



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

ANA MIKAELY PEIXÔTO
VANESSA DE CASTRO RODRIGUES

PESQUISA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM CARRAPATOS DA REGIÃO DO
DISTRITO FEDERAL

BRASÍLIA

2021



ANA MIKAELY PEIXÔTO
VANESSA DE CASTRO RODRIGUES

**PESQUISA DE TRIPANOSSOMATÍDEOS EM CARRAPATOS DA REGIÃO DO
DISTRITO FEDERAL**

Relatório final de pesquisa de Iniciação
Científica apresentado à Assessoria de
Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: George Magno Sousa do Rêgo.

BRASÍLIA

2021

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Universitário de Brasília (CEUB) e à Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) por nos oferecer a oportunidade de realizarmos esse projeto de iniciação científica.

À Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa do CEUB por todas as oficinas oferecidas durante o Programa de Iniciação Científica 2020-2021, pois elas nos auxiliaram muito durante a pesquisa.

À Faculdade de Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB) na pessoa da Prof.^a Dr.^a Giane Regina Paludo por disponibilizar todos os insumos e estrutura física do Laboratório de Microbiologia e Patologia Molecular para a realização de todos os ensaios moleculares necessários ao estudo.

Ao professor do curso de Medicina Veterinária do CEUB, George Magno Sousa do Rêgo que com muita alegria, paciência e maestria nos orientou e se dispôs a resolver toda intercorrência surgida durante o desenvolvimento do projeto.

RESUMO

Tripanossomatídeos são protozoários flagelados pertencentes à família Trypanosomatidae da qual se destacam os gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma* por apresentarem exemplares responsáveis pelo desenvolvimento de doenças tropicais negligenciadas de grande importância para a saúde pública. No Brasil, a Leishmaniose e a Doença de Chagas são causadas por protozoários dessa família, *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi*, respectivamente, sendo que ambas são transmitidas ao ser humano por insetos hematófagos. Embora a *Leishmania* spp. seja transmitida por flebotomíneos e o *Trypanosoma cruzi* por triatomíneos, os carrapatos vêm sendo estudados a fim de verificar o possível envolvimento desses artrópodes no ciclo de transmissão de agentes da família Trypanosomatidae, uma vez que também realizam repasto sanguíneo. Dessa forma, a presente pesquisa teve como objetivo geral verificar a ocorrência de protozoários da família Trypanosomatidae em carrapatos encontrados em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre do Distrito Federal (DF) e como objetivos específicos identificar as espécies dos carrapatos coletados e determinar através de métodos moleculares a existência de tripanossomatídeos nesses artrópodes. As amostras de carrapatos utilizadas no presente estudo foram coletadas a partir de capivaras de vida livre capturadas em áreas recreativas do DF em estudo sanitário prévio realizado entre os anos de 2017 e 2019. Os carrapatos foram removidos diretamente do tecido cutâneo das capivaras e submetidos à extração de DNA com a utilização de isotiocianato de guanidina e fenol clorofórmio. Para a detecção de agentes da família Trypanosomatidae, as amostras de DNA foram submetidas à cPCR utilizando os oligonucleotídeos D75 (5'- GCA GAT CTT GGT TGG CGT AG -3') e D76 (5'- CGT TCT CTG TTG CCC CTT TT -3'). Os produtos de amplificação de todas as reações de cPCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 2%, corados em brometo de etídio (Vetec Sigma-Aldrich®, St Louis, MO) e visualizados sob luz ultravioleta (UV transiluminator®, UVP LLC, Upland, CA). Foram amostrados 558 carrapatos provenientes de 57 capivaras, sendo que do número total de carrapatos coletados cerca de 69.3% foi identificado como *Amblyomma dubitatum*, 29% como *Amblyomma sculptum* e 1.6% como *Amblyomma* spp.. Das 229 amostras de DNA testadas para agentes da família Trypanosomatidae, 7 deram resultado positivo após a cPCR, sendo que 5 eram da espécie *A. sculptum* (3 fêmeas adultas e 2 machos adultos) e 2 eram da espécie *A. dubitatum* (1 ninfa e 1 macho adulto). Os resultados da presente pesquisa evidenciam a presença de agentes da família Trypanosomatidae em carrapatos das espécies *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* provenientes de capivaras de vida livre do DF, todavia o sequenciamento genético das amostras positivas ainda não foi realizado e não é possível dizer qual é a espécie em questão. Assim, fazem-se necessários novos estudos para elucidar a relação das espécies *A. dubitatum* e *A. sculptum* no ciclo de transmissão de agentes da família Trypanosomatidae.

