Brasil e tem a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) como principal hospedeiro para todas as suas fases de vida (Nava et al., 2010). Ainda de acordo com Nava e colaboradores (2010), este carrapato pode também ser encontrado, em menor número de vezes, parasitando outros mamíferos de grande porte como bovinos, equinos e antas; e que mamíferos de pequeno porte, como gambás e roedores, também podem atuar como hospedeiros alternativos para suas fases imaturas.

Já o carrapato *A. sculptum* possui como área original de distribuição o bioma cerrado, porém essa espécie tem alto potencial de adaptação a áreas degradadas de mata Atlântica e ambientes antropizados, aumentando assim sua distribuição no território nacional (Szabó et al., 2007; Szabó et al., 2009). É um parasita que possui baixa especificidade, e ainda que seja associado a capivaras, equinos e antas como seus hospedeiros primários; já foi relatado parasitando diversas espécies de animais, incluindo os cães domésticos (Martins et al., 2016).

A maioria das áreas em que essas duas espécies de carrapatos foram coletadas nesse estudo possuíam uma população de capivaras residente no local, o que justifica a presença desses artrópodes nessas áreas. Como já mencionado, essa espécie de mamífero é o principal hospedeiro desses tipos de carrapatos (Nava et al., 2010; Martins et al., 2016, Luz et al., 2019) e a sua presença é comumente associada a locais com alta infestação por esses parasitas (Pajuaba Neto et al., 2018). Os parques visitados suportam um habitat ideal para a presença de capivaras pois oferecem curso d'água, alimento e segurança uma vez que nesses locais não há predação ou caça sobre esses mamíferos. Em todas essas áreas foi relatado, tanto

pela administração quanto por frequentadores, a presença de carrapatos, e que não era raro cães e humanos serem infestados.

As exceções a essa dinâmica são as áreas P019 e P051. Na P019 foi coletado somente um exemplar de *A. sculptum*, porém o parque não possui uma população de capivaras residentes. Em contrapartida, foi relatado que moradores da região usam um espaço específico do parque para alimentação (Martins et al., 2016) de bovinos e equinos, e sabe-se que carrapatos dessa espécie também se utilizam desses mamíferos para alimentação, fato esse que justifica a presença desse parasita no local. É importante mencionar que funcionários e frequentadores do parque relatam que onde há a presença desses grandes mamíferos domésticos é comum encontrar carrapatos.

Na área P051 foram coletados, além de uma ninfa de *A. dubitatum*, ninfas de *A. aureolatum*, um carrapato que tem como hospedeiros primários canídeos silvestres e domésticos na fase adulta, e aves e roedores em suas fases imaturas (Pinter et al., 2004). O fragmento de mata Atlântica que faz divisa com a área amostrada, por ser uma reserva pequena, possui fauna condizente com o local, ou seja, apenas espécies que não necessitem de uma grande extensão de mata ao seu redor conseguem viver ali. Já foram avistadas aves, que são hospedeiros para as fases imaturas de *A. aureolatum* e gambás, que podem atuar como hospedeiros para as fases imaturas de *A. dubitatum*. Toda essa dinâmica pode ajudar a explicar a presença dessas espécies de carrapato na área P051, uma vez que os hospedeiros citados conseguem facilmente ultrapassar a divisa entre a reserva e a área pet amostrada, podendo assim carrear os parasitas para dentro do local.

Os resultados obtidos nas áreas verdes mostram mais uma vez a eficácia para coleta de carrapatos em fase de vida livre das técnicas de arraste de flanela e

armadilha de gelo seco quando estes estão presentes no ambiente, visto que foi possível coletar exemplares de três espécies diferentes desse parasita (*A. dubitatum*, *A. sculptum* e *A. aureolatum*). No entanto nenhum espécime de *R. sanguineus* s.l. foi recolhido em nenhuma das áreas verdes amostradas, mesmo que houvesse presença maciça de cães comprovada nesses locais, indicando assim que essa espécie de carrapato não pode ser encontrada em áreas verdes e desprotegidas.

Esse fato vai contra a crença popular difundida de que os cães se infestam com *R. sanguineus* s.l. frequentando áreas verdes. Uma rápida pesquisa na internet usando os termos “onde o cachorro pega carrapato?”, tem como resultado um número grande de sites que tem como resposta para a pergunta a seguinte afirmação: “após um passeio em parques e praças”. Muitos desses sites pertencem a instituições veterinárias, assim como muitos profissionais do ramo também são responsáveis por passar essa afirmação adiante.

Os resultados deste trabalho indicam que os cães domésticos estão sob risco de infestação por carrapatos em parques da cidade de São Paulo, porém não pela espécie *R. sanguineus* s.l., mas sim por espécies do gênero *Amblyomma*. Estas últimas foram encontradas em diferentes áreas verdes da cidade, podendo estar relacionadas à presença de outras espécies de mamífero (capivaras, equinos e bovinos)

O presente estudo encontrou uma taxa de infecção por *E. canis* nos carrapatos *R. sanguineus* s.l. coletados em estabelecimentos veterinários de 17,8%. No Brasil a erliquiose monocítica canina é relatada por vezes em altas taxas em quase todos os estados do país (Vieira et al. 2011, Costa et al. 2015, Spolidorio et al. 2013, Gonçalves et al. 2014, Tanikawa et al. 2013, Vieira et al. 2018) onde este carrapato é a única espécie vetora dessa bactéria (Moraes-Filho et al., 2015).

