

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARTA CRISTINA DINIZ DE OLIVEIRA FREITAS

**DETECÇÃO DE RICKETTSIAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA EM
CÃES E EQUINOS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.**

Curitiba

2007

MARTA CRISTINA DINIZ DE OLIVEIRA FREITAS

**DETECÇÃO DE RICKETTSIAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA EM
CÃES E EQUINOS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.**

Tese apresentada no Curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, para obtenção de título de Mestre em Ciências Veterinárias junto à Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Marcelo Beltrão Molento

Curitiba

2007

TERMO DE APROVAÇÃO

Nome: MARTA CRISTINA DINIZ DE OLIVEIRA FREITAS

Título: DETECÇÃO DE RICKETTSIAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA EM CÃES E EQUINOS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.

Tese apresentada e aprovada no Curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias, Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, para obtenção de título de Mestre em Ciências Veterinárias junto à Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Professor Marcelo Beltrão Molento

Orientador e Presidente – Departamento de Medicina Veterinária, UFPR.

Professor Luis Antônio Sangioni

Primeiro Examinador – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UFSM.

Professor Alexander Welker Biondo

Co-orientador e Segundo Examinador – Departamento de Medicina Veterinária, UFPR.

Professora Rosângela Loccatelli Dittrich

Membro suplente – Departamento de Medicina Veterinária, UFPR.

Curitiba, 17 de dezembro de 2007.

DEDICATÓRIA

Ao imenso apoio que recebi dos meus pais, Luiz Augusto e Imaculada, durante toda a minha vida.

Aos meus filhos, Isabela e Alexandre, que são sempre a força que eu preciso pra continuar.

Aos meus irmãos, Marco e Guto, que com seu ombro amigo e palavras acolhedoras, me fizeram mais forte.

Aos meus sogros Gerda e Inácio, que são a minha família do coração hoje e sempre.

Ao Adri, que me ensinou tanto, mas principalmente a ter paciência nas horas de dificuldade, e a amar simplesmente.

Ando devagar por que já tive pressa e levo esse sorriso, porque já chorei demais.
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe, e só levo a certeza de que muito pouco eu sei.

Eu nada eu sei

Conhecer as manhas e as manhãs, o sabor das massas e das maçãs.

É preciso amor pra poder pulsar.

É preciso paz pra poder sorrir.

É preciso a chuva para florir.

Penso que cumprir a vida, seja simplesmente compreender a marcha, ir tocando em frente.

Como um velho boiadeiro levando a boiada.

Eu vou tocando os dias pela longa estrada, eu vou, estrada eu sou.

Todo mundo ama um dia, todo mundo chora.

Um dia a gente chega, o outro vai embora.

Cada um de nós, compõe a sua história.

Cada ser em si, carrega o dom de ser capaz.

E ser feliz ...

*Tocando em frente (Almir Sater)

AGRADECIMENTOS

- Ao professor Marcelo Beltrão Molento, pelo profissionalismo, compreensão e orientação na medida exata, o que tornou esta caminhada mais leve.
- Ao professor Alexander Welker Biondo, pelo projeto Carroceiros e co-orientação.
- Ao professor Marcelo Bahia Labruna, pela oportunidade e espaço cedido, que tornou possível a execução deste trabalho.
- À professora Rosângela Loccatelli Ditrich, pelo incentivo desde os primeiros contatos com a pós-graduação.
- À mestranda e amiga Nicolle Fridlund Plugge, pelo ombro e palavras de incentivo nas horas mais difíceis da minha vida.
- Ao CCZ de São José dos Pinhais, que nos acompanhou desde o início. Principalmente ao Dr. José Bonacin, em sua constante presteza e competência nas coletas a campo.
- À D. Maria Rosa Câmara, funcionária do laboratório de Doenças Parasitárias da UFPR, pelo carinho e paciência.
- À graduanda Marcelly Grycajuk, pelo auxílio técnico e prático.
- Aos meus irmãos Marco e Guto, que sempre estiveram ao meu lado.
- Aos amigos LuBill, Lizandra, Carlos, karime, Melissa, Marco, Poliana, Liu, Mirelle, Luciano, Larissa, Gil, Cleverson, Déia, Gisa, Gilson, Carla, Silvano, Maurício, Kaliu e outros tantos que estiveram comigo em presença ou em pensamento, me apoiando nos bons e nos maus momentos, sem vocês esta jornada seria muito mais difícil.
- Aos meus bichinhos, Fixu, Nina, Bianca, e tantos outros que souberam ouvir, e dar carinho e amor incondicional.

RESUMO

FREITAS, M. C. D. O. Detecção de rickettsias do grupo febre maculosa em cães e eqüinos de São José dos Pinhais, Paraná. Tese. Mestrado em Ciências Veterinárias. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose de caráter endêmico, com casos humanos registrados em grande parte do território nacional. Entretanto o Paraná teve o primeiro registro da doença em abril de 2005, no município de São José dos Pinhais, região metropolitana de Curitiba. Com o objetivo de iniciar estudos da epidemiologia da FMB na região supracitada, foram colhidas amostras de sangue de eqüinos de carroceiros da região, através de adesão voluntária dos proprietários, e também de eqüinos e cães provenientes de 4 áreas consideradas foco (um foco humano e três focos animais). As amostras de um total de 83 eqüinos e 16 caninos foram processadas pela técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), que é considerada padrão ouro para diagnóstico sorológico da FMB. Para as amostras dos eqüinos de carroceiros foram utilizados antígenos de *Rickettsia rickettsii*, e para as amostras dos animais dos focos, *R. rickettsii* e *R. parkeri*. Os resultados foram de soropositividade em 9,33% dos eqüinos de carroceiros. Dos eqüinos dos focos, houve positividade em 25% de soros para ambos os antígenos testados, e dos cães, 12,5% de soros positivos, todos apenas para *R. rickettsii*. Estes resultados representam necessidade de avaliação constante da FMB na região e devem ser complementados com pesquisa de positividade nos vetores do gênero *Amblyomma sp.* por meio de biologia molecular.

Palavras Chave: Febre Maculosa, epidemiologia, *Rickettsia*.

ABSTRACT

FREITAS, M. C. D. O. Detection of rickettsia of the spotted fever group in dogs and horses in São José dos Pinhais, Paraná. Tese. Master of Veterinary Science. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

Brazilian spotted fever (BSF) is an endemic zoonosis and human cases have been registered in almost all country. However, the first registered case in Paraná State was in April of 2005, in São José dos Pinhais, suburb area of Curitiba. In order to begin the studies about BSF epidemiology in this area, it was obtain serum samples of cart horses, by owners volunteer adhesion, and of horses and dogs in 4 focus (a human focus and three animal focus). Eighty three horses and sixteen dogs samples were proccessing by Indirect Immunofluorescence Assay (IFA), the gold standart test for serologic diagnostic of BSF. Cart horse samples were done using an antigen against *Rickettsia rickettsii*, and for the focus animals it was used *R. rickettsii* and *R. parkeri* antigens. It was determined soropositivity in 9,33% of cart horses. In focus horses 25% was positive to both antigens, and 12,5% of dogs were positive to *R. rickettsii*. The results demonstrate the necessity for constant evaluation of BSF in this area, and should be complemented whit positivity vectors of *Amblyomma sp.* gennus investigation by molecular biology.

Key Words: Spotted Fever. Epidemiology. *Rickettsia*.

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

TABELA 1 – RICKETTSIOSES PATOGÊNICAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA.....	20
TABELA 2 – DOSES PRECONIZADAS PARA TRATAMENTO DA INFECÇÃO POR FEBRE MACULOSA EM HUMANOS.....	33
TABELA 3 - TITULAÇÃO ENCONTRADA NOS EQUINOS DE CARROCEIROS REALIZADA UTILIZANDO-SE OS ANTÍGENOS <i>Rickettsia rickettsii</i> E <i>R. parkeri</i>	49
TABELA 4 - RESULTADOS DOS CANINOS E EQUINOS POSITIVOS POR ÁREA SELECIONADA COMO FOCO.....	63
FIGURA 1 - MAPA DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR, EVIDENCIANDO ÁREAS RURAL, URBANA E AEROPORTO (WWW.PMSJP.GOV.PR.BR).....	47
FIGURA 2 - MAPA DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, SUBDIVIDIDO EM ÁREAS URBANA E RURAL, INCLUINDO ÁREA DO AEROPORTO (WWW.PMSJP.GOV.PR.BR). DESTAQUE PARA A ÁREA DE OCORRÊNCIA DO PRIMEIRO CASO EM HUMANO.....	60
FIGURA 3 - ARMADILHA DE GELO SECO UTILIZADA PARA CAPTURA DE CARRAPATOS ADULTOS DE VIDA LIVRE.....	63
FIGURA 4 - MAPA DE MANANCIAS DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, EVIDENCIANDO OS 4 FOCOS SELECIONADOS.....	64
FIGURA 5 - RIFI POSITIVA EM AMOSTRA DE SORO CANINO.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	- Por cento
°C	- Graus Celsius
CO ₂	- dióxido de carbono
et al.	- entre outros
EUA	- Estados Unidos da América
G	- grama
M	- metro
MG	- Minas Gerais
PH	- potencial hidrogeniônico
PR	- Paraná
Rpm	- Rotações por minuto
SP	- São Paulo
≥	- maior ou igual
FMB	- Febre Maculosa Brasileira
RIFI	- Reação de Imunofluorescência Indireta
PCR	- Reação em Cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
CAPÍTULO 1 - FEBRE MACULOSA BRASILEIRA: EPIDEMIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA	15
RESUMO	16
ABSTRACT	17
1.1 INTRODUÇÃO.....	18
1.2 HISTÓRICO.....	18
1.3 ETIOLOGIA.....	19
1.4 EPIDEMIOLOGIA.....	21
1.4.1 Vetores.....	21
1.4.2 Hospedeiros.....	23
1.4.3 Ambiente.....	24
1.5 TRANSMISSÃO.....	25
1.6 FISIOPATOLOGIA.....	26
1.6.1 Potencial patogênico.....	26
1.6.2 Ciclo celular.....	26
1.6.3 Alterações celulares.....	27
1.6.4 Sinais clínicos.....	28
1.7 DIAGNÓSTICO.....	29
1.8 TRATAMENTO.....	32
1.9 PREVENÇÃO E CONTROLE.....	33
1.10 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO 2 - EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA EM EQUINOS DE CARROCEIROS NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PARANÁ	42
RESUMO	43
ABSTRACT	44

2.1	INTRODUÇÃO.....	45
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	46
2.2.1	Local de estudo.....	46
2.2.2	Coleta de amostras.....	48
2.2.3	Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).....	48
2.3	RESULTADOS.....	49
2.4	DISCUSSÃO.....	49
2.5	CONCLUSÃO.....	51
	REFERÊNCIAS.....	52
	CAPÍTULO 3 - DETERMINAÇÃO DE RIQUETSIAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA EM CÃES E EQUINOS EM 4 FOCOS NO MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PARANÁ.....	55
	RESUMO.....	56
	ABSTRACT.....	57
3.1	INTRODUÇÃO.....	58
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	59
3.2.1	Área de Estudo.....	59
3.2.2	Foco Humano.....	60
3.2.3	Foco dos cavalos de Carroceiros.....	61
3.2.4	Colheita de Amostras.....	62
3.2.5	Colheita de carrapatos.....	62
3.3	RESULTADOS.....	63
3.4	DISCUSSÃO.....	65
3.5	CONCLUSÃO.....	67
	REFERÊNCIAS.....	68
	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	71
	REFERÊNCIAS.....	73
	ANEXOS.....	73

INTRODUÇÃO GERAL

Este trabalho iniciou-se após a ocorrência do primeiro caso registrado em humano de Febre Maculosa Brasileira no Estado do Paraná. O caso índice ocorreu em abril de 2005 em São José dos Pinhais, região metropolitana de Curitiba.

Este fato evidenciou a necessidade de elucidação da epidemiologia da FMB no local e dar início ao conhecimento do perfil epidemiológico da doença no Paraná. Em dez de novembro de 2005, o jornal Gazeta do Povo/PR, publicou:

“O Paraná teve seu primeiro caso de febre maculosa registrado em agosto. A informação foi confirmada nesta quinta-feira (10) pela Secretaria Estadual da Saúde, segundo a Agência Estadual de Notícias. O paciente de 47 anos, mora em Curitiba, mas foi infectado em um Haras em São José dos Pinhais, região metropolitana. Ele recebeu tratamento a tempo de ser curado. A Secretaria informou ainda que está tomando medidas para controlar a doença.”

Dada a vulnerabilidade à ocorrência de novos casos de Febre Maculosa, objetivou-se determinar a presença do agente a partir do foco (propriedade rural) e perifoco, e ainda de outros três focos encontrados em estudo pregresso em cavalos de carroceiros de São José dos Pinhais. Para tanto foram feitos exames através da Reação de Imunofluorescência Indireta nas espécies eqüina e canina envolvidas.

Pesquisou-se anticorpos anti-riquetsiais do grupo febre maculosa no soro de caninos e eqüinos da região. O estudo subdividiu-se em duas partes. A primeira foi realizada em eqüinos de carroceiros que trabalham na coleta de material reciclável, através de um projeto da UFPR em parceria com a prefeitura de São José dos Pinhais e auxílio financeiro da Secretaria Municipal de Agricultura. Neste, os proprietários dos animais aderiram a pesquisa espontaneamente, levando-os ao Centro de Controle de Zoonoses do município e autorizando a inspeção corporal e coleta de sangue total para pesquisa. A segunda parte realizou-se a partir do caso índice, e ainda a partir de três eqüinos

soropositivos provenientes do estudo com cavalos de carroceiros, onde foi coletado o sangue de todos os eqüinos e caninos destas propriedades.

O trabalho está dividido em três capítulos, sendo o primeiro de revisão, evidenciando aspectos pertinentes ao proposto neste estudo, como epidemiologia e fisiopatologia. O segundo capítulo apresenta os resultados do estudo realizado no projeto carroceiros, que abrange eqüinos da região urbana que trabalham na coleta de material reciclável, e evidencia a possibilidade destes animais carrearem o vetor infectado por grandes áreas de trânsito. O terceiro capítulo abrange quatro focos, considerando fatores ambientais de cada área selecionada.

**CAPÍTULO 1 - FEBRE MACULOSA BRASILEIRA: EPIDEMIOLOGIA E
FISIOPATOLOGIA**

(Brazilian Spotted Fever: Epidemiology and Fisiopathology)

Autores

Marta Cristina Diniz de Oliveira Freitas

Marcelo Beltrão Molento

Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, UFPR. R. dos Funcionários, 1540, Curitiba, Paraná, Brasil. CEP: 80035-050. F: (55-41) 3350-5618. F/FAX: (55-41) 3350-5623. E-mail: vet.marta@gmail.com

Texto formatado para submissão na revista Archives of Veterinary Science

FEBRE MACULOSA BRASILEIRA: EPIDEMIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

(Brazilian Spotted Fever: Epidemiology and Fisiopathology)

FREITAS, M. C. D. O.¹; MOLENTO, M. B.²

1-Mestranda do curso de pós-graduação em Ciências Veterinárias, UFPR.

2-Laboratório de Doenças Parasitárias, UFPR.

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira é causada por bactérias do gênero *Rickettsia* e é uma zoonose de grande importância em saúde pública. Transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma sp.*, é uma riquetsiose de ocorrência reconhecida no país. Casos humanos têm sido descritos desde a década de 20, principalmente na região sudeste do Brasil. Sua ocorrência vem aumentando progressivamente nos últimos anos e já abrange grande parte do território nacional. Entretanto há pouca informação sobre a epidemiologia da doença em áreas não endêmicas, o que pode ser explicado por falhas no diagnóstico e subnotificação. Com letalidade de até 80% em casos não tratados, a doença é considerada um desafio do ponto de vista clínico, pois exige precocidade no diagnóstico e tratamento. Os aspectos epidemiológicos da FMB são característicos de acordo com a região e pouco se conhece sobre o comportamento da doença em regiões não endêmicas, onde pode surgir repentinamente, de acordo com mudanças climáticas, presença de vetores, reservatórios e hospedeiros. Os conhecimentos de fisiopatologia, apesar de sedimentados, devem ser considerados para o diagnóstico diferencial das doenças exantemáticas.