Palavras-chave: *Trypanosoma*; *Leishmania*; vetores artrópodes; capivaras; saúde pública.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	7
3 METODOLOGIA	10
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	16
REFERÊNCIAS	17

1 INTRODUÇÃO

Tripanossomatídeos são protozoários flagelados pertencentes à família Trypanosomatidae que é composta por 19 gêneros de parasitas capazes de infectar vertebrados, invertebrados e plantas (CORREA et al., 2020). Todavia, de todos esses destacam-se os gêneros *Leishmania* e *Trypanosoma* por apresentarem protozoários causadores de doenças tropicais negligenciadas e que portanto, tem importância na saúde pública (MARTÍNEZ-CALVILLO; FLORENCIO-MARTÍNEZ; NEPOMUCENO-MEJÍA, 2019).

No Brasil, ressaltam-se duas doenças causadas por tripanossomatídeos que são a Leishmaniose e a Doença de Chagas, cujos agentes etiológicos são a *Leishmania* spp. e o *Trypanosoma cruzi* respectivamente (KAUFER et al., 2017). Em todo o mundo, são reportados anualmente 28 mil novos casos de Doença de Chagas e 12 mil mortes em sua decorrência (BONNEY et al., 2019) e entre 1,5 e 2 milhões de novos casos de Leishmaniose com 70 mil mortes anuais (MAXFIELD; CRANE, 2021).

Ambas doenças possuem caráter zoonótico e são transmitidas ao ser humano por insetos hematófagos que se infectam durante o repasto sanguíneo em animais reservatórios. Embora a *Leishmania* spp. seja transmitida por flebotomíneos e o *Trypanosoma cruzi* por triatomíneos (KAUFER et al., 2017), outros hematófagos, como os carrapatos, vêm sendo estudados a fim de verificar o possível envolvimento desses artrópodes no ciclo de transmissão de agentes da família Trypanosomatidae, uma vez que também realizam repasto sanguíneo (DANTAS-TORRES, 2011).

Os carrapatos são estudados como possíveis vetores de tripanossomatídeos desde a década de 80, quando McKenzie (1984) constatou a transmissão de *Leishmania infantum* pelo carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (DANTAS-TORRES, 2011). Ademais, novas espécies do gênero *Trypanosoma* foram descritas parasitando *Rhipicephalus microplus* (MAROTTA et al., 2018a) e *Amblyomma brasiliense*, no Rio de Janeiro, indicando a necessidade em continuar com estudos nessa linha de pesquisa (MAROTTA et al., 2018b).

Nesse sentido, o presente estudo teve como objetivo geral verificar a ocorrência de protozoários da família Trypanosomatidae em carrapatos encontrados em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de vida livre do Distrito Federal (DF) e como objetivos específicos identificar as espécies dos carrapatos coletados e determinar através de métodos moleculares a existência de tripanossomatídeos nesses artrópodes.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

As capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) são mamíferos herbívoros semiaquáticos pertencentes à ordem Rodentia que podem ser encontrados em países das Américas Central e do Sul, exceto no Chile e na região dos Andes (MOREIRA et al., 2013). Por serem animais semiaquáticos apresentam forte relação de dependência com a água, sendo que a instalação e a permanência de grupos de capivaras em determinada localidade está relacionada à presença de corpos de água (ALMEIDA et al., 2013).

Esses mamíferos frequentemente habitam áreas urbanas (NUNES et al., 2020) e no DF são encontrados de forma livre em parques e às margens do Lago Paranoá. Todavia, por serem hospedeiros primários de carrapatos contribuem diretamente para a manutenção desses artrópodes no ambiente o que pode favorecer a transmissão de doenças, além de facilitar infestações de carrapatos em humanos que frequentam locais recreativos nos quais existem capivaras (QUADROS et al., 2021).