Oliveira e colaboradores (2019) relatam a escassez de estudos sobre taxas de infecção por *E. canis* em populações de *R. sanguineus* s.l., e que, de fato inquéritos sorológicos para avaliar a prevalência de cães soropositivos para esse agente são mais comuns. Os mesmos autores encontraram uma ocorrência de 32% de carrapatos *R. sanguineus* s.l., provenientes dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, positivos para presença de DNA de *E. canis*, uma taxa maior que a encontrada no nosso estudo.

Por outro lado, um trabalho realizado em populações de *R. sanguineus* s.l. vindos dos estados de Rondônia e São Paulo encontrou taxas de infecção por *E. canis* bem mais baixas, variando de 2,5 a 6% (Aguilar et al., 2007). Já uma pesquisa realizada na região Nordeste encontrou taxas de infecção por *E. canis* em *R. sanguineus* s.l. de 21,9%, sendo o valor mais aproximado ao do presente estudo (Souza et al., 2010).

Os resultados encontrados durante a análise dos dados das coleções acarológicas sobre a presença de *R. sanguineus* s.l. na cidade de São Paulo nos mostram que essa espécie de carrapato já foi registrada ao longo dos 12 meses do ano, porém, com variação no número de espécimes coletados e com um maior número de registros no primeiro semestre. O presente estudo registrou a presença de *R. sanguineus* s.l. somente nos meses de fevereiro, maio e julho, não tendo sido coletado nenhum exemplar em outros meses. Porém, é importante salientar que não foi possível realizar visitas em todos os meses do ano, fazendo com que janeiro, abril, agosto, outubro e dezembro não fossem amostrados.

Existe também um maior número de registros dessa espécie de carrapato nas coleções acarológicas nos meses mais quentes do ano, sendo o pico encontrado em novembro. Os números mais baixos de registros foram relatados nos meses mais frios

que mantiveram uma média de um registro por mês. Já no presente estudo a presença de *R. sanguineus* s.l. foi relatada em sua maioria nos meses mais frios, com quatro dos cinco estabelecimentos positivos para a presença do carrapato sendo amostrados no outono e no inverno.

Todas essas informações mostram que talvez os resultados do presente estudo estejam subdimensionados pois, como vimos, através dos dados compilados das coleções acarológicas pode-se perceber um maior número de exemplares de *R. sanguineus* s.l. sendo observado nos meses mais quentes, que correspondem a primavera e ao verão, enquanto que nos meses mais frios, que correspondem ao outono e ao inverno, esse número é bem menor. Infelizmente durante a condução da pesquisa, devido à dificuldade em conseguir estabelecimentos para realização do projeto, as visitas não seguiram um padrão de divisão por estação do ano, fazendo com que a esmagadora maioria dos locais fossem amostrados durante os meses mais frios, principalmente durante o inverno, fato que pode ter ocasionado numa menor taxa de positividade para presença de *R. sanguineus* s.l. no dia da visita.

Em condições de laboratório, Labruna e colaboradores (2017) avaliaram todos os estágios de desenvolvimento de *R. sanguineus* s.l. quando submetidos a diferentes temperaturas mimetizando as estações verão e inverno do sudeste brasileiro, chegando à conclusão de que durante o inverno os períodos ecdise, pré postura e incubação dos ovos desse carrapato são mais longos quando comparados com o verão. Além disso, foi constatado que no verão a taxa de eclosão dos ovos de *R. sanguineus* s.l. pode chegar a 68% enquanto que no inverno essa taxa é nula, porém a taxa de sobrevivência dos demais estágios de vida são semelhantes em ambas as estações (Labruna et al., 2017). Com base nisso é possível afirmar que durante o verão pode haver um número maior de carrapatos *R. sanguineus* s.l. no ambiente e

explicar as diferenças nos números e meses em que os carrapatos foram encontrados. Tudo isso nos leva a crer que talvez se tivéssemos conseguido realizar as coletas nos meses mais quentes do ano, a proporção de estabelecimentos positivos para presença de *R. sanguineus* s.l. no dia da visita seria maior.

Por fim, nenhum registro em nenhuma das coleções acarológicas faz menção a algum exemplar de *R. sanguineus* s.l. recolhido em áreas verdes, apenas em seu hospedeiro natural ou em ambiente construído, o que ajuda a comprovar os resultados do presente estudo que também não encontrou nenhum exemplar deste carrapato nas áreas verdes amostradas, apenas em dependências de estabelecimentos veterinários.

6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostram que 15,6% dos estabelecimentos veterinários foram positivos para presença de *R. sanguineus* s.l. nas instalações no dia da visita. Foram coletados espécimes em todas as suas fases de vida nesses ambientes, em cantos de paredes e de gaiolas de internação, próximos a saída de ar condicionado e também de canaletas para passagem de fiação elétrica.

Nas áreas verdes foram coletados espécimes apenas de carrapatos do gênero *Amblyomma* pertencentes às espécies *A. dubitatum*, *A. sculptum* e *A. aureolatum*, demonstrando que *R. sanguineus* s.l. não está presente nesses locais.