Palavras Chave: *Rickettsia rickettsii*. *Amblyomma sp.* Epidemiologia. Diagnóstico. Febre Maculosa Brasileira.

ABSTRACT

The Brazilian Spotted Fever (BSF) is caused by the bacteria *Rickettsia rickettsii* and it is very important zoonosis to public health. Transmitted by the tick *Amblyomma spp.* It is the only rickettsiosis recognized in the country. Human cases have been described since the 20's, mainly in the Southeast area of Brazil. The disease incidence is increasing in the last years and occurs in almost all national territory. But there is little information about its epidemiology in non-endemic areas, this fact may be explained due to the lack of specific diagnostic and subnotification. BSF is lethal in 80% of non-treated cases, and the disease is considered a clinical challenge because it must be diagnosed and treated to avoid any damage. The BSF epidemiological aspects are singular to the area and there is a little knowledge about the disease behavior in non-endemic areas, where it can appear suddenly, because of climatic changes, presence of vectors and hosts. The pathophysiology knowledge in spite of being sedimented, should be considered to differ from diagnostic of exanthematic diseases.

Key-words: *Rickettsia rickettsii*. *Amblyomma sp.* Epidemiology. Diagnostic. Brazilian Spotted Fever.

1.1 INTRODUÇÃO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é causada por bactérias do gênero *Rickettsia* e transmitida pelo carrapato do gênero *Amblyomma sp.* É uma enfermidade de caráter endêmico, febril e aguda e o primeiro relato no Brasil foi no ano de 1929 (RAOULT et al., 2005). Esta doença tem alta relevância em saúde pública sendo a riquetsiose de maior ocorrência e maior gravidade no país. Destaca-se ainda pela importância qualitativa, sendo que o índice de letalidade pode variar entre 25 e 80% em casos não tratados, tratados tardiamente ou ainda tratados com antibióticos não específicos (WALKER, 2002).

Rickettsia rickettsii tem sido descrita como agente da FMB em diversos Estados, porém os únicos que mantêm vigilância epidemiológica da doença são Minas Gerais e São Paulo (GALVÃO et al., 2005).

Apesar do aumento no número de casos registrados oficialmente, sabe-se da ocorrência preocupante de subnotificação de casos, onde o diagnóstico não é confirmado ou nem mesmo a FMB entra no diagnóstico diferencial das doenças exantemáticas (WALKER, 2002).

1.2 HISTÓRICO

A febre maculosa é uma doença infecciosa que foi relatada pela primeira vez em 1899 por Kenneth Marxy, na região montanhosa do noroeste dos Estados Unidos, descrevendo as manifestações clínicas da febre das Montanhas Rochosas, tendo sido definida como Doença Febril Endêmica (HARDEN, 1990). Howard Taylor Ricketts, em 1909, conseguiu com sucesso realizar a transmissão da doença em cobaias, denominando ser o carrapato o principal vetor, observando riquetsias a partir de tecidos dos mesmos. No ano de 1916 a bactéria foi nomeada de *Rickettsia* (WEISS & STRAUSS, 1991). Em 1930, o organismo já havia sido identificado no Brasil, e a doença ficou conhecida inicialmente como tifo

exantemático de São Paulo, quando José Toledo Piza diferenciou a febre maculosa das demais enfermidades exantemáticas (PIZA et al., 1930). A FMB teve seus primeiros relatos em São Paulo, de outubro de 1929 a setembro de 1933 onde 88 casos foram positivos (MONTEIRO, 1933). A partir de 1940, foram feitos grandes avanços no combate e controle de artrópodes vetores e utilização dos antibióticos, para o tratamento das riquetsioses. Os Estados de ocorrência conhecida em humanos são: Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo e Bahia (GALVÃO et al., 2005). Dados do Ministério da Saúde de 2005 relatam 345 novos casos da doença observados entre os anos de 1995 a 2004 em alguns municípios de São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e Santa Catarina, com letalidade de 42, 22, 37, 27 e 0%, respectivamente (GALVÃO et al., 2005; Ministério da Saúde, 2005). O primeiro relato da presença da bactéria no Paraná foi descrito em eqüinos de carroceiros, no ano de 2006, no município de São José dos Pinhais (FREITAS et al., 2006). Em regiões sabidamente endêmicas os resultados encontrados por Sangioni et al. (2003) e Horta et al. (2004), foram de 77,8% e 77,3% de positividade em eqüinos em SP, respectivamente.

1.3 ETIOLOGIA

O principal agente causador da Febre Maculosa Brasileira é a bactéria denominada *Rickettsia rickettsii*. Trata-se de uma bactéria intracelular obrigatória da Ordem Rickettsiales, Família Rickettsiaceae. A bactéria Gram negativa é encontrada em células intestinais, glândulas salivares e ovários de artrópodes, necessitando de células eucariontes de hospedeiros e ou vetores artrópodes para se multiplicarem por fissão binária simples (ACHA & SZYFRES, 2003; RAOULT et al., 2005). Morfologicamente elas se caracterizam como cocobacilos gram-negativos de 0,3µm de largura por 1,5µm de comprimento, possuem citocromo e suas reações metabólicas são aeróbias. O Gênero *Rickettsiae* é composto por dois grupos, o grupo tífico que contém três espécies; *R. prowazekii* agente do tifo

epidêmico, *R. typhi* agente do tifo murino e *R. canadensis*, cujos vetores são piolhos, pulgas e carrapatos; e o grupo da febre maculosa, cujo principal vetor é o carrapato (BURGDORFER, 1970; BEATI & RAOULT, 1998). O grupo da febre maculosa está constituído até o momento por 60 espécies, porém apenas 12 destas são consideradas patogênicas para seres humanos (Tabela 1).

Rickettsias consideradas de patogenicidade baixa ou desconhecida são: *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii*, *R. montanensis*, *R. peacockii*, *R. massiliae*, *R. sharonii* e *R. helongjiangi* (BEATI & RAOULT, 1998).

TABELA 1 – RIQUETSIOSES PATOGÊNICAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA.

Espécie	Doença
<i>Rickettsia rickettsi</i>	febre maculosa das montanhas rochosas
<i>R. conorii</i>	febre botonosa
<i>R. africae</i>	febre da picada do carrapato
<i>R. australis</i>	febre do carrapato de Queensland
<i>R. honei</i>	tifo da ilha Flinders
<i>R. sibirica</i>	tifo siberiano ou do norte da Ásia
<i>R. japonica</i>	febre maculosa oriental
<i>R. felis</i>	tifo das pulgas californianas
<i>R. mongolotimonae</i>	rickettsiose européia
<i>R. slovaca</i>	rickettsiose européia
<i>R. helvetica</i>	rickettsiose européia
<i>R. akari</i>	rickettsiose variceliforme ou vesicular

BEATI e RAOULT (1998); SANGIONI (2003)

1.4 EPIDEMIOLOGIA

1.4.1 VETORES

Os carrapatos são os vetores que albergam mais espécies de microorganismos que qualquer outro artrópode, incluindo o grupo dos mosquitos (HOOGSTRAAL, 1985). Os chamados “carrapatos duros”, da família Ixodidae atuam como vetores, reservatórios ou amplificadores de *rickettsias* do grupo febre maculosa (RAOULT et al., 2005). Nos Estados Unidos, o gênero *Dermacentor* é incriminado como principal vetor da febre maculosa das montanhas rochosas (LABRUNA, 2004; RAOULT et al., 2005).

No Brasil, o carrapato *Amblyomma cajennense*, vulgarmente conhecido como carrapato estrela, é considerado o principal vetor da FMB ao homem, sendo o cavalo, a capivara e a anta considerados hospedeiros primários de todos os seus estádios (TIRIBA, 1972; LABRUNA et al., 2002). Este carrapato caracteriza-se por ter uma baixa especificidade de hospedeiro, principalmente em seus estádios imaturos (ARAGÃO & FONSECA, 1961). É encontrado com abundância em todos os Estados da região Sudeste e Centro-Oeste, porém com distribuição limitada nas demais regiões (CAMARGO-NEVES et al., 2004).

Amblyomma cajennense pertence ao Filo Arthropoda; Classe Arachnida; Ordem Acarina; Família Ixodidae; Sub-família Amblyomminae; Gênero *Amblyomma* e Espécie *cajennense*. Segundo Koch apud Sloss, (1999), a denominação *Amblyomma* vem de “amblys”, encoberto e “omma”, olho; e *cajennense* vem de Caiena, local onde foi descrita a espécie. Trata-se de um carrapato heteroxeno de três hospedeiros, cujas larvas são hexápodes e as ninfas e adultos são octópodes. Possui rostró alongado e hipostômio composto de três fileiras de dentes, tem peritrema triangular com ângulos arredondados, órgão de Haller e festões marginais presentes (SLOSS, 1999). Os machos tem escudo escuro e ornamentado e não possuem placas adanais, e as fêmeas têm escudo triangular arredondado anteriormente (BARROS-BATTESTI, 2006).

O ciclo de vida do *A. cajennense* se inicia com a ovipostura da fêmea teleógina de aproximadamente 7 mil ovos, após um período de até 25 dias esta morre. Em torno de 95% de larvas viáveis eclodem dos ovos, então sobem e descem da vegetação conforme as variações ambientais até o encontro do primeiro hospedeiro, onde realizam repasto sanguíneo por 3 a 6 dias. Após este período desprendem-se do hospedeiro e no solo realizam sua ecdise para o estágio de ninfa, mantendo-se de 18 a 26 dias. Após isto irão novamente fixar-se em novo hospedeiro por mais 5 a 7 dias. Após novo repasto, se desprendem do hospedeiro, procurando abrigo no solo e então sofrem a segunda ecdise, diferenciando-se em machos e fêmeas, que dentro de 7 dias estarão prontos para parasitar novo hospedeiro. Uma vez no hospedeiro, os carrapatos adultos acasalam e após 10 dias a fêmea teleógina ingurgitada desprende-se e cai no solo dando início a uma nova geração (CAMARGO-NEVES et al., 2004).

Amblyomma sp. é responsável pela manutenção de *Rickettsia rickettsii* na natureza pois ocorre transmissão transovariana e transestadial (AZAD & BEARDT, 1998; CAMARGO-NEVES et al., 2004). Carrapatos machos podem transferir *R. rickettsii* para a fêmea através de fluidos corporais ou esperma durante a cópula (RAOULT et al., 2005). Esta característica biológica permite ao carrapato permanecer infectado durante toda sua vida (18 meses) e disseminar o organismo para novas gerações. No Brasil, em geral nos meses de abril a junho (predomínio de larvas) e de julho a novembro (predomínio de ninfas), o homem é infestado de maneira maciça por larvas e ninfas dos carrapatos e é quando há maior ocorrência de casos (GALVÃO, 1988; SPICKETT et al., 1991; GALVÃO et al., 2003;). No Brasil, entre os meses de novembro a março existe o predomínio de adultos de *A. cajennense* (LABRUNA, 2002), e estes por terem uma picada dolorosa são facilmente percebidos e retirados. Este fato caracteriza a sazonalidade da doença no Brasil, com maior ocorrência em humanos no segundo semestre do ano (LEMONS, 1996; LABRUNA, 2002; SANGIONI, 2003).

Dois outras espécies de *Amblyomma* têm grande relevância na transmissão da FMB, são eles; *A. cooperi*, cujo hospedeiro primário é a capivara, e *A. aureolatum*, cujo hospedeiro primário é o cão (RODRIGUES et al., 2002).

A espécie *A. cooperi* está em toda extensão da América do Sul, e no Brasil é relatado nas regiões Sudeste, Sul e Centro-oeste. Sua importância na epidemiologia da FMB é controversa, porém baseia-se principalmente na participação no ciclo enzoótico de riquetsias na natureza e no co-parasitismo com *A. cajennense*, considerando que a capivara é um potencial reservatório de *R. rickettsii* (SOUZA et al., 2004). Embora seja raro seu parasitismo em humanos, em alguns focos de FMB na região sudeste *A. cooperi* tem sido encontrado abundantemente junto à *A. cajennense* (SOUZA et al., 2004; CAMARGO-NEVES et al., 2004; NASCIMENTO & SCHUMAKER, 2004).

Amblyomma aureolatum é encontrado no Brasil em áreas de mata atlântica das regiões Sul e Sudeste (CAMARGO-NEVES et al., 2004). Em algumas regiões do país, como o Município de Mogi das Cruzes (SP), o *A. aureolatum* é considerado o principal vetor de FMB e ao cão é conferido o papel de amplificador da população de carrapatos desta espécie (EVANS et al., 2000; PINTER, 2003).

1.4.2 HOSPEDEIROS

Diversos animais auxiliam na manutenção do ciclo da doença, participando como hospedeiros primários ou acidentais. Aves domésticas e selvagens, mamíferos, roedores selvagens e até animais de sangue frio como ofídios podem albergar algumas das riquetsias (NASCIMENTO & SCHUMAKER, 2004). Segundo Souza e Labruna (2006), para que um vertebrado seja considerado bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, este deve preencher alguns requisitos como: ser susceptível à infecção; manter a bactéria circulante em níveis plasmáticos suficientes para infectar vetores; ter alta taxa de renovação populacional; ser abundante na área endêmica e ser bom hospedeiro do carrapato vetor em condições naturais. Admite-se que roedores tenham grande importância no ciclo silvestre de riquetsias e que as capivaras sejam o elo entre os ciclos enzoótico e zoonótico da doença, preenchendo grande parte dos requisitos supracitados (NASCIMENTO & SCHUMAKER, 2004). A presença da capivara tem

sido associada a FMB, e como sua presença em vários locais rurais e urbanos é alta, este roedor tem grande importância na epidemiologia da doença. Travassos e Valejo (1942) demonstraram através de infecção experimental que capivaras não apresentam sinais clínicos da doença, atuando como um hospedeiro mantenedor, além de seu papel como amplificador da população de carrapatos (SOUZA et al., 2004; LABRUNA, 2005).

Eqüinos e cães são considerados animais sentinela para FMB (LEMOS, 1996), atuando também como amplificadores da população de carrapatos, estes animais vivem no peri-domicílio humano, tendo grande importância na epidemiologia da doença (TIRIBA, 1972). Em uma área endêmica de São Paulo, Horta e colaboradores (2004) encontraram 77,3% de soropositividade em cavalos, e 31,3% em cães. Freitas e colaboradores (2006) encontraram 6,52% de soropositividade em cavalos de carroceiros em São José dos Pinhais, PR. Os dois estudos utilizaram a técnica de imunofluorescência Indireta

1.4.3 AMBIENTE

Há dois aspectos a serem considerados na epidemiologia da FMB em relação ao vetor: (1) presença de hospedeiros primários, (2) condições ambientais favoráveis às fases de vida livre do carrapato. Existem áreas que mesmo com a presença do hospedeiro primário, o vetor pode não se estabelecer por não haver condições de microclima adequadas. Neste aspecto a latitude, temperatura e tipo de cobertura vegetal influenciam no estabelecimento do vetor (EVANS, 2000). O processo de urbanização de áreas antes consideradas rurais aproxima o homem ao contato com animais selvagens portadores da bactéria, aumentando o risco de contaminação. Entretanto, casos autóctones em grandes centros urbanos têm sido descritos, considerando a presença de animais silvestres em parques públicos (RAOULT et al., 2005; SOUZA et. al, 2004).

