

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA NO
MUNICÍPIO DE QUIRINÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL**

Autor: Márcio Eduardo Pereira Martins
Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Wília Marta Elsner Diederichsen de Brito

GOIÂNIA
2009



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☐ Dissertação ☒ Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Márcio Eduardo Pereira Martins** E-mail: **marcioeduvet@gmail.com**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? ☒ Sim ☐ Não

Vínculo Empregatício do autor: **Bolsista sem vínculo** Agência de fomento: **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico**

País: **Brasil** UF: **GO** CNPJ: **33.654.831/0001 - 36** Sigla: **CNPq**

Título: **Aspectos epidemiológicos da febre maculosa no Município de Quirinópolis, Goiás, Brasil** Palavras-chave: **cães, carrapatos, eqüinos, RIFI, PCR, Rickettsia spp**

Título em outra língua: **Epidemiological aspects of Brazilian spotted fever in Quirinópolis City, Goiás State, Brazil**

Palavras-chave em outra língua: **dogs, ticks, horses, IFA, PCR, Rickettsia spp.**

Área de concentração: **Sanidade Animal** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **21/12/2009**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Drª. Willa Marta E. D. de Brito - IPTSP/UFG** E-mail: **willa@hotmail.com**

Co-orientador(1): **Drª. Ligia Miranda Ferreira Borges** E-mail: **ligia@iptsp.ufg.br**

Co-orientador(2): **Dr. Guido Fontgalland C. Linhares** E-mail: **guidocfl@vet.ufg.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ ☒ total ☐ parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 23 de fevereiro de 2010

Márcio Eduardo Pereira Martins
Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

MÁRCIO EDUARDO PEREIRA MARTINS

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA NO
MUNICÍPIO DE QUIRINÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL**

Tese apresentada para obtenção do
título de Doutor em Ciência Animal
junto à Escola de Veterinária da
Universidade Federal de Goiás

Área de concentração:

Sanidade Animal

Orientador(a):

Prof^a. Dr^a. Wília Marta E. D. de Brito – IPTSP/UFG

Comitê de Orientação:

Prof^a. Dr^a. Lígia Miranda Ferreira Borges

Prof. Dr. Guido Fontgalland C. Linhares

GOIÂNIA
2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

M386 Martins, Márcio Eduardo Pereira.
Aspectos epidemiológicos da febre maculosa no município de Quirinópolis, Goiás, Brasil [manuscrito] / Márcio Eduardo Pereira Martins. - 2009.
108 f. : il., figs, tabs.

Orientador: Profa. Dra. Wília Marta E. D. de Brito.
Co-Orientadores: Profa. Dra. Lígia Miranda Ferreira Borges, Prof. Dr. Guido Fontgalland C. Linhares.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária, 2009.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras e tabelas.

1. Febre maculosa – Animais domésticos - Quirinópolis (GO)
2. *Rickettsia* spp. - Equinos. 3. *Rickettsia* spp - Cães. 4. Carrapato.
5. Doenças infecciosas – Animais domésticos. I. Título.

CDU: 619:636:616.995.42(817.3)

MÁRCIO EDUARDO PEREIRA MARTINS

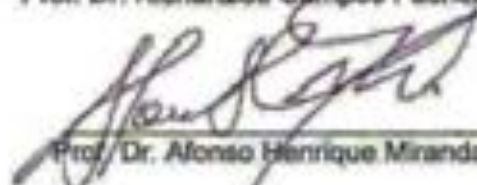
Tese defendida e aprovada em 21/12/2009 pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



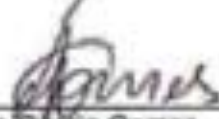
Profa. Dra. Wila Marta Elsner Diederichsen de Brito
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Richard de Campos Pacheco - UFMT/MT



Prof. Dr. Afonso Henrique Miranda – EV/UFG



Prof. Dr. Abraão Garcia Gomes – IPTSP/UFG (memoria)



Dra. Raquel Soares Juliano – EMBRAPA/CPAP

Dedico aos gêmeos Heitor e Davi,
meus queridos, dois belos anjos,
criaturas divinas que amei mais que a
mim....”carinhos, hei de perseverar,
em nome de JESUS...!”

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por minha família, pelo socorro presente, por ter me feito capaz e pelos dons da paciência e perseverança.

Agradeço aos meus pais Jaime e Dalva pelo amor e dedicação com que me criaram, educaram e ainda pelo exemplo de vida.

Agradeço a meu irmão Leonardo pela colaboração na reprodução das cópias da Pré-Tese para o exame de qualificação e por nessa ocasião ter sido meu contato com a Pós-Graduação, já que eu estava residindo em Petrópolis-RJ.

Agradeço a minha co-orientadora Prof^a Dr^a. Lígia Miranda Ferreira Borges pela colaboração na elaboração do Projeto que culminou no presente estudo e no desenvolvimento da pesquisa de identificação de carrapatos.

Agradeço aos colegas Jonas Moraes Filho e Richard Pacheco, na ocasião alunos do Mestrado e Pós-Doutorado, respectivamente, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, pela valiosa e indispensável colaboração no desenvolvimento da pesquisa com riquetsias.

Agradeço a colega Mariana Granziera Spolidorio, na ocasião aluna de Doutorado da Faculdade de Medicina da USP, e ao seu orientador Prof. Dr. Natalino Hajime Yoshinari, coordenador do Laboratório de Doença de Lyme-símile da Faculdade de Medicina da USP, pela prestimosa colaboração no desenvolvimento da pesquisa com *Borrelia* spp.

Ao Prof. Dr. Livre Docente. Marcelo Bahia Labruna, da Universidade de São Pulo, faço menção de singular agradecimento, pois a parte laboratorial cerne do presente estudo não teria sido possível sem seu apoio técnico-científico, estrutural e de fomento. O treinamento e atenção a mim dispensados pelo pesquisador e sua equipe de trabalho na FMVZ-USP foram fundamentais na consolidação deste trabalho.

Agradeço ao Médico Veterinário Edson Paula de Freitas, da Agrodefesa-GO/Quirinópolis e seu auxiliar técnico Maurílio Fraciano Martins, atuantes na colheita de amostras em animais. Igual importância tiveram Silvana

Alves Vilela Mendes e Aparecida Dolores Teodoro Alves da Secretaria Municipal de Saúde de Quirinópolis e a auxiliar técnica Vera Lúcia do Hospital Municipal de Quirinópolis, atuantes na colheita de amostras em humanos.

Meus agradecimentos à Prefeitura de Quirinópolis, por meio de sua secretaria de saúde, pela doação do combustível utilizado em meu veículo particular no deslocamento da área urbana da cidade às propriedades rurais daquele município.

Agradeço a minha orientadora Prof.^a Dr^a. Wília Marta E. D. de Brito pela amizade, disponibilidade na orientação e pela confiança conferida a mim no desenvolvimento desta pesquisa, mostrando-se disposta a cooperar, mesmo com a tarefa de orientar à distância, já que durante o Doutorado, por motivos de forças maiores, tive que me ausentar da cidade de Goiânia, Goiás.

Agradeço a minha banca de Qualificação composta pelos Professores Wília, Lígia, Valéria, Guido e Abraão, pelas relevantes sugestões.

Agradeço ao CNPq pelas 22 parcelas de bolsa que recebi, pois foram fundamentais no custeio de meus gastos pessoais e também no custeio de parte do presente estudo.

Agradeço ao SENAR-GO pela oportunidade de atuar como prestador de serviços no 1º e parte do 2º semestres do curso de Doutorado, ano de 2006, período no qual não tive bolsa. Daí surgiu parte do custeio do presente estudo, a exemplo do meu veículo particular utilizado no deslocamento de Goiânia até Quirinópolis e também nas fazendas em Quirinópolis-GO.

Agradeço a Escola de Veterinária da UFG por ter acreditado em minha capacidade e por ter possibilitado minha formação e qualificação profissional.

Agradeço a Deus por ter provido meu encontro com Kenia, minha esposa, na ocasião da coleta de amostras em Quirinópolis. Agradeço a Deus pela constante realização pessoal, a qual tenho vivido desde o mencionado momento....e agradeço a minha amada por tudo que desde então tenho vivido ao seu lado..."amor!...você me deu meus dois maiores títulos... obrigado por tudo...te amo..."

“As mais importantes descobertas sobre as leis, métodos e progressos da Natureza quase sempre floresceram da pesquisa dos menores objetos que ela contém”

J.B. Lamarck (1809)

SUMÁRIO

	Pág.
Lista de figuras.....	ix
Lista de tabelas.....	x
Resumo.....	xii
 CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	 1
 CAPÍTULO 2 - RIQUETSIOSES POR <i>Rickettsia</i> spp. TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS	
2.1. Introdução.....	14
2.2. Taxonomia das riquetsioses causadas por <i>Rickettsia</i> spp.....	16
2.3. <i>Rickettsia</i> spp. transmitidas por carrapatos.....	17
2.4. Patogenia das riquetsioses causadas por <i>Rickettsia</i> spp.....	27
2.5. Diagnóstico laboratorial das riquetsioses causadas por <i>Rickettsia</i> spp.....	28
2.6. Tratamento e Profilaxia.....	29
2.7. Considerações.....	30
2.8. Referências Bibliográficas.....	31
 CAPÍTULO 3 – PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-<i>Rickettsia</i> spp. EM HUMANOS, CÃES E EQUINOS EM SUPOSTO FOCO DE FEBRE MACULOSA EM QUIRINÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL	
3.1. Introdução.....	39
3.2. Material e Métodos.....	40
3.3. Resultados e Discussão.....	45
3.4. Conclusões.....	54
3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54

CAPÍTULO 4 - ESTUDO SORO-EPIDEMIOLÓGICO DA ETIOLOGIA DA FEBRE MACULOSA NO MEIO RURAL DE QUIRINÓPOLIS, ESTADO DE GOIÁS, BRASIL

4.1. Introdução.....	59
4.2. Material e Métodos.....	62
4.3. Resultados e Discussão.....	66
4.4. Conclusões.....	74
4.5. Referências Bibliográficas.....	75

CAPÍTULO 5 - IDENTIFICAÇÃO E PESQUISA DE *Rickettsia* spp. EM CARRAPATOS COLHIDOS EM CÃES E EQÜINOS DE QUIRINÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL

5.1. Introdução.....	81
5.2. Material e Métodos.....	83
5.3. Resultados e Discussão.....	86
5.4. Conclusões.....	90
5.5. Referências Bibliográficas.....	90

CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 94

LISTA DE FIGURAS

Pág

Capítulo 3

- Figura 1. A. Mapa de Goiás, localizando Quirinópolis ao sul. B. Mapa territorial do Município de Quirinópolis-GO com a localização da zona urbana ao centro.
.....41

Capítulo 4

- Figura 1. A. Mapa de Goiás, localizando Quirinópolis ao sul. B. Mapa territorial do Município de Quirinópolis-GO com a localização da zona urbana ao centro.
.....63

LISTA DE TABELAS

	Pág
Capítulo 3	
Tabela 1	
Título de anticorpos nas amostras humanas soro-positivas na RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., colhidas em fevereiro de 2007, em Quirinópolis-GO.	
.....	46
Tabela 2	
Freqüência de sororeagentes na RIFI para <i>Rickettsia</i> spp. nas amostras de sangue de eqüinos, cães e humanos colhidas em propriedades rurais de Quirinópolis-GO, em fevereiro de 2007.	
.....	47
Tabela 3	
Títulos de anticorpos nas amostras dos eqüinos soropositivos na RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., colhidas em fevereiro de 2007, em Quirinópolis.	
.....	48
Tabela 4	
Títulos de anticorpos nas amostras dos humanos urbanos soropositivos na RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., colhidas em fevereiro de 2008, em Quirinópolis-GO	
.....	50
Tabela 5	
Caracterização dos carrapatos colhidos nos eqüinos parasitados de três propriedades rurais de Quirinópolis, Goiás, em fevereiro de 2007	
.....	52

Capítulo 4

Tabela 1	Frequência de sororeagentes ao RIFI para <i>Rickettsia</i> spp. das amostras de sangue de eqüinos, cães e humanos colhidas em Quirinópolis, Goiás, em março de 2007.....	66
Tabela 2	Título de anticorpos nas amostras, soropositivas ao RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., dos humanos* do meio rural, colhidas em março de 2007, em Quirinópolis-GO.	69
Tabela 3	Sororeagentes ao RIFI com homologia para uma determinada <i>Rickettsia</i> , em amostras de soro de eqüinos colhidas em março de 2007 em Quirinópolis, Goiás.	70
Tabela 4	Título de anticorpos nas reações cruzadas ao RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., em amostras de soro de eqüinos colhidas em março de 2007 em Quirinópolis, Goiás.	71
Tabela 5A	Título de anticorpos das amostras eqüinas soropositivas ao RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., colhidas em março de 2007, na “PR 8” em Quirinópolis-GO	72
Tabela 5B	Título de anticorpos das amostras eqüinas soropositivas ao RIFI para <i>Rickettsia</i> spp., colhidas em março de 2008, na “PR 8” em Quirinópolis-GO.	72

Capítulo 5

Tabela 1	Carrapatos colhidos em eqüinos parasitados, no período de fevereiro e março de 2007, em propriedades rurais de Quirinópolis, Goiás	87
----------	---	----

RESUMO

A febre maculosa (FM), zoonose transmitida ao homem por meio da picada de carrapatos infectados com *Rickettsia* spp., especialmente *R. rickettsii*, surgiu nos Estados Unidos no final do século 19, vindo a ocorrer no Brasil em meados do século 20. Desde então, no Brasil a enfermidade, inicialmente diagnosticada no Estado de São Paulo, passou a ser identificada focalmente em vários municípios, ficando até o final do século 20 restrita aos Estados da Região Sudeste. Já no início do século 21 a FM começou a ser identificada em Estados da Região Sul, concentrando-se em Santa Catarina e também, pontualmente, sendo observada em raros casos ocorridos em Estados das demais regiões do país: Distrito Federal, Bahia, Amapá e Rondônia. Diante do exposto, e visando colaborar com o serviço de Epidemiologia em Goiás, o presente Estudo inédito em toda a Região do Centro-Oeste, se propõe e cria condições de marco inicial para a vigilância da FM neste Estado, por meio de inquérito sorológico com a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em soros de animais e humanos, além da pesquisa de carrapatos vetores. O presente estudo se deu no Município de Quirinópolis-GO, e apesar de não terem sido detectados, na reação em cadeia pela polimerase (PCR), carrapatos infectados com *Rickettsia* spp., o principal vetor de FM no Brasil, o carrapato *Amblyomma cajennense*, foi observado. Em prévio estudo piloto realizado em fevereiro de 2007, em Quirinópolis-GO, a sorologia pela RIFI detectou reagentes em 25% (7/28) dos humanos de um grupo de indivíduos conviventes com um caso suspeito de FM, que foi notificado ao Ministério da Saúde (MS) do Brasil em 2006, e em 0% (0/5) dos cães e 28,6% (12/42) dos eqüinos oriundos de 3 propriedade rurais onde esse caso suspeito esteve antes da manifestação dos sinais de enfermidade. Houve eqüinos sororeagentes em duas dessas três propriedades rurais. Não foi possível rastrear a provável fonte de infecção, mas os achados aqui obtidos permitem suspeitar que o caso suspeito de FM tenha tido em uma dessas duas propriedades rurais a fonte antigênica do provável contato com bactérias do grupo da FM ou microrganismos antigenicamente semelhantes. Já no estudo dimensionado epidemiologicamente para eqüinos, realizado em março de 2007 em 20 propriedades rurais, foi encontrada a prevalência de sororeagentes de 11,6% (39/335) entre os eqüinos e a frequência de soropositivos de 36,6% (15/41) entre os humanos e de 16,7% (2/12) entre os cães oriundos dessas propriedades de criação de eqüinos. Os humanos soropositivos aqui testados eram assintomáticos para FM no momento da coleta de amostras. Concluiu-se que a FM, ou doença antigenicamente semelhante, possa estar ocorrendo no Estado de Goiás, no Município de Quirinópolis.

Palavras-chave: cães, carrapatos, eqüinos, RIFI, PCR, *Rickettsia* spp

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

Durante muitos anos, desde as primeiras descrições da “febre maculosa das montanhas rochosas” (FMMR) ocorridas durante o final da década de 1890 nos Estados Unidos da América (EUA), a *Rickettsia rickettsii* foi a única bactéria patogênica indicada como agente etiológico desta enfermidade que deixou as fronteiras dos EUA e começou a ser identificada em vários países do continente americano.

Atualmente, existe uma gama de agentes infecciosos pertencentes ao gênero *Rickettsia* capazes de causar uma série de enfermidades, algumas com quadros clínicos mais severos, com risco de morte eminente, outras com sinais brandos e sem letalidade. Muitas dessas enfermidades são emergentes e seus agentes antes eram desconhecidos ou considerados não deletérios ao organismo humano ou animal.

A capacidade de disseminação de espécies de *Rickettsia* está intimamente ligada ao poder de dispersão e adaptação de seus vetores artrópodes, os quais atuam na manutenção e amplificação desses agentes na natureza. Dentro dessa premissa, animais silvestres vertebrados e de sangue quente possuem fundamental importância, seja como organismos hospedeiros de vetores, seja como hospedeiro assintomático de *Rickettsia* spp., persistentemente infectado, e/ou mantenedor dos ciclos enzoóticos desses agentes.

Os carrapatos são os vetores que albergam mais espécies de microrganismos que qualquer outro artrópode, incluindo o grupo dos mosquitos (HOOGSTRAAL, 1985). São os vetores artrópodes mais atuantes na transmissão e disseminação de enfermidades causadas por espécies patogênicas de *Rickettsia*. Os chamados “carrapatos duros”, da família *Ixodidae* atuam como vetores, reservatórios ou amplificadores de riquetsias do grupo febre maculosa (GFM) (RAOULT et al., 2005).

Esses vetores também atuam como hospedeiros dessas bactérias. Embora haja indícios de que algumas dessas riquetsias sejam deletérias aos organismos dos vetores, a capacidade de adaptação e perpetuação dos vetores, que é extremamente eficiente, sobrepõe-se à referida patogenicidade, a exemplo

da família *Ixodidae*, que engloba a maioria das espécies de carrapatos que ocorrem no Brasil, dentre eles os de maior importância médico-veterinária, onde cada fêmea pode colocar de 1.000 a 20.000 ovos, variando conforme espécie e tamanho da fêmea. Dessas espécies, o carrapato *Amblyomma cajennense*, cuja teleógina pode produzir cerca de 7.000 ovos, os quais sob circunstâncias adequadas geram até 95% de larvas viáveis, assume fundamental importância, pois é considerado o principal vetor da FM no Brasil (SUCEN, 2004).

Nos vertebrados, incluindo os humanos, *R. rickettsii* se multiplica e têm predileção pelas células endoteliais. Nos carrapatos vetores da doença, a bactéria é capaz de se multiplicar em células dos intestinos, ovários, glândulas salivares, túbulos de Malpighi e hemolinfa (WEISS & MOULDER, 1984; YU & WALKER, 2003). Carrapatos machos podem transferir *R. rickettsii* para a fêmea através de fluidos corporais ou esperma durante a cópula (RAOULT et al., 2005). No Brasil o carrapato *Amblyomma cajennense* é responsável pela manutenção de *R. rickettsii* na natureza pois ocorre transmissão transovariana e transestadial (MONTEIRO & FONSECA, 1932; MONTEIRO et al., 1932 ; BRUMPT, 1933; AZAD & BEARDT, 1998).

Os carrapatos vetores de *R. rickettsii* para humanos, conhecidos até o momento, são *Dermacentor andersoni*, *Dermacentor variabilis* e *Rhipicephalus sanguineus* nos EUA (DEMMA et al., 2005; CDC, 2006); *R. sanguineus* e *A. cajennense* no México (BUSTAMANTE & VARELA, 1947); *A. cajennense* no Panamá (RODANICHE, 1953); *A. cajennense* (PATINO-CAMARGO, 1941); possivelmente o *R. sanguineus* na Colômbia (LABRUNA, 2006a); e no Brasil, até o momento, o *A. cajennense* e *A. aureolatum* (GUEDES et al., 2005; PINTER & LABRUNA, 2006).

Embora a bactéria também seja transmitida hereditariamente entre sucessivas gerações de uma população de carrapatos, apenas este mecanismo não seria suficiente para mantê-la ativa ao longo do tempo, uma vez que há evidências laboratoriais de que *R. rickettsii* seja patogênica para o carrapato vetor (BURGDORFER, 1988). Desta forma, alguns animais silvestres desempenham efeito amplificador garantindo a manutenção da bactéria na natureza. Nesse caso, o hospedeiro amplificador mantém a bactéria em níveis altos em sua corrente sangüínea por alguns dias ou semanas, garantindo que novos carrapatos se

infectem e mantendo, assim, ativa a infecção na população de carrapatos (BURGDORFER, 1988).

Além da espécie humana, a *R. rickettsii* causa infecção aguda em outros vertebrados, como as capivaras, gambás, coelhos, eqüinos e cães (GALVÃO, 1999) e possivelmente outros. Um estudo realizado em São Paulo, com humanos, cães e cavalos, apontou cavalos e cães como excelentes animais sentinelas, demonstrando que esses animais soro-positivos são um forte indicador da FM nas áreas onde os seres humanos são expostos ao carrapato vetor (SANGIONI et al., 2005). A capivara, hospedeiro específico para o carrapato *A. dubitatum* (SUCEN, 2004; NOGUEIRA & CRUZ, 2007) e potencial amplificador de *Rickettsia rickettsii* (TRAVASSOS & VALLEJO, 1942a, b; NOGUEIRA & CRUZ, 2007; SOUZA et al., 2009), no Brasil constitui um elo importante na transmissão de FM e manutenção da *Rickettsia rickettsii* na natureza (SUCEN, 2004; NOGUEIRA & CRUZ, 2007).

As espécies de *Rickettsia* são classificadas em três grupos, baseando-se em padrões antigênicos, morfológicos, moleculares e ecológicos. Desses, o mais importante tem sido o Grupo da Febre Maculosa (GFM), onde a maioria das bactérias está associada primariamente a carrapatos. No GFM existem cerca de 60 espécies de riquetsias, das quais aproximadamente 20 têm sido indicadas como patogênicas para seres humanos, sendo transmitidas por vetores artrópodes. A *R. rickettsii*, atualmente a bactéria mais importante do GFM, é a que tem maior incidência e letalidade causando a FMMR nos EUA e a “febre maculosa brasileira” no Brasil (OPAS, 2004; CDC, 2006; LABRUNA, 2006a; LABRUNA, 2009; PAROLA et al., 2009). Na Colômbia, Panamá, México e Costa Rica esta mesma doença é chamada “fiebre manchada” (GUEDES et al., 2005).

Nas Américas, as espécies de *Rickettsia* presentes que podem causar febre maculosa em humanos são *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. africae*, *R. akari*, *R. felis* e *R. massiliae*. Várias outras espécies têm sido descritas em carrapatos nas Américas, porém sem qualquer associação com casos de febre maculosa em humanos (DÍAZ, 2001; OPAS, 2004; PAROLA et al., 2009; LABRUNA, 2009).

Segundo dados do Ministério da Saúde (MS) do Brasil, no período de 1997 a 2008, foram confirmados 641 casos de FM no Brasil, limitados a alguns municípios dos estados de São Paulo (265 casos), Minas Gerais (168 casos),

Espírito Santo (30 casos), Rio de Janeiro (52 casos), Paraná (quatro casos), Santa Catarina (113 casos), Rio Grande do Sul (quatro casos) e Distrito Federal (dois casos) (BRASIL, 2009a). A região Sudeste está em primeiro lugar não somente na ocorrência da enfermidade com 515 casos confirmados (de 1997 a 2008), como em registro de óbitos por FM com 144 casos (de 1990 a 2008), seguida da região Sul com 121 casos confirmados e sem letalidade registrada. Aparentemente a doença tem se disseminado para Estados antes considerados indenes para FM, como é a situação dos Estados da região Sul, aonde a ocorrência vem crescendo. A região Centro-Oeste, até o presente momento tem ocorrência de FM limitada aos dois casos registrados no DF (BRASIL, 2009b). Ainda de acordo com informações do MS (de 1995 a 2006) em relação ao gênero, 73% das pessoas acometidas pela doença são do sexo masculino e 27% do sexo feminino, com maior frequência na faixa etária de 20-29 anos, com taxa de letalidade média de 27%. Em relação ao local, 45% dos casos ocorreram em São Paulo, Estado onde se registra a maior letalidade da doença, principalmente nas regiões de Campinas e Pedreira e 31% ocorreram em Minas Gerais (BRASIL, 2009c).

A significativa ocorrência de FM em estados brasileiros, que até recente data eram considerados indenes para FM, a alta incidência da doença em São Paulo e Minas Gerais, Estados limítrofes a Goiás, a ocorrência de dois casos de FM no DF confirmados pelo MS, o suspeito caso relatado ao MS pela Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde, da Secretaria de Estado da Saúde, Goiás, onde houve a seguinte descrição e depoimento:

“...em fevereiro de 2006, uma criança de três anos de idade foi levada ao Hospital Municipal de Quirinópolis-GO, apresentando sinais de febre, com temperatura de 38°C e uma mancha rósea no pescoço. A criança foi encaminhada ao Hospital Materno Infantil em Goiânia-GO onde ficou hospitalizada por 53 dias. Exames laboratoriais complementares foram solicitados e duas amostras de sangue, com intervalo de 15 dias, foram colhidas e enviadas à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, de acordo com o protocolo oficial do Ministério da Saúde (MS).

Exames laboratoriais confirmaram que a criança teve contato com agente da FM e o diagnóstico médico assim considerou o quadro clínico. Após tratamento com antibióticos específicos segundo recomendação do MS a criança evolui para a cura. Dados obtidos com os responsáveis pela criança destacam que o pai era vaqueiro de uma fazenda e na residência havia cães infestados por carrapatos. A mãe da criança relatou que ela sempre “pegava” carrapatos. Apesar da presença desses artrópodes terem sido observados, não foi realizada a identificação da espécie de carrapato infectante. Este foi o primeiro caso suspeito de FM registrado neste município e no Estado de Goiás... ” (Caso notificado, porém não publicado - OLIVEIRA, 2006; MARTINS, 2007),

,....associados a total ausência de informações sobre a doença e seus agentes e vetores no Estado de Goiás motivaram a condução do presente estudo, que visou, em primeira instância obter dados sobre a febre maculosa na região onde foi identificado o caso suspeito.

Assim, tais informações podem ser utilizadas para a elaboração de medidas preventivas a fim de se evitar que a doença ocorra em maiores proporções. Importante se faz uma participação integrada da sociedade, em seus diversos segmentos envolvidos em saúde pública, de modo cooperativo para viabilizar estratégias e caminhos a seguir na tentativa de conter um possível avanço desta enfermidade. O exposto evidencia a necessidade de geração de dados por meio de pesquisas que avaliem criteriosamente, dentre outros aspectos a cadeia epidemiológica agente-vetor-hospedeiro em Goiás.

Sabe-se que no homem, o período de incubação da FM varia de dois a 14 dias, sendo comum o relato de picadas de carrapato. A doença inicia-se com febre, cefaléia e mialgia intensa. Após dois a seis dias surgem as manifestações cutâneas (petéquias, máculas), podendo ocorrer edemas nos membros inferiores e oligúria. Se não houver uma rápida e específica intervenção medicamentosa, a enfermidade evolui para infecção generalizada, com complicações pulmonares, vasculares, desidratação, choque, coma e morte (GALVÃO, 1993). Mas, a

inexistência de sinais patognomônicos dificulta o diagnóstico diferencial de outras enfermidades que cursam de forma clínica semelhante (GUERCIO et al., 1997).