Dos carrapatos *R. sanguineus* s.l. coletados nos estabelecimentos veterinários, 17,8% estavam infectados com a bactéria *E. canis*. As amostras positivas foram oriundas das regiões da cidade em que foram encontrados esses carrapatos (Norte, Sul e Leste) mostrando que esta bactéria está distribuída pela cidade de São Paulo trazendo risco para os cães domésticos.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR DM, CAVALCANTE GT, PINTER A, GENNARI SM, CAMARGO LM, LABRUNA MB. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. 2007, **J. Med. Entomol.** 44, 126-132
- ARAGÃO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.** 1936; 31, 759–843.
- BARROS-BATTESTI, D.M., ARZUA, M., BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. **Vox/International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases/Butantan**, São Paulo. 2006; 223 p.
- BEATI, L., KEIRANS, J.E. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. **J. Parasitol.** 87, 2001, p. 32-48.
- BURLINI L, TEIXEIRA KR, SZABÓ MP, FAMADAS KM. Molecular dissimilarities of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in Brazil and its relation with samples throughout the world: is there a geographical pattern? **Exp Appl Acarol.** 50, 2010, p. 361–374.
- CASTRO MB, SZABÓ MPJ, AQUINO LPCT, DAGNONI AS, ALESSI AC, COSTA MT, NAKAGHI ACH, SANTI M de, CALCHI AC, ANDRÉ MR, MACHADO RZ. Immunophenotypical and pathological changes in dogs experimentally infected with *Ehrlichia canis*. **Braz J Vet Parasitol.** 31(2), 2022, p. e021621.
- COSTA AP, COSTA FB, LABRUNA MB, SILVEIRA I, MORAES-FILHO J, SOARES JF, et al. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in the state of Maranhão, northeastern Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet.** 24, 2015, p. 28-35.
- CRUZ-VAZQUEZ, C., GARCIA-VAZQUEZ, Z. Seasonal distribution of *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari Ixodidae) on dogs in an urban area of Morelos, Mexico. **Exp. Appl. Acarol.** 23, 1999, p. 277-280.
- DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites and Vectors.** 1:25. 2008.
- DANTAS-TORRES, F. Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Parasites and Vectors.** 3:26. 2010.

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

DANTAS-TORRES, F., CHOMEL, B.B., OTRANTO, D. Ticks and tick-borne diseases: a One Health perspective. **Trends Parasitol**. 28, 2012, p. 437-446.

DANTAS-TORRES F, LATROFA MS, ANNOSCIA G, GIANELLI A, PARISI A, OTRANTO D. Morphological and genetic diversity of *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato from the New and Old Worlds. **Parasit Vectors**. 2013; 6: 213.

DUMLER JS, BARBET AF, BEKKER CPJ, DASH GA, PALMER GH, RAY SC, RIKIHISA Y, RURANGIRWA FR. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and HGE agent as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, 2001; 51(6):2145-2165.

FIGUERA RA, SOUZA TM, KOMMERS GG, IRIGOYEN LF, BARROS CSL. Patogênese e achados clínicos, hematológicos e anatomopatológicos da infecção por *Rangelia vitallii* em cães (1985-2009). **Pesq. Vet. Bras**. 2010, 30(11), 974-987.

FIGUEREDO LA, SALES KGS, DEUSTER K, POLLMEIER M, OTRANO D, DANTAS-TORRES F. Exposure to vector-borne pathogens in privately owned dogs living in different socioeconomic settings in Brazil. **Veterinary Parasitology**. 2017, 243, 18-23.

GONÇALVES LR, FILGUEIRA KD, AHID SM, PEREIRA JS, VALE AM, MACHADO RZ, André MR. Study on coinfecting vector-borne pathogens in dogs and ticks in Rio Grande do Norte, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**. 2014 Jul-Sep;23(3), p. 407-12.

GOTTLIEB J, ANDRÉ MR, SOARES JF, GONÇALVES LR, OLIVEIRA MT, COSTA MM, LABRUNA MB, BORTOLINI CE, MACHADO RZ, VIEIRA MIB. *Rangelia vitallii*, Babesia spp. And Ehrlichia spp. In dogs in Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol**. 2016, 25(2), 172-178.

GRAY J, DANTAS-TORRES F, ESTRADA-PEÑA A, LEVIN M. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Ticks Tick Borne Dis**. 4(3), 2013, p. 171-80.

HARRUS, S., WANER, T., BARK, H. Canine monocytic ehrlichiosis update. **Compendium for Continuing Education for the Practicing Veterinarian**. 19, 1997, p. 431-444.

JACOBS, P.A., FOURIE, L.J., HORAK, I.G. A laboratory comparison of the life cycles of the dog ticks *Haemaphysalis leachi* and *Rhipicephalus sanguineus*.

Onderstepoort J. Vet. Res. 7, 2004, p. 15-28.

KOCH, CL. Systematische Übersicht über die Ordnung der Zecken. Arch.

Naturgesch. 10, 1844, p. 217-239.

KOMNENOU, A.A., MYLONAKIS, M.E., KOUTI, V., TENDOMA, L., LEONTIDES, L., SKOUNTZOU, E., DESSIRIS, A., KOUTINAS, A.F., Ofri, R., Ocular manifestations of natural canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): a retrospective study of 90 cases. **Veterinary Ophthalmology.** 10, 2007, p. 137-142.

LABRUNA, M.B; PEREIRA, M.C. Carrapatos em cães no Brasil. **Clínica Veterinária.** 2001; 6, p. 24-32.