A escassa literatura pertinente a FMB refere-se a regiões endêmicas, onde ocorrem casos fatais. Porém, para o conhecimento do complexo ciclo

epidemiológico da doença no Brasil, faz-se necessário maiores estudos em áreas não endêmicas com potencial biótico para o estabelecimento do vetor. Estes conhecimentos gerados teriam grande importância para o subsídio do diagnóstico precoce, considerando que a magnitude dos casos deva ser maior que a encontrada a partir de registros de casos clínicos (GALVÃO, 1988; WALKER, 2002).

1.5 TRANSMISSÃO

Na América Latina, *R. rickettsii* já foi isolada de carrapatos do gênero *Amblyomma* (*A. aureolatum* e *A. cajennense*), *Haemaphysalis leparispalustris* e *Rhipicephalus sanguineus*. *Rickettsia parkeri*, que também tem sido associada a casos humanos de febre maculosa, foi isolada de *A. triste* (LABRUNA, 2004 b). Esta bactéria ainda não foi identificada em pulgas do gênero *Ctenocephalides* (RAOULT et al., 2005).

A transmissão da FMB ocorre através da salivação do carrapato infectado no momento do repasto sanguíneo. Isto ocorre em um período de 4 a 6 horas após se fixar no hospedeiro, quando o artrópode regurgita o conteúdo com a bactéria, que penetra no hospedeiro através do sítio de fixação. Outra maneira é através da contaminação na pele do hospedeiro pelo esmagamento do carrapato, que pode ocorrer, caso o vetor seja retirado erroneamente (HARDEN, 1990; CAMARGO-NEVES et al., 2004). O microorganismo é então carregado pela via linfática ou por pequenos vasos para a circulação, invadindo as células alvo (BERNABEU-WITTEL & SEGURA-PORTA, 2005).

O risco de infecção para humanos é baixo tendo em vista que apenas uma parcela da população se expõe ao contato com carrapatos. No mundo, a taxa de infecção em carrapatos é de somente 1 a 3%, inclusive em áreas consideradas endêmicas, o que pode ser justificado devido ao efeito letal que *R. rickettsii* tem sobre o vetor artrópode, além de ocorrer competição entre as espécies de rickettsia pelo do vetor, limitando sua manutenção (RAOULT et al., 2005). É

possível que os estádios adultos de *Amblyomma sp.* tenham maior chance de serem encontrados infectados devido ao maior número de repastos sanguíneos ocorridos ao longo de suas vidas (ESTRADA et al., 2006).

1.6 FISIOPATOLOGIA

1.6.1 POTENCIAL PATOGÊNICO

O potencial patogênico das *rickettsias* está relacionado às alterações de proteínas externas de membrana, promovido por mutações gênicas (WELLER et al., 1998). Algumas destas proteínas são comuns tanto a riquetsias patogênicas quanto a não patogênicas, o que dificulta sua diferenciação pelos aspectos morfológicos e bioquímicos (BURGDORFER, 1970; HOOGSTRAAL, 1985). Fosfolipases e proteases têm sido associadas ao mecanismo de injúria à membrana celular (GREENE & BREITSCHWERDT, 2006).

1.6.2 CICLO CELULAR

O ciclo celular de riquetsias se dá pela aderência inicial na célula endotelial aos receptores do colesterol. *Rickettsias* induzem sua própria fagocitose ao penetrarem nas células endoteliais, e uma vez dentro do citoplasma, escapam do fagossoma pela ação da fosfolipase na membrana fagossomal, e quando livres no citoplasma replicam-se por fissão binária simples (WALKER et al., 2003). O modo de saída da célula hospedeira depende da espécie. *Rickettsia prowazekii* promove lise da célula, enquanto *R. rickettsii* é capaz de converter F-actina em actina e utilizá-la para promover sua propulsão por filopodia ou exocitose. Ao saírem da célula, estas bactérias seguem infectando células vizinhas (WALKER et al., 2003; MURRAY, 2004). Este processo produz focos de vasculite multissistêmica

podendo ocasionar, pneumonia intersticial, miopericardite, exantemas cutâneos, meningite linfocítica, bem como afecções hepáticas, renais e gastrintestinais. Um grande dano proveniente de vasculite é a liberação de pirogênios e enzimas produtoras de quinina, que induzem à febre e ao aumento da permeabilidade capilar (WALKER et al., 2003). Este aumento leva ao extravasamento de líquido rico em proteína ao interstício, gerando queda de albumina intracapilar e aumento de pressão oncótica, ocasionando seqüestro do líquido exsudado. Este processo culmina com hipovolemia e hipoalbuminemia e conseqüente insuficiência pré-renal secundária devido à diminuição da filtração glomerular, aumento da aldosterona e retenção de sódio e água (CHEVILLE, 1993; WALKER et al., 2003; GREENE & BREITSCHWERDT, 2006).

1.6.3 ALTERAÇÕES CELULARES

Rickettsia rickettsii tem como principal alvo o endotélio vascular, portanto as lesões cutâneas derivam de sua proliferação no endotélio de pequenos vasos seguido de formação de trombos, hemorragias, infiltração perivascular e necroses focais. Na pele, miocárdio e tecido cerebral formam-se nódulos tíficos (VERONESI & FOCACCIA, 1996). Distúrbios hemostáticos como trombocitopenia e aumento do tempo de coagulação estão relacionados com efeitos citopáticos celulares e atividades de endotoxinas desta *rickettsia* (DAVIDSON et al., 1990).

A solução de continuidade devido à destruição das células endoteliais promove exposição do colágeno, que é determinante para a agregação de plaquetas. As plaquetas ao aderirem no endotélio modificam-se na sua forma, passando de discos lisos a esferas com espículas, expondo o fator plaquetário 3, desencadeando assim a via intrínseca de coagulação. Estas plaquetas alteradas irão se agregar a novas plaquetas circulantes, evoluindo para um agregado irreversível e formando um tampão hemostático plaquetário. O grande consumo de plaquetas leva a trombocitopenia. O tampão hemostático plaquetário firme se dá pela adesão de fibrina proveniente da ativação do sistema de coagulação,

através da liberação de serotonina e ADP (Adenosina Difosfato), que ativará a protrombina em trombina, bem como a polimerização de fibrinogênio em fibrina (BERNABEU-WITTEL & SEGURA-PORTA, 2005). Simultaneamente pode ocorrer a ativação do sistema fibrinolítico para que ocorra a remoção gradual de fibrina. Após o período de riquetsemia os microorganismos são disseminados para outros tecidos pela via circulatória ou linfática. Caso a deposição de redes de fibrina se sobreponha a fibrinólise, haverá deposição multisistêmica desta na micro e macrovasculatura. Este processo tem evolução mórbida culminando com a coagulação intravascular disseminada (CID) em casos graves (BERNABEU-WITTEL & SEGURA-PORTA, 2005; GREENE & BREITSCHWERDT, 2006).

1.6.4 SINAIS CLÍNICOS

Além de atuar como vetor, os carrapatos podem exercer diversos efeitos deletérios no organismo do hospedeiro. Uma infestação maciça pode ocasionar anemia, anorexia e prostração, além de maior predisposição a outras doenças devido a toxinas imunossupressoras presentes na saliva do carrapato. Ainda a que se considerar possível ocorrência de infecções secundárias por bactérias ou miíases no sítio de fixação. Em casos graves pode ocorrer um quadro de paralisia ascendente devido à toxina neurotrópica (LABRUNA, 2004 (a)).

No cão, os sinais clínicos são febre, anorexia, letargia, deficiência vestibular com nistagmo e incoordenação motora. As seqüelas pós-riquetsemia podem incluir lesões neurológicas e visuais e amputação de extremidades, entre outras consideradas menos frequentes (BREITSCHWERDT, 1999). A hipercolesterolemia é um dos achados mais presentes. Em exames radiográficos de cães é comum o aparecimento de pneumonia intersticial (GREENE & BREITSCHWERDT, 2006).

Em equinos, apesar de comumente apresentarem altos títulos de anticorpos anti-*R. rickettsii* (≥ 1024) não há descrição de sinais clínicos nesta espécie (LE MOS, 1996).

O período médio de incubação da FMB em humanos é de 7 dias (2 a 14 dias). A doença induz hipoalbuminemia, trombocitopenia e distúrbio vascular. Em humanos, os sinais clínicos da forma grave da doença caracterizam-se por ter início brusco, com febre alta, cefaléia, mialgia intensa, congestão das conjuntivas, podendo ocorrer exantema máculo-papular principalmente nas regiões plantar e palmar, por vezes evoluindo para petéquias, hemorragias e necrose devido a vasculite generalizada. Necrose de extremidades, perda de função renal, distúrbios reprodutivos e neurológicos e até óbito no caso do não tratamento precoce podem ocorrer (MELLES, 1992). A morbidade do processo em geral depende de diversos fatores ligados diretamente com a espécie acometida, a espécie de riquetsia envolvida, a precocidade de diagnóstico e o tratamento (WALKER, 2002). O estado imune do hospedeiro também é determinante para sua recuperação, sendo que a defesa do hospedeiro está ligada à imunidade humoral e celular mediada. Distúrbios neurológicos, reprodutivos, articulares e renais decorrentes de trombose e hipóxia celular nos diferentes órgãos e tecidos podem resultar em perda de função dos mesmos (VERONESI & FOCACCIA, 1996).

1.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da FMB em humanos é considerado um desafio, já que a sintomatologia é inespecífica (GALVÃO et al., 2005). Inicialmente confronta-se sinais clínicos com achados laboratoriais e o histórico do paciente, além do histórico de parasitismo por carrapatos. O paciente pode apresentar febre alta e letargia em um período de até 24h. No exame laboratorial de sangue encontra-se trombocitopenia, leucocitose, hipoalbuminemia, aumento da fosfatase alcalina e aumento do tempo de coagulação. A confirmação laboratorial pode ser através de isolamento do agente em amostras de sangue ou biópsia de pele e através de pesquisa de anticorpos específicos no soro do paciente. Em 1921, Weil e Felix descobriram a ocorrência de uma reação de aglutinação de soros de pacientes

com tifo epidêmico com cepas de *Proteus sp.*, desde então até o ano de 1987, este era o teste utilizado para detecção riquetsial em humanos (CALIC, 2004). Atualmente o diagnóstico laboratorial de eleição segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) se dá através da sorologia pela técnica da reação da imunofluorescência indireta (RIFI) com amostras pareadas, e deve ser considerado confirmatório um aumento no título em uma segunda amostra a ser realizada após intervalo de quinze dias (GALVÃO et al., 2005).

A RIFI consiste na reação de soro da espécie a ser testada (humano, eqüino, canino) com células VERO infectadas por *Rickettsia sp.*, fixadas em lâminas de microscopia para fluorescência. A reação entre o antígeno fixado e o anticorpo presente nas amostras é visualizada após a adição de anti-imunoglobulina específica de cada espécie, conjugada com isotiocianato de fluoresceína. A detecção de IgM é uma forte evidência de riquetsiose ativa. Algumas espécies de *rickettsias* compartilham antígenos de superfície, o que pode ocorrer em reações cruzadas entre os biogrupos tifo e febres exantemáticas, diminuindo assim a especificidade do teste. Os anticorpos IgG, detectados cerca de uma semana após o início da infecção, são específicos dentro do biogrupo e podem permanecer por até quatro anos (CALIC, 2004). Somente é considerado positivo o título maior ou igual a 1:64 (NEWHOUSE et al., 1979). A RIFI apresenta uma especificidade de 100% e sensibilidade de 94 a 100%, porém não permite a identificação da espécie do agente dentro do grupo e pode apresentar títulos baixos ou até falsos negativos por influência de antibioticoterapia (CALIC, 2004; DEL GUERCIO et al., 1997). Utilizando-se sorologia, o diagnóstico se confirma através de investigação epidemiológica tais como a área geográfica, características ambientais, época do ano e presença de vetores e de hospedeiros (CALIC, 2004). Para determinação da real prevalência das riquetsioses sugere-se o teste de Western Blotting, que é mais sensível e específico que a RIFI, e capaz de excluir falsos positivos (LA SCOLLA & RAOULT, 1997).

O teste de hemolinfa, imunofluorescência direta, ELISA e reação em cadeia da polimerase são utilizados para detecção do agente em carrapatos e visam detectar a taxa de infecção da bactéria no vetor. O teste da hemolinfa está

associado ao corante de Gimenez, composto por fucsina básica, que é retida na membrana celular de *rickettsias*, sendo utilizado em grande escala como método de triagem, pois é fácil e de baixo custo. Entretanto, esta técnica tem uma baixa especificidade e pode resultar em falso-positivos por ser capaz de corar qualquer espécie de *rickettsia*, e falso-negativos por apresentar resultados negativos em carrapatos positivos na PCR (BURGDORFER, 1970; SANGIONI, 2003; ESTRADA et al., 2006). Os carrapatos considerados positivos na hemolinfa devem passar por teste confirmatório (SANGIONI, 2003). O teste considerado de maior sensibilidade e especificidade para detecção de DNA riquetsial em carrapatos é a PCR, que permite caracterizar espécies de *rickettsias* em triturados brutos de carrapatos e determinar a taxa de infecção do vetor.

As técnicas de biologia molecular têm assumido grande importância na detecção de várias espécies de *rickettsias* em vetores e hospedeiros (GALVÃO et al., 2006). Na PCR, o DNA extraído é amplificado utilizando iniciadores que podem obter seqüência do gene de algumas proteínas como citrato sintase (glTA), ou o gene que expressa a proteína interna de membrana (17KDa- Omp). Os segmentos são digeridos por uma enzima de restrição, onde são obtidos mapas de fragmentos espécie-específicos (GALVÃO et al., 2005). Através de seqüenciamento, é possível saber qual a espécie de *rickettsia* presente no DNA obtido. Observa-se melhores resultados quando realizado em carrapatos de vida livre devido ao melhor isolamento do DNA do agente (BURKET et al., 1998).

Magnarelli e colaboradores (1981) demonstraram através de imunofluorescência direta que o número de carrapatos infectados em áreas endêmicas não variou quando comparado ao de áreas não endêmicas, portanto deve-se considerar que a presença de carrapatos infectados por si só não é fator indicador de atividade riquetsial focal. Labruna e colaboradores (2005) detectaram taxa de infecção riquetsial em adultos de *Amblyomma sp.* de 1,28% através da PCR, valor considerado alto se comparado a estudos semelhantes realizados nos EUA. Este mesmo estudo relatou a primeira identificação molecular de *R. rickettsii* em *A. cajennense*, a seqüência de DNA do agente demonstrou ser idêntica a *R. rickettsii* isoladas e seqüenciadas em pesquisas anteriores.

1.8 TRATAMENTO

O tratamento da FMB é realizado com antibioticoterapia específica e seu sucesso está diretamente ligado à precocidade. Em casos de suspeita de FMB, deve-se prescrever antibióticos de forma empírica, mesmo antes da confirmação diagnóstica (RAOULT et al., 2005). Os fármacos de eleição são os da família das tetraciclina, sendo que não é recomendada para mulheres gestantes e crianças menores de 9 anos. As drogas lipo-solúveis como doxiciclina têm se mostrado mais efetivas, demonstrando ter menos reações adversas no tratamento em humanos e são considerados de eleição para todos os pacientes suspeitos ou confirmados. Cloranfenicol também pode ser usado nos casos de hipersensibilidade a tetraciclina, porém seu uso é limitado devido a efeitos colaterais como a aplasia medular (RAOULT et al., 2005; GREENE & BREITSCHWERDT, 2006). Antibióticos como Beta-lactâmicos, aminoglicosídeos, macrolídeos e sulfonamidas não têm se mostrado eficazes e seu uso está associado a casos fatais de FMB (WALKER, 2002; RAOULT et al., 2005).