Em março de 2009, no Brasil, houve relato de dois cães com FM por infecção naturalmente adquirida após exposição destes animais em área endêmica para FM em São Paulo. Os cães domiciliares foram levados ao campo e retornaram infestados por carrapatos. Esses animais apresentaram os seguintes sintomas: febre de 40°C, anorexia, letargia, ataxia, nistagmo, diarreia e vômito. Os dois cães foram tratados com doxiciclina e se recuperaram. Na suspeita de FM, demais exames laboratoriais específicos foram solicitados e confirmaram a etiologia da FM, indicando infecção por *R.rickettsii* (LABRUNA et al., 2009).

Os achados clínicos iniciais em cães são febre (39,2 a 40,5°C), ocorrendo de quatro a cinco dias após a picada do carrapato (WARNER, 2002), anorexia, depressão, petéquias e equimoses, epistaxe, alterações esclerais e conjuntivites (BREITSCHWERDT, 1988), tosse, dispnéia e aumento de sons broncovesiculares, linfadenite, perda de peso e desidratação são também sinais clínicos comuns (LISSMAN, 1980). Edema de extremidades é freqüentemente encontrado em lábios, orelhas, mucosa peniana e escroto. Ao final da doença ou na convalescença são encontradas necroses de extremidades. Outros achados podem incluir dor abdominal, anorexia, *status* mental alterado (sinais de depressão e estupor), mialgia, poliartrite, andar em círculo e nistagmo (WARNER, 2002).

Embora NORMENT & BURGDORFER (1984) tenham relatado que cães domésticos experimentalmente infectados com *R. rickettsii* não desenvolvem riquetsemia para infectar mais que 1% de carrapatos *R. sanguineus*, o papel do cão permanece controverso na literatura (WEISS & MOULDER, 1984). PIRANDA et al. (2006) constataram que 20% dos carrapatos *R. sanguineus* se infectaram quando alimentados em cães riquetsêmicos, sugerindo um papel amplificador deste animal em áreas endêmicas. Casos humanos de FM (*R.rickettsii*) transmitida pelo carrapato *R. sanguineus* no Arizona (EUA) reergueram a hipótese de cães desempenharem o papel de hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii*, uma vez que todos os estágios parasitários de *R. sanguineus* parasitam

primariamente o cão doméstico, o qual foi possivelmente a fonte de infecção para os carrapatos *R. sanguineus* no foco endêmico do Arizona (DEMMA et al., 2005).

O diagnóstico da FM pode ser feito através de testes sorológicos para a pesquisa de anticorpos como, por exemplo, a reação de Weil-Félix, que utiliza antígenos não rickettsiais (WHO, 1988) e métodos imunoenzimáticos (ELISA e western-blotting), que são de difícil reprodução pela necessidade de purificação de antígenos (NASCIMENTO, 2003). Em função disso, esses testes não são muito utilizados.

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI), método padrão-ouro para a FM segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1988), é preconizado pelo MS do Brasil como a técnica sorológica para o diagnóstico das riquetsioses (BRASIL, 2005) e é, também, a técnica de referência utilizada pelo “Centers for Disease Control and Prevention” (CDC). É um teste simples e econômico para o diagnóstico precoce de riquetsioses, estudos soroepidemiológicos (LA SCOLA & RAOULT, 1997).

O isolamento e identificação direta do agente, outra forma de diagnóstico, são demorados e limitados, pois além de serem realizados sob específicas condições de biossegurança, não permitem o diagnóstico precoce (MARRERO & RAOULT, 1989; NASCIMENTO, 2003; BRASIL, 2005). A imunohistoquímica, que consiste na pesquisa de antígenos em cortes histológicos é uma técnica mais utilizada na histopatologia (PADDOCK et al., 1999).

Entre as técnicas de biologia molecular, a reação em cadeia da polimerase (PCR) é um método rápido e eficiente e tem sido amplamente utilizada em estudos epidemiológicos ou de surtos de riquetsioses para detecção de *Rickettsia* sp em carrapatos (SANGIONI, 2003; LABRUNA et al., 2005; SILVEIRA, 2006; PACHECO, 2007; OLIVEIRA et al., 2008; MORAES-FILHO et al., 2009).

Outra técnica disponível consiste na amplificação de segmentos de DNA comum às riquetsias, como o gene que codifica a proteína de 17 kDa (*htrA*), e/ou o gene citrato sintase (*glTA*) e ainda amplificação de segmentos de genes que codificam proteínas de superfície de membrana A (*OmpA*) do GFM com posterior digestão por enzimas de restrição, a fim de obter mapas de fragmentos de DNA espécie-específicos (MARRERO & RAOULT, 1989).

Um dos grandes limitantes das técnicas moleculares, além de serem onerosas, se refere ao fato de existirem diversos fatores deletérios, tais como a ação de DNases, RNases, a inibição da reação pelo íon Fe^{+2} ou pela heparina, que originam resultados falsos negativos (GALVÃO et al., 2005).

Partindo-se da investigação de um suposto foco ocorrido no Município de Quirinópolis, por meio da avaliação da presença de carrapatos vetores infectados com *Rickettsia* sp. e de inquérito sorológico por RIFI em amostras de sangue colhidas em seres humanos e animais domésticos relacionados, o presente estudo teve por objetivo principal estudar a febre maculosa em Quirinópolis, Estado de Goiás.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AZAD, A. F.; BEARDT, C. B. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. **Emergent Infectious Disease**, v. 4, p. 179-186, 1998.
2. BRASIL. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2008*. Acessado dia 13/03/2009(a). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_maculosa.pdf
3. BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 6ed. Brasília:Ministério da Saúde, 816p, 2005.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990-2008. Acessado dia 13/03/2009(b). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_por_febre_maculosa.pdf
5. BRASIL. Ministério da Saúde/Coordenação de Vigilância das Doenças Transmitidas por Vetores e Antropozoonoses. Febre maculosa: informações técnicas, aspectos epidemiológicos. Acessado dia 26/03/2009(c). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=270211
6. BREITSCHWERDT, E.B.; WALKER, D.H.; LEVY, M.G. et al. Clinical, hematologic, and humoral immune response in female dogs inoculated with *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia montana*. *Am. J. Vet. Res.*, v.49, n.1, 1988.
7. BRUMPT, E. Transmission de la fièvre pourprée des Montagnes rocheuses par la tique américaine *Amblyomma cajennense*. *Comptes Rendues des Seances de la Société de Biologie*, v.144, p.416-419, 1933.
8. BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrub typhus. **Biology of Rickettsial Diseases**, v.1, p.33-50, 1988.
9. BURGDORFER, W.; NEWHOUSE, V.F.; PICKENS, E.G.; LACKMAND, B. Ecology of rocky mountain spotted fever in Western Montana – I. Isolation of

Rickettsia rickettsii from wild mammals. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. n.76, p.293-301, 1962.

10.BUSTAMANTE, M.E.; VARELA, G. Distribucion de las rickettsias en Mexico. **Rev Inst Salub y Enf Trop**. v.8, p.3-14, 1947.

11.CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. CDC, Atlanta, GA. v.55, n.RR-4, 36p, 2006.

12.DEMMA, L.J.; TRAEGER, M.S.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D.; BLAU, D.M.; EREMEEVA, M.E.; DASCH, G.A.; LEVIN, M.L.; SINGLETON, J. JR.; ZAKI, S.R.; CHEEK, J.E.; SWERDLOW, D.L.; MCQUISTON, J.H. Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. **N Engl J Med**, v.353, n.6, p.551-553, 2005.

13.DÍAZ, I. A. C. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (febre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella), Estado actual en Uruguay. **Rev Med Uruguay**; v. 17, n. 2, p.119-124, 2001.

14.GALVÃO, M. A. M. Febre Maculosa. **Revista da Pesquisa e Pós-graduação**. Ouro Preto: UFOP. v. 1, n.1 JAN./JUN. 1999.

15.GALVÃO, M.A.M. Febre maculosa. In: PEDROSO E.R.P., ROCHA, M.O.C., SILVA, O.A. **Clínica Médica**: os princípios da prática ambulatorial. São Paulo: Atheneu, 1993. p. 1374-1388.

16.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 Saúde Pública**. v. 39, n. 5, p. 850-6, 2005.

17.GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M.C.A.; PACHECO, R.C.; WALKER, D.H.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.100, n.8, p.841-845, 2005.

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

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

20.LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of Rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new Rickettsial diseases. **J. Clin. Microbiol.**, v.35, p.2715-27, 1997.

21.LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M.A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.127, p.169–174, 2005.

22. LABRUNA, M.B. Epidemiologia da Febre Maculosa no Brasil e nas Américas. In: I SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 2006a, Viçosa-MG. **ANAIS...** Viçosa: 2006, p.63-78.

23.LABRUNA, M. B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C. Rocky Mountain Spotted Fever in Dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, n. 3, p.458-460, 2009.

- 24.LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad. Sci. **New York Academy of Sciences**. 11p. 2009. No prelo.
- 25.LISSMAN, B.A.; BENACH, J.L. Rocky Mountain Spotted Fever in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., v.176, n.15, 1980.
- 26.MARRERO, M.; RAOULT, D. Centrifugation-shell vial technique for rapid detection of Mediterranean spotted fever *Rickettsia* in blood culture. **Am J Trop Med Hyg**, v. 40, p.197-9, 1989.
- 27.MARTINS, E. C. Comunicação pessoal, fornecida pela Gerência Técnica de FM do MS-Brasília, durante o “5º Seminário de Doenças Transmitidas por Carrapatos”, realizado pela Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo/SUCEN/Regional de Campinas-SP e Unicamp, Campinas, 2007.
28. MONTEIRO, J. L.; FONSECA, F. Typho exanthematico de S. Paulo – Novas experiências sobre transmissão experimental por carrapatos (*Boophilus microplus* e *Amblyomma cajennense*). Memórias do Instituto Butantã, v.7, p.33-40, 1932.
- 29.MONTEIRO, J.L.; FONSECA, F.; PRADO, A. Typho endêmico se São Paulo – VI. Pesquisas sobre a possibilidade da transmissão experimental do vírus por Ixodidae. Brasil Médico, v.46, n.3, p.49-52, 1932.
- 30.MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R.C.; GUTMANN, T.B.; BARBOSA, S.O.; GONZÁLES, M.AR.M.; MURARO, M.A.; CECÍLIO, S.R.M.; LABRUNA, M.B. New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. V.9, n.1, p.73-78, 2009.
- 31.NASCIMENTO, E. M. M. **Isolamento e detecção molecular de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, a partir de *Amblyomma cajennense* e espécimes biológicos humanos, procedentes de áreas endêmicas do Estado de São Paulo**. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2003.
- 32.NOUEIRA, M.F.; CRUZ, T.F. **Doenças da Capivara**. 1 ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007, 74p. Disponível no site: http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=Livro030
- 33.NORMENT, B.R.; BURGDORFER, W. Susceptibility and reservoir potential of the dog to spotted fever group rickettsiae. **Am. J. Vet. Res.**, v.45, p.1706-10, 1984.
- 34.OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.A.; SILVA JR, A.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, D.H.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, V.103, n.2, p.191-194, 2008.
- 35.OLIVEIRA, VAC. Comunicação pessoal - Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde, da Secretaria de Estado da Saúde, Goiás, 2006.
- 36.OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas – Relatório Final. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 18 - 19 de setembro de 2004. Disponível no site: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf>

37. PACHECO, R.C. **Pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma dubitatum* Neumann 1899 e *Amblyomma triste* Kock 1844, provenientes do Brasil e Uruguai, respectivamente.** 2007. 51f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
38. PADDOCK, C. D.; GREER, P. W.; FEREBEE, T. L.; SINGLETON, Jr. J.; McKECHNIE, D. B.; TREADWELL, T. A. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: immunohistochemical detection of fatal, serologically unconfirmed disease. **Journal of Infections Disease.** v. 179, p.1469-76, 1999.
39. PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-Borne Rickettsioses in America: Unanswered Questions and Emerging Diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v.11, p.40–50, 2009.
40. PATINO-CAMARGO, L. Nuevas observaciones sobre un tercer foco de fiebre petequial (maculosa) en el hemisferio americano. **Bol. De la Ofic. Sanit. Panamericana.** v.20, p.1112-24, 1941.
41. PIRANDA, E.M.; PINTER, A.; PACHECO, R.C. Avaliação preliminar do cão doméstico como fonte de infecção por *Rickettsia rickettsii* para carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* LATRIELLE, 1806 (Acari: Ixodidae). In: XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 2006, Ribeirão Preto-SP. **ANAIS...** Ribeirão Preto:2006, pág.366.
42. PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.1078, p.523-9, 2006.
43. 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.
44. RODANICHE, E.C. Natural infection of the tick *Amblyomma cajennense* with *Rickettsia rickettsii* in Panama. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.2, p.696-9, 1953.
45. SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães e eqüinos e adultos de *Amblyomma cajennense*, em área endêmica e não-endêmica do Estado de São Paulo.** 2003. 86f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
46. SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Infection in Animals and Brazilian Spotted Fever Endemicity. **Emerging Infectious Diseases.** v. 11, n. 2, p.265-270, 2005.
47. SILVEIRA, I. **Investigação da infecção pela bactéria *Rickettsia parkeri* em carrapatos *Amblyomma triste* no Estado de São Paulo.** 2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
48. SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.; BORBA, R.C.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and

evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, 2009. No prelo.

49.SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Manual de Vigilância Acarológica**, São Paulo: SUCEN, 2004, 62p.

50. TRAVASSOS, J.; VALLEJO, 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. Mem. Inst. Butantã, v.15, p. 73-86, 1942a.

51. TRAVASSOS, J.; VALLEJO, A. Possibilidade de *Amblyomma cajennense* se infectar em *Hydrochoerus capybara* experimentalmente inoculado com o vírus da febre maculosa. Mem. Inst. Butantã, v.15, p. 87-90, 1942b.

52. WARNER, R.D.; MARSH, W.W. Rocky Mountain spotted fever, J. Am. Vet. Med. Assoc., v.15, 2002.

53. WEISS, E.; MOULDER, J.W. The Rickettsias and Chlamydias. In: N.R. Kreig & J.G. Holt, 1984, Baltimore, Bergey's. **Manual of Systematic Bacteriology**, v.1, 1984.

54. WHO. World Health Organisation. Laboratory diagnosis of Rickettsial diseases. **Bull World Health Organ**, v.66, p. 283-420, 1988.

55. YU, X.J.; WALKER, D.H. The Order Rickettsiales. In: M Dworkin, the Prokaryotes: an evolving electronic resource for the microbiology community, 2003, New York, Springer-Verlag, 3 ed., 2003.

CAPÍTULO 2 – RIQUETSIOSSES POR *Rickettsia* spp. TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS

Resumo. Em anos recentes, espécies de *Rickettsia* têm sido apontadas como causadoras de enfermidades emergentes. Neste contexto, várias riquetsias eram consideradas apatogênicas e outras nem mesmo eram conhecidas. Atualmente, as riquetsioses apesar de manterem caráter endêmico estão presentes em países de todos os continentes do mundo. As *Rickettsia* spp. habitam ovários de artrópodes hospedeiros e dentre os tipos de vetores os carrapatos são os mais comuns na transmissão dessas bactérias. Varias espécies de *Rickettsia* patogênicas para seres humanos são transmitidas por carrapatos: *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. africae*, *R. australis*, *R. honei*, *R. sibirica*, *R. japonica*, *R. slovaca*, *R. sibirica mongolotimonae*, *R. helvetica* e *R. parkeri*. Três espécies emergentes também têm nos carrapatos seus mais prováveis vetores: *R. massiliae*, *R. aeschlimannii* e a *R. amblyommii*. A riquetsiose mais importante nas Américas é a causada pela *R. rickettsii*. No Brasil, onde é crescente a infecção por *R. rickettsii* conhecida como febre maculosa brasileira (FMB), no período de 1997 a 2008, foram confirmados 641 casos de febre maculosa pelo Ministério da Saúde. As riquetsioses encontram-se em ampla disseminação e embora ainda tenham caráter endêmico, a globalização das espécies de riquetsias é uma tendência que se constata pela facilidade de difusão em vetores artrópodes. Embora exista dados sobre os vários agentes e suas moléstias, a participação de mais de uma espécie de riquetsia por moléstia não é descartada. Os sinais e sintomas das riquetsioses causadas por *Rickettsia* spp. são muito semelhantes e, em grande parte, indistinguíveis.

Palavras-chave: artrópodes, FMB, humanos, patogênicas, *Rickettsia*, vetores

Abstract. In recent years, *Rickettsia* species have been pointed as causing of emergent diseases. In this context, many *Rickettsia* species were not considered pathogenic and another they were unknown. Currently, rickettsioses although to keep endemic character the continents of the world are in countries of all. The *Rickettsia* spp. inhabit ovary of arthropods hosts and amongst tick-borne types are most common in the transmission of these bacteria. Many pathogenic human *Rickettsia* species are transmitted by ticks: *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. africae*, *R. australis*, *R. honei*, *R. sibirica*, *R. japonica*, *R. slovaca*, *R. sibirica mongolotimonae*, *R. helvetica* and *R. parkeri*. Rickettsiose more important in Americas is the caused one for *R. rickettsii*. In the Brazil, where the infection for *R. rickettsii* is increasing, known as Brazilian spotted fever (BSF), between 1997 and 2008, 641 BSF cases had been confirmed for the Health Department from Brazil. Rickettsiosis meets in ample dissemination and even so still they have endemic character, but the globalization of the *Rickettsia* species is a trend that if evidences for the easiness of diffusion in vectors arthropods. Although it exist given on some agents and its diseases, the participation of more than a *Rickettsia* species for disease is not discarded. The signals and symptoms of rickettsiosis caused by *Rickettsia* sp. are very similar and in the majority, it's indistinguishable.

Key-words: BSF, human, dissemination, pathogenic, *Rickettsia*, tick-borne

2.1. INTRODUÇÃO

Riquetsioses são zoonoses causadas por bactérias da Família Rickettsiaceae, no passado constituída pelos gêneros *Rickettsia*, *Orientia*, *Coxiella*, *Bartonella*, *Ehrlichia* e *Anaplasma* (AZAD & BEARD, 1998), mas atualmente somente pelos dois primeiros gêneros (DUMLER et al., 2001). A presente revisão será restrita ao gênero *Rickettsia*, dada sua crescente importância na saúde coletiva mundial.

Em anos recentes, algumas espécies de *Rickettsia* têm sido apontadas como causadoras de enfermidades muitas vezes desconhecidas ou emergentes, pois nem eram consideradas patogênicas, à exemplo da *Rickettsia massiliae* na Itália (VITALE et al., 2006), *Rickettsia aeschlimannii* em viajante que retornou do Marrocos (RAOULT & FOURNIER, 2002), *Rickettsia parkeri* na Virginia, EUA (PADDOCK et al., 2004) e a *Rickettsia amblyommii*, suspeita de causar riquetsiose na Carolina do Norte, EUA (APPERSON et al., 2008). Essas doenças têm ocorrido em várias regiões do mundo, ora se manifestando de forma mais branda ora responsável por óbitos. A percepção da importância das doenças causadas por riquetsias em saúde pública vem crescendo, pois estão associadas a vetores artrópodes (carrapatos, pulgas, piolhos e ácaros) com ampla distribuição mundial, mantidos na natureza por hospedeiros que atuam como amplificadores de riquetsias, todavia, ainda ocorrendo de forma endêmica.

As espécies de *Rickettsia* mantêm ciclos silvestres e enzoóticos na natureza, e muitas são agentes de zoonoses transmitidas especialmente por carrapatos. Dessas, as “febres maculosas” são as de maior impacto e incidência mundial, principalmente a “febre maculosa das montanhas rochosas” (FMMR) de distribuição em vastas áreas de países das Américas (OPAS, 2004, CDC, 2006; SUCEN, 2009).

Durante a Segunda Grande Guerra surgiram avanços no controle das riquetsioses, como o uso de inseticidas no combate aos vetores e o advento dos antibióticos para o seu tratamento. Mas, ainda assim, essas doenças continuam fazendo vítimas em todo mundo, estando dentre os principais motivos o diagnóstico inexistente ou tardio, a ausência de sinais patognomônicos, o

desconhecimento por parte de agentes de saúde, falta de experiência médica e/ou tratamentos específicos (GALVÃO et al., 2005; BRASIL, 2005).

A riquetsiose mais importante nas Américas é a causada pela *Rickettsia rickettsii* (CDC, 2006; SUCEN, 2009). A doença descrita em 1899, nos Estados Unidos, fez inúmeras vítimas desde a sua descoberta naquele país, onde já foi notificada em todos os estados, exceto no Havaí, Vermont, Maine e Alasca (CDC, 2006).

Nas Américas, as espécies de *Rickettsia* presentes que podem causar febre maculosa em humanos são *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. africae*, *R. akari*, *R. felis* e *R. massiliae*. Várias outras espécies do GFM têm sido descritas em carrapatos nas Américas, porém sem qualquer associação com casos de febre maculosa em humanos (DÍAZ, 2001; OPAS, 2004; CICUTTIN et al., 2004; SILVEIRA, 2006; PAROLA et al., 2009; LABRUNA, 2009).

No Brasil, no período de 1997 a 2008, foram confirmados 641 casos de febre maculosa pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2009). Devido à sua crescente importância, desde 2001 tornou-se de notificação compulsória (BRASIL, 2001).

As manifestações clínicas dessas infecções são muito semelhantes e superpostas, dificultando com isto o diagnóstico etiológico. A crescente importância em Saúde Pública, não só pela identificação de várias espécies novas como seus respectivos quadros clínicos, tem levantado o interesse por parte de pesquisadores, os quais vêm reconhecendo que a incidência e distribuição das riquetsioses são maiores do que se pressupunha anteriormente.

Os movimentos migratórios, o turismo e atividades realizadas em áreas endêmicas do exterior possibilitam a introdução de agentes infecciosos desconhecidos em nosso meio, tais como riquetsioses exóticas, situação que leva a um risco sanitário indubitável ao incorporá-las a nossos ecossistemas autóctones (OPAS, 2004).

Atualmente as riquetsioses apesar de manterem caráter endêmico estão presentes em países de todos os continentes do mundo (OPAS, 2004). As *Rickettsia* spp. habitam ovários de artrópodes hospedeiros, o que as possibilita serem transmitidas por gerações nos vetores (BILLINGS et al., 1998). Dentre todos os tipos de vetores artrópodes os carrapatos são os mais comuns na transmissão de *Rickettsia* spp (OPAS, 2004; BRASIL, 2005; CDC, 2006; SUCEN,

2009). Aqui serão abordadas as riquetsioses causadas por *Rickettsia* spp. transmitidas por carrapatos.

2.2. TAXONOMIA DAS RIQUETSIOSES CAUSADAS POR *Rickettsia* spp

As riquetsias são microrganismos procarióticos, descritos como formas cocobacilares, pequenos bastonetes ou bacilos Gram-negativos (0,3 x 1,5µm), que retêm fucsina básica quando corados pelo método de Gimenez, possuem citocromo e suas reações metabólicas são aeróbias. São parasitos intracelulares obrigatórios, multiplicam-se por fissão binária simples, colonizam e tem predileção por glândulas salivares e ovários de artrópodes hospedeiros, mas também infectam e se multiplicam em células dos intestinos, túbulos de malpighi e hemolinfa (GIMENEZ, 1964; BURGDORFER, 1970; BILLINGS et al., 1998; WEISS & MOULDER, 1984; YU & WALKER, 2003).

Até um passado não muito remoto, eram considerados “grandes vírus” por não terem vida extracelular, não poderem ser isoladas em meio artificial e pela ausência de sistemas enzimáticos completos. A espécie humana é um hospedeiro acidental, constituindo o elo terminal no ciclo dessas bactérias, exceto pelo tifo exantemático, em que humanos constituem o reservatório (GALVÃO et al., 2005).

As espécies de *Rickettsia* são classificadas em três grupos, baseando-se em padrões antigênicos, morfológicos, moleculares e ecológicos: o Grupo Ancestral (GA) compreende as espécies *Rickettsia belli* e *Rickettsia canadensis*, associadas a carrapatos, mas de patogenicidade ainda desconhecida para humanos, e poucas outras espécies associadas com anelídeos (sangue-suga); o Grupo do Tifo (GT) compreende as espécies *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, associadas primariamente com piolhos e pulgas, respectivamente; e o Grupo da Febre Maculosa (GFM), maior dos grupos, onde a grande maioria das bactérias está associada primariamente a carrapatos, sendo as únicas exceções deste grupo *Rickettsia felis* e *Rickettsia akari*, que estão associadas com pulgas e ácaros gamasida, respectivamente (LABRUNA, 2006a; PAROLA et al, 2009; LABRUNA, 2009). Mutio embora existam dados da detecção da *R. felis*, via PCR,

em carrapatos (CARDOSO et al., 2006) ainda não há na literatura prova científica da transmissão desta espécie ao homem por intermédio de carrapatos.

No GFM existem cerca de 60 espécies de riquetsias e, dessas, 13 são reconhecidamente patogênicas para humanos. Onze são transmitidas por carrapatos: FMMR e FMB (*R. rickettsii*), febre maculosa do mediterrâneo ou febre botonosa (*R. conorii*), febre africana da picada do carrapato (*R. africae*), tifo do carrapato de Queensland (*R. australis*), tifo da Ilha Flinders (*R. honei*), tifo siberiano ou do norte da Ásia (*R. sibirica*), febre maculosa oriental (*R. japonica*), tífola (*R. slovaca*), linfangite expansiva (*R. sibirica mongolotimonae*), rickettsiose européia (*R. helvetica*), febre maculosa de Parker (*R. parkeri*), tifo das pulgas californianas (*R. felis*), rickettsiose variceliforme ou vesicular, por ácaro (*R. akari*) (HOOGSTRAAL, 1985; RAOULT & ROUX, 1997; BEATI, 1998; FOURNIER et al., 2000a, b; LAKOS, 2002; USLAN, 2004; CDC, 2006). Existem ainda dentro do GFM mais três espécies emergentes que também têm nos carrapatos seus mais prováveis vetores: *R. massiliae* (BEATI & RAOULT, 1993), *R. aeschlimannii* (RAOULT & FOURNIER, 2002) e a *R. amblyommii* (APPERSON et al., 2008).

2.3. *Rickettsia* spp. TRANSMITIDAS POR CARRAPATOS

2.3.1. Febre africana da picada do carrapato

A febre africana da picada do carrapato é causada pela *R. africae*. Essa doença é cada vez mais comum entre os viajantes que retornam da África. O carrapato vetor é o *Amblyomma variegatum*, podendo também ser transmitida por outras espécies desse gênero. Segundo USLAN & SIA (2004) aproximadamente 27% dos pacientes que retornam febris da África Sub-Sahariana estão infectados pela *R. africae* e com frequência apresentam também cefaléia, mialgia, linfadenites e exantema cutâneo.

2.3.2. Tifo da Ilha Flinders

É uma das duas riquetsioses do GFM endêmicas na Austrália, causada pela *R. honei*. É transmitida pelo carrapato *Aponomma hydrosauri*. Ocorre do sul

da Austrália até a Ilha de Flinders, região da Tasmânia. Os sintomas são cefaléia, febre alta, dores musculares generalizadas, exantema maculo-papular no tórax e extremidades de mãos e pés (DYER et al., 2005).