LABRUNA, M.B., CAMARGO, L.M.A., TERRASSINI, F.A., FERREIRA, F., SCHUMAKER, T.T.S.; CAMARGO, E.P. Ticks (Acari: Ixodidae) from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Systematic and Applied Acarology.** 10, 2005, p. 17-32.

LABRUNA MB, GERARDI M, KRAWCZAK FS, MORAES-FILHO J. Comparative biology of the tropical and temperate species of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) under different laboratory conditions. **Ticks Tick Borne Dis.** Jan;8(1), 2017, p. 146-156.

LABRUNA MB, DORETTO JS, DE ARAÚJO NASCIMENTO OC, BARUFI FB, ROSA SC, OSOWSKI GV, DRAKE J, ARMSTRONG R. Efficacy of either orally administered fluralaner or topically administered imidacloprid/flumethrin for controlling *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* premises infestations. **Parasit Vectors.** 2023 Nov 14;16(1):414.

LATREILLE PA. Genera crustaceorum et insectorum secundum ordinem naturalem in familia disposita, iconibus exemplisque plurimis explicata. **Paris et Argentorati.** 1806; 1, 302.

LITTLE SE. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.** 2010; 40(6), p. 1121-1140.

LOULY, C.C.B., FONSECA, I.N., OLIVEIRA, V.F., LINHARES, G.F.C., MENEZES, L.B., BORGES, L.M.F. Seasonal dynamics of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs from a police unit in Goiânia, Goiás, Brazil. **Ciência Rural,** Santa Maria. 20027, 37, 464–469.

LUZ HR, COSTA FB, BENATTI HR, RAMOS VN, SERPA MCA, MARTINS TF, ACOSTA I, RAMIREZ DG, MUÑOZ-LEAL S, RAMIREZ-HERNANDEZ A, BINDER LC, CARVALHO MP, ROCHA V, DIAS TC, SIMEONI CL, BRITES NETO J, BRASIL

J, NIEVAS AM, MONTICELLI P, MORO ME, LOPES B, AGUIAR DM, PACHECO RC, SOUZA CE, PIOVEZAN U, JULIANO R, FERRAZ KM, SZABÓ MJP, LABRUNA MB. Epidemiology of capybaras associated Brazilian spotted fever. **PloS Neglected Tropical Diseases**. 2019. 13(9), e0007734.

MANGOLD, A.J., BARGUES, M.D., MAS-COMA, S. Mitochondrial 16S rRNA sequences and phylogenetic relationships of *Rhipicephalus* and other tick genera among *Metastricata* (Acari: Ixodidae). **Parasitol. Res.** 1998; 84, 478–484

MARTINS TF, BARBIERI ARM, COSTA FB, TERRASSINI FA, CAMARGO LMA, PETERKA CRL, PACHECO RC, DIAS RA, NUNES PH, MARCILI A, SCOFIELD A, CAMPOS AK, HORTA MC, GUILLOUX AGA, BENATTI HR, RAMIREZ DG, BARROS-BATTESTI DM, LABRUNA MB. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). **Parasites & Vectors**. 2016, 9, p.186

MORAES-FILHO J, MARCILI A, NIERI-BASTOS FA, Richtzenhain LJ, Labruna MB. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. **Acta Trop.** 2011; 117: 51–55.

MORAES-FILHO J, KRAWCZAK FS, COSTA FB, SOARES JF, LABRUNA MB. Comparative Evaluation of the Vector Competence of Four South American Populations of the *Rhipicephalus sanguineus* Group for the Bacterium *Ehrlichia canis*, the Agent of Canine Monocytic Ehrlichiosis. **PLoS One**. 2015 Sep 28;10(9):e0139386.

NAVA S, VENZAL JM, LABRUNA MB, MASTROPAOLO M, GONZÁLEZ EM, MANGOLD AJ, GUGLIELMONE AA. Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDN0041) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). 2010. **Exp. Appl. Acarol.** 51, 335-351.

NAVA S, BEATI L, LABRUNA MB, SZABÓ MP, VENZAL JM, GUGLIELMONE AA, et al. The taxonomic status of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806). **Vet Parasitol.** 2015; 208: 2–8.

NAVA S, BEATI L, VENZAL JM, LABRUNA MB, SZABÓ MPJ, PETNEY T, SARACHO-BOTTERO MN, TARRAGONA EL, DANTAS-TORRES F, SILVA MMS, MANGOLD AJ, GUGLIELMONE AA, ESTRADA-PEÑA A. *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806): Neotype designation, morphological re-description of all parasitic stages and molecular characterization. **Ticks Tick Borne Dis.** 2018 Sep;9(6):1573-1585.

NEUMANN, L. G. Description d'une nouvelle espece d'ixodine. **Bulletin du Museum National d'Histoire Naturelle.** 1908; 14, 352 - 355.

OLIVEIRA PR, BECHARA GH, DENARDI SE, SAITO KC, NUNES EC, SZABÓ MP, MATHIAS MI. Comparison of the external morphology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil and Argentina. **Vet Parasitol.** 2005; 129: 139–147.

OLIVEIRA BCM, FERRARI ED, VIOL MA, ANDRÉ MR, MACHADO RZ, AQUINO MCC, INÁCIO SV, GOMES JF, GUERRERO FD, BRESCIANI KDS. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) DNA in tissues from *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks in areas endemic for canine monocytic ehrlichiosis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, 2019; 56 (3), p. 828–831.