Estudos em pacientes caninos demonstram que doxiciclina e trovafloxacina são mais eficazes em relação a azitromicina (BREITSCHWERDT, 1999). Fluoroquinolonas como enrofloxacin também são efetivas, porém devido às injúrias causadas às cartilagens devem ser evitadas em cães jovens (GREENE & BREITSCHWERDT, 2006). Breitschwerdt e colaboradores (1997) concluíram que o uso da prednisona em doses imunossupressivas associada a doxiciclina, não potencializa a severidade da infecção, porém observaram a diminuição nos títulos de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em cães inoculados experimentalmente. Deve-se considerar que o tratamento de suporte como a fluidoterapia é tão importante quanto o tratamento específico, visando minimizar a ocorrência de hipoperfusão em órgãos e tecidos e consequentes danos renais, respiratórios e neurológicos (GREENE & BREITSCHWERDT, 2006).

TABELA 2 – DOSES PRECONIZADAS PARA TRATAMENTO DA INFECÇÃO POR FEBRE MACULOSA EM HUMANOS.

Fármaco	Dose (mg/kg)	Via de administração ¹	Intervalo ² (horas)
Tetraciclina	22-30	Oral, IV	8
Cloranfenicol	15-30	Oral, IV, SC, IM	8
Doxiciclina	10-20	Oral, IV	12
Enrofloxacina	3	Oral, SC	12

1. IV: Intravenoso, SC: Subcutâneo e IM: Intramuscular. 2. Intervalo de horas entre tratamento (GREENE, 2006).

1.9 PREVENÇÃO E CONTROLE

A medida preventiva mais eficaz para FMB é o controle da população de carrapatos a níveis mínimos (CAMARGO-NEVES et al., 2004). O combate ao vetor se dá através do tratamento ectoparasitário dos animais, manter a grama baixa em locais de uso público, evitar co-existência entre espécies animais. O objetivo destas medidas é inibir a proliferação exacerbada de vetores contaminados, responsáveis pela transmissão do agente. A presença do vetor em um ambiente propício deve ser evidenciada através da colheita e identificação do mesmo. A colheita de estádios imaturos de vida livre se dá através da técnica do arrasto de flanela, com melhores resultados nos horários de 11:00 a 12:00h (SPICKETT et al., 1991), e a coleta de adultos de vida livre apresenta melhores resultados com armadilhas de CO₂, onde se mimetiza a respiração do hospedeiro, atraindo os carrapatos. Estas armadilhas podem atrair e capturar carrapatos num raio de até 10 metros (KOCH & McNEW, 1982).

Vale salientar que as áreas sabidamente endêmicas para FMB devem contar com a colaboração da população, que deve ser orientada através atividades educativas. Em áreas de risco, como parques públicos, onde já se evidenciou a presença do vetor e ocorrência da doença, deve ser incentivada a vistoria do

corpo a cada 2 a 3 horas, uso de roupas claras que facilitem a visualização do vetor, uso de botas e orientação sobre a forma correta da remoção do carrapato. Nestas áreas deve-se lançar mão de avisos e placas em locais estratégicos. O treinamento dos profissionais de saúde para o diagnóstico e tratamento precoce é um ponto relevante no controle e prevenção da doença, visando minimizar sua ocorrência. As pessoas que habitam locais de risco devem procurar as unidades básicas de saúde no caso de apresentarem febre ou terem sido picadas por carrapatos (CAMARGO-NEVES et al., 2004).

No caso de áreas de transmissão não reconhecida é recomendado trabalho de orientação por parte das Secretarias Municipais de Saúde em grupos específicos de risco, como Médicos Veterinários, carroceiros, produtores rurais, tratadores de animais e pescadores. Além das medidas preventivas citadas acima, vale ressaltar que quanto maior a população de carrapatos, maior o risco de se contrair a doença (CAMARGO-NEVES et al., 2004).

1.10 CONCLUSÃO

A FMB é uma zoonose importante com grande impacto para a saúde pública devido a alta mortalidade em casos não tratados. A dificuldade de diagnóstico no ser humano, pela similaridade de sintomatologia com outras doenças exantemáticas e hemorrágicas, necessita de maiores investigações e especificidade no diagnóstico e preparo das autoridades competentes na detecção da doença.

A complexa cadeia epidemiológica da FMB juntamente ao pouco conhecimento de sua ocorrência em áreas limítrofes a áreas endêmicas bem como em áreas não endêmicas, demonstra que há muito a ser investigado sobre a situação desta enfermidade. Cada região apresenta particularidades como a presença de hospedeiros, espécie de carrapato predominante, características ambientais, clima e risco de contato dos vetores com os seres humanos. O controle do carrapato vetor no ambiente e nos animais é a maneira mais eficaz de

prevenção do contato da bactéria ao homem. Associa-se ocorrência de casos de FMB a presença de roedores silvestres como a capivara, fato este que deve ser considerado no conhecimento do perfil epidemiológico de cada região.

A que se considerar que houve grandes avanços no conhecimento da FMB nos últimos anos, e que as perspectivas da elucidação do comportamento da doença em regiões limítrofes a áreas endêmicas são positivas.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Chlamidioses & Rickettsioses in: ZONOSSES and communicable diseases common to man and animals. Ed. PAHO, v.2, p. 3-51, 2003.
- ANDERSON, B. E.; MCDONALD, G. A.; JONES, D. C.; REGNER, R. L. A protective protein antigen of *Rickettsia rickettsii* has tandemly repeated, near identical sequences. **Infection & Immunology**, n. 58, p. 2760-2769, 1990.
- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. VIII lista e chave para os representantes para a fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 59, p. 115-129, 1961.
- AZAD, A. F.; BEARDT, C. B. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. **Emergent Infectious Disease**, v. 4, p. 179-186, 1998.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. In: CARRAPATOS de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Ed. Vox, p. 117-119, 2006.
- BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean Spotted Fever and other Spotted Fever Group Rickettsiae. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D. I. H. **Zoonoses**. Oxford: University Press, p. 217-240, 1998.
- BERNABEU-WITTEL, M.; SEGURA-PORTA, F. Enfermedades producidas por *rickettsias*. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Sevilla, v. 23, n. 03, p. 163-172, 2005.
- BREITSCHWERDT, E. B.; DAVIDSON, M. G.; HEGARTY, B. C.; PAPICH, M. G.; GRINDEM, C. B. Prednisolone at anti-inflammatory or immunosuppressive dosages in conjunction with doxycycline does not potentiate the severity of *Rickettsia rickettsii* infection in dogs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 41, n. 1, p. 141-147, 1997.
- BREITSCHWERDT, E. B.; PAPICH, M. G.; HEGARTY, B. C.; GILGER, B.; HANCOCK, S. I.; DAVIDSON, M. G. Efficacy of Doxycycline, azithromycin, or trovafloxacin for treatment of experimental rocky mountain spotted fever in dogs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 43, n. 4, p. 813-821, 1999.
- BURKET, C. T.; VANN, C. N. ; PINGER, R. R.; CHATOT, C. L.; STEINER, F. E. Minimum infection rate of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) by *Ehrlichia chaffeensis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) in Southern Indiana. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, p. 653-659, 1998.
- BURGDORFER, W. The Hemolymph test. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, n. 19, p. 1010-1014, 1970.

CALIC, S. B. Sorologia das Riquetsioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 13, p. 185-187, 2004.

CAMARGO-NEVES, V. L. F.; VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABRUNA, M. B.; MAYO, R. C.; SOUZA, S. S. L. **Manual de vigilância acarológica**. São Paulo: Secretaria Estadual de Saúde do Estado de São Paulo, Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), São Paulo, p. 35-37, 2004.

CHEVILLE, N. F. **Introdução à patologia veterinária**. São Paulo, Ed. Manole, 1993.

DAVIDSON, M. G.; BREITSCHWERDT, E. B.; WALKER, D. H.; LEVY, M. G.; CARLSON, C. S.; HARDIE, E. M.; GRINDEN, C. A.; NASISSE, M. P. Vascular permeability and coagulation during *Rickettsia rickettsii* infection in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 51, n. 1, p. 165-170, 1990.

DEL GUERCIO, V. M. F.; ROCHA M. M. M.; MELLES, H. H. B.; LIMA, V. C. L.; PIGNATTI, M. G. Febre maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 1, p. 47-52, 1997.

DIAS, E. O cão como provável reservatório do vírus da febre maculosa brasileira. **Revista Brasil-Médico**, Rio de Janeiro, n. 51, p. 1245-1247, 1937.

DUMLER, J. S.; BARBET, A. F.; BEKKER, C. P. J.; DASCH, G. A.; PALMER, G. H.; RAY, S. C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: Unification of some species of *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematics and Evolution Microbiology**, v. 51, p. 2145-2165, 2001.

ESTRADA, D. A.; SCHUMAKER, T. T. S.; SOUZA, C. E.; NETO, E. J. R.; LINHARES, A. X. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 39, p. 68-71, 2006.

EVANS, D. E.; MARTINS, J. R.; GUGLIELMONE, A. A. A review of the ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution – 1. The state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 4, p. 453-470, 2000.

FREITAS, M. O.; MOLENTO; M. B. LABRUNA; M. B. SILVEIRA, I.; BIONDO, A. Pesquisa de anticorpos específicos anti-*rickettsia rickettsii* em cavalos carroceiros em São José dos Pinhais, PR. In: 14º CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 2., 2006, Ribeirão Preto. Editora Yvan Zucareli, p. 361, 2006.

GALVÃO, M. A. M. A **Febre maculosa brasileira em Minas Gerais e seus determinantes**. 186 páginas. Dissertação Mestrado - Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1988.

GALVÃO, M. A. M.; SILVA, L. J.; NASCIMENTO, E. M. M.; CALIC, S. B.; SOUSA, R.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 5, 2005.

GALVÃO, M. A. M.; LAMOUNIER, J. A.; BONOMO, E.; TROPIA M. S.; RESENDE, E. G.; CALIC, S. B. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do estado de Minas Gerais, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 1593-1597, 2002.

GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; MORON, C.; ANAYA, E.; WALKER, D. H. Rickettsiosis of Genus *Rickettsia* in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 990, p. 57-61, 2003.

GREENE, C. E.; BREITSCHWERDT, E. B. Rocky mountain spotted fever, Murine Typhuslike disease, Rickettsialpox, Typhus, and Q Fever. In: **INFECTION diseases of the dog and the cat**. 3rdEd., Saunders Elsevier, p. 232-240, 2006.

HARDEN, V. A. **Rocky mountain spotted fever**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p. 8, 1990.

HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**, London, v. 1, n. 24, p. 35-38, 1985.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T.; WALKER, D. H. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a brazilian spotted fever-endemic área in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *rickettsia*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbroock, v. 71, n. 1, p. 93-97, 2004.

KOCH, H. G.; MCNEW, R. W. Sampling of lone star ticks (Acari: Ixodidae): dry ice quantity and capture success. **Annals of Entomological Society of America**, v. 75, p. 579-572, 1982.

LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of rickettsiosis: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 35, n. 11, p. 2715-2727, 1997.

LABRUNA, M. B.; Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p. 1133-1136, 2002.

LABRUNA, M. B. Carrapatos. **A Hora Veterinária**, São Paulo, v. 23, n. 137, p. 63-65, 2004(a).

LABRUNA, M. B. Carta Acarológica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 1, p. 199-202, 2004(b).

LABRUNA, M. B.; PRATA, M. C. A.; PACHECO, R. C.; WALKER, D. H. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, p. 841-845, 2005.

LEMOS, E. R. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in Wild animals in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 701-702, 1996.

MAGNARELLI, L. A.; ANDERSON, R. N. P.; BURGDORFER, W.; CASPER, E. A. Endemicity of spotted fever group rickettsiae in Connecticut. **American Journal Tropical and Hygiene**, Northbroock, v. 30, n. 3, p. 715-721, 1981.

MELLES, H. H.; COLOMBO, S.; SILVA, M. V. Febre maculosa: Isolamento de *rickettsia* em amostra de biópsia de pele. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 1, n. 34, p. 37-41, 1992.

MELLES, H. H.; COLOMBO, S.; LEMOS, E. R. S.; Isolamento de *rickettsia* em cultura de célula vero. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 2, n. 5, p. 469-473, 1999.

MONTEIRO, J. L.; Comportamento experimental do coelho ao vírus do "Typho exantemático de São Paulo" e da febre maculosa das montanhas rochosas. **Memórias do Instituto Butantã**, São Paulo, n. 8, p. 3-9, 1933.

MURRAY, J. **Medical microbiology**. 3rd. ed., Germany, p. 287, 2004.

NASCIMENTO, E. M. M.; SCHUMAKER, T. T. S. Isolamento e identificação de riquetsias no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 193-196, 2004.

NEWHOUSE, V. F.; SHEPARD, C. C.; REDUS, M. D.; TZIANABOS, T.; McDADE, J. E. A Comparison of the complement fixation, Indirect Fluorescent Antibody and Microagglutination tests for the serological diagnosis of rickettsial diseases. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbroock, v. 28, p. 387-395, 1979.

PINTER, A. **Aspectos epidemiológicos da Febre Maculosa em uma Área endêmica do município de Mogi das Cruzes (SP) e estudo em laboratório do ciclo de vida do vetor *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae)**. Dissertação (Mestrado em epidemiologia experimental aplicada à zoonoses), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

RAOULT, D.; PAROLA, P.; PADDOCK, C.D. Tick-Bourne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases challenging Old Concepts. **American Society for Microbiology**, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.

RICKETTS, H. T. Some aspects of Rocky Mountain Spotted Fever as shown by recent investigations. **Medical Record**, Houston, n. 76, p. 843-855, 1909.

RODRIGUES, D. S.; CARVALHO, H. A.; FERNANDES, A. A.; FREITAS, C. M. V.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Biology of *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1972) (Acari: Ixodidae) on Some Laboratory Hosts in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 6, p. 853-856, 2002.

SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo febre maculosa em humanos, cães, eqüídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em região endêmica e não endêmica no estado de São Paulo**. 86 f. Tese (Doutorado em epidemiologia experimental aplicada à zoonoses) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

SOUZA, C. E.; CALIC, S. B.; CAMARGO, M. C. G. O. O papel das capivaras *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 13, supl. 1, p. 203-205, 2004.

SLOSS, M. W.; ZAJAC, A. M.; RUSSEL, L. K. **Parasitologia clínica veterinária**. 6. ed. São Paulo, Ed. Manole, 1999.

SPICKETT, A. M.; HORAK, I. G.; BRAACK, L. E. O.; ARK, H. V. Drag-sampling of free-living Ixodid Ticks in the Kruger National Park. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, South Africa, v. 58, p. 27-32, 1991.

TIRIBA A. C. Geografia Médica das Riquetsioses. In: Lacaz, C. S.; Buruzzi, R. G.; Siqueira J. R. **Introdução a geografia médica do Brasil**. São Paulo: Edgard Blucher, p. 388-397, 1972.

TRAVASSOS, J.; VALEJO, A. Comportamento de alguns cavídeos (*Cavia aperea* e *Hydrochoerus capybara*) às inoculações experimentais do vírus da febre maculosa. Possibilidade desses cavídeos representarem o papel de depositários transitórios do vírus na natureza. **Memórias do Instituto Butantã**, São Paulo, n. 15, p. 73-86, 1942.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, p. 527-529, 1996.

WALKER, D. H.; VALBUENA, G. A.; OLANO, J. P. Pathogenic Mechanisms of Diseases Caused by *Rickettsia*. **Annals of The New York Academy of Sciences**, Texas, v. 990, p. 1-11, 2003.

WALKER, D. H. *Rickettsia rickettsii*: as virulent as ever. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 66, n. 5, p. 448-449, 2002.

WEISS, E.; STRAUSS, B. The life and career of Howard Taylor Ricketts. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 13, p. 1241-1242, 1991.