As espécies de carrapatos comumente encontradas infestando capivaras são *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum*, sendo que o gênero *Amblyomma* é o de maior importância médica no Brasil por apresentar 32 espécies endêmicas distribuídas por todo o país (BRITES-NETO et al., 2018). Tanto *A. sculptum* quanto *A. dubitatum* pertencem à família *Ixodidae* e por isso apresentam características morfológicas marcantes tais como escudo dorsal em todos os estágios de desenvolvimento, tegumento liso com poros, capítulo visível dorsalmente, hipostômio denticulado, espinhos internos nas coxas, presença de festões e acentuado dimorfismo sexual (RIO GRANDE DO SUL, 2018).

Doenças transmitidas por carrapatos têm preocupado a saúde pública no Brasil e no mundo devido ao aumento de suas notificações em áreas endêmicas e ao surgimento de casos em áreas não endêmicas. Como esses artrópodes se alimentam do sangue de seus hospedeiros em todas as suas fases de desenvolvimento, torna-se fácil adquirir patógenos de animais infectados e ainda transmiti-los a hospedeiros sadios (TOSATO; NAH; WU, 2021). *Amblyomma sculptum* é, com frequência, reportado como vetor da febre maculosa brasileira (FMB) que é uma zoonose de notificação compulsória (BRITES-NETO et al., 2018), todavia estudos têm investigado a possibilidade de transmissão de outros patógenos por carrapatos, como, por exemplo, os tripanossomatídeos (MAROTTA et al., 2018a; MAROTTA et al., 2018b).

Tripanossomatídeos são protozoários que têm ganhado destaque devido aos patógenos *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp., dado que são os agentes etiológicos da

Doença de Chagas e da Leishmaniose, respectivamente (KAUFER et al., 2017). Os referidos protozoários possuem ciclo de vida heteroxeno e portanto necessitam de dois hospedeiros – um invertebrado hematófago e um vertebrado – para completar o seu ciclo evolutivo. Com o intuito de sobreviver nesses dois hospedeiros extremamente distintos, o *T. cruzi* e a *Leishmania* spp. passam por diversos estágios de diferenciação celular que é regulada pela expressão genética desses protozoários (MARTÍNEZ-CALVILLO; FLORENCIO-MARTÍNEZ; NEPOMUCENO-MEJÍA, 2019).

O *Trypanosoma cruzi* é endêmico em diversos países do ocidente, sendo transmitido por triatomíneos sob a forma tripomastigota metacíclica – estágio infeccioso desse protozoário – que após penetrar no organismo do hospedeiro vertebrado se multiplica e se diferencia podendo causar a Doença de Chagas (BONNEY et al., 2019). Essa doença foi descrita pela primeira vez em 1909 pelo pesquisador brasileiro Carlos Chagas, sendo atualmente considerada reemergente devido a notificação de casos autóctones em regiões antes consideradas livres dessa enfermidade. Ademais, animais domésticos – cães e gatos – e silvestres – roedores – também podem se infectar com o *T. cruzi* e por consequência participar do ciclo de transmissão desse parasita (GUARNER, 2019).

A *Leishmania* spp. também possui expressiva endemicidade, porém não só nos países do ocidente e sim por todo o mundo. É transmitida por flebotomíneos sob a forma promastigota que é o seu estágio infeccioso. Esse protozoário é responsável por causar as leishmanioses visceral, tegumentar e mucosa (ARONSON; MAGILL, 2020), sendo que em 2019 foram notificados 2.473 casos de leishmaniose visceral e 16.135 de leishmaniose tegumentar no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). No meio urbano, os cães são os principais reservatórios da *Leishmania* spp. servindo como fonte de infecção para os flebotomíneos, todavia alguns animais permanecem assintomáticos enquanto que outros desenvolvem graves sinais clínicos (DANTAS-TORRES et al., 2019). Já os gatos domésticos vêm sendo estudados a fim de verificar a possibilidade de também atuarem como reservatórios, no entanto atualmente são indicados como hospedeiros sentinelas de áreas endêmicas para a Leishmaniose (ASFARAM; FAKHAR; TESHNIZI, 2019).

Diversos métodos podem ser utilizados para diagnosticar agentes da família Trypanosomatidae, sendo a ferramenta molecular por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) um método com alta sensibilidade e especificidade. Os ensaios moleculares geralmente são utilizados por pesquisadores, pois conseguem diferenciar as

espécies de tripanossomatídeos e podem ser realizados em um período reduzido de tempo quando comparados a outros métodos (CÂNDIDO et al., 2021).