OTRANTO, D., DANTAS-TORRES, F., TARALLO, V.D., RAMOS, R.A., STANNECK, D., BANETH, G., de CAPRARIIS, D. Apparent tick paralysis by *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in dogs. **Vet. Parasitol.** 2012, 188, 325–329.

PARHAM PE, WALDOCK J, CHRISTOPHIDES GK, HEMMING D, AUGUSTO F, EVANS KJ, FEFFERMAN N, GAFF H, GUMEL A, LADEAU S, LENHART S, MICKENS RE, NAUMOVA EN, OSTFELD RS, READY PD, THOMAS MB, VELASCO-HERNANDEZ J, MICHAEL E. Climate, environmental and socio-economic change: weighing up the balance in vector-borne disease transmission. **Phil. Trans. R. Soc. B.** 2015, 370, 20130551.

PAROLA P, SOCOLOVSCHI C, JEANJEAN L, BITAM I, FOURNIER P-E, SOTTO A, LABAUGE P, RAOULT D. Warmer Weather Linked to Tick Attack and Emergence of Severe Rickettsioses. **PLoS Negl Trop Dis.** 2008; 2(11): e338.

PAZ, G.F., LABRUNA, M.B., LEITE, R.C., 2008. Drop-off rhythm of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) of artificially infested dogs. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 17, 139–144 (in Portuguese).

PINTER A, DIAS RA, GENNARI SM, LABRUNA MB. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology.** 2001, 41(3), 324-332.

R CORE TEAM. 2014. **R: A Language and Environment for Statistical Computing.** R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria. <<http://www.r-project.org/>>.

SANCHES GS, ÉVORA PM, MANGOLD AJ, JITTAPALAPONG S, RODRIGUEZ-MALLON A, GUZMÁN PE, BECHARA GH, CAMARGO-MATHIAS MI. Molecular, biological, and morphometric comparisons between different geographical populations of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae). **Vet Parasitol.** 2016 Jan 15;215:78-87.

SANGIONI LA, HORTA MC, GENNARI SM, SOARES RM, GALVÃO MAM, LABRUNA MB, et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerg Infect Dis**. 2005; 11: 265–270.

SEBRAE - **Pesquisa Sebrae** – O impacto da pandemia do coronavírus nos pequenos negócios – 13ª edição. 2023

SECOVI - Sindicato das Empresas do Setor Imobiliário de São Paulo, 2021.

SEMIL – **Secretaria de Meio Ambiente, Infraestrutura e Logística** – Governo do Estado de São Paulo, 2021.

SILVA LLS, LIMA AFR, POLLI DA, RAZIA PFS, PAVÃO LFA, CAVALCANTI MAFH, et al. Medidas de distanciamento social para o enfrentamento da COVID-19 no Brasil: caracterização e análise epidemiológica por estado. *Cad Saúde Pública*. 2020;36(9):e00185020.

SLAPETA, J., CHANDRA, S., HALLIDAY, B., 2021. The “tropical lineage” of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* identified as *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826). **Int. J. Parasitol**. 51, 431–436.

SLAPETA, J., HALLIDAY, B., CHANDRA, S., ALANAZI, A.D., ABDEL-SHAFY, S., 2022. *Rhipicephalus linnaei* (Audouin, 1826) recognised as the “tropical lineage” of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*: Neotype designation, redescription, and establishment of morphological and molecular reference. **Ticks Tick Borne Dis**. 13, 102024.

SOARES JF, GIROTTO A, BRANDÃO PE, DA SILVA AS, FRANÇA RT, LOPES STA, LABRUNA MB. Detection and molecular characterization of a canine piroplasm from Brazil. **Vet Parasitol**. 2011, 180 (3-4), 203-208.

SOARES JF, COSTA FB, GIROTTO-SOARES A, DA SILVA AS, FRANÇA RT, TANIWAKI SA, DALL’AGNOL B, RECK J, HAGIWARA MK, LABRUNA MB. Evaluation of the vector competence of six ixodid tick species for *Rangelia vitalii* (Apicomplexa: Piroplasmorida), the agent of canine rangelirosis. **Ticks Tick Borne Dis**. 2018, 9(5), 1221-1234.

SOUZA BM, LEAL DC, UZÊDA RS, DE ALCÂNTARA C, FERREIRA F, LABRUNA MB. Prevalence of ehrlichial infection among dogs and ticks in Northeastern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol**. 2010, 19, 89-93.

SPOLIDORIO MG, MINERVINO AH, VALADAS SY, SOARES HS, NEVES KA, LABRUNA MB, RIBEIRO MF, GENNARI SM. Serosurvey for tick-borne diseases in dogs from the Eastern Amazon, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet**. 2013;22(2):214-9.

SVMA - Secretaria do Verde e Meio Ambiente da cidade de São Paulo, 2021.