WOLDEHIWET, Z.; RISTIC, M. *in*. **Rickettsial and Chlamidial diseases of domestic animals**. Pergamon Press, p. 1-26, 1993.

CAPÍTULO 2 - EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA EM EQUINOS DE CARROCEIROS DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.

(Epidemiology of Brazilian Spotted Fever in Cart Horses from São José dos Pinhais, PR)

Marta Cristina Diniz de Oliveira Freitas¹, Marcelly Grycajuck¹, Marcelo Beltrão Molento¹, José Bonacin², Cláudio Feitosa², Marcelo Bahia Labruna³, Richard Pacheco³, Jonas M. Filho³, Alexander Welker Biondo¹.

¹ Departamento de Medicina Veterinária, UFPR; ²Centro de Controle de Zoonoses, São José dos Pinhais; ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, USP.

Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, UFPR. R. dos Funcionários, 1540, Curitiba, Paraná, Brasil. CEP: 80035-050. F: (55-41) 3350-5618. F/FAX: (55-41) 3350-5623. E-mail: vet.marta@gmail.com

Texto formatado para submissão na revista Archives of Veterinary Science

EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA EM EQUINOS DE CARROCEIROS DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.

Marta Cristina Diniz de Oliveira Freitas¹, Marcellly Grycajuck¹, Marcelo Beltrão Molento¹, José Bonacin², Cláudio Feitosa², Marcelo Bahia Labruna³, Richard Pacheco³, Jonas M. Filho³, Alexander Welker Biondo¹.

¹ Departamento de Medicina Veterinária, UFPR; ²Centro de Controle de Zoonoses, São José dos Pinhais; ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, USP.

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose geralmente fatal se não tratada precocemente. Causada principalmente pela bactéria intracelular obrigatória *Rickettsia rickettsii*, é transmitida ao homem por carrapatos do gênero *Amblyomma*. Com o objetivo de obter informações sobre a epidemiologia da FMB em São José dos Pinhais, PR, onde foi registrado o primeiro caso da doença em humano neste Estado, realizou-se um estudo em cavalos de carroceiros da região. A amostragem se deu por adesão espontânea dos proprietários, onde foram obtidas 75 amostras de soro de eqüinos no período de abril de 2005 a junho de 2006. Estas foram testadas pela técnica de Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos anti-rickettsiais do grupo febre maculosa. Sete animais (9,33%) apresentaram titulação variando entre 64 a 1024. Considerando o eqüino animal sentinela para a doença, e que os animais testados percorrem grandes distâncias podendo carrear vetores infectados, sugere-se que os resultados são representativos para avaliação epidemiológica inicial da enfermidade nesta área.

Palavras Chave: Febre Maculosa Brasileira, Sorologia, Eqüinos, Epidemiologia.

ABSTRACT

The Brazilian Spotted Fever (BSF) is a generally fatal zoonosis when the treatment is prescribed. Caused by the obligate intracellular bacteria *Rickettsia rickettsii*, it is transmitted to humans by *Amblyomma* ticks. With the objective to obtain epidemiological information about BSF in São José dos Pinhais, PR, where one human case was registered, a study was performed in cart horses. Serum samples were obtained from 75 horses between April/2005 and June/2006, and tested by indirect immunofluorescence assay (IFA) to detect antibodies against rickettsias of spotted fever group. Seven animals (9,33%) were seropositive, titres varying from 64 to 1024. Considering that horses are sentinels for this disease and the animals walk long distances, it is suggested that these results are representative as an initial epidemiological evaluation of the disease in the area.

Keywords: Brazilian spotted fever, Serology, Horses, Epidemiology.

2.1 INTRODUÇÃO

A febre maculosa brasileira (FMB) é a mais importante riquetsiose descrita no Brasil. É causada principalmente pela bactéria gram negativa, intracelular obrigatória, de forma cocobacilar denominada *Rickettsia rickettsii*. (BURGDORFER, 1970; BEATI & RAOULT, 1998). A transmissão se dá através da picada do carrapato infectado, que mantém a *rickettsia* em suas glândulas salivares, células intestinais e ovários (HARDEN, 1990). No Brasil o *Amblyomma cajennense* é apontado como principal vetor da doença, especialmente seus estádios imaturos. O vetor adulto é vulgarmente conhecido como carrapato estrela ou rodoleiro, sendo o eqüino, a capivara e a anta considerados hospedeiros primários de todos os seus estádios. Entretanto os carrapatos do gênero *Amblyomma sp.* apresentam baixa especificidade de hospedeiro nas fases de larva e ninfa podendo parasitar outras espécies animais (ARAGÃO & FONSECA, 1961; LABRUNA et al., 2002).

Os casos de FMB em humanos são acidentais e está associado ao convívio deste com animais domésticos. Eqüinos e cães são considerados animais sentinelas para FMB (LEMOS, 1996), atuando como amplificadores da população de carrapatos. Em geral o cão e o cavalo vivem no peri-domicílio humano e tem grande importância na epidemiologia da doença (TIRIBA, 1972; LEMOS, 1996). Os primeiros relatos da FMB em equinos no PR foram de 6,52% de positividade pela técnica da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), determinado por Freitas et al. (2006). Atualmente o diagnóstico laboratorial de eleição da FMB segundo a Organização Mundial de Saúde é através da sorologia pela RIFI, e deve ser considerado confirmatório em humanos quando há um aumento no título na segunda amostra, a ser realizada duas semanas após a primeira (GALVÃO et al., 2005).

A RIFI utiliza como antígeno a espécie de *rickettsia* a ser testada. A detecção de IgM é uma forte evidência de riquetsiose ativa (DEL GUERCIO et al., 1997). Algumas espécies de *rickettsias* compartilham antígenos de superfície, o que pode ocasionar em reações cruzadas entre os biogrupos Tifo e Febres Exantemática,

diminuindo assim a especificidade do teste. Os anticorpos IgG, detectados cerca de uma semana após o início da doença, são específicos dentro do biogrupo e podem permanecer por até quatro anos (CALIC, 2004). Somente pode ser considerado positivo o título maior ou igual a 64 (NEWHOUSE et al., 1979; MAGNARELLI et al. 1982). A RIFI apresenta uma especificidade de 100% e sensibilidade de 94 a 100%, porém não permite a identificação da espécie do agente dentro do grupo e pode apresentar títulos baixos ou até falsos negativos por influência de antibioticoterapia (CALIC, 2004; DEL GUERCIO et al., 1997).

O diagnóstico se confirma através de fatores epidemiológicos tais como área geográfica, época do ano e presença de vetores (CALIC, 2004). As provas sorológicas em hospedeiros susceptíveis e em animais reservatórios, são importantes para determinação de atividade riquetsial local (MAGNARELLI et. al, 1981). Porém, em seres humanos constata-se uma dificuldade no diagnóstico diferencial das doenças exantemáticas que têm em comum quadros purpúricos (MELLES et. al, 1992; GALVÃO et al., 2003). Acredita-se que haja subnotificação da doença, principalmente nos casos oligossintomáticos (MELLES et. al, 1992).

O objetivo desse trabalho foi determinar a presença da FMB em eqüídeos utilizados para tração por trabalhadores carroceiros na coleta e transporte de materiais recicláveis. Este estudo relaciona a ocorrência de soropositividade em cavalos de carroceiros e presença de carrapatos do gênero *Amblyomma* em São José dos Pinhais, PR. O projeto contou com a parceria da Secretaria Municipal de Saúde através do Centro de Controle de Zoonoses do município.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Local de estudo

O estudo foi realizado no município de São José dos Pinhais que está situado na porção leste da região metropolitana de Curitiba, a 15 km do centro da capital.

O município apresenta clima subtropical úmido e é parte integrante do primeiro planalto, possuindo altitude média de 900 metros, área de 945,611 km², latitude 25°32'05" e longitude 49°12'23" (IBGE, 2005). Faz divisa ao norte com as cidades de Curitiba, Pinhais, Piraquara, ao sul com Mandirituba e Tijucas do Sul, ao leste com Morretes e Guaratuba e ao oeste com Fazenda Rio Grande. Sua hidrografia é vasta, mas os principais rios encontrados na região são o rio Iguaçu, Miringuava, de Una, Castelhanos, São João, Miriguava-Mirim, Despique e a represa do Vossoroça. São José dos Pinhais tem em torno de 40% de seu território considerado como área de preservação ambiental, sendo que existem 4 pontos de urbanização importantes (São Marcos, Guatupê, Centro, Borda do Campo). A população estimada é de 263.622 habitantes, sendo que 90% localizam-se na área urbana (figura 1).

FIGURA 1 - MAPA DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR, EVIDENCIANDO ÁREAS RURAL, URBANA E AEROPORTO (www.pmsjp.gov.pr.br).



2.2.2 Colheita de amostras

Para a pesquisa foram colhidas amostras de sangue em 30/04; 10/06; 17/09 e 22/10 de 2005 e 10/06 de 2006. As colheitas ocorreram em parceria com o projeto carroceiros, dentro do Centro de Controle de Zoonoses do município e UFPR. A amostragem se deu por adesão espontânea dos trabalhadores e os animais foram identificados por número (1-75) e ficha de identificação individual composta de endereço, idade, sexo, resenha, dados referentes a escore corporal do animal, tipo de alimentação, bem como cadastro sócio econômico do proprietário e distância aproximada percorrida em quilômetros por dia de trabalho.

As amostras de sangue total foram colhidas através de veno-punção jugular de um total de 75 equinos e após centrifugadas a 3500 rpm por 5 minutos, as amostras de soros foram acondicionadas em tubos do tipo eppendorf e em seguida congeladas a -20°C para posterior processamento pela técnica RIFI. Os exames de RIFI foram realizados com antígeno de *R. rickettsii* nos animais amostrados no ano de 2005 e *R. rickettsii* e *R. parkeri* nos animais amostrados no ano de 2006.

2.2.3 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A RIFI consiste na reação antígeno-anticorpo do soro da espécie estudada com células VERO, neste estudo infectadas com *Rickettsia rickettsii*, (cepa Taiacu) e *R. parkeri* (cepa isolada de *Amblyomma triste*, por Silveira et. al, 2007) fixadas em lâminas de microscopia para fluorescência. A reação entre o antígeno fixado e o anticorpo presente nas amostras foi visualizada após a adição de anti-imunoglobulina da espécie eqüina, conjugada com isotiocianato de fluoresceína (Kirkegaard e Perry Laboratory, Maryland, USA). Para a leitura da reação utilizou-se microscópio para fluorescência (BX60; Olympus, Tóquio, Japão) em aumento de 400X.

2.3 RESULTADOS

Foi detectado presença de anticorpos anti-rickettsiais (título ≥ 64) em 7 cavalos (9,33%) dos 75 amostrados. Todos os testes reagentes provinham de lâminas sensibilizadas com *R. rickettsii*. O maior título encontrado foi de 1024. Os eqüinos de número 28, 32 e 38 foram testados no ano de 2005 somente para *R. rickettsii*, os demais foram testados para os dois antígenos supracitados, porém não houve resultado positivo para *R. parkeri*.

A distância percorrida por dia variou de 8 Km a 40 Km, sendo que os proprietários de 18 animais (24%) não souberam responder. A idade variou entre 6 meses e 22 anos com média de 6,7 anos, sendo 40 machos e 35 fêmeas.

De todos os animais amostrados, 9 (11,84%) apresentaram-se parasitados por carrapatos em ocasião da coleta, estes posteriormente identificados como *Amblyomma sp.* e *Anocentor nitens*, sendo que dentre os animais infestados somente 1 foi sororeagente na RIFI.

TABELA 3 - TITULAÇÃO ENCONTRADA NOS EQÜINOS DE CARROCEIROS REALIZADA UTILIZANDO-SE OS ANTÍGENOS *Rickettsia rickettsii* E *R. parkeri*.

Titulação encontrada	1:64	1:128	1:512	1:1024	Total
<i>R. rickettsii</i>	2/75	2/75	2/75	1/75	7/75
<i>R. parkeri</i>	-	-	-	-	-

2.4 DISCUSSÃO

O presente estudo foi conduzido no Estado do Paraná, onde houve o registro do primeiro caso humano da doença (Secretaria Estadual de Saúde, 2005). Desde os primeiros relatos no Brasil, em 1929, o Paraná mantinha-se sem registro da FMB. Lima et al. (2003) observaram em estudos na região administrativa de

Campinas, SP, um aumento no número de casos humanos registrados a partir de 1996, ano em que a doença foi determinada como de notificação compulsória e houve implantação de um sistema de vigilância epidemiológica na região. Por ser uma enfermidade onde há dificuldade no diagnóstico diferencial com outras doenças exantemáticas como leptospirose, meningococemia, hantavirose, dengue e outras (GALVÃO et. al, 2003), pode-se supor então que há uma subnotificação de casos humanos no Paraná, devido à falhas no diagnóstico ou a não inclusão do mesmo no diagnóstico diferencial clínico de doenças exantemáticas. Segundo Walker (2002), casos fatais têm ocorrido sem que o diagnóstico definitivo tenha sido apurado, quando médicos não consideram a possibilidade de ocorrência da febre maculosa.

Apesar da inespecificidade parasitária nos estádios imaturos, os eqüinos são considerados hospedeiros primários de todos os estádios de *A. cajennense* (TIRIBA, 1972; LABRUNA et al., 2002), além de serem sentinelas para a febre maculosa (LEMOS; 1996). Em situações de alta infestação de *A. cajennense* em eqüinos, pode ocorrer infestação em hospedeiros secundários como o cão e o homem (LEMOS et al., 1996; LABRUNA et al., 2002). Segundo Souza e Labruna (2006), para que um vertebrado seja considerado bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, este deve preencher alguns requisitos como ser susceptível à infecção; manter a bactéria circulante em níveis plasmáticos suficientes para infectar vetores; ter alta taxa de renovação populacional; ser abundante na área endêmica e ser bom hospedeiro do carrapato vetor em condições naturais. Com os dados apresentados acredita-se que o cavalo de carroceiro represente importante papel na cadeia epidemiológica da FMB, considerando sua convivência no peri-domicílio e capacidade de percorrer grandes distâncias em curto período de tempo, podendo dispersar carrapatos infectados.

Neste estudo a sorologia positiva dos animais indica existência de *rickettsias* circulando na região, tornando maior a vulnerabilidade ao contato da bactéria com a população humana exposta. Os resultados obtidos através da técnica RIFI demonstram parcialmente uma atividade riquetsial local, porém são

inconcludentes quanto à espécie de *rickettsia*, os dados representam contato pregresso com *rickettsias* do grupo febre maculosa. Segundo Newhouse et. al (1979), o título de 64 indica riquetsiose positiva por contato pregresso e este foi o título de corte deste estudo, eliminando-se os reagentes no título de 32, considerado limítrofe. Magnarelli et. al (1981) sugere que deve haver uma correlação entre positividade nos vetores, hospedeiros e reservatórios para que se confirme atividade riquetsial local.

Este estudo demonstrou resultados semelhantes aos de Galvão et. al (2006), que investigaram presença de anticorpos anti-riquetsiais do grupo de febre maculosa através de RIFI, em foco silencioso em Caratinga, MG, obtendo 17% de soropositividade em eqüinos. Estes resultados condizem com circulação de *rickettsias* do grupo da febre maculosa, evidenciando a vulnerabilidade da região.

2.5 CONCLUSÃO

Os achados sorológicos e a presença do carrapato transmissor da FMB em São José dos Pinhais reforçam a necessidade da criação de um plano monitoramento na região. Existe possibilidade de disseminação da doença pois os cavalos de carroceiros se deslocam entre grandes áreas para trabalho, convivendo próximos a centros urbanos e com a fauna sinantrópica regular. Desta forma, prolongando a presença da bactéria no ambiente e aumentando o risco potencial de transmissão da FMB para seres humanos. Há que se considerar que no caso de desequilíbrio ambiental, casos acidentais podem ocorrer dado a alta vulnerabilidade da região.