3 METODOLOGIA

As amostras de carrapatos utilizadas no presente estudo foram coletadas a partir de capivaras de vida livre capturadas em áreas recreativas do DF em estudo sanitário prévio realizado entre os anos de 2017 e 2019, tendo sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade de Brasília e registrado com o protocolo de nº 20/2019, sendo ainda registrado no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) com o número 43798-1.

A captura das capivaras foi realizada em cinco pontos, sendo três deles na Fundação Jardim Zoológico de Brasília – Ponto A: Latitude $15^{\circ} 50' 48''$ S, Longitude $047^{\circ} 56' 27''$ W; Ponto B: Latitude $15^{\circ} 51' 03''$ S, Longitude $047^{\circ} 56' 17''$ W; e Ponto C: Latitude $15^{\circ} 51' 00''$ S, Longitude $047^{\circ} 55' 57''$ W (Figura 1) –, um no Campo Experimental Fazenda Sucupira que pertencente à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – Latitude $15^{\circ} 55' 31''$ S, Longitude $048^{\circ} 02' 59''$ W (Figura 2) –, e o último às margens do Lago Paranoá próximo ao Palácio da Alvorada – Latitude $15^{\circ} 47' 30''$ S, Longitude $047^{\circ} 47' 49''$ W (Figura 3).



Figura 1 - Georreferenciamento dos pontos de captura na Fundação Jardim Zoológico de Brasília. Ponto A: Latitude $15^{\circ} 50' 48''$ S, Longitude $047^{\circ} 56' 27''$ W; Ponto B: Latitude $15^{\circ} 51' 03''$ S, Longitude $047^{\circ} 56' 17''$ W; e Ponto C: Latitude $15^{\circ} 51' 00''$ S, Longitude $047^{\circ} 55' 57''$ W. Disponível em: <<https://earthexplorer.usgs.gov/>>. Acesso em: 28 jan. 2020.



Figura 2 - Georreferenciamento do ponto de captura no Campo Experimental Fazenda Sucupira. Latitude $15^{\circ} 55' 31''$ S, Longitude $048^{\circ} 02' 59''$ W. Disponível em: <<https://earthexplorer.usgs.gov/>>. Acesso em: 28 jan. 2020.



Figura 3 - Georreferenciamento do ponto de captura às margens do Lago Paranoá. Latitude $15^{\circ} 47' 30''$ S, Longitude $047^{\circ} 47' 49''$ W. Disponível em: <<https://earthexplorer.usgs.gov/>>. Acesso em: 28 jan. 2020.

Os carrapatos foram removidos diretamente do tecido cutâneo das capivaras por um período cronometrado de cinco minutos por animal e logo em seguida armazenados em álcool isopropílico, para assepsia e conservação, até que a identificação das espécies e a extração de DNA fosse realizada. No estudo prévio, os artrópodes foram identificados por espécie, sexo e estágio de desenvolvimento – larvas, ninfas, machos adultos e fêmeas adultas. Já o DNA foi extraído através do protocolo proposto por SANGIONI et al., 2005 com a utilização de isotiocianato de guanidina e fenol clorofórmio e posteriormente armazenado a -20°C até a realização dos ensaios moleculares.

Para constatação da qualidade da extração do DNA dos artrópodes, todas as amostras de DNA extraídas foram submetidas à reação em cadeia da polimerase convencional (cPCR) para confirmação do gene mitocondrial 16S rRNA, específico para esses artrópodes, a partir da utilização dos oligonucleotídeos TK-F (5'- CTG CTC AAT GAT TTT TTA AAT TGC GG - 3') e TK-R (5'- ACG CTG TTA TCC CTA GAG -3'). Para cada amostra, uma mistura de 25 µL foi preparada contendo 1 µmol/µL de cada oligonucleotídeo (10pmol), tampão 1x da Taq polimerase (Invitrogen®), 1mM de MgCl₂, 0.2mM de dNTP (Invitrogen®), 1 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen®) e aproximadamente 2 ng do DNA extraído. Os ensaios de cPCR foram realizados da seguinte forma: 1 ciclo de desnaturação (8 min, 94°C); seguido por 10 ciclos de desnaturação (1 min, 92°C), anelamento (1 min, 48°C) e extensão (1 min 30s, 72°C). Após a finalização dessa primeira etapa, foram realizados 32 ciclos de desnaturação (1 min, 92°C), anelamento (1 min, 54°C), extensão (1 min 30s, 72°C) e um passo final de extensão (10 min, 72°C).