2.3.3. Febre maculosa oriental

Também conhecida como febre maculosa japonesa (FMJ) é causada pela *R. japonica*. Os carrapatos dos gêneros *Haemaphysalis* sp e *Dermacentor* sp podem transmitir a riquetsia. Já foi identificada também na Coreia do Sul (CHUNG et al., 2006).

Os primeiros três casos desta enfermidade no Japão foram diagnosticados em 1984. Em outubro de 1996 foram confirmados 31 casos de febre maculosa japonesa na cidade de Tokushima, Japão. Os pacientes tiveram febre elevada aguda, cefaléia e exantema característico; 90% tinham a lesão local característica conhecida como “eschar”, escara cutânea ou de inoculação. De 1984 a 1995, 144 casos de FMJ foram reportados pelo Instituto Nacional de Saúde no Japão (MAHARA, 1997).

2.3.4. Riquetsiose européia

Atualmente está sendo chamada de perimiocardite crônica, denominação provisória que é uma consequência da infecção causada pelo seu agente etiológico. Já foi descrita em Portugal, França, Suíça e Suécia (SOUSA et al., 2003). Na Suécia tem sido apontada como causa de morte de jovens adultos (NILSSON et al., 1999). A *R. helvetica* é incriminada como a causadora dessa moléstia, por meio do carrapato *Ixodes ricinus* (BACELLAR, 1996).

2.3.5. Febre maculosa de Parker

É uma riquetsiose emergente descrita nos Estados Unidos, onde a doença diagnosticada em um paciente apresentando febre, cefaléia, escara de inoculação e linfadenopatia regional, foi confirmada laboratorialmente como riquetsiose (CDC, 2006).

A *R. parkeri* foi identificada pela primeira vez em 1937, quando o cientista R. R. Parker reportou o isolamento de uma bactéria que infectava o carrapato *Amblyomma maculatum*, no Texas, EUA. Mais tarde, o cientista inoculou carrapatos infectados em cobaias e verificou sinais parecidos com as doenças causadas pela riquetsias do GFM (PARKER et al, 1939).

Somente em 2002 a *R. parkeri* foi reconhecida como patogênica para seres humanos, quando isolada em cultivo celular e identificada por biologia molecular a partir da biopsia da lesão originada por picada de carrapato em paciente oriundo da Virginia, EUA (PADDOCK et al, 2004).

A FM causada por *R. parkeri* se caracteriza por quadro de sinais e sintomas mais brandos, não tão severos em relação as demais riquetsioses e sem registro de letalidade. Tal fato tende a dificultar o diagnóstico clínico, passando despercebida em locais onde nunca fora relatada. Esta doença tende a diferenciar-se clinicamente da FM causada por *R. rickettsii*, por apresentar linfadenopatia e uma lesão papular típica (“tache noir”) no sítio de fixação do carrapato (PADDOCK et al., 2004).

No Brasil a *R. parkeri* foi relatada pela primeira vez em 2006 isolada do carrapato *Amblyomma triste* colhido em área rural do Estado de São Paulo, confirmado por isolamento em cultivo celular e biologia molecular (SILVEIRA, 2006).

2.3.6. Tifo do carrapato de Queensland

Também conhecida como Febre Maculosa Australiana é causada pela *R. australis* transmitida pela picada do carrapato *Ixodes holocyclus*. Foi descrita pela primeira vez em 1946, quando 12 soldados contraíram a doença durante exercícios de treinamento, no norte de Queensland, Austrália. Os sintomas foram febre, cefaléia, mialgia, náusea, vômito, confusão mental, escara de inoculação, linfadenopatias e exantema maculo-papular. A escara de inoculação está presente na maioria dos casos e comumente é única (SOUSA et al., 2003; TAGS Inc, 2006).

2.3.7. Tibola

A “Debonel/Tibola” ou linfadenopatia é causada pela picada de carrapato do gênero *Dermacentor*, foi descrita por RAOULT et al (1997) na França, LAKOS & RAOULT (1999) na Hungria e OTEO et al (2003) na Espanha.

O agente etiológico é a *R. slovaca* principalmente transmitida pelo carrapato vetor *Dermacentor marginatus*. Em Portugal, esse carrapato é freqüentemente parasitado pela riquetsia e é encontrado com maior freqüência como parasita de bovinos e javalis. O quadro clínico em humano é descrito como uma reação no local da picada, em geral no couro cabeludo, acompanhada de adenopatias cervicais e submaxilares. A lesão inicia-se como uma pápula ou vesícula e desenvolve-se como lesão exsudativa, necrótica, evoluindo para a crosta e alopecia. Um quadro febril brando pode persistir por meses e a alopecia por anos (GALVÃO et al., 2005).

O aumento de nodulos linfáticos, linfadenopatia, que é uma característica marcante, algumas vezes é acompanhado da escara de inoculação, “eschar”. A alopecia é verificada mesmo após tratamento, principalmente nos casos em que ocorreu a erupção cutânea e hemorrágica no couro cabeludo e hemangioma, que é outra lesão característica (LAKOS, 2002).

2.3.8. Linfangite expansiva

Trata-se de uma riquetsiose emergente, pouco comum e conhecida, denominada de Linfangite Expansiva em decorrência do quadro caracterizado por linfadenopatia dolorosa que tem origem no local da lesão causada pela picada do carrapato vetor, *Hyalomma asiaticum*. O agente é a *R. sibirica mongolotimonae* e já foi descrito na Mongólia, França, China, Nigéria e África do Sul. Os sintomas cefaléia, febre, exantema, múltiplas escaras cutâneas, linfangites e aumento de nodos linfáticos são mais freqüentes que no Tifo Siberiano (FOURNIER et al., 2000b; FOURNIER et al., 2005).

2.3.9. Tifo siberiano

O agente dessa riquetsiose é a *R. sibirica* “sensu stricto”. Já foi isolada nos carrapatos *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor nuttali*, *Dermacentor silvarum*, *Dermacentor pictus*, *Dermacentor sinicus*, *Dermacentor auratus*, *Haemaphysalis concinna*, *Hyalomma wellingtoni* e *Hyalomma yeni*. Os sintomas são cefaléia, linfangites, exantema, “eschar” e aumento de linfonodos. A enfermidade já foi descrita no norte da China, Mongólia, Paquistão e Rússia (SOUSA et al., 2003; FOURNIER et al., 2005).

2.3.10. Febre maculosa do Mediterrâneo

Também conhecida como febre botonosa ou Febre Escaro-Nodular (FEN) é uma doença endêmica em Portugal e comum em países do Mediterrâneo. Os agentes etiológicos responsáveis por esta patologia são duas estirpes do complexo *R. conorii*: *R. conorii conorii* (Malish) e *R. conorii israelensis* (Israeli tick typhus). O carrapato *Rhipicephalus sanguineus* é o principal vetor e reservatório da *R. conorii* (SOUSA et al., 2003)

Caracteriza-se clinicamente como uma doença exantemática, com um processo de vasculite generalizado. Apesar de a maioria dos casos apresentarem uma evolução benigna, nos últimos anos verificou-se um aumento do número de casos graves e do número de óbitos ocorridos por esta patologia em alguns distritos de Portugal. A taxa de incidência de 1989 a 2000 em Portugal foi de $9,8/10^5$ habitantes, uma das mais altas em face de outros países da bacia do Mediterrâneo (SOUSA et al., 2003). Apesar de ser uma doença de declaração obrigatória em Portugal (média de 928 casos por ano – DGCSP, Ministério da Saúde, Lisboa, Portugal), continua-se a subestimar a sua verdadeira incidência devido à elevada subnotificação. A sazonalidade é uma característica da enfermidade que foi reconhecida pela primeira vez como entidade nosológica por Ricardo Jorge, em 1930 (JORGE, 1930).

Qualquer estágio (larva, ninfa, adulto) do *R. sanguineus* pode parasitar o homem, mas o período de incubação da doença e o ciclo biológico do vetor, indicam que as ninfas são o estágio responsável pelo maior número de casos de

FEN, que ocorrem nos meses de agosto e setembro (GILOT et al., 1990; HERRERO et al., 1989; WALKER & FISHBEIN, 1991).

A escara de inoculação, resultado da lesão traumática causada pela introdução do aparelho bucal do ixodídeo e pelas lesões celulares causadas pelas riquetsias, está presente em 30 a 70% dos casos (CARMO et al., 1981; RIBEIRO et al., 1999). Contudo, alguns estudos referem que na infecção pela estirpe *Israeli tick typhus*, só 3% dos casos apresentam escara e as manifestações clínicas são menos exuberantes comparativamente à estirpe *R. conorii* Malish (YAGUPSKY & WOLACH, 1993; MORAIS et al., 1996; RAOULT & ROUX, 1997). Frequentemente, a infecção por aquela estirpe evolui de forma grave, envolvendo falência multiorgânica, um curso imprevisível e quase sempre fatal (GROSS & YAGUPSKY, 1987; YAGUPSKY & WOLACH, 1993; YOCHAY et al., 2000).

De acordo com ZHU et al. (2005), o complexo *R. conorii* inclui quatro subespécies diferentes que podem ser distinguidos sorologicamente e por reação em cadeia pela polimerase (PCR) e são, respectivamente, os agentes etiológico da febre botonosa ou febre maculosa do mediterrâneo, na Europa e África do Sul (*R. conorii conorii*), tifo indiano do carrapato, na Índia (*R. conorii indica*), tifo israelense do carrapato, no sul da Europa e Oriente Médio (*R. conorii israelensis*), e febre maculosa de Astrakhan na região norte do Mar Cáspio, Rússia (*R. conorii caspiae*). Embora recebam nomes diferentes, relacionando a região de ocorrência ou surgimento, as enfermidades causadas pelas subespécies de *R. conorii* são similares quanto aos sinais e sintomas e todas são transmitidas por carrapatos, principalmente o *R. sanguineus*, mas o *Haemaphysalis leachii* e o *R. (Boophilus) microplus*, também são capazes de transmitir os agentes.

Apesar de a febre botonosa ser enfermidade de caráter endêmico em países do Mediterrâneo, as riquetsioses têm a tendência de globalizar-se pela facilidade de difusão em vetores artrópodes. Alguns casos já foram descritos na literatura, como se segue.

Os primeiros três casos autóctones suspeitos de febre botonosa no Uruguai foram descritos em 1990 e consta na literatura serem os primeiros das Américas. Até o ano de 2000, foram reportados mais quatro novos casos autóctones suspeitos desta enfermidade naquele país. Todos se recuperaram após tratamento com tetraciclina. A quantidade de casos pode ser ainda maior,

considerando-se a falta de estrutura e condições necessárias a realizar a confirmação do diagnóstico (DÍAZ, 2001).

Durante o ano de 1996, foram atendidos no ambulatório de medicina de viajantes (Hospital de Enfermidades Infecciosas Francisco Javier Muniz, Buenos Aires, Argentina), quatro pacientes procedentes do sul da África com diagnóstico de riquetsiose. Todos eles apresentaram febre, dor de cabeça e presença de escara cutânea. Às 48 horas de iniciado o quadro clínico, um dos pacientes evidenciou uma erupção máculo-papular, enquanto que os restantes desenvolveram um exantema vesicular e crostoso. A reação de Weil-Felix mostrou-se negativa e a sorologia para *R. conorii* por RIFI foi positiva em todos os casos. Nenhum dos pacientes recordava haver sofrido picada de insetos ainda que tenham permanecido ou transitado por pastagens em regiões agrestes. Todos receberam tratamento com doxiciclina com evolução clínica satisfatória (MARTINO et al., 2001).

2.3.11. Febre maculosa brasileira

A FBM ou simplesmente febre maculosa (FM), identificada pelo MS pela CID 10: A77.0 (BRASIL, 2006), é uma zoonose, em geral de caráter endêmico, transmitida ao homem por carrapato infectado com *Rickettsia rickettsii* (DIAS & MARTINS, 1939; BURGDORFER et al., 1962).

A FM já foi notificada em todos os Estados Norte-Americanos, à exceção de Havaí, Vermont, Maine e Alasca (CDC, 2006). Suas manifestações clínicas foram descritas pela primeira vez no final da década de 1890 no Estado de Idaho, onde recebeu nomes como doença azul ou febra negra, e outros, prevalecendo o nome “febre maculosa das montanhas rochosas” (FMMR), numa referência a região montanhosa no noroeste dos Estados Unidos, onde ocorreram os primeiros casos (WOOD, 1896 e MAXEY, 1899 citados por CHILDS & PADDOCK, 2009). Entre 1906 a 1909, H.T.RICKETTS obteve a transmissão experimental da doença para cobaios infestando-os com carrapatos contaminados com riquetsias, comprovando o carrapato como vetor, observando riquetsias em tecidos dos carrapatos (RICKETTS, 1911 citado por CHILDS & PADDOCK, 2009).

A partir de 1930, a doença foi identificada focalmente em países como o Canadá, México, Costa Rica, Panamá, Colômbia, Brasil e Argentina (BUSTAMANTE & VARELA, 1947; PEACOCK et al., 1971; FUENTES, 1986; RIPELL et al., 1999; SUCEN, 2004).

No Brasil é conhecida desde 1929, quando José Toledo Piza, em São Paulo, iniciou a distinção da FM das demais doenças exantemáticas (PIZA et al., 1932).

Na década de 1930, o pesquisador José Lemos Monteiro da Silva, do Instituto Butantan, e seu auxiliar técnico Edison Dias, na tentativa de obter uma vacina para FM acabaram adquirindo a doença. Foram picados enquanto trabalhavam no laboratório triturando carrapatos. Ambos morreram, pois na época não havia medicamentos direcionados para a enfermidade. Depois disso, as pesquisas que vinham sendo desenvolvidas pelo Instituto Butantã para conseguir uma vacina foram abandonadas (CICCO, 2009).

Nos últimos 50 anos nos Estados Unidos, segundo o “Centro de Controle e Prevenção de Doenças” (CDC, 2009), foram reportados de 250 a 1200 casos de FMMR, anualmente, sendo provável que muito mais casos tenham acontecido, mas não foram relatados.

Segundo dados do Ministério da Saúde do Brasil, no período de 1997 a 2008, foram confirmados 641 casos de FM, limitados a alguns municípios dos estados de São Paulo (265 casos), Minas Gerais (168 casos), Espírito Santo (30 casos), Rio de Janeiro (52 casos), Paraná (4 casos), Santa Catarina (113 casos), Rio Grande do Sul (4 casos) e Distrito federal (2 casos) (BRASIL, 2009a). A região Sudeste supera as demais não somente na ocorrência da enfermidade com 515 casos confirmados (de 1997 a 2008), como em registro de óbitos por FM com 144 casos (de 1990 a 2008), seguida da região Sul com 121 casos confirmados e sem letalidade registrada. Aparentemente a doença tem se disseminado para Estados antes considerados indenes para FM, como é a situação dos Estados da região Sul, onde a ocorrência vem crescendo. A região Centro-Oeste, até o presente momento tem ocorrência de FM limitada aos dois casos registrados no DF (BRASIL, 2009b). A febre maculosa tornou-se doença de notificação compulsória em todo território nacional desde 2001, por meio da Portaria Nº 1943 de 18/10/2001 (BRASIL, 2001).

O período de incubação da FM varia de dois a 14 dias. A doença inicia-se com febre alta, cefaléia e mialgia intensa. Após dois a seis dias surgem as manifestações cutâneas (petéquias, máculas), podendo ocorrer edemas nos membros inferiores e oligúria. Se não for rapidamente instituído tratamento, evolui para infecção generalizada, com complicações pulmonares, vasculares, desidratação, choque, coma e morte (GALVÃO, 1993). A inexistência de sinais patognomônicos dificulta o diagnóstico diferencial (GUERCIO et al., 1997).

A *R. rickettsii* já foi identificada em capivaras, gambás, coelhos, eqüinos, cães e outros, e estes podem atuar como hospedeiros (GALVÃO, 1999). Um estudo realizado em São Paulo, com humanos, cães e cavalos, apontou o cavalo como excelente animal sentinela, demonstrando que cavalos soropositivos são um forte indicador da FM nas áreas onde os seres humanos são expostos ao carrapato vetor (SANGIONI et al., 2005).

Nos Estados Unidos existem oficialmente três espécies de carrapatos incriminadas na transmissão da *R. rickettsii*: o *Dermacentor variabilis*, o *Dermacentor andersoni* e o *R. sanguineus* (CDC, 2006).

No Brasil, os carrapatos vetores pertencem ao gênero *Amblyomma*: *A. cajennense*, carrapato estrela ou do cavalo, e o *A. aureolatum*, carrapato encontrado em carnívoros silvestres. O carrapato *A. dubitatum* (antigo *A. cooperi*), comum em capivaras, é indicado como possível vetor, embora isso ainda não tenha sido comprovado (SUCEN, 2004; PINTER et al., 2005). O *A. cajennense* é o principal vetor (DIAS & MARTINS, 1939). Seus três estádios evolutivos, larva, ninfa e adulto, podem transmitir a bactéria (COMER, 1991). A maior incidência da doença ocorre no segundo semestre com pico em outubro, onde predomina a forma de ninfa do carrapato (GALVÃO et al., 1993).

Nos EUA 90% dos casos de FMMR acontecem de abril a setembro. Esse período é a estação de aumento do número de formas adultas e ninfas das espécies de carrapato *Dermacentor* vetores que lá ocorrem. Histórico da picada de carrapato ou exposição às áreas infestadas de carrapatos ocorre em cerca de 60% dos casos de FMMR (CDC, 2009).

As capivaras, hospedeiros primários de todos os estádios parasitários do *A. dubitatum* e do *A. cajennense*, são um potencial reservatório de *R. rickettsii*. (TRAVASSOS & VALLEJO, 1942a e b; SOUZA et al., 2009).

Em Minas Gerais, onde a FM é endêmica (segundo maior número de casos dos últimos dez anos), CARDOSO et al. (2006), identificaram seqüências com 100% de homologia com *R. felis*. em pulgas do gênero *Ctenocephalides* e em carrapatos *A. cajennense* utilizando a técnica do PCR. Em carrapatos *R. sanguineus* uma seqüência apresentou 99% de homologia com *R. felis* e uma seqüência obtida de *A. cajennense* apresentou 97% de homologia com *R. honei* e *R. rickettsii*. Esse estudo reforça a possibilidade de ocorrência de mais de uma espécie de *Rickettsia* nos casos onde antes a *R. rickettsii* era a única incriminada.

2.3.12. Riquetsiose emergente na Itália

A *Rickettsia massiliae* foi isolada de um paciente que apresentou sinais de riquetsiose na Itália. A bactéria foi isolada na Sicília, Itália, em 1985 e identificada em 2005. O paciente era um homem de 45 anos de idade que foi hospitalizado em Palermo apresentando febre persistente (12 dias), exantema maculo-papular, escara de inoculação necrosada e hepatomegalia inicial. O exame de imunofluorescência realizada na época foi reagente para *R. conorii*. A bactéria foi estocada por 20 anos e depois identificada por exame de DNA por PCR e cultura, como sendo *R. massiliae* (VITALE et al., 2006).

A *R. massiliae* foi isolada, na França, em carrapatos pertencentes a espécies do gênero *Rhipicephalus* (BEATI & RAOULT, 1993).

Em 2004 um estudo demonstrou DNA de *R. massiliae* em carrapatos *R. sanguineus* colhidos de cães em Buenos Aires, Argentina (CICUTTIN et al., 2004). Mais recentemente, 5 de 20 carrapatos *R. sanguineus* colhidos no Arizona, EUA, foram positivos ao PCR para detectar DNA riquetsial, e uma espécie de *Rickettsia* foi isolada, sendo definitivamente identificada como *R. massiliae* (EREMEEVA et al., 2006).

2.3.13. Riquetsiose emergente da África

A *Rickettsia aeschlimannii* foi isolada pela primeira vez em carrapatos *Hyalomma marginatum* colhidos no Marrocos, em 1997 (BEATI et al., 1997).

Em 2002, foi reportado o primeiro caso humano de infecção por *R. aeschlimannii* em um viajante que retornava do Marrocos, na África. Quando chegou à França, o paciente, um homem de 36 anos de idade, apresentou febre de quase 40°C, uma lesão vesicular que necrosou semelhante-se à escara de inoculação e exantema maculopapular generalizado. Exames de imunofluorescência indireta e de DNA por PCR confirmaram a *R. aeschlimannii* como causadora do quadro desse enfermo (RAOULT & FOURNIER, 2002).

2.3.14. Rickettsiose emergente Norte-Americana

Na Carolina do Norte, EUA, alguns casos de FMRR foram re-avaliados, indicando a *R. amblyommii* como provável agente infeccioso causador do quadro enfermo desses pacientes e tendo no *A. americanum* seu provável vetor (APPERSON et al., 2008).

2.4. PATOGENIA DAS RIQUETSIOSES CAUSADAS POR *Rickettsia* spp

As riquetsias multiplicam-se nas células endoteliais e musculatura lisa de vasos sanguíneos, produzindo enzimas tóxico-celulares e provocando distúrbios vasculares e tissulares. Pode-se verificar um processo de vasculite generalizada, resultado da destruição das células endoteliais dos vasos sanguíneos pelas riquetsias (WALKER & MATTERN, 1980).

As riquetsias ligam-se a receptores que contêm colesterol, são endocitadas em fagolisossomos, escapam para o citossol e se multiplicam. Além disso, a *R. rickettsii* ativa a calecreína e as cininas do hospedeiro, causando desta forma coagulação local (COTRAN et al., 1996).

As lesões cutâneas derivam da proliferação de riquetsias no endotélio dos pequenos vasos, formação de trombos, hemorragias, infiltração perivascular e necroses focais. Na pele, miocárdio e tecido cerebral formam-se nódulos típicos. A lesão básica desse efeito direto provoca dano às células do endotélio vascular com proliferação do endotélio e predisposição a trombose e hemorragias (VERONESI & FOCACCIA, 1996).

Uma vez na célula, as riquetsias não se multiplicam o suficiente para romperem a membrana celular. Entretanto, durante o processo de multiplicação, a produção de enzimas tóxicas às células leva a uma injúria multifocal em áreas endoteliais. O endotélio alterado favorece a aderência de plaquetas, causando distúrbio de coagulação. Esses fatores em conjunto levam a distúrbios vasculares, que manifestam-se por edema e hemorragias, seguido de diminuição de retorno venoso, diminuição da perfusão sanguínea dos tecidos e desordens de função tissulares (PEREIRA & LABRUNA, 1998).

2.5. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS RIQUETSIOSSES CAUSADAS POR *Rickettsia* spp

Os testes sorológicos como reação de Weil-Félix, que utiliza antígenos não riquetsiais (WHO, 1988), e os métodos ELISA e Western-blotting, de difícil reprodução pela necessidade de purificação de antígenos, são pouco utilizados (NASCIMENTO, 2003).

A imunofluorescência indireta (IFI), método padrão-ouro segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1988) e preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil, é a técnica sorológica mais usada no diagnóstico das riquetsiosses. Apesar de utilizar antígenos específicos, obtidos a partir de culturas puras, podem ocorrer reações cruzadas principalmente entre espécies de *Rickettsia* do mesmo grupo (GALVÃO et al., 2005). A RIFI permite a pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG. Em geral, os anticorpos são detectados entre o 7º e o 10º dia de doença. Títulos iguais ou superiores a 64 em única amostra, ou uma diferença de quatro vezes no título entre amostras de soro pareadas, colhidas com intervalo de duas a quatro semanas, confirmam o diagnóstico (BRASIL, 2005). A RIFI para detecção de anticorpos séricos apresenta sensibilidade de 94 a 100% e especificidade de 100% (DUMLER, 1996; CDC, 2006).

O isolamento e identificação direta do agente pelo método “shell vial” é demorado e limitado, pois além de ser realizado sob condições de biossegurança NB3, não permite o diagnóstico precoce (MARRERO & RAOULT, 1989; NASCIMENTO, 2003; BRASIL, 2005). A imunohistoquímica (IHQ), que consiste

na submissão de cortes histológicos a anticorpos anti-riquetsias, é uma técnica mais utilizada na histopatologia (PADDOCK et al., 1999).

Uma das técnicas por biologia molecular consiste na amplificação de segmento de DNA, comum as riquetsias, do gene que codifica uma proteína de 17kDa (*htra*), e/ou o gene citrato sintase (*gltA*) e ainda amplificação de segmentos de genes que codificam proteínas de superfície de membrana *OmpA* do GFM, por PCR, e posterior digestão por enzimas de restrição (RFLP), a fim de obter mapas de fragmentos de DNA espécie-específicos (MARRERO & RAOULT, 1989). Mas diversos fatores deletérios como a ação de DNases, RNases, a inibição da reação pelo íon Fe^{+2} ou pela heparina podem dar origem a reações falsos negativos (GALVÃO et al., 2005).

A detecção de *Rickettsia* spp em espécies de carrapatos por PCR tem sido amplamente utilizada em estudos epidemiológicos ou de surtos de riquetsioses. Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) de genes riquetsiais mais utilizados são: os gênero específicos, *gltA* e o gene de uma proteína de 17-kDa, os quais amplificam regiões mais conservadas dos genes, e o *ompA* (outer membrane protein A) e *ompB* (outer membrane protein B) que amplificam regiões mais variadas de fragmentos de genes que codificam proteínas externas (proteínas de superfície de membrana) específicas do GFM, as quais sofrem maior pressão de seleção (WEBB et al., 1990; REGNERY et al., 1991; SANGIONI, 2003; LABRUNA et al., 2004; GUEDES et al., 2005; LABRUNA et al., 2005; SANGIONI et al., 2005).

2.6. TRATAMENTO E PROFILAXIA

Quando se trata de FM, a utilização de tratamentos inespecíficos por ausência de diagnóstico ou o desconhecimento por parte de agentes de saúde ou até mesmo médicos pode levar ao óbito. Em 2004, ocorreu o primeiro caso fatal de FM, no sudoeste do México. Uma menina de aproximadamente cinco anos de idade foi encontrada parasitada por dois carrapatos na orelha, três dias antes de começar a ter febre e dor de cabeça. A criança foi tratada com amoxicilina e teve o quadro agravado, morrendo sete dias após o início dos sintomas. O diagnóstico

de infecção por *R. rickettsii* foi estabelecido por PCR específico (CASTRO et al., 2006).

Segundo o Ministério da Saúde do Brasil (BRASIL, 2005) as drogas de escolha para o tratamento da FM são a doxiciclina, utilizada em casos leves e moderados ou o cloranfenicol, nos casos mais severos. O mesmo tratamento medicamentoso pode ser aplicado a outras riquetsioses causadas por *Rickettsia* spp., sendo todas sensíveis às tetraciclina e ao cloranfenicol (CUTILEIRO, 1950; NINA, 1951; MARTINO et al., 2001; LAKOS, 2002; USLAN & SAI, 2004; DYER et al., 2005; FOURNIER et al., 2005; CHUNG et al., 2006; CDC, 2006).

As riquetsias são sensíveis aos desinfetantes como hipoclorito de sódio a 1%, etanol a 70%, glutaraldeído e formaldeído (FTSS, 2005).

Até o momento não existe vacina para FM ou outra riquetsiose. Como método de prevenir as riquetsioses abordadas neste, deve-se evitar regiões com altas infestações de carrapatos e tratar animais hospedeiros de carrapatos vetores, principalmente se domésticos, e locais como estabulários com agentes carrapaticidas respeitando-se o ciclo dos vetores (SUCEN, 2004).