Pode-se concluir que a FMB na região estudada é um problema grave de saúde pública a ser criteriosamente investigado em todos seus aspectos. Porém no presente estudo não houve determinação de positividade em vetores e sugere-se a continuidade deste para complementação destas informações.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia. VIII lista e chave para os representantes para a fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 59, p. 115-129, 1961.
- BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean spotted fever and other spotted fever group Rickettsiae. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D. I. H. **Zoonoses**. Oxford: University Press, p. 217-240, 1998.
- BURGDORFER, W. The Hemolymph test. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, n. 19, p. 1010-1014, 1970.
- CALIC, S. B. Sorologia das Riquetsioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.13, p.185-187, 2004.
- DEL GUERCIO, V. M. F.; ROCHA M. M. M.; MELLES, H. H. B.; LIMA, V. C. L.; PIGNATTI, M. G. Febre maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. Inquérito sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 1, p. 47-52, 1997.
- FREITAS, M. O.; MOLENTO; M. B. LABRUNA; M. B. SILVEIRA, I.; BIONDO, A. Pesquisa de anticorpos específicos anti-*rickettsia rickettsii* em cavalos carroceiros em São José dos Pinhais, PR. 14º CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, e 2º SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, Ribeirão Preto, Editora Yvan Zucarelli, p. 361, 2006.
- GALVÃO, M. A. M.; SILVA, L. J.; NASCIMENTO, E. M. M.; CALIC, S. B.; SOUSA, R.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 850-856, 2005.
- GALVÃO, M. A. M.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; MAFRA, C. L.; FILHO, G. C.; OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Spotted Fever Rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 479-481, jul./ago. 2003.
- GALVÃO, M. A. M.; WALKER, D. H.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B.; FIGUEIRA, F. C. B.; NEVES, C. V. B.; MAFRA, C. L.; FREITAS, R. N.; CARDOSO, L. D. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p. 495-501, mar. 2006.
- HARDEN, V. A. **Rocky mountain spotted fever**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p. 8, 1990.

HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**, London, v. 1, n. 24, p. 35-38, 1985.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T.; WALKER, D. H. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group rickettsia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 71, n. 1, p. 93-97, 2004.

LABRUNA, M. B.; Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p. 1133-1136, 2002.

LEMOS, E. R. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in Wild animals in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 701-702, 1996.

LIMA, V. L. C.; SOUZA, S. S. L.; VILELA, M. F. G.; PAPAORDANOU, P. M. O.; DEL GUÉRCIO, V. M.F.; ROCHA, M. M. M. Situação da febre maculosa na Região administrativa de Campinas, São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 331-334, jan.fev. 2003.

MAGNARELLI, L. A.; ANDERSON, R. N. P.; BURGDORFER, W.; CASPER, E. A. Endemicity of spotted fever group rickettsiae in Connecticut. **American Journal Tropical and Hygiene**, Northbrook, v. 30, n. 3, p. 715-721, 1981.

MELLES, H. H.; COLOMBO, S.; SILVA, M. V. Febre maculosa: Isolamento de *rickettsia* em amostra de biópsia de pele. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 1, n. 34, p. 37-41, 1992.

NEWHOUSE, V. F.; SHEPARD, C. C.; REDUS, M. D.; TZIANABOS, T.; McDADE, J. E. A Comparison of the complement fixation, Indirect Fluorescent Antibody and Microagglutination tests for the serological diagnosis of rickettsial diseases. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 28, p. 387-395, 1979.

SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo febre maculosa em humanos, cães, eqüídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em região endêmica e não endêmica no estado de São Paulo.** 86 f. Tese (Doutorado em epidemiologia aplicada à Zoonoses) - Universidade de São Paulo, 2003.

SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; SZABÓ, M. J. P.; RAMOS, H. G. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, p. 1111-1113, 2007.

TIRIBA A. C. Geografia Médica das Riquetsioses. In: LACAZ, C. S.; BURUZZI, R. G.; SIQUEIRA, J. R. **Introdução a Geografia Médica do Brasil**. São Paulo: Edgard Blucher, p. 388-397, 1972.

WALKER, D. H. *Rickettsia rickettsii*: as virulent as ever. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 66, n. 5, p. 448-449, 2002.

**CAPÍTULO 3 - DETERMINAÇÃO DE RIQUETSIAS DO GRUPO FEBRE
MACULOSA EM CÃES E EQUINOS EM 4 FOCOS NO
MUNICÍPIO DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.**

(Detection of Rickettsia of Spotted Fever Group in dogs and horses in 4 focus in São José dos Pinhais, PR.)

Marta Cristina Diniz de Oliveira Freitas¹, Marcelly Grycajuck¹, Marcelo Beltrão Molento¹, José Bonacin², Cláudio Feitosa², Marcelo Bahia Labruna³, Richard Pacheco³, Jonas M. Filho³, Alexander Welker Biondo¹.

¹Departamento de Medicina Veterinária, UFPR; ²Centro de Controle de Zoonoses, São José dos Pinhais; ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, USP.

Laboratório de Doenças Parasitárias, Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, UFPR. R. dos Funcionários, 1540, Curitiba, Paraná, Brasil. CEP: 80035-050. F: (55-41) 3350-5618. F/FAX: (55-41) 3350-5623.
E-mail: vet.marta@gmail.com

DETERMINAÇÃO DE RIQUETSIAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.

Marta Cristina Diniz de Oliveira Freitas¹, Marcellly Grycajuck¹, Marcelo Beltrão Molento¹, José Bonacin², Cláudio Feitosa², Marcelo Bahia Labruna³, Richard Pacheco³, Jonas M. Filho³, Alexander Welker Biondo¹.

¹Departamento de Medicina Veterinária, UFPR; ²Centro de Controle de Zoonoses, São José dos Pinhais; ³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, USP.

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira é uma enfermidade febril e aguda de caráter endêmico e de ocorrência reconhecida em vários estados brasileiros. O registro do primeiro caso da doença em humano no Estado do Paraná se deu através de sorologia pela técnica de imunofluorescência indireta, realizada pelo Instituto Adolfo Lutz, em abril de 2005, em São José dos Pinhais. Com o objetivo de obter informações sobre a epidemiologia da FMB na região do caso humano, realizou-se um estudo em eqüinos e caninos provenientes de um foco humano conhecido e três focos animais. Amostras de soro foram obtidas no decorrer do ano de 2006 e testadas pela técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos anti-rickettsiais do grupo febre maculosa, utilizando antígeno *Rickettsia rickettsii* e *R. parkeri*. Foi determinada soropositividade em 2 dos 16 cães (12,5%) e 2 dos 8 equinos (25%) testados, com titulação variando de 64 a 128. Considerando como sentinela as espécies estudadas, sugere-se que estes resultados sejam representativos para avaliação epidemiológica inicial da enfermidade nesta área.

Palavras Chave: Febre Maculosa Brasileira, Sorologia, Cães, Eqüinos, Epidemiologia.

ABSTRACT

The Brazilian Spotted Fever is an endemic, febrile and acute disease which have been determined in many states of Brazil. The first human case registered in Paraná state was in April of 2005, by Indirect Immunofluorescence Assay in Adolfo Lutz Institute, in São José do Pinhais. In order to obtain information about Brazilian Spotted Fever epidemiology in this area a study was performed in horses and dogs from a human focus and three animal. Serum samples were obtained in the year 2006 and were tested by Indirect Immunofluorescence to detect antibodies against spotted fever group rickettsiae, using *Rickettsia rickettsii* and *R. parkeri* antigen. It was determined positivity in 2 of 16 dogs (12,5%) and 2 of 8 horses (25%) that were tested, with titles varying of 64 to 128. The data from this study suggests that the results were representative to its first epidemiological avaiation in this area seriously, considering dogs and horses as environmental sentinels for Brazilian Spotted Fever.

Keywords: Brazilian spotted fever, Serology, Dogs, Horses, Epidemiology.

3.1 INTRODUÇÃO

A Febre Maculosa é uma das mais importantes riquetsioses no Brasil, e é causada por bactérias intracelulares obrigatórias do gênero *rickettsia spp.* (GALVÃO et. al, 2005). Dentro do Grupo Febre Maculosa (GFM) encontram-se espécies de patogenicidade variada, sendo a *Rickettsia rickettsii*, o principal agente etiológico da Febre Maculosa Brasileira (FMB), considerada de maior patogenicidade deste grupo (HOOGSTRAAL, 1985; BEATI & RAOULT, 1998). A FMB é transmitida pelo carrapato de três hospedeiros do gênero *Amblyomma spp.* (GALVÃO et al., 1993). No Brasil, as espécies *A. cajennense*, *A. aureolatum* e *A. dubitatum*, tem sido relacionadas a casos humanos da doença (PINTER, 2003; EVANS et al., 2000; RODRIGUES et al., 2002). O *A. cajennense*, principal vetor no Brasil, tem como hospedeiros preferencialmente a capivara, o cavalo e a anta, embora possa parasitar outras espécies animais devido a sua baixa especificidade nos estádios imaturos (LABRUNA et al., 2002).

A FMB é transmitida através da picada do carrapato infectado, que mantém riquetsias em suas glândulas salivares, células intestinais e ovários (HARDEN, 1990). Os sinais em humanos são inespecíficos como febre, cefaléia e mialgia, o que dificulta o diagnóstico precoce da doença, devido a semelhança de sinais com outras doenças exantemáticas (GALVÃO et al., 2003). Com início súbito e evolução rápida, pode cursar com óbito devido a complicações vasculares. A letalidade pode variar de 25% até 80% dos casos não tratados ou tratados erroneamente (MELLES, 1992; WALKER, 2002). Preconiza-se o tratamento com antibióticos específicos em casos suspeitos, sendo a doxiciclina a medicação de eleição para tratamento da FMB (WALKER, 2002).

A técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é considerada teste de escolha para diagnóstico sorológico da doença, tanto em animais como em humanos (GALVÃO et al., 2005). Sendo que algumas espécies de riquetsias compartilham antígenos de superfície, o que pode ocasionar em reações cruzadas entre os biogrupos tifo e febres exantemáticas, diminuindo assim a especificidade

do teste. Os anticorpos IgG, detectados cerca de uma semana após o início da doença, são específicos dentro do biogrupo e podem permanecer por até quatro anos (CALIC, 2004). Somente é considerado positivo o título maior ou igual a 64 (NEWHOUSE et al., 1979; MAGNARELLI et al., 1981). O estudo epidemiológico do agente pode ser feito em animais hospedeiros, em particular os eqüinos e os cães, considerados animais sentinela para FMB (LEMOS et al., 1996; SANGIONI et al., 2005). O diagnóstico se confirma através de sorologia, fatores epidemiológicos tais como área geográfica, época do ano presença de reservatórios e de vetores (CALIC, 2004).

No ano de 2005 foram coletadas amostras de sangue de 46 eqüinos de carroceiros, onde observou-se positividade em três animais (6,52%) (FREITAS et al., 2006). Com base nestes resultados, foram determinados quatro focos de estudo, sendo a Área 1 o foco humano (caso índice), e áreas 2, 3 e 4 focos animais (eqüinos soropositivos).

O estudo demonstrou a necessidade de avaliação constante do “status” enzoótico da doença na região onde foi registrado o primeiro caso de FMB em humano no Estado do Paraná, ocorrido em abril de 2005 em São José dos Pinhais.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no município de São José dos Pinhais que está situado na porção leste da região metropolitana de Curitiba, a 15 km do centro da capital. O município é parte integrante do primeiro planalto e possui altitude média de 900 metros, área de 945,611 km², com latitude 25°32'05" e longitude 49°12'23" (IBGE, 2005) e clima subtropical úmido. Este município faz divisa ao norte com Curitiba, Pinhais, Piraquara, e ao sul com Mandirituba e Tijucas do Sul, ao leste

com Morretes e Guaratuba e ao oeste com Fazenda Rio Grande. Sua hidrografia é vasta, mas os principais rios encontrados na região são os rios Iguaçu, Miringuava, de Una, Castelhanos, São João, Miriguava-Mirim, Despique e Represa do Vossoroca. São José dos Pinhais tem em torno de 40% de seu território considerado como área de preservação ambiental, sendo que existem quatro pontos de urbanização importantes (São Marcos, Guatupê, Centro, Borda do Campo). A população estimada é de 263.622 habitantes (IBGE, 2007) sendo que 90% concentra-se na zona urbana (figura 2).

FIGURA 2 - MAPA DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, SUBDIVIDIDO EM ÁREAS URBANA E RURAL, INCLUINDO ÁREA DO AEROPORTO (WWW.PMSJP.GOV.PR.BR). DESTAQUE PARA A ÁREA DE OCORRÊNCIA DO PRIMEIRO CASO DE FEBRE MACULOSA BRASILEIRA EM HUMANO.



3.2.2 Foco Humano

O primeiro caso registrado no Estado do Paraná foi detectado em abril de 2005 através de exame sorológico com amostras pareadas, havendo soroconversão de título de 256 para 1024 para *R. rickettsii* através de RIFI no Instituto Adolfo Lutz. O Paciente do sexo masculino, 47 anos, é proprietário de uma chácara de lazer no município de São José dos Pinhais, onde relatou ter sido picado por carrapato. Esta chácara juntamente com a propriedade vizinha, que pertence ao caseiro da primeira, localiza-se no bairro Borda do Campo (figura 1), foi denominada neste estudo como área 1. Caracteriza-se pela presença de 3 humanos, 3 eqüinos, 2 bovinos e 7 cães. O pasto desta propriedade tem condições ótimas para o estabelecimento do vetor. Todas as amostras foram codificadas e acompanhadas de fichas para identificação quanto à: espécie, idade, sexo, ocupação (humanos), tempo de moradia na região (humanos), localidade, presença ou não de animais silvestres nas proximidades. Os exames de RIFI foram realizados nas amostras dos eqüinos e caninos envolvidos, com antígenos disponibilizados para este estudo, que foram *R. parkeri* e *R. rickettsii*.

3.2.3 Foco dos Cavalos de Carroceiros

As outras áreas (2, 3 e 4) são as propriedades onde habitam os eqüinos que tiveram titulação para febre maculosa em estudo pregresso realizado com cavalos de carroceiros da região. Nestas foram considerados cães e demais eqüinos que habitam as respectivas propriedades (figura 4).

Todas as amostras de sangue dos animais foram acompanhadas de fichas para identificação quanto à: espécie, idade, sexo, localidade, histórico de presença de animais silvestres nas proximidades e presença de ectoparasitas nos animais. Os exames de RIFI foram realizados com antígeno de *R. parkeri* e *R. rickettsii*.

A área 2 está localizada no bairro Quississana, e mantém apenas um eqüino que se tratava do já anteriormente amostrado. O local caracteriza-se por uma

área cercada, sem acesso aparente de animais selvagens. O histórico deste eqüino era de infestação por micuins na época da coleta (novembro de 2005). O proprietário não reside no local e relatou problemas articulares no animal no ano de 2006.

A área 3 era composta por três cães e dois eqüinos e está localizada às margens do rio Pequeno no bairro de mesmo nome, onde o proprietário relata histórico de presença de capivaras. Um dos cães veio a óbito dias antes da coleta com sinais clínicos de gastroenterite hemorrágica. O local tem características ideais para o estabelecimento do vetor, apresentando pasto sujo, presença de hospedeiros amplificadores e de manutenção, mata ciliar e proximidade de rio.

A área 4 consiste em uma propriedade maior localizada no bairro Parque Iguaçu, nas margens do Rio Iguaçu. O local tem características epidemiológicas ideais para o estabelecimento do vetor, sendo área de cavas abertas e é comum a presença de capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) e ratões-do-banhado (*Myocastor coypus*). O proprietário vive da coleta de material reciclável e exerce atividade de criação de suínos para terminação. Foram encontrados no mesmo ambiente bovinos, cães, aves e eqüinos, que co-habitavam o local. Nesta área foram colhidas amostras de sangue total de sete cães e quatro eqüinos.