- SZABÓ MP, MANGOLD AJ, JOAO CF, BECHARA GH, GUGLIELMONE AA. Biological and DNA evidence of two dissimilar populations of the *Rhipicephalus sanguineus* tick group (Acari: Ixodidae) in South America. **Vet Parasitol.** 2005; 130: 131–140.
- SZABÓ, M.P., CASTRO, M.B., RAMOS, H.G., GARCIA, M.V., CASTAGNOLLI, K.C., PINTER, A., VERONEZ, V.A., MAGALHÃES, G.M., DUARTE, J.M., LABRUNA, M.B.,. Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: Ixodidae) in the natural habitat of wild Marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Southeastern Brazil. **Vet. Parasitol.** 2007;143, 147–154.
- SZABO, MPJ et al. Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. **Cienc. Rural.** 2008, vol.38, n.2, pp.543-545.
- SZABÓ MJP, LABRUNA MB, GARCIA MV, PINTER A, CASTAGNOLLI KC, PACHECO RC, CASTRO MB, VERONEZ VA, MAGALHÃES GM, VOGLIOTTI A, DUARTE JMB. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in South-eastern Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology.** 2009, 103(1), 57-72.
- SZABÓ MPJ, SOUZA LGA, OLEGÁRIO MMM, FERREIRA FA, PAJUABA NETO AA. Ticks (Acari: Ixodidae) on dogs from Uberlândia , Minas Gerais, Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases.** 2010, 57, 72-74.
- TANIKAWA A, LABRUNA MB, COSTA A, AGUIAR DM, JUSTINIANO SV, MENDES RS, et al. *Ehrlichia canis* in dogs in a semiarid region of Northeastern Brazil: serology, molecular detection and associated factors. **Res Vet Sci.** 2013; 94: 474–477.
- TERASSINI, F.A., BARBIERI, F.S., ALBUQUERQUE, S., SZABÓ, M.P., CAMARGO, L.M., LABRUNA, M.B., 2010. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest. **Ticks Tick Borne Dis.** 1, 194–196.
- VIEIRA RFC, BIONDO AW, GUIMARÃES AMS, SANTOS AP, SANTOS RP, DUTRA LH, et al. Ehrlichiosis in Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet.** 2011; 20: 1–12.
- VIEIRA FT, ACOSTA ICL, MARTINS TF, FILHO JM, KRAWCZAK FDS, BARBIERI ARM, EGERT L, FERNANDES DR, BRAGA FR, LABRUNA MB, DIETZE R. Tick-borne infections in dogs and horses in the state of Espírito Santo, Southeast Brazil. **Vet Parasitol.** 2018 Jan 15;249:43-48.
- VIEIRA FT, LABRUNA MB, BARBOSA ACMS, AGUIAR AR, ACOSTA ICL, MARTINS TF, DIETZE R, BRAGA FR. Occurrence of ticks in dogs in a hospital population in the state of Espírito Santo, Brazil. **Pesq. Vet. Bras.** 2018b, 38(3), 519-521.

WALKER, J.B., KEIRANS, J.E., HORAK, I.G. **The Genus Rhipicephalus(Acari: Ixodidae): A Guide to the Brown Ticks of the World.** Cambridge University Press, Cambridge, 2000, pp. 643.

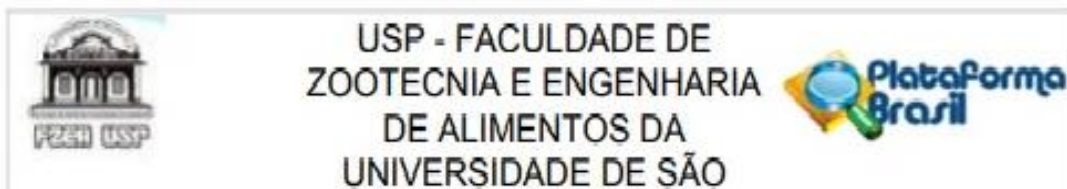
WANER, T., HARRUS, S., BARK, H., BOGIN, E., AVIDAR, Y., KEYSARY, A. Characterization of the subclinical phase of canine ehrlichiosis in experimentally infected beagle dogs. **Veterinary Parasitology.** 1997, 69, 307–317.

World Health Organization – WHO. **WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11** [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2020.

Zahler, M., Filippova, N.A., Morel, P.C., Gothe, R., Rinder, H. Relationships between species of the Rhipicephalus sanguineus group: a molecular approach. **J. Parasitol.** 1997; 83, 302–306

ANEXOS

ANEXO 1 – Parecer de Aprovação do Projeto pela Plataforma Brasil



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* na cidade de São Paulo

Pesquisador: MARIA CAROLINA DE AZEVEDO SERPA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 33814820.5.0000.5422

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Patrocinador Principal: CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO-CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.153.625

Apresentação do Projeto:

O projeto está vinculado a um doutoramento na FMVZ, Campus Butantã.

Trata-se de pesquisa sobre a dispersão do carrapato vinculado à bactéria *Ehrlichia canis*, que provoca a doença erliquiose em cães.

A participação de seres humanos se dará por meio de questionário direcionado a 240 proprietários de petshops.

Objetivo da Pesquisa:

A pesquisa tem diversos objetivos, sendo o relacionado à Ética humana a pesquisa de ocorrência de carrapatos em petshops (contaminação ambiental).