Para a detecção de agentes da família Trypanosomatidae, foram realizadas cPCR utilizando os oligonucleotídeos D75 (5'- GCA GAT CTT GGT TGG CGT AG -3') e D76 (5'- CGT TCT CTG TTG CCC CTT TT -3') empregando protocolo touchdown, no qual ocorre a queda gradual da temperatura de anelamento em cada ciclo (LEE et al., 2010). As reações de cPCR foram compostas por tampão 1x da Taq polimerase (Invitrogen®), 2mM de MgCl₂, oligonucleotídeos (10pmol), 0.25mM de dNTP (Invitrogen®), 1 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen®) e cerca de 5 ng de DNA do produto de extração da amostra para um volume final de 25 µL. Todas as amostras foram testadas em duplicatas e amostras sabidamente positivas para *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp. foram utilizadas como controles positivos das reações, bem como água Mili-Q® como controles negativos. Todas as reações

foram realizadas no termociclador BioradMyCycler™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).

Na etapa inicial, após prévio aquecimento da tampa por 2 minutos, as amostras foram incubadas a 94°C por 3 minutos para ocorrer a desnaturação inicial. Em seguida, as amostras passaram por quatro ciclos de 94°C por 1 minuto para a desnaturação da fita de DNA, 62°C por 1 minuto para anelamento dos oligonucleotídeos – diminuindo 2°C por ciclo – e 72°C por 1 minuto para extensão das fitas. Ao término desta etapa, foram realizados 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 52°C e 72°C por 1 minuto. Por último, foi realizada a extensão final a 72°C por 10 minutos.

Os produtos de amplificação de todas as reações de cPCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 2%, corados em brometo de etídio (Vetec Sigma-Aldrich®, St Louis, MO) e visualizados sob luz ultravioleta (UV transiluminator®, UVP LLC, Upland, CA).

Todos os ensaios moleculares foram realizados no Laboratório de Microbiologia e Patologia Molecular da Faculdade de Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amostrados 558 carrapatos provenientes de 57 capivaras capturadas nos cinco pontos descritos, sendo que do número total de carrapatos coletados cerca de 69.3% foi identificado como *Amblyomma dubitatum*, 29% como *Amblyomma sculptum* e 1.6% como *Amblyomma* spp., já que as chaves de identificação existentes atualmente para classificar taxonomicamente esses artrópodes somente permitem a classificação de seus estágios imaturos até o nível do gênero (MARTINS et al., 2010). Já com relação ao sexo e ao estágio de desenvolvimento, 265 dos carrapatos eram machos adultos, 204 eram ninfas, 80 eram fêmeas adultas e 9 eram larvas (Tabela 1).

Tabela 1 - Quantidade de carrapatos amostrados segundo espécie, sexo e estágio de desenvolvimento.

Sexo e Estágio de Desenvolvimento	Classificação Taxonômica		
	<i>Amblyomma dubitatum</i>	<i>Amblyomma sculptum</i>	<i>Amblyomma spp.</i>
Larvas	-	-	9
Ninfas	165	39	-
Fêmeas Adultas	46	34	-
Machos Adultos	176	89	-
TOTAL	387	162	9

Apenas *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* foram identificados dentre todos os carrapatos amostrados o que corrobora com os achados da literatura, já que essas são as únicas espécies descritas até o momento como parasitas de capivaras (CANÇADO et al., 2017).

Entre quatro e cinco carrapatos de cada capivara capturada foram utilizados para a extração de DNA perfazendo um total de 231 amostras. Essa conduta foi tomada visando amostrar um número semelhante de carrapatos de todos os animais amostrados. Todavia, após submissão à cPCR para confirmação do gene mitocondrial 16S rRNA duas amostras foram descartadas, pois não tiveram material genético amplificado o que indica que essas duas extrações não funcionaram. Por conseguinte, 229 amostras foram testadas para agentes da família Trypanosomatidae com 7 dessas resultando positivo após a cPCR.