Ao entrar em contato com carrapatos, uma vez identificada a fixação no organismo hospedeiro, a rápida e correta remoção do ectoparasito previne a infecção por *Rickettsia* spp, pois são necessários de cinco a 20 horas de parasitismo pelo carrapato para que ocorra a transmissão (COMER, 1991).

2.7. CONSIDERAÇÕES

As riquetsioses encontram-se em ampla disseminação e embora ainda tenham caráter endêmico, a globalização das espécies de riquetsias é uma tendência que se constata pela facilidade de difusão em vetores artrópodes. Na América do Sul já existem casos de riquetsioses antes limitadas aos continentes europeu e africano. No futuro, provavelmente as *Rickettsia* sp. transmitidas por carrapatos serão consideradas cosmopolitas.

Embora existam dados sobre os vários agentes e suas moléstias, a participação de mais de uma espécie de riquetsia por moléstia não é descartada.

Os sinais e sintomas das riquetsioses causadas por *Rickettsia* spp. são muito semelhantes e, em grande parte, indistinguíveis. Essa ausência de sinais

patognomônicos faz crescer a importância dos métodos moleculares de diagnóstico, especialmente o PCR.

A incidência da riquetsiose de maior importância nas Américas, Febre Maculosa, tem crescido a cada ano no Brasil.

Mesmo sendo enfermidades de considerável patogenicidade, as riquetsioses têm cura, se diagnosticadas precocemente e tratadas com antibióticos específicos.

2.8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APPERSON, C.S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W.L.; MEAD, D.G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M.J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D.W. Tick-Borne Diseases in North Carolina: Is "Rickettsia amblyommii" a Possible Cause of Rickettsiosis Reported as Rocky Mountain Spotted Fever. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.8, n.5, p.597-606, 2008.
2. AZAD, A.F.; BEARD, C.B. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. **Emerging Infectious Diseases**, v.4, p.179-86, 1998.
3. BACELLAR, F. **Rickettsias isoladas em Portugal**. Contribuição para a identificação e classificação de cepas [tese de doutorado]. Évora: Universidade de Évora; 1996.
4. BEATI, L.; MESKINI, M.; THIERS, B.; RAOULT, D. *Rickettsia aeschlimannii* sp. nov., a new spotted fever group rickettsia associated with *Hyalomma marginatum* ticks. **Int J Syst Bacteriol**, v.47, p.548-54, 1997.
5. BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean Spotted Fever and other Spotted Fever Group Rickettsiae. In: PALMER, R.S.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. **Zoonoses**, Oxford: University Press, p.217-240, 1998.
6. BEATI, L.; RAOULT, L. *Rickettsia massiliae* sp. nov., a new spotted fever group rickettsia. **Int J Syst Bacteriol**. V.43, p.839-40, 1993.
7. BILLINGS, A.N.; YU, X.J.; TEEL, P.D.; WALKER, D.H. Detection of a spotted fever group Rickettsia in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in South Texas. **Journal of Medical Entomology**. n.35, p.474-8, 1998.
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2008*. Acessado dia 13/03/2009(a). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_maculosa.pdf
9. BRASIL. Ministério da Saúde. Cuidados para evitar a febre maculosa - 27/12/2005. Acessado dia 23/04/2006. Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/noticias_detalhe.cfm?co_seq_noticia=22838
10. BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 6ed. Brasília:Ministério da Saúde, 816p, 2005.

11. BRASIL. Ministério da Saúde. Óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990-2008. Acessado dia 13/03/2009(b). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_por_febre_maculosa.pdf
12. BRASIL. Portaria Nº. 1943/GM, de 18/10/2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. Ministério da Saúde. Brasília: **DOU**, n. 204, seção 1, pág.35, de 24 de outubro de 2001.
13. BURGDORFER, W.; NEWHOUSE, V.F.; PICKENS, E.G.; LACKMAND, B. Ecology of rocky mountain spotted fever in Western Montana – I. Isolation of *Rickettsia rickettsii* from wild mammals. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. n.76, p.293-301, 1962.
14. BURGDORFER, W. The hemolymph test. **Am J Trop Med Hyg**. v.19, p.1010-4, 1970.
15. BUSTAMANTE, M.E.; VARELA, G. Distribucion de las rickettsias en Mexico. **Rev Inst Salub y Enf Trop**. v.8, p.3-14, 1947.
16. CARDOSO, L. D.; FREITAS, R. N.; MAFRA, C. L.; NEVES, C. V. B.; FIGUEIRA, F. C. B.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n.3, p.495-501, 2006.
17. CARMO, G.; CAIXEIRO, I.S.; UVA, A.S.; PAIVA, J.D. Febre Escaro- Nodular. Atualização Teórica e Análise Retrospectiva de 231 Casos. **Rev Port Doenças Infecciosas**, v.4, n.1, p.13-28, 1981.
18. CASTRO, J. E. Z.; VELÁZQUEZ, J. E. Z.; WALKER, D. H.; ARCILA, E. E. R.; MOLINA, H. L.; OLANO, J. P.; SOSA, J. A. R.; SMALL, M. A.; ROSADO, K. R. D. Fatal Human Infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, Mexico. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 672-4, 2006.
19. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever, Ehrlichioses, and Anaplasmosis - United States; a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. CDC, Atlanta, GA. v.55, n.RR-4, 36p, 2006.
20. CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Tickborne Rickettsial Diseases. Statistics. Acessado dia: 22/03/2009. Disponível no site: http://www.cdc.gov/ticks/diseases/rocky_mountain_spotted_fever/statistics.html
21. CHILDS, J. E.; PADDOCK, C. D. Rocky Mountain Spotted Fever. In: Raoult, D.; Parola, P. **Rickettsial Diseases**. New York and London: Healthcare, 2009. Cap. 8, p. 97-116.
22. CHUNG, M.H.; LEE, S.H.; KIM, M.J.; LEE, J.H.; KIM, E.S.; LEE, J.S.; KIM, M.K.; PARK, M.Y.; KANG, J.S. Japanese Spotted Fever, South Korea. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 7, p.1122-1124, 2006.
23. CICCIO, L.H.S. (Diretora de Conteúdo). Saúde Animal. Febre Maculosa. Acessado dia 27/09/2009. Disponível no site: www.saudeanimal.com.br/maculosa.htm
24. CICUTTIN, G.L.; RODRIGUEZ, V. M.; JADO, I.; ANDA, P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la ciudad de Buenos Aires, resultados preliminares. **Rev Argentina Zoonosis**, v.1, p.10, 2004.
25. COMER, M.K. Rocky Mountain Spotted Fever. Veterinary Clinics of North America. **Small Animal Practice**. v.21, n.1, p.27-44, 1991.

26. COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Patologia Estrutural e Funcional**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996
27. CUTILEIRO J: Considerações Acerca do Tratamento das Rickettsioses Exantemáticas pela Aureomicina. **J Soc Cienc Méd Lisboa**, v.114, n.5, p. 179-192, 1950.
28. DGCSP - Serviço de Informação de Saúde. Doenças de Declaração Obrigatória 1989 - 1998. Ministério da Saúde, Direcção Geral da Saúde, Lisboa, Portugal
29. DIAS, E.; MARTINS, A.V. Spotted Fever in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine**, v.19, p. 103-8, 1939.
30. DÍAZ, I. A. C. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (fiebre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella), Estado actual en Uruguay. **Rev Med Uruguay**; v. 17, n. 2, p.119-124, 2001.
31. DUMLER, J.S. Laboratory diagnosis of Rickettsial and Ehrlichial infections. **Clinical Microbiological Newsletter**, v.15, p.57-60, 1996.
32. 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* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *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 Systematic Evolution Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.
33. DYER, J. R.; EINSIEDEL, L.; FERGUSON, P. E.; LEE, A. S.; UNSWORTH, N. B.; GRAVES, S. R.; GORDON, D. L. A new focus of *Rickettsia honei* spotted fever in South Australia. **Medical Journal of Australia**, v. 182, n. 5, p. 231-234, 2005.
34. EREMEEVA, M.E.; BOSSERMAN, E.A.; DEMMA, L.J. Isolation and identification of *Rickettsia massiliae* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks collected in Arizona. **App Environ Microbiol**, v. 72, p.5569–5577, 2006.
35. FOURNIER, P. E.; DUPONT, H. T.; GALLAIS, H.; RAOULT, D. *Rickettsia mongolotimonae*: A Rare Pathogen in France. **Emerging Infectious Diseases**, v. 6, n. 3, p.290-292, 2000b.
36. FOURNIER, P. E.; GOURIET, F.; BROUQUI, P.; LUCHT, F.; RAOULT, D. Lymphangitis-Associated Rickettsiosis, a New Rickettsiosis Caused by *Rickettsia sibirica mongolotimonae*: Seven New Cases and Review of the Literature. **Clinical Infectious Diseases**, v. 40, p.1435–44, 2005.
37. FOURNIER, P.E.; GRUNNENBERGER, F.; JAULHAC, B.; GASTINGER, G.; RAOUL, D. Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans. Eastern, France. **Emerging Infection Diseases**, v.6, n.4, p.289-392, 2000a.
38. FUENTES, L. Ecological study of Rocky Mountain spotted fever in Costa Rica. **Am J Trop Med Hyg**. v.35, p.192–6, 1986.
39. GALVÃO, M. A. M. Febre Maculosa. **Revista da Pesquisa e Pós-graduação**. Ouro Preto: UFOP. v. 1, n.1 JAN./JUN. 1999.
40. 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 Saúde Pública**. v. 39, n. 5, p. 850-6, 2005.
41. GALVÃO, M.A.M. Febre maculosa. In: PEDROSO E.R.P., ROCHA, M.O.C., SILVA, O.A. **Clínica Médica**: os princípios da prática ambulatorial. São Paulo: Atheneu, 1993. p. 1374-1388.

42. GILOT, B.; LAFORGE, M.L.; PICHOT, J.; RAOULT, D. Relationships Between the *Rhipicephalus sanguineus* Complex Ecology and Mediterranean Spotted Fever Epidemiology in France. **Eur J Epidemiol**, v.6, n.4, p. 357-362, 1990.
43. GIMEMEZ, D.F. Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. **Stain Technology**. v.39, p.135-40, 1964.
44. GROSS, E.M.; YAGUPSKY, P. Israeli rickettsial spotted fever in Children. A review of 54 cases. **Acta Trop**, v.44, p. 91-96, 1987.
45. GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M.C.A.; PACHECO, R.C.; WALKER, D.H.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.100, n.8, p.841-845, 2005.
46. GUERCIO, V.M.F.; ROCHA, M.M.M.; MELLES, H.H.B.; LIMA, V.C.L.L.; PIGNATTI, M.G. Febre maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. Inquérito sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.30, p.47-52, 1997.
47. HERRERO, J.I.H.; BELTRÁN, R. R.; SANCHEZ, A.M.M.; GARCIA, E.J. Mediterranean Spotted Fever in Salamanca, Spain. Epidemiological Study in Patients and Serosurvey in Animals and Healthy Human Population. **Acta Trop**; v.46, p. 335-350, 1989.
48. HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**. v.1, n.24, p. 35-238, 1985.
49. JORGE, R. La fièvre exanthématique (fièvre escharo-nodulaire) et son apparition au Portugal. **Lisboa Médica**, v.74, p. 33-454, 1930.
50. LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M.A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.127, p.169–174, 2005.
51. LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S. M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* Species Infecting *Amblyomma cooperi* Ticks from an Area in the State of São Paulo, Brazil, Where Brazilian Spotted Fever Is Endemic. **J. Clin. Microbiol**. v.42, n.1, p.90–98, 2004.
52. LABRUNA, M.B. Epidemiologia da Febre Maculosa no Brasil e nas Américas. In: I SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 2006a, Viçosa-MG. **ANAIS...**Viçosa: 2006, p.63-78.
53. LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in South America. *Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad. Sci. New York Academy of Sciences*. 11p. 2009. No prelo.
54. LAKOS, A. Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). **Wien Klin Wochenschr**, Áustria, 7p, 2002. Acessado dia 23-08-2006. Disponível no site: [http://www.kullancs.hu/admin/uploads/tibola.pdf#search=%22Tick-borne%20lymphadenopathy%20\(TIBOLA\)%22](http://www.kullancs.hu/admin/uploads/tibola.pdf#search=%22Tick-borne%20lymphadenopathy%20(TIBOLA)%22)
55. LAKOS, A.; RAOULT, D. Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) a *Rickettsia slovaca* infection? In: *Rickettsiae and Rickettsial diseases at the turn of the third millenium*. Paris: **Elsevier**; 1999. p. 258-61.
56. MAHARA F. Japanese spotted fever: report of 31 cases and review of the literature. **Emerg Infect Dis**.v.3, n.2, p.105–11. 1997.
57. MARRERO, M.; RAOULT, D. Centrifugation-shell vial technique for rapid detection of Mediterranean spotted fever *Rickettsia* in blood culture. **Am J Trop Med Hyg**, v. 40, p.197-9, 1989.

58. MARTINO, O.; ORDUNA, T.; LOURTAU, L.; SCAPELLATO, P.; CERNIGO, B.; SEIJO, A. Rickettsioses do grupo das febres maculosas em viajantes argentinos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 6, p.559-562, 2001.
59. MAXEY, E.E. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. *Med Sentinel*, 1899; v. 7, p.433-438.
60. MORAIS, J.A.; BACELLAR, F.; FRANCA, S.; FILIPE, A.R.; AZEVEDO, F. Isolamento e caracterização de *Rickettsia conorii* num caso clínico fulminante, sem escara de inoculação nem exantema. **Rev Port Doenças Infecciosas**, v.1, n.2, p. 110-116, 1996.
61. NASCIMENTO, E. M. M. **Isolamento e detecção molecular de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, a partir de *Amblyomma cajennense* e espécimes biológicos humanos, procedentes de áreas endêmicas do Estado de São Paulo.** [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2003.
62. NILSSON, K.; LINDQUIST, O.; PAHLSON, C. Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden death. **Lancet**, v.354, p.1169-72, 1999.
63. NINA, C: Terramicina no tratamento da febre escaro-nodular. **Bol Clin Hosp Civis Lisboa**, v.15, p.720-729, 1951.
64. NOGUEIRA, M.F.; CRUZ, T.F. **Doenças da Capivara**. 1 ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007, 74p. Disponível no site: http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=Livro030
65. OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas – Relatório Final. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 18 - 19 de setembro de 2004. Disponível no site: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf>
66. OTEO, J.A.; IBARRA, V.; BLANCO, J.R.; METOLA, L.; VALLEJO, M.; ARTOLA, V.M. Epidemiological and clinical differences among *Rickettsia slovaca* rickettsiosis and other tickborne diseases in Spain. **Ann N Y Acad Sci**; v.990, p.355-6, 2003.
67. PADDOCK, C. D.; GREER, P. W.; FEREBEE, T. L.; SINGLETON, Jr. J.; McKECHNIE, D. B.; TREADWELL, T. A. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: immunohistochemical detection of fatal, serologically unconfirmed disease. **Journal of Infectious Disease**. v. 179, p.1469-76, 1999.
68. PADDOCK, C. D.; SUMNER, J.W.; COMER, J. A.; ZAKI, S. R.; GOLDSMITH, C. S.; GODDARD, J.; McLELLAN, S. L. F.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A. *Rickettsia parkeri*: A Newly Recognized Cause of Spotted Fever Rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, p.805-811, 2004.
69. PARKER, R.R.; KOHLS, G.M.; COX, G.W.; DAVIS, G.E. Observations of an infectious agent from *A. maculatum*. **Public Health Rep.**, v.54, p.1482-4, 1939.
70. PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-Borne Rickettsioses in America: Unanswered Questions and Emerging Diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v.11, p.40-50, 2009.
71. PEACOCK, M.G.; ORMSBEE, R.A.; JOHNSON, K.M. Rickettsioses of Central America. **Am J Trop Med Hyg**. v.20, p.941-9, 1971.
72. PEREIRA, M.; LABRUNA, M.B. Febre Maculosa: aspectos clínicoepidemiológicos. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 12, p. 19-23, jan/fev. 1998.
73. PINTER, A.; HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre Maculosa –Informe Técnico II/Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Acessado dia

19/11/2005. Disponível no site:
<http://cohabrp.com.br/SSAUDE/DOENCAS/febremaculosa.pdf>

74. PIZA, J.T.; MEYER, J.R.; GOMES, L.S. Tífo exantemático em São Paulo. **Soc. Impress. Paulista**, São Paulo, 1932.
75. RAOULT, D.; BERBIS, P.; ROUX, V.; XU, W.; MAURIN, M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. **Lancet**, v.350, p.112-3, 1997.
76. RAOULT, D.; FOURNIER, P.E. First Documented Human *Rickettsia aeschlimannii* Infection. **Emerg Infect Dis**, v.8, n.7, 2002.
77. RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**. v.10, n.4, p. 694-719, 1997.
78. REGNERY, R.L.; SPRUILL, C.L.; PLIKAYTIS, B.D. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**. v.173, p.1576-89, 1991.
79. RIBEIRO, A.; PEREIRA, A.A.; CARMONA, H.; BOAVENTURA, J.L. Febre escarotodular: Doença benigna? **Rev Port Doenças Infecciosas**, v.1, n.22, p.17-21, 1999.
80. RICKETTS, H.T. A summary of investigations of the nature and means of transmission of Rocky Mountain spotted fever. Contributions to Medical Science by Howard Taylor Ricketts, 1870–1910. Chicago: University of Chicago Press, 1911, p.278–372.
81. RIPOLL, C.M.; REMONDEGUI, C.E.O.G.; ARAZAMENDI, R. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. **Am J Trop Med Hyg**. v.61, p.350–4, 1999.
82. SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães e equinos e adultos de *Amblyomma cajennense*, em área endêmica e não-endêmica do Estado de São Paulo**. 2003. 86f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
83. SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Infection in Animals and Brazilian Spotted Fever Endemicity. **Emerging Infectious Diseases**. v. 11, n. 2, p.265-270, 2005.
84. SILVEIRA, I. **Investigação da infecção pela bactéria *Rickettsia parkeri* em carrapatos *Amblyomma triste* no Estado de São Paulo**. 2006. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
85. SOUSA, R.; NÓBREGA, S. D.; BACELLAR, F.; TORGAL, J. Sobre a realidade da febre escarotodular em Portugal. **Acta Médica Portuguesa**; v.16, p. 429-436, 2003.
86. SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWALSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.; BORBA, R.C.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, 2009. No prelo.
87. SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Febre Maculosa: informações para profissionais da saúde**. Acessado dia 13/03/2009. Disponível no site: <http://www.sucen.sp.gov.br>
88. SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Manual de Vigilância Acarológica**, São Paulo: SUCEN, 2004, 62p.

89. TAGS Inc. **Australian Spotted Fever**. Tick Alert Group Support. Acessado dia 23-08-2006. Disponível no site: <http://www.tickalert.org.au/rickaust.htm>
90. TRAVASSOS, J.; VALLEJO, 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. **Mem. Inst. Butantã**, v.15, p. 73-86, 1942a.
91. TRAVASSOS, J.; VALLEJO, A. Possibilidade de *Amblyomma cajennense* se infectar em *Hydrochoerus capybara* experimentalmente inoculado com o vírus da febre maculosa. **Mem. Inst. Butantã**, v.15, p. 87-90, 1942b.
92. USLAN, D. Z.; SIA, I. G. African Tick-Bite Fever. **Mayo Clinic Proceedings**, v.79, n. 8, p.1007, 2004. Acessado dia 19/08/2006. Disponível no site: <http://www.mayoclinicproceedings.com/pdf%2F7908%2F7908mi1%2Epdf>
93. VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1996.
94. VITALE, G.; MANSUETO, S.; ROLAIN, J.M.; RAOULT, D. *Rickettsia massiliae* Human Isolation. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, n. 1,p.174-175, 2006.
95. WALKER, D.H.; FISHBEIN, D.B. Epidemiology of Rickettsial diseases. **Eur J Epidemiol**, v.7, p. 237-245, 1991.
96. WALKER, D.H.; MATTERN, W.D: Rickettsial vasculitis. **Am Heart J**, v.100, p.896-906,1980.
97. WEBB, L.; CARL, M.; MALLOY, D.C.; DASCH, G.A.; AZAD, A.F. Detection of murine typhus infection in fleas by using the polymerase chain reaction. **J Clin Microbiol**. v.28, p.530-4, 1990.
98. WEISS, E.; MOULDER, J.W. The Rickettsias and Chlamydias. In: N.R. Kreig & J.G.Holt, 1984, Baltimore, Bergey's. **Manual of Systematic Bacteriology**, v.1, 1984.
99. WHO. World Health Organisation. Laboratory diagnosis of Rickettsial diseases. **Bull World Health Organ**,v.66, p. 283-420, 1988.
100. WOOD, M.W. Spotted fever as reported from Idaho. Rep Surgeon General US Army, 1896.
101. YAGUPSKY, P.; WOLACH, B. Fatal Israeli spotted fever in children. **Clin Infect Dis**; v.17, p. 850-853, 1993.
102. YOCHAY, G. R.; SEGAL, E.; RUBINSTEIN, E: Glucose-6- phosphate Dehydrogenase Deficiency: Possible Determinant for a Fulminant Course of Israeli Spotted Fever. **IMAJ**, v. 2, p. 781-782, 2000.
103. YU, X.J.; WALKER, D.H. The Order Rickettsiales. In: M Dworkin, the Prokaryotes: na evolving eletronic resource for the microbiology community, 2003, New York, Springer-Velag, 3 ed., 2003.
104. ZHU, Y.; FOURNIER, P. E.; EREMEEVA, M.; RAOULT, D. Proposal to create subspecies of *Rickettsia conorii* based on multi-locus sequence typing and an emended description of *Rickettsia conorii*. **BMC Microbiology**, v. 5, 11p., 2005. Disponível no site: <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/5/11>

CAPÍTULO 3 – PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*Rickettsia* spp. EM HUMANOS, CÃES E EQUINOS EM SUPOSTO FOCO DE FEBRE MACULOSA EM QUIRINÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL

Resumo. O presente estudo objetivou avaliar a suspeita de ocorrência da febre maculosa (FM) em Quirinópolis, Goiás, Brasil, através de inquérito sorológico em amostras de humanos, cães e eqüinos e identificação de carrapatos vetores. Em fevereiro de 2007, foram realizadas reações de imunofluorescência indireta (RIFI) para *Rickettsia* spp. em amostras de sangue colhidas em 28 humanos do grupo de convívio de um caso suspeito (uma criança de três anos que apresentou sinais de riquetsiose, após exposição a carrapatos). Destes 28 indivíduos, oito residiam em três propriedades rurais onde o caso suspeito esteve antes do quadro enfermo. Nessas propriedades rurais, também foram colhidas amostras de sangue em cinco cães e 42 eqüinos. Destes animais somente entre eqüinos houve reagentes, sendo a frequência encontrada de 28,6% (12/42) de soropositivos. Não foi constatada a presença do carrapato *Amblyomma cajennense*, principal vetor de FM no Brasil. Sete indivíduos foram reagentes para *Rickettsia* spp., a maioria desses eram familiares paternos do caso suspeito. Os sinais e sintomas manifestados e exames laboratoriais do caso suspeito indicaram quadro clínico compatível com riquetsiose. Em 2008, na mesma região, foram realizadas RIFI em amostras de 30 humanos sem sinais clínicos de FM e constatou-se 50% (15/30) de soropositivos para *Rickettsia* spp. Adicionalmente, colheram-se amostras de sangue de 24 cães errantes, havendo um cão soropositivo. A evidência sorológica do contato entre bactérias do gênero *Rickettsia* com habitantes humanos e animais de Quirinópolis indica que a FM, ou doença antigenicamente semelhante, possa estar ocorrendo no Estado de Goiás. Palavras-chave: animais, anticorpos, RIFI, *Rickettsia* spp., vetores

Abstract. The objective of this study was to verify the Brazilian spotted fever (BSF) occurrence in Quirinópolis City, Goiás State, Brazil. In 2007, indirect immunofluorescence Assay (IFA) to detect anti-rickettsials antibodies presence had been made in the blood serum samples harvested in 28 humans of convivality group of suspected case (a child of three years old who presented rickettsioses signals, after tick-bite). Of 28 humans, eight inhabited in three farms where the suspicious case was before appearing disease signals. In these farms, samples of blood in five dogs and 42 equines had been also harvested, but only had reagents (28.6%) between equines. The presence of the *Amblyomma cajennense* tick, main BSF tick-borne in Brazil, was not evidenced. Seven samples had been reacting for *Rickettsia* spp., the majority was paternal family of the suspicious case. The revealed signals and symptoms and laboratoriais examinations of the suspicious case had indicated compatibility clinical with rickettsiose. In 2008, in the same region, RIFI in samples of 30 humans without BSF clinical signals had been carried through and it was evidenced 50% (15/30) of *Rickettsia* spp. reacting. Additionally, blood samples of 24 nomadic dogs had been harvested, having a reagent serum dog. The serological evidence of the contact between rickettsial bacteria with animals and humans from Quirinópolis, it indicates that the BSF or another one rickettsiosis can be occurring in Goiás State. Key-words: animal, anti-rickettsials, antibodies, BSF, IFA, people.

3.1. INTRODUÇÃO

Em fevereiro de 2006, uma criança (NFSC) de três anos de idade foi levada ao Hospital Municipal de Quirinópolis-GO, apresentando sinais de febre, com temperatura de 38°C e uma mancha rósea no pescoço. A criança foi encaminhada a um hospital público infantil em Goiânia-GO onde ficou hospitalizada por 53 dias. Exames laboratoriais complementares foram solicitados e duas amostras de sangue, com intervalo de 15 dias, foram colhidas e enviadas à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, de acordo com o protocolo oficial do Ministério da Saúde (MS). O exame confirmou que a criança teve contato com agentes do grupo da febre maculosa, sendo o diagnóstico médico de febre maculosa. Após tratamento com antibióticos específicos a criança evolui para a cura. Este foi o primeiro caso suspeito de FM registrado no município e no Estado de Goiás (OLIVEIRA, 2006).

A febre maculosa (FM) é uma zoonose, de caráter endêmico, transmitida ao homem por carrapato infectado com *Rickettsia rickettsii* (BRASIL, 2005).

Nas Américas, as espécies de *Rickettsia* presentes que podem causar FM em humanos são *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. africae*, *R. akari*, *R. felis* e *R. massiliae*. Várias outras espécies têm sido descritas em carrapatos nas Américas, porém sem qualquer prova de associação com casos de FM em humanos (DÍAZ, 2001; OPAS, 2004, PAROLA et al., 2009; LABRUNA, 2009).

No Brasil, a FM é conhecida desde 1929, quando foi distinguida de outras doenças exantemáticas (PIZA et al., 1932). Segundo dados do MS, no período de 1995 a 2005, foram registrados 386 casos humanos de febre maculosa no Brasil, limitados a alguns municípios dos estados de São Paulo (139 casos com letalidade de 42%), Minas Gerais (136 casos com letalidade de 22%), Espírito Santo (30 casos com letalidade de 23%), Rio de Janeiro (55 casos com letalidade de 24%) e Santa Catarina (26 casos sem registro de óbitos) (BRASIL, 2006). Desde 2001, a FM é doença de notificação compulsória em todo território nacional, pela Portaria Nº 1943 de 18/10/2001 (BRASIL, 2001).