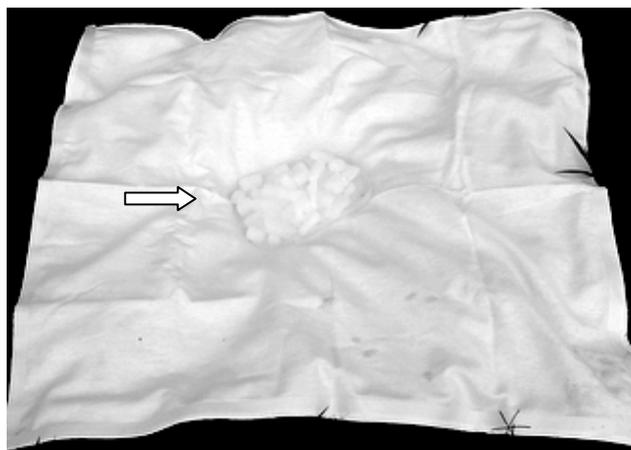
3.2.4 Colheita das amostras

A colheita das amostras de sangue foi realizada com auxílio da equipe do Centro de Controle de Zoonoses do município, filiado à Secretaria Municipal de Saúde. Todos os cães e eqüinos foram submetidos a veno-punção jugular. O sangue total coletado foi acondicionado em tubos estéreis a temperatura ambiente e encaminhado ao laboratório de patologia clínica da UFPR para centrifugação e separação do soro. Este foi aliqüotado em tubos de polipropileno do tipo Eppendorf e congelado a -20°C até posterior processamento pela técnica de RIFI.

3.2.5 Colheita de carrapatos

Para colheita de carrapatos de vida livre foram colocadas armadilhas de CO₂ nas propriedades selecionadas, no mês de outubro de 2006. Aproximadamente 500g de gelo seco foi colocado sobre cada flanela branca de 1x1m (figura 3). As armadilhas foram colocadas em locais de passagem de animais e beira de rios, e deixadas por 1 hora (OLIVEIRA, 1998). Ao final deste tempo, as mesmas foram recolhidas para contagem de artrópodes coletados.

FIGURA 3 - ARMADILHA DE GELO SECO UTILIZADA PARA CAPTURA DE CARRAPATOS ADULTOS DE VIDA LIVRE.



3.3 RESULTADOS

TABELA 4 - RESULTADOS DOS CANINOS E EQÜINOS POSITIVOS POR ÁREA SELECIONADA COMO FOCO.

Área	Eqüinos Positivos(%)	Caninos Positivos(%)
1	1/3 (33,3)	0/7 (0)
2	0/1 (0)	-
3	0/1 (0)	1/2 (50)
4	1/4 (25)	1/7 (14,2)
Total	2/8 (25)	2/16 (12,5)

Não houve sucesso em nenhuma armadilha de CO₂ para captura de carrapatos. Na inspeção dos animais, 100% dos cães apresentavam-se com pulgas do gênero *Ctenocephalides spp.* porém nenhum carrapato foi encontrado. Todos os equinos apresentavam-se livres de parasitismo por carrapatos na ocasião da coleta.

Dos 16 caninos amostrados nas áreas selecionadas, 2 apresentaram soropositividade (12,5%) com títulos de 64 e 128, ambos para *R. rickettsii* (figura 5). E dos 8 equinos amostrados, 2 animais foram reagentes (25%) com título de 64 para *R. parkeri* e 64 a 128 para *R. rickettsii*.

FIGURA 4 - MAPA DE MANANCIAS DE SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, EVIDENCIANDO OS 4 FOCOS SELECIONADOS. OBSERVAR PROXIMIDADE DE TODAS AS ÁREAS COM RIOS.

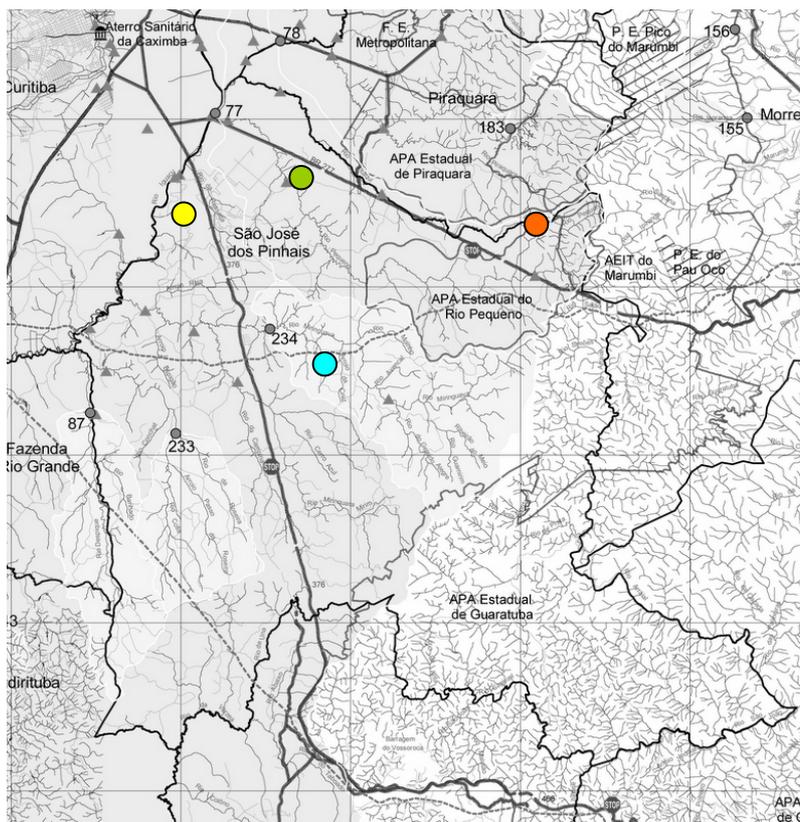
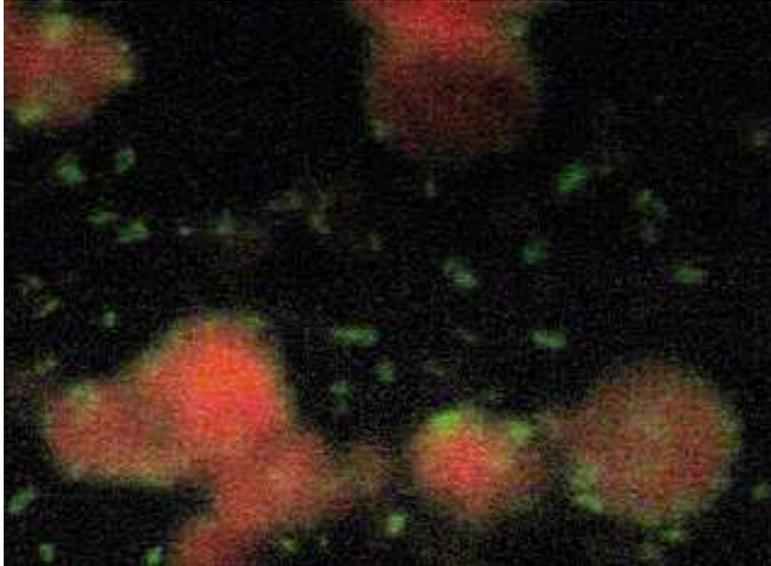


FIGURA 5 - RIFI POSITIVA EM AMOSTRA DE SORO CANINO, CÉLULAS VERO CORADAS COM AZUL DE EVANS EVIDENCIANDO PARASITISMO INTRACELULAR.



3.4 DISCUSSÃO

Este estudo foi realizado em São José dos Pinhais, PR, onde houve o registro do primeiro caso humano da FMB no Estado em abril de 2005 (Secretaria Estadual de Saúde, 2005). Desde 1929, quando houve os primeiros relatos da doença no Brasil, até o ano de 2005, o Paraná mantinha-se sem registro da doença.

Lima et al. (2003) observaram em seus estudos na região administrativa de Campinas, SP, um aumento no número de casos humanos registrados a partir de 1996, ano em que a doença foi determinada como de notificação compulsória e logo após houve implantação de um sistema de vigilância epidemiológica na região. Por ser uma enfermidade onde há dificuldade no diagnóstico diferencial com outras doenças exantemáticas que cursam com febre alta e mialgia (GALVÃO et al., 2003), pode-se supor então que há uma subnotificação de casos humanos no Paraná, devido a falhas no diagnóstico clínico e ou laboratorial, ou a

não inclusão do mesmo no diagnóstico diferencial de doenças exantemáticas. Autores sugerem que casos fatais de FMB podem estar ocorrendo em áreas onde a doença não é reconhecida como endêmica (SANGIONI et al., 2005; WALKER, 2002).

As espécies envolvidas no estudo têm importância na epidemiologia da FMB por serem consideradas sentinelas e viverem no peri-domicílio humano, e a determinação da soroprevalência nestas espécies é recomendada em locais onde humanos são expostos ao contato com *A. cajennense* (SANGIONI et al., 2005; LEMOS et al. 1996). Os resultados obtidos mostraram-se semelhantes a outros estudos com mesma metodologia, como de Lemos et al. (1996) em áreas não endêmicas, que obtiveram positividade em 12,9% em caninos e 27,3% em eqüinos. Galvão et al. (2006), investigaram presença de anticorpos anti-riquettsiais do grupo de febre maculosa em foco silencioso em Caratinga, MG, obtendo 17% de soropositividade em eqüinos. Porém os resultados deste estudo são díspares se comparados a outros realizados em áreas endêmicas, como de Sangioni et. al (2003), que obtiveram 77,8% de soropositividade em eqüinos em Pedreira, SP. Horta et al. (2004), obtiveram 77,3% e 31,3% de soropositividade em equinos e cães respectivamente, em estudo conduzido em área endêmica também em Pedreira. Os estudos que utilizam sorologia como método diagnóstico não detectam especificamente *R. rickettsii*, mas infecção prévia com bactérias do grupo febre maculosa, porém considera-se que riquetsias podem permanecer naturalmente em região não endêmica com relativa facilidade. Magnarelli et. al (1981) sugerem que para haver atividade riquetsial, deve haver correlação de positividade entre hospedeiros e vetores, e presença de fatores ambientais que favoreçam o estabelecimento do mesmo e presença de reservatórios. Porém no presente estudo não houve determinação de positividade em vetores e sugere-se a continuidade deste para comprovar a epidemiologia da FMB na região estudada.

Observa-se na figura 3 proximidade de todos os focos com importantes rios da região, dado este que corrobora com estudos epidemiológicos em áreas endêmicas. As áreas selecionadas também apresentam histórico de presença de roedores silvestres como a capivara e o ratão-do-banhado, que podem participar

do ciclo enzoótico da FMB, representando o hospedeiro de manutenção de rickettsias na natureza.

Todos os focos apresentaram características que favorecem o estabelecimento do vetor, este dado corrobora com a maior parte dos dados epidemiológicos já registrados, sabendo-se que condições como latitude, temperatura e tipo de cobertura vegetal influenciam no estabelecimento do vetor artrópode (EVANS, 2000).

3.5 CONCLUSÃO

Conclui-se portanto que estes resultados são semelhantes a outros obtidos em áreas não endêmicas.

As armadilhas de CO₂ não foram eficazes para colheita de vetores nos locais e datas selecionados.

As áreas selecionadas têm características que favorecem o estabelecimento do vetor, como presença de capivaras e outros roedores silvestres e proximidade de rios e mata ciliar, e presença de espécies hospedeiras capazes de carrear o vetor artrópode para o peri-domicílio humano.

Existe risco de contato da bactéria com a população humana exposta. Os resultados obtidos através da técnica RIFI demonstram parcialmente uma atividade riquetsial local, porém são inconcludentes quanto à espécie de riquetsia e os dados representam exposição pregressa com riquetsias do grupo febre maculosa.

REFERÊNCIAS

- BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean Spotted Fever and other Spotted Fever Group Rickettsiae. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D. I. H. **Zoonoses**. Oxford: University Press, p. 217-240, 1998.
- CALIC, S. B. Sorologia das Riquetsioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 13, p. 185-187, 2004.
- DEL GUERCIO, V. M. F.; ROCHA M. M. M.; MELLES, H. H. B.; LIMA, V. C. L.; PIGNATTI, M. G. Febre maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. Inquérito sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 1, p. 47-52, 1997.
- EVANS, D. E.; MARTINS, J. R.; GUGLIELMONE, A. A. A review of the Ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, Their Hosts and Geographic Distribution – 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 4, p. 453-470, 2000.
- FREITAS, M. O.; MOLENTO; M. B. LABRUNA; M. B. SILVEIRA, I.; BIONDO, A. Pesquisa de anticorpos específicos anti-*rickettsia rickettsii* em cavalos carroceiros em São José dos Pinhais, PR. In: 14^o **CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSES, 2., Ribeirão Preto. Editora Yvan Zucarelli, p. 361, 2006.
- GALVÃO, M. A. M.; SILVA, L. J.; NASCIMENTO, E. M. M.; CALIC, S. B.; SOUSA, R.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 850-856, 2005.
- GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; MORON, C.; ANAYA, E.; WALKER, D. H. Rickettsiosis of Genus *Rickettsia* in South America. **Annals of The New York Academy of Sciences**, New York, v. 990, p. 57-61, 2003.
- GALVÃO, M. A. M.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; MAFRA, C. L.; FILHO, G. C.; OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Spotted Fever Rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 4, p. 479-481, jul./ago. 2003.
- GALVÃO, M. A. M.; RIBEIRO, J. G. L. Febre Maculosa. In: PEDROSO, E. R. P.; ROCHA, M. O. C. SILVA, O.A. EDS. **Clínica médica; os princípios da prática ambulatorial**. São Paulo:Ed. Atheneu, p. 1374-1380, 1993.
- HARDEN, V. A. **Rocky mountain spotted fever**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, p. 8, 1990.
- HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**, London, v. 1, n. 24, p. 35-38, 1985.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T.; WALKER, D. H. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group rickettsia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 7, n. 1, p. 93-97, 2004.

LABRUNA, M. B.; Ticks (Acari: Ixodidae) on Wild Animals from the Porto-Primavera Hydroelectric Power Station Area, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, p. 1133-1136, 2002.

LEMOES, E. R. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in Wild animals in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 701-702, 1996.

LIMA, V. L. C.; SOUZA, S. S. L.; VILELA, M. F. G.; PAPAORDANOU, P. M. O.; DEL GUÉRCIO, V. M.F.; ROCHA, M. M. M. Situação da febre maculosa na Região administrativa de Campinas, São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 331-334, jan./fev. 2003.

MAGNARELLI, L. A.; ANDERSON, R. N. P.; BURGDORFER, W.; CASPER, E. A. Endemicity of spotted fever group rickettsiae in Connecticut. **American Journal Tropical and Hygiene**, Northbrook, v. 30, n. 3, p. 715-721, 1981.

MELLES, H. H.; COLOMBO, S.; SILVA, M. V. Febre maculosa: Isolamento de *rickettsia* em amostra de biópsia de pele. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 1, n. 34, p. 37-41, 1992.

NEWHOUSE, V. F.; SHEPARD, C. C.; REDUS, M. D.; TZIANABOS, T.; McDADE, J. E. A Comparison of the complement fixation, Indirect Fluorescent Antibody and Microagglutination tests for the serological diagnosis of rickettsial diseases. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 28, p. 387-395, 1979.