Das sete amostras de DNA positivas, cinco eram de carrapatos da espécie *Amblyomma sculptum* e dois da espécie *Amblyomma dubitatum*, sendo que três eram fêmeas adultas, três eram machos adultos e uma era ninfa (Tabela 2).

Tabela 2 - Quantidade de amostras positivas – após teste para agentes da família Trypanosomatidae – conforme espécie, sexo e estágio de desenvolvimento.

Sexo e Estágio de Desenvolvimento	<i>Amblyomma sculptum</i>	<i>Amblyomma dubitatum</i>
Larvas	-	-
Ninfas	-	1
Fêmeas Adultas	3	-
Machos Adultos	2	1
TOTAL	5	2

A detecção de tripanossomatídeos em vários estágios de desenvolvimento dos carrapatos *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* sugere que esses artrópodes possam se infectar em qualquer fase de seu desenvolvimento podendo manter esses protozoários em seu organismo ao longo de toda a vida. Contudo, a transmissão transovariana desses patógenos deve ser investigada nessas espécies de aracnídeos dado a recente descoberta da possível transmissão transovariana de *Trypanosoma rhipicephalis* por *Rhipicephalus sanguineus* (KAULICH et al., 2019).

Os achados do presente estudo são elementares, porém de suma importância para a academia e para a saúde pública, visto que pela primeira vez é relatada a presença de agentes da família Trypanosomatidae em carrapatos do gênero *Amblyomma*. Como alguns exemplares dessa família de protozoários são responsáveis por causar doenças negligenciadas, endêmicas e reemergentes em diversos países do mundo incluindo o Brasil (MARTÍNEZ-CALVILLO; FLORENCIO-MARTÍNEZ; NEPOMUCENO-MEJÍA, 2019), faz-se necessário estudos que investiguem a presença desses patógenos em carrapatos, principalmente porque pesquisas recentes identificaram novas espécies de tripanossomatídeos em exemplares de carrapatos, indicando assim a existência de um amplo e desconhecido campo de pesquisa à disposição dos pesquisadores brasileiros (MAROTTA et al., 2018a; MAROTTA et al., 2018b).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados da presente pesquisa evidenciam a presença de agentes da família Trypanosomatidae em carrapatos das espécies *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum* provenientes de capivaras de vida livre do Distrito Federal, todavia o sequenciamento genético das amostras positivas ainda não foi realizado e não é possível dizer qual é a espécie em questão. No entanto, fazem-se necessários novos estudos para elucidar a relação das espécies *A. dubitatum* e *A. sculptum* no ciclo de transmissão de agentes da família Trypanosomatidae.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. M. R. et al. "Capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linnaeus, 1766) (Mammalia: Rodentia) em áreas verdes do município de Curitiba (PR)", *Estudos de Biologia*, v. 35, n. 54, p. 9-16, 2013. DOI: 10.7213/estud.biol.7845.
- ARONSON, N. E.; MAGILL, A. J. "Leishmaniasis", *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases*, ed. 10, p. 776-798, 2020. DOI: 10.1016/B978-0-323-55512-8.00104-6.
- ASFARAM, S.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H. "Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis", *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 2019. DOI: 10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0012.
- BRITES-NETO, J. et al. "Diferenciação morfológica entre larvas de *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 e *Amblyomma dubitatum* Neumann, 1899", *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 70, n.5, p. 1521-1528, 2018. DOI: 10.1590/1678-4162-9774.
- BONNEY, K. M. et al. "Pathology and Pathogenesis of Chagas Heart Disease", *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, v. 24, n. 14, p. 421-447, 2019. DOI:10.1146/annurev-pathol-020117-043711.
- CANÇADO, P. H. D. et al. "Current status of ticks and tick-host relationship in domestic and wild animals from Pantanal wetlands in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil", *Iheringia - Série Zoologia*, v. 107, 2017. DOI: 10.1590/1678-4766e2017110.
- CÂNDIDO, S. L. et al. "Molecular detection of trypanosomatids in neotropical primates in the state of Mato Grosso, Midwest, Brazil", *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 30, n. 2, 2021. DOI: 10.1590/S1984-29612021041.
- CORREA, J. P. et al. "Trypanosomatid Infections among Vertebrates of Chile: A Systematic Review", *Pathogens*, v. 9, n. 661, 2020. DOI: 10.3390/pathogens9080661.
- DANTAS-TORRES, F. et al. "Culling Dogs for Zoonotic Visceral Leishmaniasis Control: The Wind of Change", *Trends in Parasitology*, v. 35, n. 2, p. 97-101, 2019. DOI: 10.1016/j.pt.2018.11.005.
- DANTAS-TORRES, F. "Ticks as vectors of *Leishmania* parasites", *Trends in Parasitology*, v. 27, n. 4, 2011. DOI: 10.1016/j.pt.2010.12.006.
- GUARNER, J. "Chagas disease as example of a reemerging parasite", *Seminars in Diagnostic Pathology*, 2019. DOI: 10.1053/j.semdp.2019.04.008.
- KAULICH, Y. et al. "Transovarial transmission and finding of *Trypanosoma rhipicephalis* in the hemolymph of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*", *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 2019. DOI: 10.29374/2527-2179.bjvm106819.