Além da espécie humana, a *R. rickettsii* pode causar infecção aguda em vertebrados como: capivaras, gambás, coelhos, eqüinos e cães (GALVÃO, 1999).

No Brasil, os carrapatos vetores de *Rickettsia rickettsii* pertencem ao gênero *Amblyomma*: *A. aureolatum*, presente em canídeos silvestres, mas que também pode parasitar o cão doméstico, e o *A. cajennense*, carrapato estrela ou do cavalo, que é reconhecido como o principal vetor (PINTER et al., 2005; LABRUNA, 2009). A bactéria pode estar presente nos três estágios evolutivos do carrapato, larva, ninfa e adulto (SUCEN, 2004).

Em humanos, o período de incubação da FM varia de dois a 14 dias. A doença inicia-se com febre, cefaléia e mialgia intensa. Após dois a seis dias surgem as manifestações cutâneas (petéquias, máculas), podendo ocorrer edemas nos membros inferiores e oligúria. Na ausência de intervenção medicamentosa, a enfermidade evolui para infecção generalizada, com complicações pulmonares, vasculares, desidratação, choque, coma e morte. A inexistência de sinais patognomônicos dificulta o diagnóstico diferencial de outras enfermidades que cursam de forma clínica semelhante, segundo o Guia de Vigilância Epidemiológica do MS (GALVÃO, 1993; BRASIL, 2005).

Quanto aos sinais de FM em cães, em março de 2009, no Brasil, houve relato de dois cães que uma vez expostos em área endêmica para FM em São Paulo adoeceram adquirindo a infecção. Os cães domiciliares foram levados ao campo e retornaram infestados por carrapatos. Esses animais apresentaram: febre de 40°C, anorexia, letargia, ataxia, nistagmo, diarreia e vômito. Demais exames laboratoriais confirmaram a etiologia da FM, indicando infecção por *R. rickettsii* (LABRUNA et al., 2009).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI), método padrão-ouro para a FM segundo a Organização Mundial de Saúde, é preconizada pelo MS como a técnica sorológica para o diagnóstico das riquetsioses (BRASIL, 2005).

O presente estudo objetivou avaliar a suspeita de ocorrência da FM em Quirinópolis-GO através de inquérito sorológico em amostras de humanos, cães e eqüinos por meio da RIFI e identificação de carrapatos vetores.

3.2. MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Amostragem.

O estudo foi realizado em duas etapas de amostragem: a primeira ocorreu em fevereiro de 2007 e a segunda um ano após, ambas no Município de

Quirinópolis-GO, onde aconteceu o primeiro caso humano notificado ao MS suspeito de febre maculosa no Estado de Goiás. As amostras foram obtidas considerando-se o perímetro urbano e em três propriedades rurais (PR). Aplicou-se questionário epidemiológico elaborado com base em TRHUSFIELD (2004).

A colheita de amostras nos animais foi realizada por Médico Veterinário auxiliado por um técnico da Agência Goiana de Defesa Agropecuária – AGRODEFESA, e a colheita de sangue em seres humanos foi efetuada por uma técnica em enfermagem do Hospital Municipal de Quirinópolis, após ciência e assinatura do “termo de consentimento livre e esclarecido”. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (UFG).

Caracterização da região.

O município de Quirinópolis-GO, que em 2007 contava com uma população estimada de 38.064 habitantes, sendo 33.746 habitantes urbanos e 4.318 habitantes rurais (SEPIN, 2009), localiza-se dentro do Bioma Cerrado, clima tropical, altitude média de 542 metros, área de 3.780 km², latitude 18°26'52"S e longitude 50°27'07"W, a 290km da capital Goiânia, no sudoeste do Estado de Goiás (Figuras 1).

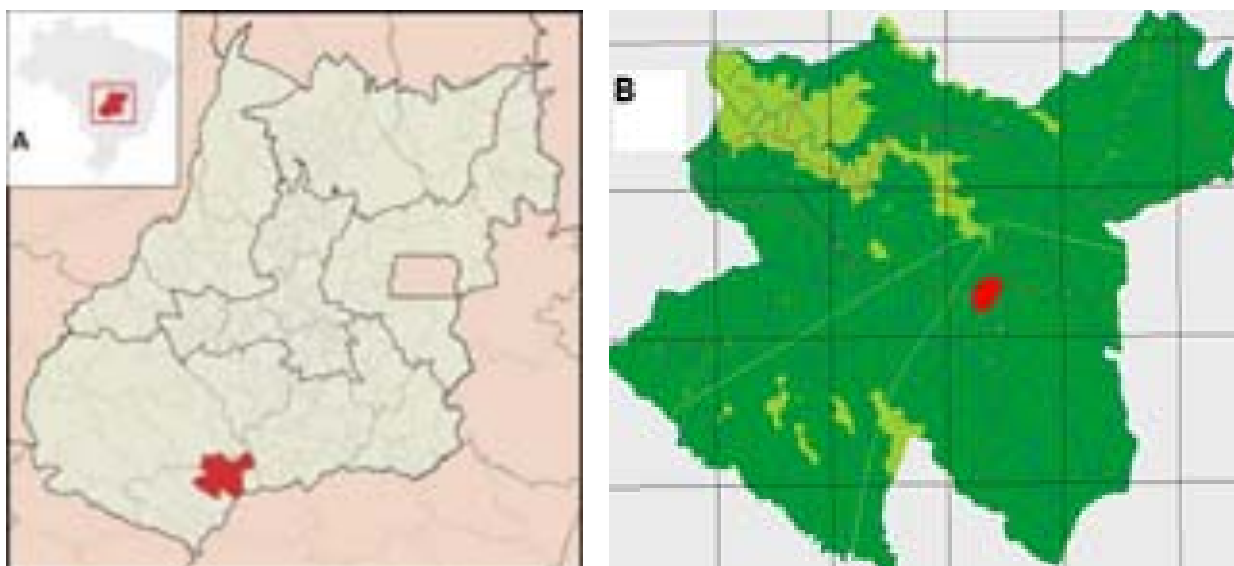


FIGURA 1. A. Mapa de Goiás, localizando Quirinópolis ao sul. (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Quirin%C3%B3polis>). **B.** Mapa territorial do município de Quirinópolis-GO (SEPIN, 2009) com a localização da zona urbana ao centro.

Em Goiás, Quirinópolis faz divisa ao sul com o município de Paranaiguara, ao sudoeste com Cachoeira Alta, ao norte com Rio Verde, Castelândia e Bom Jesus de Goiás e ao leste com Gouvelândia e, também, com a região Sudeste do Brasil, pela divisa com Estado de Minas Gerais (SEPIN, 2009).

A hidrografia em Quirinópolis é constituída, principalmente, pelos rios: Rio dos Bois, São Francisco, Fortaleza, Inhumas, Rio das Pedras, Rio Preto, Rio Alegre e o Rio Paranaíba, cuja coleção de águas compõe o Lago Dourado formado pela Barragem São Simão, que divide Goiás e Minas Gerais.

A atividade econômica da região é essencialmente agropecuária. Em Quirinópolis, no campo da agricultura a atividade predominante é a produção de grãos e cana-de-açúcar, já na pecuária o município conta com rebanho de cerca de 367.000 bovinos, 11.000 suínos, 6.000 eqüinos e 508.000 aves (SEPIN, 2009).

Anamnese.

Dados obtidos com os responsáveis pela criança-NFSC, caso suspeito, destacam que o pai era vaqueiro em três fazendas de Quirinópolis e em sua residência havia dois cães infestados por carrapatos. A mãe da criança relatou que a mesma sempre “pegava” carrapatos. O pai da criança, trabalhador rural, relatou já ter chegado em sua residência trazendo consigo alguns exemplares de carrapatos na roupa, além disso, declarou que NFSC esteve nas propriedades rurais onde trabalha, tendo contato direto com eqüinos de montaria.

Colheita e identificação de carrapatos.

Na primeira etapa de amostragem, os carrapatos foram colhidos aleatoriamente nos 42 eqüinos parasitados existentes, oriundos de três propriedades rurais, e nos dois cães urbanos domiciliares de NFSC.

Os ectoparasitos foram colhidos por todo o corpo dos animais com o auxílio de uma pinça e conservados em álcool isopropílico PA, conforme SUCEN (2004), até o momento da identificação. Os carrapatos foram identificados de acordo com BATTESTI et al. (2006) no Centro de Parasitologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

Amostras de sangue.

O sangue foi colhido através da venopunção das veias cefálica ou radial nos seres humanos, e radial ou jugular nos cães e eqüinos.

Na primeira amostragem, realizada em fevereiro de 2007, foram colhidas amostras de sangue em 28 humanos e destes, 20 eram residentes em área urbana e oito residiam no meio rural no Município de Quirinópolis. Dentre os 20 indivíduos da área urbana, estavam NFSC, caso suspeito de FM, seus pais, avós, tios e primos, considerando-se familiares paternos e maternos (13 eram parentes de NFSC), além de crianças vizinhas conviventes com a NFSC. Colheram-se ainda, amostras de sangue em dois cães criados soltos na residência de NFSC.

No meio rural foram colhidas amostras de sangue em oito humanos (três eram parentes de NFSC), 42 equinos autóctones e cinco cães adultos, SRD. Essas amostras rurais se originaram de três propriedades rurais onde NFSC esteve na época precedente ao surgimento dos sinais da enfermidade.

A colheita de amostras deu-se por adesão expontânea, de acordo com a possibilidade e voluntarismo. Neste estudo, optou-se por direcionar o trabalho investigativo no grupo de humanos conviventes com NFSC para tentar aumentar a possibilidade de se rastrear a fonte de infecção.

Na segunda etapa de amostragem, realizada em fevereiro de 2008, um ano após a primeira etapa, foram colhidas amostras de sangue em 30 humanos. Essas amostras foram obtidas por adesão expontânea de pacientes do Hospital Municipal de Quirinópolis-GO ao presente estudo e sem direcionar à possível casuística. Concomitante, foi realizada colheita de amostras de sangue em 24 cães errantes, adultos, SRD, provenientes de um canil mantido por uma ONG que recolhia esses animais da área urbana de Quirinópolis.

Todas as amostras de sangue obtidas foram centrifugadas no Laboratório do Hospital Municipal de Quirinópolis e o soro obtido foi aliquotado em microtubos de 1,5 mL, identificado, congelado para ser transportado até o Laboratório de Virologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás, onde foi armazenado em temperatura de -20°C . Posteriormente, as amostras de soro foram transportadas acondicionadas em caixa isotérmicas contendo gelo reciclável, até o Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde foi realizada a RIFI.

3.2.2. Protocolo de RIFI para *Rickettsia* spp.

As amostras de soro foram testadas separadamente frente a extratos brutos de cinco diferentes antígenos riquetsiais: *R. rickettsii* cepa Taiaçu, *R. parkeri* cepa At24, *R. amblyommii* cepa Ac37, *R. bellii* cepa Mogi e *R. rhipicephali* cepa HJ*5. Essas cepas foram isoladas de carrapatos do Brasil, conforme trabalhos de LABRUNA et al. (2004b), HORTA et al. (2005), SILVEIRA (2006) e PINTER e LABRUNA, (2006).

Para obtenção dos antígenos foram utilizados cultivos de células Vero infectadas com *Rickettsia* spp. Quando as células atingiram 100% de infecção, os antígenos foram concentrados e fixados em lâminas de vidro contendo 12 pocinhos (HORTA et al., 2004) e armazenadas em freezer com temperatura de – 80°C até o momento de uso.

Uma alíquota de soro (5µL) foi diluída 1:64 em solução salina fosfatada tamponada (PBS) [Anexo 1A] pH 7,4. A seguir o soro diluído (20 µL) foi depositado sobre cada poço da lâmina contendo o antígeno (células Vero infectadas com um dos cinco tipos de antígenos riquetsiais) e incubada em câmara úmida, em estufa (37°C) por 30 minutos. Posteriormente, a lâmina foi mergulhada em solução de lavagem tamponada (2X, 10 min) e deixada secar em temperatura ambiente. O conjugado espécie-específico, anticorpo específico anti-espécie (humano, equino ou cão) conjugado com fluoresceína, foi adicionado, em diluições específicas de cada conjugado, em cada poço da lâmina, incubado a 37°C por 30 minutos e depois lavada com PBS. A lâmina foi então mergulhada em solução de lavagem acrescida de corante azul de Evans (2X) por 10 minutos, na ausência de luz e depois foi deixada secar em temperatura ambiente na ausência de luz. A leitura foi feita em ao microscópio de imunofluorescência, OLYMPUS BX60, em objetiva de 40X.

Os soros reativos na diluição 1:64, apresentando reações de imunocomplexo fluorescente de formatos coco-bacilares em mais que 90% das células, para qualquer espécie de *Rickettsia* foram testados em crescentes diluições seriadas na base dois, iniciando-se em 1:64, para determinação do título final de reatividade. O soro que demonstrou para uma determinada espécie de *Rickettsia* um título 4 vezes maior que para as demais espécies testadas, foi

considerado homólogo para aquela espécie de *Rickettsia* (HORTA et al., 2004; LABRUNA et al., 2007).

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os indivíduos que se dispuseram a participar do presente estudo não apresentavam no momento da coleta de amostras nenhum sinal clínico compatível com febre maculosa; 100% tinham convívio com cães; das que residiam em área urbana 100% relataram irem com frequência ao meio rural e terem contato com eqüinos; foi comum o relato de vítima de parasitismo por carrapatos em algum momento da vida, mas essas não souberam responder com exatidão se houve febre após esse momento, com exceção do caso de NFSC.

A febre após a picada de carrapatos de várias espécies é um sinal clínico comumente relatado nos casos de FM (*R. rickettsii*) das Américas e outras riquetsioses que ocorrem pelo mundo, tais como febre escaro-nodular (*R. conorii*), febre africana da picada do carrapato (*R. africae*), tifo do carrapato de Queensland (*R. australis*), tifo da Ilha Flinders (*R. honei*), tifo siberiano ou do norte da Ásia (*R. sibirica*), febre maculosa oriental (*R. japonica*), tibola (*R. slovaca*), Linfangite Expansiva (*R. sibirica mongolotimonae*), rickettsiose européia (*R. helvetica*) e febre maculosa de Parker (*R. parkeri*) (HOOGSTRAAL, 1985; RAOULT & ROUX, 1997; BEATI, 1998; FOURNIER et al., 2000a, b; LAKOS, 2002; USLAN, 2004; BRASIL, 2005; CDC, 2006). Histórico da picada de carrapato ou exposição à áreas infestadas de carrapatos ocorre em cerca de 60% dos casos de FMMR nos EUA (CDC, 2009). Todavia, a transmissão da FM geralmente ocorre quando o artrópode permanece aderido ao hospedeiro por um período de 4-6 horas (BRASIL, 2009).

De acordo com o questionário epidemiológico, nas três propriedades rurais que NFSC freqüentou, havia eqüinos, nos quais NFSC praticava montaria acompanhada, e capivaras que eram freqüentemente avistadas nos ambientes onde os eqüinos eram manejados. As capivaras, hospedeiros primários de todos os estádios parasitários do *A. cajennense* e *A. dubitatum*, são consideradas um potencial reservatório de *R. rickettsii* (SUCEN, 2004; SOUZA et al., 2009).

A sorologia realizada nas amostras colhidas de humanos em fevereiro de 2007 indicou frequência total de soro-reagentes na RIFI para *Rickettsia* spp. de 25% (7/28), sendo cinco de indivíduos residentes na área rural e dois na área urbana (Tabela 1). A frequência de 25% de amostras soro-reagentes foi obtida tanto entre humanos residentes na área rural (2/8), quanto em humanos residentes em área urbana (5/20).

O resultado da sorologia para *Rickettsia* spp. nos 28 indivíduos do grupo de convívio de NFSC deu-se da seguinte forma: das oito amostras humanas, oriundas de três propriedades rurais onde NFSC esteve antes da manifestação do quadro patológico, somente duas amostras oriundas da Propriedade Rural B" foram soropositivas na RIFI, ambas reagindo de forma cruzada; os pais de NFSC foram soronegativos; dos 13 parentes de NFSC, três familiares paternos e um materno foram soropositivos na RIFI, no entanto todos reagiram de forma cruzada; quatro crianças vizinhas de NFSC que conviveram no período pré-patente do quadro enfermo foram soronegativas (Tabela 1).

TABELA 1. Título de anticorpos nas amostras humanas soro-positivas na RIFI para *Rickettsia* spp., colhidas em fevereiro de 2007, em Quirinópolis-GO.

Amostra humana	Gênero	Origem	TÍTULOS NA RIFI PARA <i>Rickettsia</i> spp., AMOSTRAS DE 2007					PARI
			<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
NFSC	F	Urbana	256	128	64	NR	NR	--
Tio P1	M	Urbana	256	128	64	128	NR	--
Avó P	F	Urbana	NR	64	64	NR	NR	--
Prima m	F	Urbana	128	64	NR	NR	NR	--
Tia P	F	Urbana	64	128	NR	NR	NR	--
Tio P2	M	Rural	128	64	NR	64	NR	--
Trabalhador	M	Rural	128	128	128	256	256	--

Legenda: P = origem paterna, m = materna; F = feminino; M = masculino; NR = não reagente
PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

O número de amostras humanas soropositivos para *Rickettsia* spp., em 2007, foi quase na totalidade de familiares paternos de NFSC. Isso pode ser explicado pelo fato de a maioria desses indivíduos se dedicarem à atividades rurais, o que seguramente facilitou a exposição, aumentando o risco de contato com bactérias do gênero *Rickettsia*, diferentemente das demais pessoas que se dedicavam à atividades urbanas. Com relação ao parente materno soropositivo, este era uma criança prima de NFSC que habita na mesma residência,

submetendo-se às mesmas circunstâncias de sobrevivência, riscos e desafios antigênicos.

O soro de NFSC analisado no presente estudo reagiu de forma cruzada para *R. rickettsii*, *R. parkeri* e *R. rhipicephali* (Tabela 1), não havendo diferença significativa para se evidenciar um dos possíveis antígenos riquetsiais, pois os mesmos diferenciaram-se em apenas uma casa de diluição. Dessa forma, baseando-se nos estudos de HORTA et al. (2004), LABRUNA et al. (2007) e SILVA (2007), não há como indicar um provável agente causador da resposta imune. Essa amostra de NFSC foi colhida cerca de um ano após a ocorrência da suspeita clínica de FM. Como nos dos dois primeiros exames realizados na FIOCRUZ o soro foi testado somente frente à *R. rickettsii*, há dificuldade para uma avaliação mais profunda deste caso, se considerarmos que aqui o soro de NFSC foi testado frente a cinco espécies de *Rickettsia*.

No caso de eqüinos, constatou-se freqüência de 28,6% (12/42) de animais reagentes para *Rickettsia* spp ao RIFI (Tabela 2) nas amostras colhidas em 2007. Houve eqüinos soropositivos em duas das três propriedades rurais. A soropositividade entre os eqüinos foi encontrada na “PR A”, com dois animais reagentes, e na “PR B”, com 10 de seus animais reagentes. Dados do questionário epidemiológico realizado revelam que nestas propriedades rurais era freqüente a prática de montaria em eqüinos por NFSC acompanhada de outros adultos.

TABELA 2. Freqüência de sororeagentes na RIFI para *Rickettsia* spp. nas amostras de sangue de eqüinos, cães e humanos colhidas em propriedades rurais de Quirinópolis-GO, em fevereiro de 2007.

LOCAL		AMOSTRAS DE SORO E FREQUÊNCIA DE REAGENTES NA RIFI					
Propriedade rural	Distância Km	Eqüinos		Cães		Humanos	
		Total	Reagente (%)	Total	Reagente (%)	Total	Reagente (%)
A	8	8	2 (25%)	2	0 (0%)	2	0 (0%)
B	25	20	10 (50%)	2	0 (0%)	5	2 (40%)
C	50	14	0 (0%)	1	0 (0%)	1	0 (0%)

*Propriedades rurais com eqüinos onde NFSC esteve antes de manifestar sinais de enfermidade. *

**Relativo à distância da propriedade rural até a área urbana de Quirinópolis.

Um estudo realizado em São Paulo, com humanos, cães e cavalos, apontou o cavalo como excelente animal sentinela para FM, demonstrando que

cavalos soro-positivos são um forte indicador de enfermidade nas áreas onde humanos são expostos ao vetor (SANGIONI et al., 2005).

Dos 10 eqüinos soro-positivos da “PR B”, seis reagiram soro-específicos para *R. rickettsii* e quatro apresentaram reação cruzada para *R. rickettsii* e *R. parkeri* (Tabela 3). Nesta propriedade, das duas amostras humanas soropositivas, uma era de um tio paterno de NFSC e outra de um trabalhador rural responsável pelo manejo dos eqüinos da propriedade. SANGIONI et al. (2005) observaram que nenhuma das 66 amostras de soro de humanos oriundos de 6 fazendas de áreas endêmica para FM e não endêmica submetidas ao RIFI para um único antígeno testado de *R. rickettsii* reagiu positivamente. O referido estudo traz um contraste ao presente, quando nele somente as amostras de eqüinos e cães da área endêmica para FM reagiram positivamente, já em Goiás entre as amostras colhidas houve humanos e eqüinos soro-reagentes, todos oriundos de área considerada ainda indene para FM.

As reações específicas de amostras eqüinas contra *R. rickettsii* constituem os primeiros indícios de que essa bactéria esteja circulando em Goiás, Estado antes do presente estudo considerado indene a esta bactéria. Provavelmente, esta bactéria esteja sendo mantida em ciclo silvestre por algum animal adaptado às condições de hospedeiro.

TABELA 3. Títulos de anticorpos nas amostras dos eqüinos soropositivos na RIFI para *Rickettsia* spp., colhidas em fevereiro de 2007, em Quirinópolis.

Amostra Eqüina	Propriedade Rural	TÍTULO NA RIFI PARA <i>Rickettsia</i> spp. AMOSTAS DE 2007					PARI
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
1	A	128	64	NR	NR	NR	--
5	A	4096	4096	128	64	4096	--
2	B	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
4	B	256	64	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
5	B	256	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
8	B	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
9	B	512	256	NR	NR	NR	--
12	B	64	128	NR	NR	NR	--
15	B	64	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
16	B	128	64	NR	NR	NR	--
18	B	256	64	NR	NR	256	--
19	B	256	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>

Legenda: PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

FREITAS (2007), objetivando 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, analisou por RIFI 75 soros de eqüinos frente à *R. rickettsii* e a *R. parkeri*, no período de abril de 2005 a junho de 2006, e encontrou sete animais (9,33%) com títulos variando entre 64 a 1024, reagentes apenas à *R.rickettsii*. Considerando que o eqüino animal é sentinela para FM e admitindo que estes animais possam percorrer grandes distâncias ou até mesmo serem livremente comercializados, esses animais podendo carrear vetores infectados tornam-se grandes disseminadores de FM.

Na “PR A”, em uma amostra eqüina reagente ao RIFI para as cinco espécies de *Rickettsia* pesquisadas, foi encontrado o mais expressivo título de anticorpos anti-riquetsiais do presente estudo. A reação cruzada na “amostra eqüina 5”, estabelecida sorologicamente entre *R.rickettsii*, *R. parkeri* e *R.bellii*, apresentou título quatro vezes maior considerando os demais. Nesta propriedade não houve humanos ou cães soropositivos para *Rickettsia* spp.

No caso de reações cruzadas como na “amostra eqüina 5” da “PR A”, não se pode concluir qual a espécie de *Rickettsia* que esteve ou está circulando na área estudada, já que reagiu para vários antígenos. O expressivo título obtido nesta amostra eqüina sugere a possibilidade do animal ter sofrido infecção simultânea pelas três espécies de *Rickettsia*: *R.rickettsii*, *R. parkeri* e *R.bellii*. Em 2002, na Virgínia, EUA, a *R. parkeri* foi incriminada como patogênica para humanos (PADDOCK et al, 2004). A FM causada por *R. parkeri* se caracteriza por um curso não grave, sem letalidade registrada e tende a diferenciar-se clinicamente da doença causada por *R. rickettsii*, por apresentar linfadenopatia e uma lesão papular típica (“tache noir”) no sítio de fixação do carrapato (PADDOCK et al., 2004). Semelhante ao ocorrido neste estudo, um eqüino do município de Piracicaba, área endêmica para FM em São Paulo, reagiu de forma cruzada para *R.rickettsii*, *R.parkeri*, *R.felis* e *R.bellii*, mas indicou a homologia da reação para *R.parkeri* com título 4096 (HORTA et al., 2007). Já quanto a *R. bellii*, atualmente a riquetsia mais prevalente em carrapatos no Brasil (LABRUNA et al., 2004; PINTER e LABRUNA, 2006), não há evidência que comprove a patogenicidade dessa bactéria para humanos ou animais (LABRUNA et al., 2007).

Das 30 amostras de soro colhidas em 2008 de humanos residentes na área urbana do Município de Quirinópolis, 50% (15/30) reagiram para algum tipo de antígeno riquetsial (Tabela 4). Essa frequência de humanos reagentes pode

ser considerada alta, comparativamente aos achados de PINTER et al. (2008) que, avaliaram por RIFI para quatro riquetsias, amostras de 25 cães e 35 humanos provenientes de uma área endêmica para FM do Estado de São Paulo, onde o carrapato *A. aureolatum* é o principal vetor de FM. Esses autores constataram frequência de 64% e 2,8% de soropositivos para cães e humanos, respectivamente, e atribuíram por meio dos altos títulos obtidos a responsabilidade antigênica da resposta imune encontrada em amostras de sete cães e um humano à *R. rickettsii*.

TABELA 4. Títulos de anticorpos nas amostras dos humanos urbanos soropositivos na RIFI para *Rickettsia* spp., colhidas em fevereiro de 2008, em Quirinópolis-GO.

Amostra Humana	Gênero	TÍTULO NA RIFI PARA <i>Rickettsia</i> spp. AMOSTRAS DE 2008					PARI
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
4	M	128	128	NR	NR	NR	--
5	F	256	128	NR	NR	NR	--
8	M	128	128	NR	NR	NR	--
12	F	64	NR	64	64	NR	--
13	M	64	64	128	NR	NR	--
14	M	256	128	NR	NR	NR	--
15	F	NR	NR	64	NR	NR	<i>R. rhipicephali</i>
16	M	512	256	128	64	NR	--
17	M	256	128	64	64	64	--
18	F	128	NR	NR	NR	64	--
20	M	128	NR	64	64	128	--
21	F	128	64	128	64	64	--
22	F	128	64	256	64	NR	--
23	M	256	128	256	64	NR	--
26	M	128	64	128	128	128	--

Legenda: M = masculino; F = feminino; NR = não reagente
PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

Já em Quirinópolis, somente uma das amostras humanas foi soro-reagente específica para *R. rhipicephali*, porém com título de 64. Embora o título de anticorpos obtido na amostra humana que reagiu para *R. rhipicephali* tenha sido o “cut-off” da soro-reação, esse achado constitui o primeiro indício da presença desta espécie de *Rickettsia* no Estado de Goiás. Apesar de a *R. rhipicephali* estar sendo isolada em carrapatos *D. variabilis* da Califórnia nos EUA, região endêmica para FMMR (WIKSWO et al., 2008) e de em Monte Negro, RO, no Brasil, já ter sido evidenciada sorologicamente em amostras de cães testados frente a seis espécies de *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2007), ainda não há na literatura prova científica que a indique como patogênica para seres humanos.