OLIVEIRA, P.R. ***Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae): Avaliação de técnicas para o estudo de dinâmica populacional e biotecnologia**. 97f Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

PINTER, A. **Aspectos epidemiológicos da Febre Maculosa em uma Área endêmica do município de Mogi das Cruzes (SP) e estudo em laboratório do ciclo de vida do vetor *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae)**. Dissertação (Mestrado em epidemiologia experimental aplicada à zoonose) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

RODRIGUES, D. S.; CARVALHO, H. A.; FERNANDES, A. A.; FREITAS, C. M. V.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Biology of *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1972)

(Acari: Ixodidae) on Some Laboratory Hosts in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 6, p. 853-856, 2002.

SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo febre maculosa em humanos, cães, eqüídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em região endêmica e não endêmica no estado de São Paulo.** 86 f. Tese (Doutorado em epidemiologia experimental aplicada à zoonose) - Universidade de São Paulo, 2003.

SANGIONI, L. A.; HORTA M. C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R., GALVÃO, M. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Spotted Fever Endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 2, p. 265-270, 2005.

WALKER, D. H. *Rickettsia rickettsii*: as virulent as ever. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v. 66, n. 5, p. 448-449, 2002.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho deu início aos primeiros relatos da FMB em animais no PR, a partir do primeiro caso humano registrado, ocorrido em São José dos Pinhais, região metropolitana de Curitiba. A metodologia utilizada para diagnóstico é considerada padrão ouro para a FMB, porém existem técnicas mais sensíveis, como Western blotting, que podem revelar a real prevalência das riquetsioses excluindo falsos positivos.

Os resultados encontrados não representam efetivamente atividade riquetsial local, e sim contato prévio de riquetsias do grupo febre maculosa com os animais amostrados. Para determinação da atividade riquetsial deve haver uma correlação de positividade nos hospedeiros e vetores. Devido ao insucesso na captura de vetores de vida livre, foi impossível fazer esta correlação. A determinação da taxa de infecção no vetor artrópode através de biologia molecular se faz necessária para complementar estes estudos.

A amostra utilizada no trabalho dos cavalos de carroceiros teve margem de erro de 40% sob o número total de eqüinos do município, que é de 2400 (IBGE, 2007). Porém á que se considerar que este é o número total de eqüinos, incluindo animais de montaria e exposição, não pertencentes ao grupo pretendido que incluiu apenas animais de trabalho na coleta de lixo reciclável. Este dado não é disponível oficialmente porém extra oficialmente, o número estimado de cavalos de carroceiros da área urbana do município obtido através de agentes comunitários de saúde é de 300 (trezentos) animais, e considerando este número temos margem de erro calculada em 31%. Porém, devido à disparidade dos números e ainda que a adesão por parte dos proprietários foi voluntária, não foi considerado este dado nos artigos.

Os resultados positivos encontrados em eqüinos e cães são compatíveis com resultados encontrados na literatura científica nacional e internacional que utilizaram metodologia semelhante em regiões não endêmicas, porém pode representar risco a população humana exposta em caso de desequilíbrio ambiental.

Todos os locais selecionados apresentam características que favorecem o estabelecimento do vetor em termos de ambiente e presença de hospedeiros e

reservatórios. Todos os focos selecionados estão situados à margem de rios e relatos de moradores locais afirmam que é comum na região a presença de animais de vida livre como capivara e outros roedores silvestres. Estes dados corroboram com relatos de focos humanos encontrados em regiões endêmicas. Porém os animais amostrados nos focos selecionados encontravam-se livres de carrapatos na ocasião da inspeção e 9% dos eqüinos de carroceiros apresentaram-se parasitados por carrapatos. No ano de 2006 em ocasião da colheita de amostras de sangue e de carrapatos adultos (setembro e outubro), houve alterações climáticas bruscas que podem ter limitado a presença do carrapato vetor.

A presença de pulgas do gênero *Ctenocephalides* em 100% dos cães amostrados, pode indicar possível presença de anticorpos anti-*R. felis* no soro destes animais. Esta riquetsia é transmitida por pulgas deste gênero, que são também reservatórios devido a transmissão transovariana (HORTA et al., 2004).

Na opinião desta autora, a região estudada apresenta condições climáticas e ambientais que favorecem o desenvolvimento do carrapato do gênero *Amblyomma* spp.. A presença de roedores silvestres pode representar o fechamento do ciclo enzoótico de *rickettsias* e sua manutenção mesmo em situações de mudança climática brusca. O processo de urbanização de áreas antes consideradas rurais e o turismo rural, também propiciam contato do homem ao ciclo silvestre das riquetsioses.

O objetivo deste trabalho foi contribuir para o conhecimento da epidemiologia das riquetsioses, estimando o risco ao qual está submetida a população da região. Os resultados obtidos mostraram a necessidade de ações futuras de monitoramento e avaliação constante do “status” da doença na região, bem como programas educativos de prevenção e controle, direcionados aos grupos de risco (trabalhadores rurais, pescadores, veterinários). A não inclusão da FMB no diagnóstico diferencial das doenças exantemáticas e purpúricas torna qualquer região de endemicidade desconhecida susceptível a ter casos fatais da doença. Principalmente nos casos onde o paciente não detectou a picada do carrapato vetor, considerando contato com estádios imaturos.

ANEXOS

ANEXO 1 – PROTOCOLO DA TÉCNICA DE REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.....	74
ANEXO 2 – RESUMOS EM CONGRESSOS.....	76
ANEXO 3 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	79

ANEXO 1 – PROTOCOLO DA TÉCNICA DE REAÇÃO DE IMUNOFLOURESCÊNCIA INDIRETA

Material utilizado:

- Lâminas para RIFI contendo células VERO infectadas por *Rickettsia rickettsii* *
- Lâminas para RIFI contendo células VERO infectadas por *Rickettsia parkeri**
- Soro controle positivo de eqüino*
- Soro controle negativo de eqüino*
- Soro controle positivo de canino*
- Soro controle negativo de canino*
- Anti Ig-equina conjugada com fluoresceína**
- Anti Ig-canina conjugada com fluoresceína**
- Glicerina tamponada pH 9,0 ± 0,5**
- Azul de Evans 0,1%**
- Tampão fosfato (PBS), pH 7,2
- Tampão de lavagem (PBS com Triton X 100 a 0,1%)
- Microplacas do tipo ELISA (96 pocinhos)
- Micropipetas calibradas (P20, P200, P1000)
- Ponteiras sem filtro de 20, 200 e 1000µl
- Recipiente com tampa para câmara úmida
- Cubas para lavagem de lâminas (tipo Koplín)
- Luvas de látex descartáveis
- Lamínulas de 24 X 50 mm
- Papel alumínio
- Estufa a 37°C
- Microscópio para fluorescência

*As lâminas para RIFI são mantidas a -80°C (freezer)

** Os conjugados, a glicerina e o azul de Evans são mantidos entre 2 e 8°C (geladeira)

As lâminas sensibilizadas com antígeno (estocadas em freezer a -80°C), foram mergulhadas em solução tampão de lavagem pH 7,4 (PBS) por 10 minutos e a seguir secas a temperatura ambiente. Os soros foram diluídos em PBS para a titulação inicial de 1:64, que serviu para triagem de positivos. Vinte microlitros da diluição foram adicionados a cada pocinho da lâmina de RIFI sensibilizada com o antígeno, seguindo o mapa de identificação. As lâminas foram incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara húmida, após foram lavadas com PBS por duas vezes de 10 minutos cada. Após secas as lâminas foram adicionadas de conjugado anti-IgG de eqüino composto de Isotiocianato de Fluoresceína (Kirkegaard e Perry Laboratorys, Maryland, USA) e novamente secas em estufa a 37°C por 30 minutos. Após as lâminas foram lavadas em tampão de lavagem adicionada ao corante Azul de Evans, que tingem as células de vermelho facilitando a visualização de riquetsias. Após a secagem em temperatura ambiente e livre de luz, a leitura foi realizada em Microscópio para imunofluorescência. Em cada lâmina havia um controle positivo e um controle negativo para comparação e leitura. Os soros com resultado positivo foram testados para titulações maiores (até 2048).

ANEXO 2 – RESUMOS EM CONGRESSOS

14º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & 2º Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses. (3 a 6 de setembro de 2006) Ribeirão Preto, SP, Brasil.

04.002 – PESQUISA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS A *RICKETTSIA RICKETTSII* EM CAVALOS CARROCEIROS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.

Freitas, M. O.¹, Molento, M. B.¹, Labruna, M. B.³, Silveira, I.³, Biondo A. W.², Grycajuk, M.¹, Caldas, M. L.¹.

1- Departamento de Parasitologia Veterinária – UFPR2- Departamento de Clínica Médica Veterinária – UFPR3- Departamento de Parasitologia Veterinária – USP

A febre maculosa brasileira é uma enfermidade endêmica em vários estados brasileiros, porém ainda não havia sido registrado nenhum caso da doença no Paraná. Em abril de 2005 foi registrado um caso em humano no município de São José dos Pinhais. O objetivo deste trabalho foi determinar a presença de anticorpos específicos reagentes a *Rickettsia rickettsii* em cavalos carroceiros neste município, através de soros de 46 animais. Para tanto foram realizadas colheitas nas datas de 30/04, 17/09, 22/10 e 10/11/2005. Em inquérito realizado com os proprietários, estes responderam que em relação ao controle de carrapatos apenas 27 % realizavam medidas profiláticas. Na inspeção apenas 2 animais (4,34%) possuíam carrapatos, que posteriormente foram classificados no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal do Paraná em *Amblyomma sp* e *Anocentor nitens*. Na pesquisa de anticorpos anti-rickettsiais do grupo febre maculosa através de Reação de Imunofluorescência Indireta, encontrou-se 3 animais sororeagentes, com títulos $\geq 1:64$, perfazendo 6,52% de soropositividade. Estes animais são provenientes de regiões próximas ao foco onde ocorreu o caso índice. O cavalo carroceiro é de suma importância para a determinação do comportamento epidemiológico da febre maculosa brasileira, sendo considerado sentinela para a doença.

p. 361

05.005 – AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA DOS CAVALOS CARROCEIROS EM SÃO JOSÉ DOS PINHAIS, PR.

Freitas, M. O.¹, Molento, M. B.¹, Biondo A. W.², Grycajuk, M.¹, Caldas, M. L.¹.

1- Departamento de Parasitologia Veterinária – UFPR 2- Departamento de Clínica Médica Veterinária – UFPR

Os trabalhadores carroceiros são uma parcela marginalizada da sociedade, tendo em seus animais de tração a fonte de seus sustentos. A partir de uma parceria do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do município de São José dos Pinhais, PR e da Universidade Federal do Paraná, foram realizadas 4 colheitas no ano de 2005, nos dias 30/04, 17/09, 22/10 e 10/11, sendo cadastrados 47 equinos. Elaborou-se um questionário com os proprietários dos cavalos carroceiros, a fim de saber as condições de trabalho e o manejo a que seus animais eram submetidos. Na etapa seguinte foi realizado exame físico, colheita de sangue e fezes e tratamento antiparasitário preventivo. As amostras foram processadas no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal do Paraná. Quando questionados sobre o controle parasitário, 44,7% dos proprietários afirmaram tratar seus animais. No exame coproparasitológico 71,42% dos animais apresentam OPG superior a 300. Em relação ao controle de carrapatos apenas 27,7% afirmaram realizar medidas profiláticas. Na inspeção apenas 2 animais (4,25%) possuíam carrapatos, que posteriormente foram classificados em *Amblyomma sp* e *Anocentor nitens*. Na coloração de mucosa ocular, 12,78% apresentaram palidez e 4,25% apresentaram mucosa ictérica. Quanto aos parâmetros hematológicos, a média obtida no hematócrito de todos os animais foi de 30%, considerada baixa para a espécie, constatando anemia. 34,04% apresentaram hiperfibrinogenemia e todos os animais apresentaram Proteínas Totais dentro dos parâmetros fisiológicos. O grau de parasitismo encontrado corrobora com o índice de animais considerados anêmicos. Estes dados são de suma importância para que se conheça o perfil parasitológico dos cavalos carroceiros do município de São José dos Pinhais, e suas implicações na saúde pública. Fornecendo uma ferramenta que pode auxiliar no processo de inserção social.

p. 388

II Congresso Nacional de Saúde Pública Veterinária. (8 a 11 de outubro de 2007)
Fortaleza, Ceará, Brasil.

PRIMEIROS CASOS DE FEBRE MACULOSA NO PARANÁ.

Marta Freitas¹, Marcelly Grycajuk², Alexander Biondo³, Marcelo Molento³, Marcelo Labruna⁴.

Mestranda¹, acadêmica² e docentes³ do Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, UFPR, Curitiba, PR
zoonoses@ufpr.br

Introdução: A febre maculosa brasileira (FMB) é uma doença de potencial zoonótico, de caráter endêmico, causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* e transmitida pela picada do carrapato do gênero *Amblyomma* sp. infectado. Apresenta gravidade variável e tratamento simples, porém a dificuldade se dá pelo diagnóstico diferencial, devido à semelhança de sintomas com outras doenças exantemáticas. Os equídeos atuam como amplificadores da população de carrapatos, e também como mantenedores da bactéria. A infecção ocorre pela picada do artrópode positivo e o tempo de fixação no hospedeiro deve ser de no mínimo 4 horas para que haja eficiência na transmissão. Os casos de FMB em humanos são acidentais e estão associados ao convívio do homem com animais domésticos: cães e equídeos. Estes últimos são considerados animais sentinelas e atuam como disseminadores da população de carrapatos. O fato de existir íntimo convívio no peri-domicílio humano x cães/equinos aumenta a importância do diagnóstico e do conhecimento epidemiológico desta doença, respeitando as particularidades de cada região. **Objetivos:** Obter informações sobre uma nova área endêmica no estado do Paraná, comprovando a presença da bactéria causadora em área anteriormente considerada livre da doença, com base na confirmação do primeiro caso positivo em humano no Estado. **Metodologia:** O estudo foi realizado no município de São José dos Pinhais, amostras de soro foram obtidas de 75 equídeos de carroceiros entre os meses de abril de 2005 e maio de 2006 e testadas pela técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta para detecção de anticorpos do grupo da febre maculosa. **Resultados:** Houve soropositividade em 7 animais (9,45%) com titulação variando de 1:64 a 1:1024. Foram encontrados carrapatos em 11,84% dos animais, classificados como *Amblyomma* sp e *Anocentor nitens*. e somente um animal soropositivo apresentou o carrapato. **Conclusão:** A importância da detecção da infecção e do carrapato transmissor da FMB em São José dos Pinhais reforça a atenção que se deve dar para estudos epidemiológicos na região para esta zoonose. Existe risco de disseminação da enfermidade pois estes hospedeiros se deslocam por grandes áreas, convivendo próximo a centros urbanos e a fauna sinantrópica regular. Desta forma, prolongando a presença da bactéria no ambiente, aumentando o risco potencial de transmissão da FMB para humanos.

ANEXO 3 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS

A fórmula utilizada para cálculo de margem de erro no estudo com os cavalos de carroceiros foi:

$$d = t \cdot [(N-n)/(N-1)] \cdot \frac{1}{2} \cdot [(P \cdot Q)/n] \cdot \frac{1}{2}$$

Sendo:

d = Margem de erro (%)

t = Abscissa da curva de freqüência da distribuição normal que define a = 5% (valor 4,96).

N= Tamanho da população total.

n = Tamanho da amostra do trabalho.

P = Parâmetro.

Q = Valor complementar de P.

P . Q = Constante = 2500

Considerando a população total de eqüinos das áreas rural e urbana do município de São José dos Pinhais, o N é de 2400 animais (IBGE, 2007), então d = 40%.

Considerando apenas a população de cavalos de carroceiros estimada por agentes comunitários de saúde do município (dado não oficial), o N é de 300, então d = 31%.

Referência:

Zagury, T. **O professor refém: para pais e professores entenderem por que fracassa a educação no Brasil.** Rio de Janeiro. Ed. Record, p. 251-253. 2006.