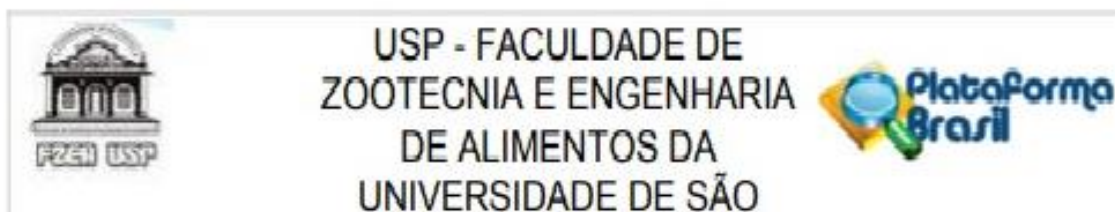
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos ao entrevistado: desconforto em relação ao tempo gasto com a entrevista, constrangimento nas respostas e risco de vazamento de dados dos questionários (apesar do TCLE dizer que será anônimo).

Não há benefícios diretos ao entrevistado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Aplicação de questionário simples (6 perguntas diretas ou múltipla escolha) à proprietários de petshop na região da capital paulista, sobre a presença de carrapatos no estabelecimento.



Continuação do Parecer: 4.153.625

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão redigidos de forma adequada. O TCLE apresentado contempla todos os requisitos exigidos nas resoluções do CNS, incluindo a frase "O pesquisador responsável se responsabilizará por quaisquer danos aos participantes."

Recomendações:

Aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há pendências ou inadequações em relação aos aspectos éticos que impeçam o desenvolvimento da pesquisa.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEPH-FZEA aprova o desenvolvimento da pesquisa a partir desta data.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

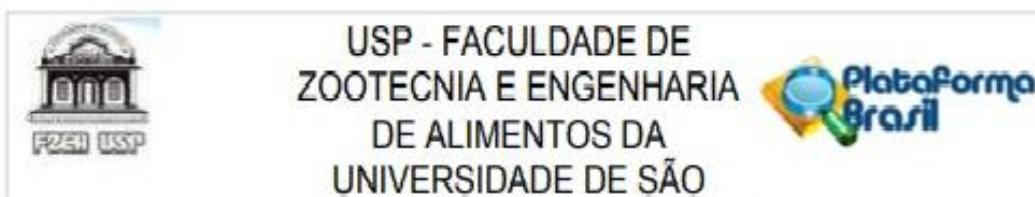
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1509020.pdf	18/06/2020 16:03:58		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	18/06/2020 15:53:42	MARIA CAROLINA DE AZEVEDO SERPA	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoassinada.pdf	18/06/2020 15:53:15	MARIA CAROLINA DE AZEVEDO	Aceito
Outros	Fichapptconvertido.docx	17/02/2020 11:57:34	MARIA CAROLINA DE AZEVEDO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDoutorado.pdf	17/02/2020 11:55:49	MARIA CAROLINA DE AZEVEDO SERPA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não



Continuação do Parecer: 4.153.625

PIRASSUNUNGA, 14 de Julho de 2020

Assinado por:
Judite das Graças Lapa Guimarães
(Coordenador(a))

ANEXO 2 – Questionário

Nome do Estabelecimento: _____

Tipo de Atividade:

- Pet Shop Clínica Veterinária
 Hospital (internação) Hotel
 Day care (creche)

Telefone de contato

Data da visita

Endereço: _____

Zona:

- Norte Sul Leste Oeste Centro

Quantos cães atende em média por mês? _____

Com que frequência observa carrapatos no estabelecimento?

- Nunca Uma vez por mês
 Raramente (uma vez a cada quatro meses) Uma vez por semana
 Uma vez a cada dois meses

Com que frequência observa carrapatos nos cães que vem à clínica?

- Nunca Uma vez por mês
 Raramente (uma vez a cada quatro meses) Uma vez por semana
 Uma vez a cada dois meses

Se encontra um carrapato (no local ou no cão) o que faz? Como descarta?

Presença de carrapato no dia da visita?

- Sim Não

Onde estava o carrapato?

- Batente da porta Canto da parede Caixa de transporte Outros
 Batente da janela Canto do teto Gaiolas de internação
 Rodapé Casinha de cachorro Gaiolas banho e tese
 Móveis Caminhas Veículo de transporte

ANEXO 3 – Termo de Responsabilidade Secretaria Municipal do Verde e Meio Ambiente



TERMO DE RESPONSABILIDADE PROCESSO 6027.2021/0012057-4

Eu, **María Carolina de Azevedo Serpa**, aluno (a) de Doutorado pelo Programa de Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses da **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, Portador (a) do RG nº **34.704.337-9**, CPF **323.971.958-44**, telefone (11) 980885334, e-mail: **carolina.serpa@usp.br**, proponente do projeto de pesquisa científica intitulado "**Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* na cidade de São Paulo**" a ser realizado nos **Parques municipais**, firmo o presente Termo de Responsabilidade mediante as seguintes cláusulas e condições:

- a. Realizar o estudo em tela de acordo com a documentação constante no processo **6027.2021/0012057-4**.
- b. Cumprir a legislação brasileira em vigor e tratados internacionais de proteção dos recursos naturais, toda a legislação relativa à pesquisa, expedições científicas, patentes e segredos de indústria, todos os termos do Decreto Federal nº2.519/98 que promulga a Convenção sobre Diversidade Biológica e ainda o disposto na Medida Provisória nº2.186-16/01.
- c. Comunicar-se com os técnicos da Coordenação de Gestão de Parques e Biodiversidade Municipal e Divisão de Gestão de Parques Urbanos integrantes da Comissão Técnica De Avaliação Científica, responsáveis pela custódia e acompanhamento do Processo Administrativo em questão.