Dentre as 30 amostras humanas de 2008, onde a composição foi de 1/2 por gênero sexual, 50% foram soropositivos ao RIFI para *Rickettsia* spp., e destes 40% eram mulheres e 60% eram homens. De acordo com o Ministério da Saúde (BRASIL, 2009c) 73% das pessoas acometidas pela FM são do sexo masculino e 27% do sexo feminino.

Em meio às sororreações humanas das amostras colhidas em 2008, houve resposta para todas as cinco espécies de *Rickettsia* (Tabela 4). Os maiores títulos foram para *R. rickettsii*, no entanto, com exceção de uma soro-conversão para *R. rhipicephali*, os demais soropositivos reagiram de forma cruzada para as espécies de *Rickettsia* estudadas e os títulos dessas reações não foram homólogos a um determinado agente, assim como sugere HORTA et al. (2004), pois não houve diferença entre títulos igual ou superior a quatro vezes. No entanto, é razoável afirmar que tenha havido contato entre esses indivíduos e a(s) bactéria(s) do GFM ou microrganismo antígenicamente semelhante, apesar de não se poder diagnosticar qual dentre os antígenos é o responsável pela resposta antigênica observada nas reações cruzadas das amostras humanas de 2008.

Observado os achados nas amostras humanas de Quirinópolis-GO a frequência de soropositivos ao RIFI para *Rickettsia* spp., foi de 25% (7/28) em 2007 e de 50% (15/30) em 2008.

As cinco amostras de sangue dos cães de área rural (Tabela 2) e as duas de área urbana, colhidas em fevereiro de 2007, foram soronegativas ao RIFI para *Rickettsia* spp. Esse achado não traz evidências de que os referidos animais tenham sido prováveis fontes de infecção de *Rickettsia* sp. para NFSC e demais humanos de seu grupo de convívio.

Dentre as 24 amostras de soro de cães urbanos, colhidas em fevereiro de 2008, uma amostra (4,16%) foi reagente de forma cruzada ao RIFI. Houve sororeatividade para *R. rickettsii* (512), *R. parkeri* (128), *R. amblyommii* (64) e *R. rhipicephali* (64). A sororreação no título de 512 foi considerada homologa para *R. rickettsii* (diferença quatro vezes entre os dois maiores títulos), o que gera fortes indícios da presença deste agente infeccioso em Goiás. Estes cães eram animais errantes, animais que passaram parte de sua vida sobrevivendo livres pelas ruas da cidade e que no momento da colheita das amostras de sangue eram mantidos por uma ONG em um canil de recolhimento.

Essa amostra canina soropositiva para *R. rickettsii*, colhida em 2008 em Quirinópolis, Goiás, torna-se representativa comparativamente aos resultados de SILVA (2007) que também analisou por RIFI amostras de sangue de 453 cães de Belo Horizonte (tendo como referência uma estimativa da população canina do CCZ de Belo Horizonte), Minas Gerais, Estado detentor do segundo maior índice de ocorrência e incidência de FM, obtendo prevalência de 0,66% de positividade, frente às mesmas espécies de *Rickettsia* aqui testadas. Semelhante ao ocorrido no presente estudo, somente uma das amostras caninas de SILVA (2007) teve título alto o suficiente para indicar a *R. rickettsii* como provável agente infeccioso causador de tal resposta imune.

Dados coletados com o questionário epidemiológico revelaram que na residência de NFSC havia dois cães adultos, SRD, infestados de carrapatos. As amostras de sangue destes animais foram soronegativas ao RIFI para *Rickettsia* spp. e os 20 carrapatos adultos colhidos nestes animais foram caracterizados como pertencentes a espécie *Rhipicephalus sanguineus*. Carrapatos *R. sanguineus*, comum em cães, são considerados possíveis vetores de riquetsiose no México (CDC, 2006).

Os 76 carrapatos adultos colhidos nos 42 eqüinos das três propriedades rurais amostradas foram caracterizados como pertencentes a duas espécies (Tabela 5). O *A. cajennense*, considerado principal vetor de FM no Brasil, não foi encontrado no presente estudo.

TABELA 5 – Caracterização dos carrapatos colhidos nos eqüinos parasitados de três propriedades rurais de Quirinópolis, Goiás, em fevereiro de 2007.

Propriedade	CARRAPATOS									
	Total por estágio			Total por Espécie/sexo/propriedade						
				<i>R.B.microplus</i>		<i>D. nitens</i>		<i>A. cajennense</i>		Total
	larva	ninfa	adulto	F	M	F	M	F	M	
A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
B	3	1	9	6	2	0	1	0	0	13
C	0	5	67	0	0	49	18	0	0	72
Total	3	6	76	6	2	49	19	0	0	85

Legenda: *R.B.microplus* = *Rhipicephalus Boophilus microplus*; *D. nitens* = *Dermacentor nitens*.

Segundo PINTER et al. (2005), no Brasil, as espécies de carrapato dos gêneros *Rhipicephalus* e *Dermacentor* não têm importância na epidemiologia da *R. rickettsii*. No entanto, recentemente no Estado do Arizona, EUA, o carrapato *R.*

sanguineus foi indicado como possível vetor de FMMR (DEMMA et al., 2005), depois de ter sido encontrado parasitando uma pessoa, que contraiu FM após a picada do carrapato, e de ter sido detectada a presença de *R. rickettsii*, por PCR e isolada em cultura celular, em carrapatos *R. sanguineus* colhidos do cão que pertencia a este paciente vítima de parasitismo pelo carrapato.

Por ocasião do presente estudo, uma amostra de sangue da criança-NFSC foi colhida um ano (fevereiro/2007) após a suspeita da enfermidade, ocorrida em fevereiro de 2006. Esta foi a terceira amostra de NFSC soro-reagente ao teste de RIFI para *R. rickettsii*. O MS do Brasil considerou o caso da criança-NFSC como compatível com FM, caracterizando-o como quadro de riquetsiose, diante do resultado gerado pela FIOCRUZ com provas sorológicas pareadas com ambos os títulos reagentes a 64 (MARTINS, 2007).

Neste estudo o título de anticorpos contra a *R. rickettsii* na amostra de soro da criança-NFSC foi de 256, no entanto, a amostra reagiu de forma cruzada para mais duas outras espécies de *Rickettsia*, das quais somente para a espécie *R. parkeri* há evidência de patogenicidade para seres humanos descrita na literatura, porém de forma mais branda (PADDOCK et al, 2004).

Houve equínos sororeagentes em duas das três propriedades rurais onde NFSC esteve. No entanto, não foi possível rastrear a provável fonte de infecção, mas os achados aqui obtidos permitem suspeitar que o caso suspeito de FM tenha tido em uma dessas duas propriedades rurais a fonte antigênica do contato com bactérias do GFM ou microrganismos antigenicamente semelhantes.

No Distrito Federal, dois casos de FM, um em 2005 e outro em 2006, foram confirmados pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2008), mas não há informações de que sejam casos autóctones. De fato, a ocorrência de FM ainda não foi confirmada em Goiás, já que no resultado do RIFI realizado nas amostras de sangue pareadas colhidas de NFSC teria que ter havido uma diferença mínima de quatro vezes entre os títulos obtidos nestas duas amostras contemporâneas de NFSC, indicando infecção ativa, para que se reconhecesse oficialmente a ocorrência (BRASIL, 2005). Todavia, o caso de NFSC somado aos resultados da análise sorológica pela RIFI aqui realizada, detectando a presença de anticorpos anti-riquetsiais com títulos significativos nas amostras de soro humano e animal de Quirinópolis, constituem indícios da presença de agentes do GFM em Goiás.

É importante salientar que, adicionalmente ao fato do principal vetor (*A. cajennense*) associado a FM estar presente no Estado de Goiás, fato verificado por BORGES & SILVA (1994), a constatação de anticorpos anti-riquetsiais no presente estudo e ainda a ocorrência da doença em estados limítrofes à Goiás, como Minas Gerais e São Paulo, pode estar havendo ausência de diagnóstico clínico, já que se trata de enfermidade infecciosa que não apresenta sinais patognomônicos e pode ser confundida com outras enfermidades.

3.4. CONCLUSÕES

A presença de anticorpos anti-riquetsiais, indícios sorológicos do contato entre bactérias do GFM ou microrganismo antigenicamente semelhante com habitantes humanos e animais de Quirinópolis, sinaliza que essa etiologia esteja circulando em Goiás e sugere que a FM ou enfermidade semelhante possa estar ocorrendo neste Estado.

3.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2nd ed., Washington, Distrito de Columbia: Organizacion Panamericana de la Salud, 1986. 989 p.
2. BATTESTI, D.M.B.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: **VOX/ICTTD-3/Butantan**, 2006, 223p.
3. BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean Spotted Fever and other Spotted Fever Group Rickettsiae. In: PALMER, R.S.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. **Zoonoses**, Oxford: University Press, p.217-240, 1998.
4. BORGES, L. M. F.; SILVA, C. R. F. Ixodídeos parasitos de bovinos e eqüinos da microrregião de Goiânia, Goiás. **Rev. Parasit. Trop.** v.23,n.1, p.69-74, 1994.
5. BRASIL. Portaria Nº. 1943/GM, de 18/10/2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. Ministério da Saúde. Brasília: **DOU**, n. 204, seção 1, pág.35, de 24 de outubro de 2001.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. MS, Secretaria de Vigilância em Saúde. 6ed. Brasília: MS, 816p, 2005.
7. BRASIL. MS. Cuidados para evitar a FM. Acessado dia 23/04/2006. No site: http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/noticias_detalhe.cfm?co_seq_noticia=22838
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2006*. Acessado dia 29/05/2008. Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_maculosa.pdf

9. BRASIL. Ministério da Saúde. Profissional de gestor. Vigilância. Glossário de doenças. Febre Maculosa. Acessado dia 22/03/2009. Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=26935
10. BRASIL. Ministério da Saúde/Coordenação de Vigilância das Doenças Transmitidas por Vetores e Antropozoonoses. Febre maculosa: informações técnicas, aspectos epidemiológicos. Acessado dia 26/03/2009(c). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=27021
11. CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Tickborne Rickettsial Diseases. Statistics. Acessado dia: 22/03/2009. Disponível no site: http://www.cdc.gov/ticks/diseases/rocky_mountain_spotted_fever/statistics.html
12. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. CDC, Atlanta, GA. v.55, n.RR-4, 36p, 2006.
13. CHILDS, J. E.; PADDOCK, C. D. Rocky Mountain Spotted Fever. In: Raoult, D.; Parola, P. **Rickettsial Diseases**. New York and London: Healthcare, 2009. Cap. 8, p. 97-116.
14. CHOMCZYNSKI, P.A. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue sample. **Biotechniques**, v. 15, n. 3, p.532-537, 1993.
15. CICUTTIN, G.L.; RODRIGUEZ, V. M.; JADO, I.; ANDA, P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la ciudad de Buenos Aires, resultados preliminares. **Rev Argentina Zoonosis**, v.1, p.10, 2004.
16. DÍAZ, I. A. C. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (fiebre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella), Estado actual en Uruguay. **Rev Med Uruguay**; v. 17, n. 2, p.119-124, 2001.
17. DEMMA, L.J.; TRAEGER, M.S.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D.; BLAU, D.M.; EREMEEVA, M.E.; DASCH, G.A.; LEVIN, M.L.; SINGLETON, J. JR.; ZAKI, S.R.; CHEEK, J.E.; SWERDLOW, D.L.; MCQUISTON, J.H. Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. **N Engl J Med**, v.353, n.6, p.551-553, 2005.
18. FOURNIER, P.E.; GRUNNENBERGER, F.; JAULHAC, B.; GASTINGER, G.; RAOUL, D. Evidence of *Rickettsia helvetica* infection in humans. Eastern, France. **Emerging Infection Diseases**, v.6, n.4, p.289-392, 2000a.
19. FREITAS, M. C. D. O. **Deteção de rickettsias do grupo febre maculosa em cães e equinos em São José dos Pinhais, PR**. 2007. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Escola de Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
20. GALVÃO, M.A.M. Febre maculosa. In: PEDROSO E.R.P., ROCHA, M.O.C., SILVA, O.A. **Clínica Médica: os princípios da prática ambulatorial**. São Paulo: Atheneu, p. 1374-1388, 1993.
21. GALVÃO, M. A. M. Febre Maculosa. **Revista da Pesquisa e Pós-graduação**. Ouro Preto: UFOP. V. 1 N.1 JAN./JUN. 1999.
22. GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. Ectoparasitos de importância veterinária. São Paulo: Plêiade, 2001.

23. HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**. v.1, n.24, p. 35-238, 1985.
24. HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SANGIONI, L.A.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, M.S.; GALVAO, M..AM. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever endemic area in the state of Sao Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group rickettsia. **Am J Trop Med Hyg**.v.71, p. 93-7, 2004.
25. HORTA, M.C.; PINTER, A.; SOUZA, C.E. et al. Rickettsia infection in opossums (*Didelphis* spp) in São Paulo State, Brazil. In: 4TH International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases, 2005, Logroño, ANAIS...Logroño, 2005, p.166.
26. HORTA, M. C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T.T.S. Rickettsia infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.102, n. 7, p.793-801, 2007.
27. LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARY, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.01, p.90-98, 2004a.
28. LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D.H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondonia, Western Amazon, Brazil. **J. Med. Entomol.**, v.41, p.1073-81, 2004b.
29. LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M.A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Detection of a spotted fever group Rickettsia in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.127, p.169–174, 2005.
30. LABRUNA, M. B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C. Rocky Mountain Spotted Fever in Dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, n. 3, p.458-460, 2009.
31. LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; PINTER, A.; GENNARI, S.M.; CAMARGO, L.M.A. Prevalence of *Rickettsia* Infection in Dogs from the Urban and Rural Areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne And Zoonotic Diseases**, v.7, n.2, p.249-255, 2007.
32. LAKOS, A. Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). **Wien Klin Wochenschr**, Áustria, 7p, 2002. Acessado dia 23-08-2006. Disponível no site: [http://www.kullancs.hu/admin/uploads/tibola.pdf#search=%22Tick-borne%20lymphadenopathy%20\(TIBOLA\)%22](http://www.kullancs.hu/admin/uploads/tibola.pdf#search=%22Tick-borne%20lymphadenopathy%20(TIBOLA)%22)
33. LANE, R. S.; PHILIP, R. N.; CASPER, E.A. Ecology of tick-borne agents in California: II. Further observations on rickettsiae. In: W. Burgdorfer and R. L. Anacker [eds.], *Rickettsiae and rickettsial diseases*. Academic, New York. pp. 575-584, 1981.
34. MARTINS, E. C. Comunicação pessoal, fornecida pela Gerência Técnica de FM do MS-Brasília, durante o “5º Seminário de Doenças Transmitidas por Carrapatos”, realizado pela Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo/SUCEN/Regional de Campinas-SP e Unicamp, Campinas, 2007.

35. MAXEY, E.E. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. *Med Sentinel*, 1899; v. 7, p.433–438.
36. NOGUEIRA, M.F.; CRUZ, T.F. **Doenças da Capivara**. 1 ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007, 74p. Disponível no site: http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arg_pdf=Livro030
37. OLIVEIRA, VAC. Comunicação pessoal - Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde, da Secretaria de Estado da Saúde, Goiás, 2006.
38. OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas – Relatório Final. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 18 - 19 de setembro de 2004. Disponível no site: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf>
39. PADDOCK, C.D.; SUMNER, J.W.; COMER, J.A.; ZAKI, S.R.; GOLDSMITH, C.S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S.L.; TAMMINGA, C.L.; OHL, C.A. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clin Infect Dis.**, v.38, n.6, p.805-11, 2004.
40. PARKER, R.R.; KOHLS, G.M.; COX, G.W.; DAVIS, G.E. Observations of an infectious agent from *A. maculatum*. **Public Health Rep.**, v.54, p.1482–4, 1939.
41. PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-Borne Rickettsioses in America: Unanswered Questions and Emerging Diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v.11, p.40–50, 2009.
- PINTER, A.; HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre Maculosa –Informe Técnico II/Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Acessado dia 19/11/2005. Disponível no site: <http://cohabrp.com.br/SSAUDE/DOENCAS/febremaculosa.pdf>
43. PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.1078, p.523-9, 2006.
44. PINTER, A.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B. Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.247-252, 2008.
45. PIZA, J.T.; MEYER, J.R.; GOMES, L.S. Tífo exantemático em São Paulo. **Soc. Impress. Paulista**, São Paulo, 1932.
46. RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**. v.10, n.4, p. 694-719, 1997.
47. RISTIC, M.; HUXSOLL, D.L.; WEISIGER, R.M.; HILDEBRANDT, P.K.; NYINDO, B.A. Serological diagnosis of tropical canine pancytopenia by indirect immunofluorescence. **Infection and Immunity**, v.6, p.226-231, 1972.
48. SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Infection in Animals and Brazilian Spotted Fever Endemicity. **Emerging Infectious Diseases**. v. 11, n. 2, p.265-270, 2005.

49. SILVA, M.E. **Freqüência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em cães da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2005.** 2007. 35f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
50. SILVEIRA, I. Investigação da infecção pela bactéria *Rickettsia parkeri* em carrapatos *Amblyomma triste* no Estado de São Paulo. 2006. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
51. SEPIN. Superintendência de Estatística, Pesquisa e Informação. Anuário Estatístico do Estado de Goiás – 2005. Acessado dia 29/04/2006. Disponível no site: http://www.seplan.go.gov.br/sepin/anuario2005/pecuaria/tab08_pecuaria.htm
52. SEPIN. Superintendência de Estatística, Pesquisa e Informação. Secretaria do Planejamento e Desenvolvimento do Estado de Goiás. Acessado dia 03/03/2009. Disponível no site: <http://www.seplan.go.gov.br/sepin/>
53. SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.; BORBA, R.C.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, 2009. No prelo.
54. SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Manual de Vigilância Acarológica**, São Paulo: SUCEN, 2004, 62p.
55. SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Febre Maculosa: informações para profissionais da saúde.** Acessado dia 13/03/2009. Disponível no site: <http://www.sucen.sp.gov.br/doencas/index.htm>
56. TRHUSFIELD, M.V. **Epidemiologia Veterinária**. São Paulo: ROCA, 2ed., 2004. 556p.
57. USLAN, D. Z.; SIA, I. G. African Tick-Bite Fever. **Mayo Clinic Proceedings**, v.79, n. 8, p.1007, 2004. Acessado dia 19/08/2006. Disponível no site: <http://www.mayoclinicproceedings.com/pdf%2F7908%2F7908mi1%2Epdf>
58. WEISS, E.; MOULDER, J.W. The Rickettsias and Chlamydias. In: N.R. Kreig & J.G.Holt, 1984, Baltimore, Bergey's. **Manual of Systematic Bacteriology**, v.1, 1984.
59. WIKSWO, M.E.; HU, R.; DASCH, G.A.; KRUEGER, L.; ARUGAY, A.; JONES, K.; HESS, B.; BENNETT, S.; KRAMER, V.; EREMEEVA, M.E. Detection and Identification of Spotted Fever Group Rickettsiae in *Dermacentor* Species from Southern California. **Journal Of Medical Entomology**. v.45, n.3, p.509-516, 2008.
60. WOOD, M.W. Spotted fever as reported from Idaho. Rep Surgeon General US Army, 1896.
61. WHO. World Health Organisation. Laboratory diagnosis of Rickettsial diseases. **Bull World Health Organ**, v.66, p. 283-420, 1988.
62. YOSHINARI, N.H.; BARROS, P.J.L.; YASSUDA, P.; BAGGIO, D.; STEERE, A.C.; COSSERMELLE, W. Estudo epidemiológico da doença de Lyme no Brasil. **Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo**, v. 47, p.71-5, 1992.

CAPÍTULO 4 – ESTUDO SORO-EPIDEMIOLÓGICO DA ETIOLOGIA DA FEBRE MACULOSA NO MEIO RURAL DE QUIRINÓPOLIS, ESTADO DE GOIÁS, BRASIL

Resumo. O objetivo deste estudo foi verificar por inquérito sorológico a prevalência de anticorpos contra a etiologia da febre maculosa (FM) em eqüinos e investigar a presença de anticorpos anti-riquetiasis em humanos e cães de propriedades rurais de criação de eqüinos de Quirinópolis, Estado de Goiás, Brasil. Foram realizadas reações de imunofluorescência indireta (RIFI) no soro de amostras de sangue colhidas no meio rural em 41 humanos, 335 eqüinos e 12 cães, além de colheita e identificação de carrapatos em 14 propriedades rurais de Quirinópolis. O teste de RIFI detectou a presença de anticorpos anti-riquetsiais nas amostras de soro sanguíneo de 15 (36,6%) humanos, 39 (11,6%) eqüinos e 2 (16,7%) cães do Município de Quirinópolis no Estado de Goiás, Brasil. Estes dados apontam para provável circulação de agentes do grupo da febre maculosa (GFM) em Goiás.

Palavras-chave: anticorpos; equinos, humanos, imunofluorescência, riquetsiais,

Abstract. The objective of this study was to verify the Brazilian spotted fever (BSF) occurrence in Quirinópolis City, Goiás State, Brazil. Indirect immunofluorescence Assay (IFA) in the blood serum samples harvested in the country in 41 humans, 335 horses and 12 dogs, beyond harvest and ticks identification in 14 farms in Quirinópolis. The IFA detected the presence of anti-rickettsial antibodies in the serum samples of 15 (36.6%) humans, 39 (11.6%) horses and 2 (16.7%) dogs from Quirinópolis City, in Goiás State, Brazil. Those results suggest to probable circulation of BSF agents in this State.

Key-Words: antibodies; horses, humans, immunofluorescence; rickettsial

4.1. INTRODUÇÃO

A febre maculosa (FM) é uma zoonose de caráter endêmico transmitida ao homem por carrapato infectado com *Rickettsia rickettsii* (DIAS & MARTINS, 1939; BURGDORFER et al., 1962). Foi inicialmente identificada em 1896, no Vale do Rio Snake em Idaho, EUA, quando foram descritas as manifestações clínicas da enfermidade “Rocky Mountain spotted fever” ou febre maculosa das montanhas rochosas (FMMR), numa região montanhosa do noroeste dos Estados Unidos (WOOD, 1896 e MAXEY, 1899 citados por CHILDS & PADDOCK, 2009). A partir de 1930, a doença foi identificada focalmente em países como o Canadá, México, Costa Rica, Panamá, Colômbia, Brasil e Argentina (BUSTAMANTE & VARELA, 1947; PEACOCK et al., 1971; FUENTES, 1986; RIPOLL et al., 1999;

SUCEN, 2009) e, atualmente, ela tem sido notificada em quase todos os estados norte-americanos (CDC, 2006).

Nos Estados Unidos três espécies de carrapatos são oficialmente incriminadas na transmissão da *R. rickettsii*: *Dermacentor variabilis*, *Dermacentor andersoni* e o *Rhipicephalus sanguineus* (DEMMA et al., 2005; CDC, 2006). Nos últimos 50 anos, segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) em Atlanta, GA, EUA, foram registrados anualmente de 250 a 1200 casos de FMMR (CDC, 2009).

No Brasil, a FM é conhecida desde 1929, quando foi distinguida de outras doenças exantemáticas (PIZA et al., 1932). Segundo dados do Ministério da Saúde do Brasil, no período de 1997 a 2008, foram confirmados 641 casos de febre maculosa no Brasil, limitados a alguns municípios dos estados de São Paulo (265 casos), Minas Gerais (168 casos), Espírito Santo (30 casos), Rio de Janeiro (52 casos), Paraná (4 casos), Santa Catarina (113 casos), Rio Grande do Sul (4 casos) e Distrito federal (2 casos) (BRASIL, 2009a). A região Sudeste supera as demais não somente na ocorrência da enfermidade com 515 casos confirmados (de 1997 a 2008) como em registro de óbitos por FM com 144 casos (de 1990 a 2008), seguida da região Sul com 121 casos confirmados e sem letalidade registrada (BRASIL, 2009b). Em 2001, a FM tornou-se doença de notificação compulsória em todo território nacional pela Portaria Nº.1943 de 18/10/2001 (BRASIL, 2001).

Diferente do que ocorre no EUA, no Brasil, os carrapatos vetores de *Rickettsia* sp pertencem ao gênero *Amblyomma*: *A. aureolatum*, presente em canídeos silvestres, mas que também pode parasitar o cão doméstico, e o *A. cajennense*, carrapato estrela ou do cavalo, que é reconhecido como o principal vetor (PINTER et al., 2005; LABRUNA, 2009). A bactéria pode estar presente nos três estágios evolutivos desses carrapatos, larva, ninfa e adulto (SUCEN, 2004). A ocorrência de FM é maior no 2º semestre do ano com pico em outubro, quando predominam ninfas de *A. cajennense* (GALVÃO et al., 1993).

Além da espécie humana, a *R. rickettsii* pode causar infecção aguda em vertebrados como capivaras, gambás, coelhos, equinos e cães (GALVÃO, 1999). As capivaras, hospedeiros primários de todos os estádios parasitários do *A. cajennense* e *A. dubitatum*, são um potencial reservatório de *Rickettsia rickettsii*

(TRAVASSOS & VALLEJO, 1942a, b; SOUZA et al., 2009). O cão doméstico, principal hospedeiro do carrapato *R. sanguineus*, pode atuar como amplificador de *Rickettsia rickettsii*. (BURGDORFER, 1988).

As espécies de *Rickettsia* são classificadas em três grupos, baseando-se em padrões antigênicos, morfológicos, moleculares e ecológicos. Desses, o mais importante tem sido o Grupo da Febre Maculosa (GFM), onde a maioria das bactérias está associada primariamente a carrapatos. No GFM existem cerca de 60 espécies de riquetsias, das quais aproximadamente 20 têm sido indicadas como patogênicas para seres humanos, sendo transmitidas por vetores artrópodes. A *R. rickettsii*, atualmente a bactéria mais importante do GFM, é a que tem maior incidência e letalidade causando a FMMR nos EUA e a “febre maculosa brasileira” no Brasil (OPAS, 2004; CDC, 2006; LABRUNA, 2006a; LABRUNA, 2009; PAROLA et al., 2009). Na Colômbia, Panamá, México e Costa Rica esta mesma doença é chamada “Fiebre Manchada” (GUEDES et al., 2005).

Embora nas Américas a rickettsiose mais importante seja aquela causada pela *R. rickettsii* (OPAS, 2004; BRASIL, 2005; CDC, 2006; SUCEN, 2009), as espécies *R. parkeri*, *R. africae*, *R. massiliae*, *R. akari* e *R. felis*, também têm sido relatadas como prováveis causadoras de FM em humanos ou isoladas em vetores desse continente, onde antes a *R. rickettsii* era a única indicada (DÍAZ, 2001; OPAS, 2004; CICUTTIN et al., 2004; SILVEIRA, 2006, LABRUNA et al., 2007).

No homem, o período de incubação da FM varia de dois a 14 dias. A doença inicia-se com febre, cefaléia e mialgia intensa. Após dois a seis dias surgem as manifestações cutâneas (petéquias, máculas), podendo ocorrer edemas nos membros inferiores e oligúria. Na ausência de intervenção medicamentosa, a enfermidade evolui para infecção generalizada, com complicações pulmonares, vasculares, desidratação, choque, coma e morte (GALVÃO, 1993). A inexistência de sinais patognomônicos dificulta o diagnóstico diferencial de outras enfermidades que cursam de forma clínica semelhante, segundo o Guia de Vigilância Epidemiológica do MS (GUERCIO et al., 1997; BRASIL, 2005).