KAUFER, A. et al. "The evolution of trypanosomatid taxonomy", *Parasites & Vectors*, v. 10, n. 287, 2017. DOI: 10.1186/s13071-017-2204-7.

LEE, YJ. et al. "Molecular detection of autosomal-dominant feline polycystic kidney disease by multiplex amplification refractory mutation system polymerase chain reaction", *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 22, n. 3, p. 424-428, 2010. DOI: 10.1177/104063871002200314.

MAROTTA, C. R. et al. "*Trypanosoma rhipicephalis* sp. nov. (Protozoa: Kinetoplastida) isolated from *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) ticks in Rio de Janeiro, Brazil", *Parasitology Open*, v. 4, 2018a. DOI: 10.1017/pao.2017.17.

MAROTTA, C. R. et al. "*Trypanosoma amblyommi* sp. nov. (Protozoa: Kinetoplastida) isolated from *Amblyomma brasiliense* (Acari: Ixodidae) ticks in Rio de Janeiro, Brazil", *Parasitology Open*, v. 4, 2018b. DOI: 10.1017/pao.2018.6.

MARTÍNEZ-CALVILLO, S.; FLORENCIO-MARTÍNEZ, L. E.; NEPOMUCENO-MEJÍA, T. "Nucleolar Structure and Function in Trypanosomatid Protozoa", *Cells*, v. 8, n. 421, 2019. DOI: 10.3390/cells8050421.

MARTINS, T. F. et al. "Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescriptions, and identification key, *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2010. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2010.03.002.

MAXFIELD, L.; CRANE, J. S. "Leishmaniasis", *StatPearls*, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531456/#article-24181.s4>>. Acesso em: 27 jul. 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Doenças e Agravos de Notificação - 2007 em diante (SINAN). 2020. Disponível em: <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203&id=29878153>>. Acesso em: 12 ago. 2021.

MOREIRA, J. R. et al. "Capybara: Biology, Use and Conservation of an Exceptional Neotropical Species", Springer, 2013. DOI: 10.1007/978-1-4614-4000-0.

NUNES, F. B. P. et al. "Reproductive control of capybaras through sterilization in areas at risk of transmission of Brazilian spotted fever", *Ciência Rural*, v. 50, n. 9, 2020. DOI: 10.1590/0103-8478cr2020053.

QUADROS, A. P. N. et al. "Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) exposure to *Rickettsia* in the Federal District of Brazil, a non-endemic area for Brazilian spotted fever", *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 30, n. 2, 2021. DOI: 10.1590/S1984-29612021035.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Saúde. Centro Estadual de Vigilância em Saúde. "Guia de Vigilância Acarológica: vetores e hospedeiros da febre maculosa e outras riquetsioses no Rio Grande do Sul", 2018. Disponível em:

<<https://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201909/24081723-2018-guia-carrapatos.pdf>>.
Acesso em: 9 ago. 2021.

TOSATO, M.; NAH, K.; WU, J. "Are host control strategies effective to eradicate tick-borne diseases (TBD)?", *Journal of Theoretical Biology*, v. 508, 2021. DOI: 10.1016/J.JTBI.2020.110483.