- d. Apresentar o presente termo na administração do parque sempre que necessário acessá-lo;
- e. Apresentar e manter atualizada no caso de alterações, a relação contendo nome e RG dos integrantes da equipe que acessarão o parque;
- f. Respeitar o Regulamento de Uso do parque em questão e, para realização de atividades da pesquisa em período que o parque está fechado, informar à Comissão e à Administração do Parque com antecedência mínima de 15 dias;
- g. Estar ciente que membros da Comissão Técnica de Avaliação Científica poderão acompanhar o interessado durante o desenvolvimento das atividades;
- h. Entregar à Comissão Técnica De Avaliação Científica relatórios parciais e final em formato pdf, conforme cronograma.
- i. Submeter, durante a execução da pesquisa, à apreciação da Comissão, a publicidade de informações, dados e ou resultados em mídia;
- j. Concluir a pesquisa no prazo de **48 meses**, de acordo com cronograma apresentado, contados a partir de assinatura do presente, e qualquer alteração deverá ser comunicada à Comissão Técnica De Avaliação Científica;
- k. Citar no trabalho concluído a Prefeitura do Município de São Paulo, a Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente - SVMA, a Coordenação de Gestão de Parques e Biodiversidade Municipal - CGPABI e a Divisão da Fauna Silvestre responsável pelo acompanhamento da Pesquisa;
- l. Retirar do parque, ao final da pesquisa, todos os materiais utilizados no desenvolvimento do trabalho, reestabelecendo a situação original;
- m. Depositar amostras no Herbário Municipal, para pesquisas que envolvam coleta de material vegetal;



- n. O processo SEI referente à pesquisa será considerado concluído quando o relatório/trabalho final for entregue à Comissão Técnica de Avaliação Científica;
- o. O pesquisador e sua equipe declaram estar cientes de que poderão ser responsabilizados, civil, penal e administrativamente, por eventuais danos decorrentes da pesquisa;
- p. O não cumprimento das cláusulas acima ou conduta inadequada pelo pesquisador e/ou sua equipe implicará na imediata interrupção da pesquisa e suspensão da autorização para ingressar nas unidades da SVMA.

São Paulo, 09 de junho de 2022

Maria Carolina de Azevedo Serpa

RG nº 34.704.337-9

Ticiania Zwarg

RF: 784.766-1 - DFS/CGPABI/SVMA

CTAC – COMISSÃO TÉCNICA DE AVALIAÇÃO CIENTÍFICA

ANEXO 4 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Aluno: Maria Carolina de Azevedo Serpa

Orientador: Prf. Dr. Marcelo Bahia Labruna

O (a) Senhor (a) está sendo convidada a participar do projeto intitulado: **“Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo”**, cujo objetivo é avaliar possibilidades de dispersão passiva dessa espécie de carrapato na maior área urbana do Brasil, buscando uma maior compreensão sobre os mecanismos de entrada do carrapato nas residências humanas através da quantificação da contaminação ambiental por fases de vida livre de carrapatos em instalações de Pet shops, clínicas e hospitais veterinários na cidade de São Paulo.

O (a) senhor (a) receberá todos os esclarecimentos necessários antes e no decorrer da pesquisa e lhe asseguramos que as informações (nome e dados) do estabelecimento bem como seu nome não será divulgado em hipótese alguma, sendo mantido o mais rigoroso sigilo através da omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a) ou ao estabelecimento.

A sua participação será através do acompanhamento em vistoria pelo estabelecimento, bem como de um questionário que você deverá responder no decorrer da visita. Não existe obrigatoriamente, um tempo pré-determinado, para responder o questionário. Será respeitado o tempo de cada um para respondê-lo. Informamos que a Senhor (a) pode se recusar a responder qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo para a senhor (a).

Os resultados da pesquisa serão divulgados ao final do período do projeto que tem duração de 4 anos e 6 meses a contar a partir de outubro de 2019 e serão encaminhados a todos os estabelecimentos participantes na forma de um manual podendo ser publicado posteriormente. Os dados e materiais coletados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador. Se o Senhor (a) tiver qualquer dúvida

em relação a pesquisa entre em contato com a pesquisadora Msc. Maria Carolina de Azevedo Serpa através do email carolina.serpa@usp.br.

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo sob o parecer nº 7494141019. Por envolver coleta de dados de entrevistas com seres humanos (responsáveis pelos Pet shops, clínicas e Hospitais), também foi submetido à Plataforma Brasil sendo aprovado sob o parecer nº 4.153.625.

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO ESTABELECIMENTO E DO PROPRIETÁRIO OU RESPONSÁVEL

1. Nome do estabelecimento: _____
 2. Nome do responsável: _____
- Endereço: _____

- Bairro: _____ Cidade: _____
- Cep: _____ Telefone: DDD (____) _____

DADOS SOBRE A PESQUISA

3. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: "Avaliação de possibilidades de dispersão passiva do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato na cidade de São Paulo"

PESQUISADOR: Maria Carolina de Azevedo Serpa

CARGO/FUNÇÃO: Aluna de Doutorado

Nº USP: 10404274

4. DEPARTAMENTO: Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

5. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO RISCO MAIOR

6. DURAÇÃO DA PESQUISA : A pesquisa tem duração de 2 horas em média por visita

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.

Nome e Assinatura do Responsável pelo estabelecimento

Nome e Assinatura do Pesquisador responsável

São Paulo, _____, _____, 202__