A reação imunofluorescência indireta (RIFI) é o método padrão-ouro para a FM (WHO, 1988) é preconizado pelo Ministério da Saúde como a técnica

sorológica para o diagnóstico das riquetsioses. Mesmo utilizando-se antígenos específicos, podem ocorrer reações cruzadas principalmente entre riquetsias do mesmo grupo (GALVÃO et al., 2005). Títulos iguais ou superiores a 1:64 em única amostra, ou uma diferença de quatro vezes no título entre amostras de soro pareadas, colhidas com intervalo de duas a quatro semanas, confirmam o diagnóstico (BRASIL, 2005).

O objetivo deste estudo foi verificar a prevalência de anticorpos contra a etiologia da FM em amostras de eqüinos e investigar a presença de anticorpos anti-riquetsiais nos humanos e cães de propriedade rurais de criação de eqüinos oriundas de Quirinópolis-GO, através de inquérito sorológico pela RIFI.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. Amostragem.

O estudo foi realizado no Município de Quirinópolis, Goiás, em duas etapas de amostragem: a primeira em março de 2007 e a segunda um ano após, em março de 2008. As amostras de sangue foram obtidas em propriedades rurais (PR) que se dedicavam, dentre outras atividades, à criação de eqüinos (“propriedades de cria”), situadas em várias direções num raio de 100 Km.

A colheita de amostras nos animais foi realizada por Médico Veterinário auxiliado por um técnico da Agência Goiana de Defesa Agropecuária - Agrodefesa e a colheita em seres humanos por técnica em enfermagem do Hospital Municipal de Quirinópolis, após ciência e assinatura do “termo de consentimento livre e esclarecido”. O presente estudo foi consentido pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás. Aplicou-se questionário epidemiológico elaborado com base em TRHUSFIELD, (2004).

Caracterização da região.

O município de Quirinópolis-GO, com população estimada em 2007 de 38.064 habitantes, sendo 33.746 habitantes urbanos e 4.318 habitantes rurais (SEPIN, 2009), localiza-se dentro do Bioma Cerrado, clima tropical, altitude média de 542 metros, área de 3.780 km², latitude 18°26'52"S e longitude 50°27'07"W, a 290km da capital Goiânia, no sudoeste do Estado de Goiás (Figura 1). Em Goiás, Quirinópolis faz divisa ao sul com o município de Paranaiguara, ao sudoeste com

Cachoeira Alta, ao norte com Rio Verde, Castelândia e Bom Jesus de Goiás e ao leste com Gouvelândia e, também, com a região Sudeste do Brasil, pela divisa com Estado de Minas Gerais (SEPIN, 2009).

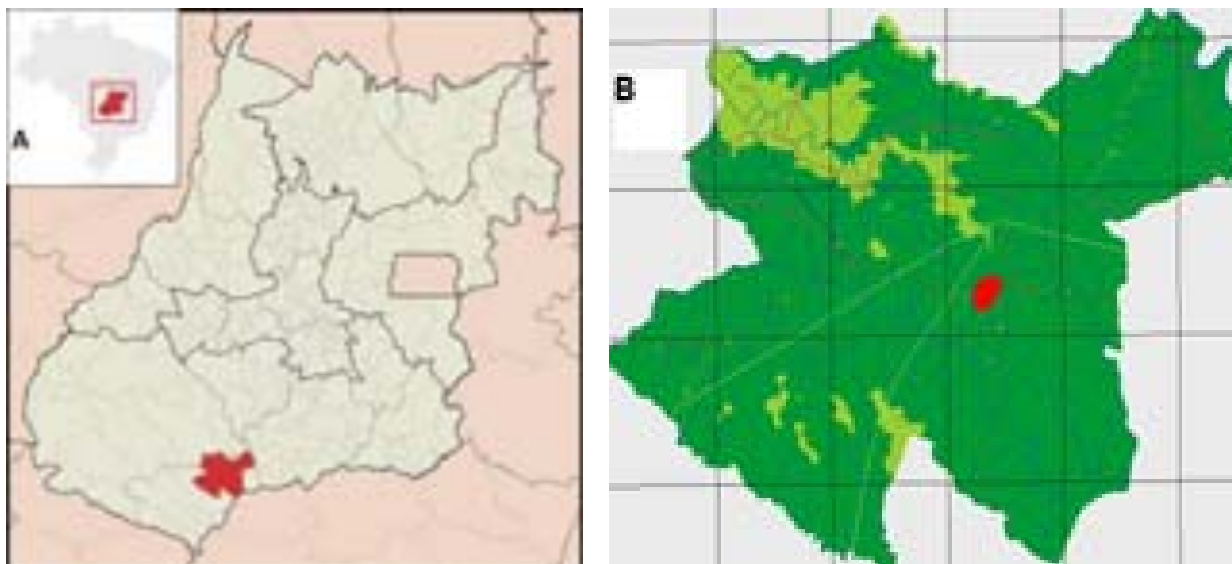


FIGURA 1. A. Mapa de Goiás, localizando Quirinópolis ao sul. (<http://pt.wikipedia.org/wiki/Quirin%C3%B3polis>). B. Mapa territorial do município de Quirinópolis-GO (SEPIN, 2009) com a localização da zona urbana ao centro.

A hidrografia em Quirinópolis é constituída, principalmente, pelos rios: Rio dos Bois, São Francisco, Fortaleza, Inhumas, Rio das Pedras, Rio Preto, Rio Alegre e o Rio Paranaíba, cuja coleção de águas compõe o Lago Dourado formado pela Barragem São Simão, que divide os Estados de Goiás e Minas Gerais.

A atividade econômica da região é essencialmente agropecuária. Em Quirinópolis, no campo da agricultura a atividade predominante é a produção de grãos e cana-de-açúcar. Já na pecuária, o município conta com rebanho de cerca de 367.000 bovinos, 11.000 suínos, 6.000 eqüinos e 508.000 aves (SEPIN, 2009).

Dimensionamento da amostragem.

Utilizando o Win Episcopo 2.0 (DE BLAS et al., 2000), tendo como referência o rebanho de eqüinos em Quirinópolis-GO de cerca de 5.700 animais (SEPIN, 2005) e a frequência esperada de 28,6% de soropositivos obtida em prévio estudo com 42 eqüinos de três propriedades rurais de Quirinópolis (dados não publicados), o número mínimo de amostras foi calculado em 298, considerando erro de 5% e nível de confiança 95%. A colheita de amostras nas

demais espécies foi de acordo com a possibilidade (cães) e voluntarismo (seres humanos).

Amostras de sangue.

O sangue foi colhido através da venopunção das veias cefálica ou radial nos seres humanos, e radial ou jugular nos cães e eqüinos, respectivamente.

Na primeira amostragem, realizada em março de 2007, foram colhidas 41 amostras de sangue humano, provenientes de pessoas residentes em meio rural, que tinham contato com eqüinos. Na mesma época foram colhidas amostras de sangue de 335 eqüinos oriundas de 20 propriedades, e de 12 cães de 10 propriedades rurais. Esses animais, eqüinos e cães, eram autóctones.

Na segunda etapa de amostragem ocorrida em março de 2008, foram colhidas mais 24 amostras de sangue de eqüinos pertencentes à propriedade onde ocorreu a maior soropositividade ao RIFI na etapa anterior.

O sangue foi centrifugado no Laboratório do Hospital Municipal de Quirinópolis e o soro obtido foi aliquotado em microtubos de 1,5 mL, identificado e estocado em temperatura de -20°C . Posteriormente, as amostras de soro foram transportadas, acondicionadas em caixa isotérmica, contendo gelo reciclável, até os Laboratórios de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, onde foi realizada a sorologia.

4.2.2. Protocolo de RIFI para *Rickettsia* spp.

As amostras de soro foram testadas através de RIFI separadamente frente a extratos brutos de cinco diferentes antígenos riquetsiais: *R. rickettsii* cepa Taiaçu, *R. parkeri* cepa At24, *R. amblyommii* cepa Ac37, *R. bellii* cepa Mogi e *R. rhipicephali* cepa HJ*5. Essas cepas foram isoladas de carrapatos do Brasil, conforme trabalhos de LABRUNA et al. (2004b), HORTA et al. (2005), SILVEIRA (2006) e PINTER e LABRUNA, (2006).

Para obtenção dos antígenos foram utilizados cultivos de células Vero infectadas com *Rickettsia* spp. Quando as células atingiram 100% de infecção, os antígenos foram concentrados e fixados em lâminas de vidro contendo 12 orifícios (HORTA et al., 2004) e armazenadas em freezer com temperatura de -80°C até o momento de uso.

Uma alíquota de soro (5µL) foi diluída 1:64 em solução salina fosfatada tamponada (PBS) [Anexo 1A] pH 7,4. A seguir, o soro diluído (20 µL) foi depositado sobre cada poço da lâmina contendo o antígeno (células Vero infectadas com um dos cinco tipos de antígenos riquetsiais) e incubada em câmara úmida, em estufa (37°C) por 30 minutos. Posteriormente, a lâmina foi mergulhada em solução de lavagem tamponada (2X, 10 min) e deixada secar em temperatura ambiente. O conjugado espécie-específico, anticorpo específico anti-espécie (humano, equino ou cão) conjugado com fluoresceína, foi adicionado, em diluições específicas de cada conjugado, em cada poço da lâmina, incubado a 37°C por 30 minutos e depois lavada com PBS. A lâmina foi então mergulhada em solução de lavagem acrescida de corante azul de Evans (2X) por 10 minutos, na ausência de luz e depois foi seca em temperatura ambiente na ausência de luz. A leitura foi feita ao microscópio de imunofluorescência 40X. (OLYMPUS BX60).

Os soros reativos na diluição 1:64, apresentando reações de imunocomplexo fluorescente de formatos coco-bacilares em mais que 90% das células, para qualquer espécie de *Rickettsia* foram testados em crescentes diluições seriadas na base dois, iniciando-se em 1:64, para determinação do título final de reatividade. O soro que demonstrou para uma determinada espécie de *Rickettsia* um título quatro vezes maior que para as demais espécies testadas, foi considerado homólogo para aquela espécie de *Rickettsia* (HORTA et al., 2004; LABRUNA et al., 2007).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 12 amostras de sangue dos cães de área rural 16,7% (2/12) foram positivas ao RIFI para *Rickettsia* spp. (Tabela 1). Duas das três amostras de sangue colhidas de cães da “PR 10” apresentaram sororeação positiva cruzada para *R. rhiphcephalli* e *R. amblyommii*: um dos soros sangüíneos com títulos de anticorpos de 512 para ambos antígenos e o outro soro com título 64 para *R. rhiphcephalli* e 128 para *R. amblyommii*. Em SANGIONI et al. (2005) nenhuma amostra canina colhidas em São Paulo (Estado detentor do maior índice de incidência e letalidade registrada para FM no país), seja de área endêmica ou não endêmica para FM, foi soropositiva ao RIFI.

TABELA 1. Frequência de sororeagentes ao RIFI para *Rickettsia* spp. das amostras de sangue de eqüinos, cães e humanos colhidas em Quirinópolis, Goiás, em março de 2007.

LOCAL		TIPO DE AMOSTRA E FREQUÊNCIA DA SOROCONVERSÃO					
Propriedade Rural	Distância* km	SORO SANGUÍNEO					
		Eqüinos		Cães		Humanos	
		Total	Reagente/ (%)	Total	Reagente/ (%)	Total	Reagente/ (%)
01	40	1	0 (0,0%)	--	--	--	--
02	35	4	0 (0,0%)	--	--	--	--
03	15	9	1 (11,1%)	--	--	--	--
04	12	36	7 (19,4%)	--	--	5	3 (60,0%)
05	45	11	3 (27,3%)	1	0 (0,0%)	3	1 (33,3%)
06	30	15	2 (13,3%)	--	--	2	1 (50,0%)
07	36	15	0 (0,0%)	1	0 (0,0%)	1	0 (0,0%)
08	38	17	13 (76,5%)	1	0 (0,0%)	3	0 (0,0%)
09	60	14	3 (21,4%)	--	--	4	3 (75,0%)
10	28	34	2 (5,9%)	3	2 (66,6%)	1	0 (0,0%)
11	30	9	0 (0,0%)	--	--	2	0 (0,0%)
12	13	11	0 (0,0%)	--	--	4	0 (0,0%)
13	14	18	1 (5,5%)	--	--	2	1 (50,0%)
14	12	11	0 (0,0%)	--	--	1	0 (0,0%)
15	20	30	4 (13,3%)	1	0 (0,0%)	2	0 (0,0%)
16	50	28	0 (0,0%)	--	--	4	2 (50,0%)
17	65	14	0 (0,0%)	3	0 (0,0%)	1	1 (100,0%)
18	30	38	2 (5,2%)	2	0 (0,0%)	3	2 (66,6%)
19	80	11	1 (9,0%)	--	--	1	1 (100,0%)
20	75	9	0 (00,%)	--	--	2	0 (0,0%)
TOTAL	--	335	39 (11,6%)	12	2 (16,7%)	41	15 (36,6%)

* Distância percorrida da área urbana da cidade até a propriedade rural.

Laboratorialmente, já foi provado que o cão doméstico (*Canis familiaris*) pode se comportar como hospedeiro amplificador para *Rickettsia* spp (BURGDORFER, 1988). Em áreas urbanas o cão mantém uma estreita relação com os seres humanos e pode ter importante papel na cadeia epidemiológica da FMB. Independente de serem ou não hospedeiros amplificadores, os cães são importantes sentinelas para a FM (SANGIONI, 2003).

Em Quirinópolis, para as duas amostras de cães, que reagiram de forma cruzada para *R. rhipicephali* e *R. amblyommii*, não há como saber qual antígeno esteve ou se está causando infecção nestes animais ou simplesmente circula nesta região. Embora o título de anticorpos obtido nestes cães não tenham permitido tal indicação, o título de 512, ainda que reagente de forma cruzada, constitui o primeiro indício da presença destas duas espécies de *Rickettsia* no Estado de Goiás. Apesar de a *R. rhipicephali* ter sido isolada em carrapatos *D. variabilis* da Califórnia nos EUA, região endêmica para FMMR (WIKSWO et al.,

2008) e de em Monte Negro, RO, no Brasil, já ter sido evidenciada sorologicamente em amostras de cães testados frente a seis espécies de *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2007), ainda não há na literatura prova científica que a indique como patogênica para seres humanos. Mas na Carolina do Norte, EUA, alguns casos de riquetsioses reportadas como FMMR foram re-avaliados, indicando a *R. amblyommii* como provável agente infeccioso causador do quadro enfermo desses pacientes e tendo no *Amblyomma americanum* seu provável vetor (APPERSON et al., 2008). A *R. amblyommii* também já foi evidenciada sorologicamente em cães de Monte Negro, RO, Brasil (LABRUNA et al., 2007).

A doença clínica causada por *R. rickettsii* nos cães havia sido relatada unicamente nos Estados Unidos. LABRUNA et al. (2009) relataram dois casos clínicos naturais de FM em dois cães no Brasil. Cada caso foi confirmado pela soroconversão e pela análise molecular, sendo resolvido após terapia com doxiciclina. Um dos casos relatados pelos referidos autores apresentou título de 2048 para *R. rickettsii*, 512 para *R. parkeri*, 512 para *R. amblyommii*, 512 para *R. felis*, 512 para *R. rhipicephali* e 256 para *R. bellii* e o outro apresentou título de 4096 para *R. rickettsii*, 512 para *R. parkeri*, 512 para *R. amblyommii*, 256 para *R. felis*, 256 para *R. rhipicephali*, e 256 para *R. bellii*.

As duas amostras caninas soropositivas de Quirinópolis, Goiás, do ano de 2007, tornam-se representativas se comparadas aos resultados de SILVA (2007) que também analisou por RIFI amostras de sangue de 453 cães de Belo Horizonte, Minas Gerais, Estado detentor do segundo maior índice de ocorrência e incidência de febre maculosa, obtendo somente três amostras soropositivas com reações cruzadas, frente às mesmas espécies de *Rickettsia* aqui testadas. Mas diferente dos achados de SILVA (2007), onde somente uma das amostras caninas teve título alto o suficiente para indicar a *R. rickettsii* como provável agente infeccioso causador da resposta imune, no presente estudo realizado com 12 amostras caninas ocorreram reações cruzadas entre *R. rhipicephali* e *R. amblyommii* nas únicas duas amostras reagentes, já em SILVA (2007) as demais amostras reagiram de forma cruzada para *R. rickettsii* e *R. parkeri*.

Os indivíduos humanos que se dispuseram a participar do presente estudo não apresentavam no momento da coleta de amostras nenhum sinal compatível com FM; 100% relataram convívio com cães e com eqüinos e foi

comum o relato de vítima de parasitismo por carrapatos em algum momento da vida, mas essas não souberam responder com exatidão se houve febre após esse momento.

A febre após a picada de carrapatos de várias espécies é uma característica comumente relatada nos casos de FM (*R. rickettsii*) das Américas e outras riquetsioses que ocorrem pelo mundo, tais como febre escaro-nodular (*R. conorii*), febre africana da picada do carrapato (*R. africae*), tifo do carrapato de Queensland (*R. australis*), tifo da Ilha Flinders (*R. honei*), tifo siberiano ou do norte da Ásia (*R. sibirica*), febre maculosa oriental (*R. japonica*), tibola (*R. slovaca*), Linfangite Expansiva (*R. sibirica mongolotimonae*), rickettsiose européia (*R. helvetica*) e febre maculosa de Parkeri (*R. parkeri*) (HOOGSTRAAL, 1985; RAOULT & ROUX, 1997; BEATI, 1998; FOURNIER et al., 2000a, b; LAKOS, 2002; USLAN, 2004; BRASIL, 2005; CDC, 2006). Histórico da picada de carrapato ou exposição à áreas infestadas de carrapatos ocorre em cerca de 60% dos casos de FMMR nos EUA (CDC, 2009). Em geral, a transmissão da FM ocorre quando o artrópode permanece aderido ao hospedeiro por um período de 4-6 horas (BRASIL, 2009).

Entre as amostras humanas, 36,6% (15/41) foram soropositivos ao RIFI para *Rickettsia* spp (Tabela 1). Duas amostras humanas reagiram especificamente para *R. rickettsii* e uma amostra soropositiva apresentou homologia para *R. rickettsii* com diferença de quatro vezes para o segundo maior título da reação cruzada (Tabela 2). Dos humanos soropositivos 80% (12/15) reagiram de forma cruzada ao RIFI para *Rickettsia* spp. Essa frequência de humanos reagentes é extremamente alta, comparativamente aos achados de PINTER et al. (2008) que, avaliaram por RIFI para quatro riquetsias, amostras de 25 cães e 35 humanos, todas provenientes de área endêmica para FM no Estado de São Paulo (Estado de maior ocorrência de FM no país), onde o carrapato *A. aureolatum* é o principal vetor de FM. Esses autores constataram frequência de 64% e 2,8% de soropositivos para cães e humanos, respectivamente, e atribuíram por meio dos altos títulos obtidos a responsabilidade antigênica da resposta imune encontrada em amostras de sete cães e um humano à *R. rickettsii*.

TABELA 2. Título de anticorpos nas amostras, soropositivas ao RIFI para *Rickettsia* spp., dos humanos* do meio rural, colhidas em março de 2007, em Quirinópolis-GO.

Amostra humana	Propriedade Rural	TÍTULO AO RIFI PARA <i>Rickettsia</i> spp., AMOSTRAS DE 2007					PARI
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
1	4	128	64	64	NR	NR	--
2	4	128	256	64	128	NR	--
3	4	64	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
10	5	256	128	NR	128	NR	--
12	6	512	128	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
18	9	64	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
19	9	128	128	NR	NR	NR	--
20	9	256	256	NR	128	128	--
25	13	64	128	64	NR	NR	--
27	16	128	64	NR	NR	NR	--
28	16	64	64	NR	NR	NR	--
30	17	128	64	64	NR	NR	--
33	18	64	64	NR	NR	128	--
34	18	128	64	NR	64	64	--
37	19	64	128	NR	64	NR	--

* Todas as amostras humanas foram colhidas de adultos do gênero masculino, trabalhadores rurais/vaqueiros. PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

Em 100% das propriedades rurais amostradas em Quirinópolis houve relato da presença de capivaras e em algumas delas as capivaras eram vistas transitando por locais onde os eqüinos eram manejados. As capivaras, hospedeiros primários de todos os estádios parasitários do *A. cajennense* e *A. dubitatum*, são consideradas um potencial reservatório de *Rickettsia rickettsii* (TRAVASSOS & VALLEJO, 1942a, b; SOUZA et al., 2009).

SOUZA et al. (2009) realizaram infecção experimental em capivaras pela *R. rickettsii* de duas formas, por inoculação intraperitoneal e por infestação de *A. cajennense* infectados, e depois de infestar as capivaras com ninfas de *A. cajennense* não infectadas observaram a transmissão da infecção ao carrapato. Esses autores demonstraram que a *R. rickettsii* foi capaz de contaminar capivaras sem causar a doença clínica, induzindo riquetsemia capaz de causar infecção em cobaias inoculadas com sangue das capivaras e nos carrapatos. SOUZA et al. (2009) indicaram capivaras como hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* para o carrapato *A. cajennense* no Brasil.

A prevalência de eqüinos soropositivos ao RIFI para *Rickettsia* spp. foi de 11,6% (39/335) na primeira etapa de amostragem colhida em março de 2007 em Quirinópolis, Goiás (Tabela 1). A soroconversão ao RIFI, específica ou por homologia, mais prevalente entre os eqüinos foi para a *R. rickettsii* com 28,2%

(11/39) das reações, seguida da *R. parkeri* com a frequência de 2,5% (1/39) representada por uma única amostra eqüina soropositiva de título 64 (Tabela 3).

TABELA 3. Sororeagentes ao RIFI com homologia para uma determinada *Rickettsia*, em amostras de soro de eqüinos colhidas em março de 2007 em Quirinópolis, Goiás.

Amostra eqüina	Propriedade Rural	SORORREACÇÕES HOMÓLOGAS e ESPECÍFICAS					PARI
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
9	3	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
21	4	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
33	4	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
34	4	256	64	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
5	5	64	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
6	5	512	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
8	5	256	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
15	6	512	128	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
10	8	512	128	NR	128	128	<i>R. rickettsii</i>
22	15	NR	64	NR	NR	NR	<i>R. parkeri</i>
35	18	256	64	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
10	19	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>

PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

FREITAS (2007), objetivando 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, analisou, por RIFI, 75 soros de eqüinos de carroceiros frente à *R. rickettsii* e a *R. parkeri*, no período de abril de 2005 a junho de 2006, e encontrou sete animais (9,33%) com titulação variando entre 64 a 1024, reagentes apenas à *R. rickettsii*. O autor considerou esses dados representativos para avaliação epidemiológica inicial nesta área. Semelhante ao inferido por esse autor, considerando o eqüino animal sentinela para FM, admitindo que os animais testados podem percorrer grandes distâncias ou até mesmo serem livremente comercializados (as propriedades do presente estudo se dedicavam entre outras atividades ao sistema de cria de eqüinos para comercialização), esses animais de Quirinópolis, uma vez que tiveram contato com antígenos riquetsiais, podendo carrear vetores infectados tornam-se disseminadores de espécies de *Rickettsia*.

As demais amostras de eqüinos soropositivos em Quirinópolis colhidas em 2007, que somaram 69,2% (27/39), foram reações sorológicas cruzadas e algumas reagiram para as cinco espécies de *Rickettsia* pesquisadas e não apresentaram homologia causal provável (Tabelas 4 e 5A).

TABELA 4. Título de anticorpos nas reações cruzadas ao RIFI para *Rickettsia* spp., em amostras de soro de eqüinos colhidas em março de 2007 em Quirinópolis, Goiás.

Amostra eqüina	Propriedade Rural	Sororeações ao RIFI para <i>Rickettsia</i> spp.				
		<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>
7	4	128	64	NR	NR	64
23	4	128	128	NR	NR	128
24	4	256	256	NR	NR	64
36	4	256	128	NR	NR	NR
5	6	256	256	NR	NR	256
4	9	256	256	NR	NR	NR
13	9	256	128	NR	NR	NR
14	9	512	512	NR	NR	NR
14	10	1024	512	512	512	1024
34	10	128	64	NR	NR	NR
6	13	1024	1024	NR	NR	2048
1	15	1024	512	128	NR	256
3	15	256	128	NR	NR	NR
4	15	64	128	NR	NR	NR
32	18	128	NR	NR	NR	64

PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

Na colheita de amostras realizada em 2007, uma das 20 propriedades rurais, “PR 8”, chamou atenção por apresentar a freqüência de 76,5% (13/17) de reações sorológicas positivas ao RIFI, a maior soropositividade dentre as demais propriedades. Nesta propriedade, das 13 sororeações positivas somente uma (7,7%) de título 512 indicou a *R. rickettsii* como agente causal provável da reação imunológica. As demais reações foram cruzadas para mais de um antígeno riquetsial, com diferença menor que 4X entre os dois maiores títulos de anticorpos encontrados para uma mesma amostra (Tabela 5A).

Comparativamente, em nova colheita de amostras realizada em fevereiro de 2008, um ano após a primeira, a “PR 8” apresentou freqüência de soropositivos ao RIFI de 70,8% (17/24) para as mesmas espécies de *Rickettsia*. No entanto, dessas amostras soropositivas 23,5% (4/17) reagiram especificamente para *R. rickettsii* (Tabela 5B), sendo esse portanto o provável agente infeccioso causador de tal resposta imune nestes animais.

TABELA 5A. Título de anticorpos das amostras eqüinas soropositivas ao RIFI para *Rickettsia* spp., colhidas em março de 2007, na “PR 8” em Quirinópolis-GO.

Amostra Eqüina	TÍTULOS DAS REAÇÕES AO RIFI PARA <i>Rickettsia</i> spp. Ano 2007					PARI
	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
1	128	128	NR	NR	NR	--
2	128	128	NR	NR	NR	--
4	256	256	128	64	NR	--
5	512	128	NR	128	128	<i>R. rickettsii</i>
7	128	NR	128	256	128	--
8	256	128	128	NR	NR	--
9	512	512	128	1024	NR	--
10	512	512	NR	NR	NR	--
12	128	128	NR	NR	NR	--
13	1024	1024	128	NR	NR	--
14	1024	512	128	1024	128	--
16	1024	1024	NR	128	256	--
17	512	512	64	NR	128	--

PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

A semelhança constatada nas frequências de eqüinos soropositivos da “PR 8” entre amostras de 2007 e 2008, somada com títulos de 1024 obtidos nas reações sorológicas cruzadas verificadas para alguns eqüinos, corroboram as evidências sorológicas da presença de agentes do GFM circulando no Município de Quirinópolis, Goiás, Estado considerado indene para FM.

TABELA 5B. Título de anticorpos das amostras eqüinas soropositivas ao RIFI para *Rickettsia* spp., colhidas em março de 2008, na “PR 8” em Quirinópolis-GO.

Amostra Eqüina	TÍTULO AO RIFI PARA <i>Rickettsia</i> spp. AMOSTRAS DE 2008					PARI
	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. bellii</i>	
2	256	512	NR	128	NR	--
3	256	256	NR	NR	NR	--
5	512	512	NR	NR	NR	--
6	512	256	256	512	NR	--
7	512	512	NR	NR	64	--
9	128	128	NR	NR	NR	--
10	256	128	NR	NR	NR	--
11	128	128	NR	64	NR	--
13	512	512	256	256	NR	--
15	64	256	NR	NR	NR	<i>R. parkeri</i>
16	128	256	NR	NR	NR	--
18	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
19	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
20	256	128	NR	NR	NR	--
22	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>
23	128	256	NR	NR	NR	--
24	128	NR	NR	NR	NR	<i>R. rickettsii</i>

PARI = provável antígeno responsável pela resposta imune

SANGIONI et al. (2005) estudando evidências sorológicas da presença de agentes do GFM em amostras de soro de humanos, eqüinos e cães provenientes de três fazendas de área endêmica (fazenda 1, 2 e 3) e três fazendas de área não endêmica (fazendas 4, 5 e 6) para FM no Estado de São Paulo, observaram frequência de soropositivos ao RIFI, frente unicamente à *R.rickettsii*, de 90% (9/10), 57% (4/7) e 80%(4/5) em eqüinos da área endêmica para FM e nenhuma amostra soropositiva na área não endêmica.

Em Quirinópolis, no ano de 2007, uma das amostras eqüinas reagiu de forma soro-específica para *R. parkeri*, porém com título de 64 (Tabela 3). Mas na segunda etapa de colheita de amostras realizada em 2008, um dos eqüinos da “Propriedade Rural 8”, que reagiu de forma cruzada para *R.parkeri* (título de 256) e *R.rickettsii* (título de 64), apresentou homologia para o primeiro antígeno, com título 4 X maior, indicando a *R. parkeri* como provável antígeno causador da resposta imune anti-riquetsia neste animal (Tabela 5B). Esses achados constituem o primeiro indício de que a *R. parkeri* esteja circulando no Estado de Goiás e também é a primeira evidência sorológica desta bactéria numa amostra de sangue colhida na Região Centro-Oeste do Brasil. Evidências sorológicas da presença da *R.parkeri* no Brasil já haviam sido descritas em um cão de área endêmica para FM no Estado de São Paulo (HORTA et al., 2004a), um cão no município de Monte Negro, Amazonas (LABRUNA et al., 2007),e em um cão e um eqüino do município de Piracicaba, área endêmica para FM em São Paulo (HORTA et al., 2007). Um estudo realizado em carrapatos de capivaras, colhidos em área endêmica para FM no Estado de São Paulo, indicou com 100% de homologia para *R. parkeri* a presença de DNA riquetsial em *A. dubitatum* (LABRUNA et al., 2004b).

A *R. parkeri* foi identificada pela primeira vez no Texas, EUA, em 1937 isolada do carrapato *Amblyomma maculatum* (PARKER et al, 1939), mas somente em 2002 na Virginia, EUA, a bactéria foi incriminada como patogênica para humanos (PADDOCK et al, 2004). A FM causada por *R. parkeri* se caracteriza por um curso não grave, sem letalidade registrada (PADDOCK et al., 2004). No Brasil, a *R. parkeri* foi isolada pela primeira vez em 2006 no carrapato *Amblyomma triste* colhido em área rural do Estado de São Paulo (SILVEIRA, 2006).

Em meio às sororreações observadas em humanos e eqüinos de Quirinópolis houve resposta para todas as espécies de *Rickettsia* estudadas. A soro-reação cruzada mais freqüente envolveu a *R. rickettsii*. A maior parte das amostras que reagiram de forma cruzada para as espécies de *Rickettsia* estudadas não apresentaram uma homologia causal provável, pois a diferença entre os dois maiores títulos de anticorpos de uma mesma amostra foi sempre menor que 4X, fazendo com que não se possa dizer qual dos antígenos é responsável em causar a resposta antigênica. No caso de reações cruzadas não se sabe a espécie de *Rickettsia* que esteve ou está circulando na área estudada, já que reagiu para vários antígenos. Todavia, considerando as evidências sorológicas nas amostras humanas ou animais, sabidamente houve contato destes indivíduos com bactéria (as) do GFM, mas não se pode diagnosticar com precisão um antígeno responsável.

É importante salientar que, pelo fato de que pelo menos um dos vetores associados (*A. cajennense*) a FM estar presente no Estado de Goiás, fato verificado por BORGES & SILVA (1994), pela constatação de anticorpos anti-riquettsiais no presente estudo e ainda a ocorrência da doença em estados limítrofes à Goiás, como Minas Gerais e São Paulo, pode estar havendo ausência de diagnóstico clínico, já que se trata de enfermidade infecciosa que não apresenta sinais patognomônicos e pode ser confundida com outras enfermidades.

4.4. CONCLUSÕES

A prevalência de eqüinos de Quirinópolis, Goiás, soropositivos para *Rickettsia* spp. foi de 11,6% em março de 2007. A reação sorológica mais prevalente entre esses eqüinos foi para a *R. rickettsii*.

A constatação de anticorpos anti-riquettsiais nas amostras provenientes da área rural, que constituem indícios sorológicos do contato entre bactérias do gênero *Rickettsia* ou microorganismos antigenicamente semelhante com humanos e animais oriundos de Quirinópolis, indica a provável circulação da etiologia da febre maculosa ou de enfermidade semelhante no Estado de Goiás.

4.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APPERSON, C.S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W.L.; MEAD, D.G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M.J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D.W. Tick-Borne Diseases in North Carolina: Is "Rickettsia amblyommii" a Possible Cause of Rickettsiosis Reported as Rocky Mountain Spotted Fever. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.8, n.5, p.597-606, 2008.
2. BATTESTI, D.M.B.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: **VOX/ICTTD-3/Butantan**, 2006, 223p.
3. BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean Spotted Fever and other Spotted Fever Group Rickettsiae. In: PALMER, R.S.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. **Zoonoses**, Oxford: University Press, p.217-240, 1998.
4. BORGES, L. M. F.; SILVA, C. R. F. Ixodídeos parasitos de bovinos e eqüinos da microrregião de Goiânia, Goiás. **Rev. Parasit. Trop.** v.23,n.1, p.69-74, 1994.
5. BRASIL. Portaria Nº. 1943/GM, de 18/10/2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. Ministério da Saúde. Brasília: **DOU**, n. 204, seção 1, pág.35, de 24 de outubro de 2001.
6. BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. MS, Secretaria de Vigilância em Saúde. 6ed. Brasília: MS, 816p, 2005.
7. BRASIL. MS. Cuidados para evitar a FM. Acessado dia 23/04/2006. No site: http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/noticias_detalhe.cfm?co_seq_noticia=22838
8. BRASIL. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2006*. Acessado dia 29/05/2008. Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_maculosa.pdf
9. BRASIL. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2008*. Acessado dia 13/03/2009(a). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_maculosa.pdf
10. BRASIL. Ministério da Saúde. Óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990-2008. Acessado dia 13/03/2009(b). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_por_febre_maculosa.pdf
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Profissional de gestor. Vigilância. Glossário de doenças. Febre Maculosa. Acessado dia 22/03/2009. Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=26935
12. CALIC, S.B., GALVÃO, M.A., BACELLAR, F., ROCHA, C.M., MAFRA, C.L., LEITE, R.C., WALKER, D.H. Human ehrlichioses in Brazil: first suspect cases. *Brazil J. Infect. Dis.* V.8, n.3, p.259-262, 2004.
13. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. CDC, Atlanta, GA. v.55, n.RR-4, 36p, 2006.

14. CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Tickborne Rickettsial Diseases. **Statistics**. Acessado dia: 22/03/2009. Disponível no site: http://www.cdc.gov/ticks/diseases/rocky_mountain_spotted_fever/statistics.html
15. CICUTTIN, G.L.; RODRIGUEZ, V. M.; JADO, I.; ANDA, P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la ciudad de Buenos Aires, resultados preliminares. **Rev Argentina Zoonosis**, v.1, p.10, 2004.
16. COSTA, P.S.G.; VALLE, L.M.C.; BRIGATTE, M. E.; GRECO, D. B. More About Human Monocytotropic Ehrlichiosis in Brazil: Serological Evidence of Nine New Cases. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.10, n.1, p.7-10, 2006.
17. DE BLAS, I.; ORTEGA, C.; FRANKENA, K.; NOORDHUIZEN, J.; THRUSFIELD, M. Win Episcopo 2.0. Zaragoza: CLIVE, 2000. Acessado dia: 10/12/2006. Disponível no site: <http://www.clive.ed.ac.uk/winepiscopo>
18. FREITAS, M. C. D. O. **Deteção de rickettsias do grupo febre maculosa em cães e equinos em São José dos Pinhais, PR**. 2007. 79f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Escola de Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
19. GALVÃO, M.A.M. Febre maculosa. In: PEDROSO E.R.P., ROCHA, M.O.C., SILVA, O.A. **Clínica Médica: os princípios da prática ambulatorial**. São Paulo: Atheneu, p. 1374-1388, 1993.
20. GALVÃO, M. A. M. Febre Maculosa. **Revista da Pesquisa e Pós-graduação**. Ouro Preto: UFOP. V. 1 N.1 JAN./JUN. 1999.
21. GALVÃO, M. A. M.; LAMOUNIER, J. A.; BONOMO, E.; TROPPIA, M. S.; REZENDE, E. G.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; MACHADO, M. C.; OTONI, M. E. A.; LEITE, R. C.; CARAM, C.; MAFRA, C. L.; WALKER, D. H. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.18, n.6, p.1593-1597, 2002.
22. 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 Saúde Pública**. v. 39, n. 5, p. 850-6, 2005.
23. GUEDES, E.; LEITE, R.C.; PRATA, M.C.A. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.100, p.841-45. 2005.
24. HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. **Advance Parasitology**. v.1, n.24, p. 35-238, 1985.
25. 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.T.S.; 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*. **Am J Trop Med Hyg**, v.71, p.93-97, 2004a.
26. HORTA, M.C.; PINTER, A.; SOUZA, C.E. et al. Rickettsia infection in opossums (*Didelphis spp*) in São Paulo State, Brazil. In: 4TH International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases, 2005, Logroño, ANAIS...Logroño, 2005, p.166.

27. HORTA, M. C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T.T.S. Rickettsia infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.102, n. 7, p.793-801, 2007.
28. HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SANGIONI, L.A.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, M.S.; GALVAO, M..AM. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian Spotted fever endemic area in the state of Sao Paulo, Brazil. **Am J Trop Med Hyg**.v.71, p. 93-7, 2004.
29. LABRUNA, M. B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C. Rocky Mountain Spotted Fever in Dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, n. 3, p.458-460, 2009.
30. LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad. Sci. **New York Academy of Sciences**. 11p. 2009. No prelo.
31. LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; PINTER, A.; GENNARI, S.M.; CAMARGO, L.M.A. Prevalence of *Rickettsia* Infection in Dogs from the Urban and Rural Areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne And Zoonotic Diseases**, v.7, n.2, p.249-255, 2007.
32. LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **J Clin Microbiol**, v.42, p.90-98, 2004b.
33. LABRUNA, M.B. Epidemiologia da Febre Maculosa no Brasil e nas Américas. In: I SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 2006a, Viçosa-MG. **ANAIS**...Viçosa:2006, p.63-78.
34. LAKOS, A. Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA). **Wien Klin Wochenschr**, Áustria, 7p, 2002. Acessado dia 23-08-2006. Disponível no site: [http://www.kullancs.hu/admin/uploads/tibola.pdf#search=%22Tick-borne%20lymphadenopathy%20\(TIBOLA\)%22](http://www.kullancs.hu/admin/uploads/tibola.pdf#search=%22Tick-borne%20lymphadenopathy%20(TIBOLA)%22)
35. LOULY, C.C.B.; FONSECA, I.N.; OLIVEIRA, V.F.; BORGES, L.M.F. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 103-106, 2006.
36. MANTOVANI, E.; COSTA, I.P.; GAUDITANO, G.; BONOLDI, V.L.N.; HIGUCHI, M.L.; YOSHINARI, N.H. Description of Lyme diseases-like syndrome in Brazil. Is it a new tick borne diseases or Lyme disease, variation? **Brazilian J Med Biol Res**, v.40, p.443-456, 2007.
37. MARTINS, E. C. Comunicação pessoal, fornecida pela Gerência Técnica de FM do MS-Brasília, durante o “5º Seminário de Doenças Transmitidas por Carrapatos”, realizado pela Secretaria de Estado da Saúde do Estado de São Paulo/SUCEN/Regional de Campinas-SP e Unicamp, Campinas, 2007.
38. NOGUEIRA, M.F.; CRUZ, T.F. **Doenças da Capivara**. 1 ed. Corumbá, MS: Embrapa Pantanal, 2007, 74p. Disponível no site: http://www.cpap.embrapa.br/publicacoes/download.php?arq_pdf=Livro030

39. OLIVEIRA, VAC. Comunicação pessoal - Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde, da Secretaria de Estado da Saúde, Goiás, 2006.
40. OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas – Relatório Final. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 18 - 19 de setembro de 2004. Disponível no site: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf>
41. PADDOCK, C.D.; SUMNER, J.W.; COMER, J.A.; ZAKI, S.R.; GOLDSMITH, C.S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S.L.; TAMMINGA, C.L.; OHL, C.A. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clin Infect Dis.**, v.38, n.6, p.805-11, 2004.
42. PARKER, R.R.; KOHLS, G.M.; COX, G.W.; DAVIS, G.E. Observations of an infectious agent from *A. maculatum*. **Public Health Rep.**, v.54, p.1482-4, 1939.
43. PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-Borne Rickettsioses in America: Unanswered Questions and Emerging Diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v.11, p.40-50, 2009.
44. PINTER, A.; HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre Maculosa –Informe Técnico II/Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Acessado dia 19/11/2005. Disponível no site: <http://cohabrp.com.br/SSAUDE/DOENCAS/febremaculosa.pdf>
45. PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.1078, p.523-9, 2006.
46. PINTER, A.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B. Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.247-252, 2008.
47. PIZA, J.T.; MEYER, J.R.; GOMES, L.S. Tífo exantemático em São Paulo. **Soc. Impress. Paulista**, São Paulo, 1932.
48. RIPOLI, C.M., REMONDEGUI, C.E., ORDONEZ, G., ARAZAMENDI, R., FUSARO, H., HYMAN, M.J., PADDOCK, C.D., ZAKI, S.R., OLSON, J.G., SANTOS-BUCH, C.A. Evidence of rickettsial spotted fever and ehrlichial infections in a subtropical territory of Jujuy, Argentina. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 61, 350-354, 1999.
49. SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães e eqüinos e adultos de *Amblyomma cajennense*, em área endêmica e não-endêmica do Estado de São Paulo**. 2003. 86f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
50. SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Infection in Animals and Brazilian Spotted Fever Endemicity. **Emerging Infectious Diseases**. v. 11, n. 2, p.265-270, 2005.
51. SEPIN. Superintendência de Estatística, Pesquisa e Informação. Anuário Estatístico do Estado de Goiás – 2005. Acessado dia 29/04/2006. Disponível no

site:

http://www.seplan.go.gov.br/sepin/pub/anuario/2005/pecuaria/tab08_pecuaria.htm

52.SEPIN. Superintendência de Estatística, Pesquisa e Informação. Secretaria do Planejamento e Desenvolvimento do Estado de Goiás. Acessado dia 03/03/2009. Disponível no site: <http://www.seplan.go.gov.br/sepin/>

53.SILVA, M.E. **Frequência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em cães da cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2005.** 2007. 35f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

54.SILVEIRA, I. **Investigação da infecção pela bactéria *Rickettsia parkeri* em carrapatos *Amblyomma triste* no Estado de São Paulo.** 2006. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

55.SOARES, J.F.; SANGIONI, L.A.; VOGEL, F.S.F.; SILVAI, C.F.B. Parasitismo em ser humano por *B. microplus* (Acari: Ixodidae) em Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.5, p.1495-7, 2007.

56.SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWALSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.; BORBA, R.C.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, 2009. No prelo.

57. STEERE AC, COBURN J, GLICKSTEIN L. The emergence of Lyme disease. **European J Clin Invest**, v.113, n.8, p.1093-1101, 2004.

58.SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Manual de Vigilância Acarológica**, São Paulo: SUCEN, 2004, 62p.

59.SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Febre Maculosa:** informações para profissionais da saúde. Acessado dia 04/04/2009. Disponível no site: <http://www.sucen.sp.gov.br>

60.TRHUSFIELD, M.V. **Epidemiologia Veterinária**. São Paulo: ROCA, 2ed., 2004. 556p.

61. WEBER, K. Aspects of Lyme borreliosis in Europe. **European J Clin Microb Infec Dis**, v.20, n.1, p.6-13, 2001.

62.WIKSWO, M.E.; HU, R.; DASCH, G.A.; KRUEGER, L.; ARUGAY, A.; JONES, K.; HESS, B.; BENNETT, S.; KRAMER, V.; EREMEEVA, M.E. Detection and Identification of Spotted Fever Group Rickettsiae in *Dermacentor* Species from Southern California. **Journal Of Medical Entomology**. v.45, n.3, p.509-516, 2008.

63.YOSHINARI, N.H.; BARROS, P.J.L.; YASSUDA, P.; BAGGIO, D.; STEERE, A.C.; COSSERMELLE, W. Estudo epidemiológico da doença de Lyme no Brasil. **Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo**, v. 47, p.71-5, 1992.

64.YPARRAGUIRRE, L.A.; MACHADO-FERREIRA, E.; ULLMANN, A.J.; PIESMAN, J.; ZEINDER, N.S.; SOARES, C.A.G. A Hard Tick Relapsing Fever Group Spirochete in a Brazilian *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. **Vector Borne and Zoonotic Dis**, v.7, n.4, p.717-721, 2007.

CAPÍTULO 5 - IDENTIFICAÇÃO E PESQUISA DE *Rickettsia* spp. EM CARRAPATOS COLHIDOS EM CÃES E EQÜINOS DE QUIRINÓPOLIS, GOIÁS, BRASIL

Resumo. Objetivando verificar a presença de carrapatos vetores em um suposto foco de febre maculosa em Quirinópolis, Goiás, Brasil, colheu-se carrapatos em 14 propriedades rurais e em cães da área urbana da cidade. Os carrapatos foram colhidos por todo corpo dos animais, identificados e submetidos ao PCR para detecção da presença de DNA de *Rickettsia* sp. Das propriedades rurais foram colhidos 675 exemplares de carrapatos (seis larvas, 79 ninfas e 587 adultos) parasitando eqüinos no meio rural de Quirinópolis, entre fevereiro e março de 2007. Os carrapatos adultos foram caracterizados como de três espécies: *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (55 fêmeas e 17 machos), *Dermacentor nitens* (274 fêmeas e 235 machos) e *Amblyomma cajennense* (cinco fêmeas e um macho). Este último foi observado em uma (7,1%) propriedade. Observou-se 1% de *A. cajennense* em relação ao total de carrapatos adultos, considerando 292 eqüinos. Os 89 carrapatos adultos (17 machos e 72 fêmeas) colhidos em 24 cães errantes urbanos foram caracterizados como pertencentes à espécie *Rhipicephalus sanguineus*, igualmente aos 20 carrapatos adultos (4 machos e 16 fêmeas) colhidos em dois cães na residência de um suspeito caso de FM ocorrido em Quirinópolis. A presença de DNA riquetsial não foi observada ao PCR em nenhum dos carrapatos colhidos. O principal vetor de FM foi identificado na região alvo do estudo. Sugere-se que futuros estudos devem abranger também ectoparasitos de vida livre, maior número de amostras, melhor distribuição das amostras no território de Goiás e que abranja também o ambiente silvestre, a fim de se constatar a real ausência de vetores infectados com *Rickettsia* sp.

Palavras-chave: *Amblyomma*, febre maculosa, PCR, DNA riquetsial, vetor

Abstract. The objective of this study was to verify of the Brazilian spotted fever (BSF) tick-borne occurrence infected by *Rickettsia* sp. in Quirinópolis City, Goiás State, Brazil. Ticks harvested in 14 farms and urban dogs. In March, year 2007, the ticks had been harvested by all body of the animals, identified and submitted to the PCR for detention of the presence of *Rickettsia* sp. DNA. In the farms had been harvested 675 ticks (six larvae, 79 nymphs and 587 adults), fixed in equine. three different species of ticks had been found: *Rhipicephalus Boophilus microplus* (55 females and 17 males), *Dermacentor nitens* (274 females and 235 males) and *A. cajennense* (cinco females and one male). This last one was observed in one (7.1%) property. The *A. cajennense* it was observed in 1% of the adult ticks total, considering 292 equines. The 89 adult ticks (17 males and 72 females), harvested in 24 free life urban dogs, had been of the *Rhipicephalus sanguineus* species, equally to the 20 adult ticks (4 males and 16 females) harvested in two dogs in the residence of one suspected BSF case occurred in Quirinópolis. The presence of rickettsial DNA was not observed to the PCR in none tick. The main BSF tick-borne was identified in the studied region. In the future new studies must also to consider free life ticks, more representative number of samples in ampler areas and with better distributed in Goiás, objectifying to evidence the real absence of arthropods vectors infected with *Rickettsia* species in this State.

Key-words: *A. cajennense*, BSF tick-borne, PCR, rickettsial DNA, vectors

5.1. INTRODUÇÃO

Em fevereiro de 2006, uma criança (NFSC) de três anos de idade foi levada ao Hospital Municipal de Quirinópolis-GO, apresentando sinais de febre, com temperatura de 38°C e uma mancha rósea no pescoço. A criança foi encaminhada a um hospital público infantil em Goiânia-GO, onde ficou hospitalizada por 53 dias. Exames laboratoriais complementares foram solicitados e duas amostras de sangue, com intervalo de 15 dias, foram colhidas e enviadas à Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) de acordo com o protocolo oficial do Ministério da Saúde (MS). O exame confirmou que a criança teve contato com agentes do grupo da febre maculosa (GFM), sendo o diagnóstico médico de febre maculosa (FM). Após tratamento com antibióticos específicos a criança evoluiu para a cura. Este foi o primeiro caso suspeito de FM registrado no município e no Estado de Goiás (OLIVEIRA, 2006).

A percepção da importância das doenças causadas por riquétsias em saúde pública vem crescendo em todo mundo, pois estão associadas a vetores artrópodes (carrapatos, pulgas, piolhos e ácaros) com ampla distribuição mundial, de fácil disseminação, sendo mantidas na natureza por hospedeiros que atuam como amplificadores do microrganismo, todavia, ainda ocorrendo de forma endêmica (OPAS, 2004).

As espécies de *Rickettsia* mantêm ciclos silvestres e enzoóticos na natureza e muitas são agentes de zoonoses transmitidas especialmente por carrapatos. Dessas, as “febres maculosas” são as de maior impacto e incidência mundial, principalmente a “febre maculosa das montanhas rochosas” (FMMR) de distribuição em vastas áreas de países das Américas (CDC, 2006; SUCEN, 2009).

A riquetsiose mais importante nas Américas, conhecida no Brasil como “febre maculosa Brasileira” (FMB), é a causada pela *Rickettsia rickettsii* (CDC, 2006; SUCEN, 2009). Mas as espécies *R. parkeri*, *R. africae*, *R. akari* e *R. felis*, também têm sido relatadas como causadoras de FM em humanos dessa região. Várias outras espécies de *Rickettsia* têm sido descritas em carrapatos nas Américas, porém sem qualquer associação com casos de FM em humanos (DÍAZ, 2001; OPAS, 2004).

Nos Estados Unidos, até o ano de 2005, existiam oficialmente duas espécies de carrapatos incriminadas na transmissão da *R. rickettsii*: o *Dermacentor variabilis* e o *Dermacentor andersoni* (CDC, 2006). Recentemente o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* foi considerado um dos vetores de FM no Brasil (DEMMA et al., 2005), já na Europa é o principal vetor da febre maculosa do Mediterrâneo, causada pela *R. conorii* (SOUSA et al., 2003).

No Brasil, os carrapatos vetores pertencem ao gênero *Amblyomma*: *A. cajennense*, carrapato estrela ou do cavalo e o *A. aureolatum*, presente em canídeos silvestres e no cão doméstico de regiões onde esse carrapato se faz presente (PINTER et al., 2005; LABRUNA, 2009). O *A. cajennense* é o principal vetor (DIAS & MARTINS, 1939). Seus três estádios evolutivos, larva, ninfa e adulto, podem transmitir a bactéria (COMER, 1991). Estudos realizados na Região Sudeste do Brasil vêm revelando cada vez mais espécies de carrapatos infectados por *Rickettsia* spp. patogênicas: *A. cajennense* (SANGIONI, 2003; GUEDES et al., 2005), *A. triste* (SILVEIRA, 2006), *A. aureolatum* (PINTER & LABRUNA, 2006), *R. sanguineus* (OLIVEIRA et al., 2008; MORAES-FILHO et al., 2009), dentre outros.

A *R. rickettsii* pode ser encontrada em capivaras, gambás, coelhos, eqüinos, cães, aves e outros, e muitas destes podem atuar como hospedeiros, ora apresentando infecção aguda ou como portadores permanentemente infectados ou inaparentes (GALVÃO, 1999). As capivaras, hospedeiros dos carrapatos *A. cajennense* e *A. dubitatum* (SUCEN, 2004), são consideradas um potencial reservatório de *R. rickettsii* (TRAVASSOS & VALLEJO, 1942a, b; BURGDORFER et al., 1962; SOUZA et al., 2009). O cão doméstico, principal hospedeiro do carrapato *Rhipicephalus sanguineus*, pode atuar como amplificador de *R. rickettsii*. (BURGDORFER, 1988). Eqüinos são considerados excelentes animais sentinelas para a FM (SANGIONI et al., 2005)

Segundo dados do MS, no período de 1997 a 2008, foram confirmados 641 casos de FM no Brasil. A região Sudeste supera as demais não somente na ocorrência da enfermidade com 515 casos confirmados (de 1997 a 2008), como em registro de óbitos por FM com 144 casos (de 1990 a 2008), seguida da região Sul com 121 casos confirmados e sem letalidade registrada. Aparentemente, a doença tem se disseminado para Estados antes considerados indenes para FM,

como é a situação dos Estados da região Sul, aonde a ocorrência vem crescendo. A região Centro-Oeste, até o presente momento tem ocorrência de FM limitada aos dois casos registrados no DF (BRASIL, 2009a e 2009b).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido amplamente utilizada em estudos epidemiológicos ou de surtos de riquetsioses para detecção de *Rickettsia* sp em carrapatos. Os oligonucleotídeos iniciadores mais utilizados são dirigidos para genes específicos de gênero, citrato sintase (*gltA*), gene da proteína de 17-kDa (*htra*) e específicos do GFM, genes das proteínas externas *ompA* e *ompB* (SANGIONI, 2003; LABRUNA et al., 2004; GUEDES et al., 2005; LABRUNA et al., 2005; SANGIONI et al., 2005).

O objetivo deste estudo foi identificar carrapatos colhidos na região de um suspeito foco de FM em Quirinópolis, Goiás, e submetê-los ao PCR para detecção de *Rickettsia* sp.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. Amostragem.

O estudo foi realizado em duas etapas de amostragem: a primeira ocorreu entre fevereiro e março de 2007 e a segunda um ano após, ambas no Município de Quirinópolis-GO, onde aconteceu no Estado de Goiás o primeiro caso humano notificado ao MS como suspeito de FM.

As amostras foram obtidas considerando-se o perímetro urbano e o meio rural. Foram escolhidas propriedades rurais com criação de equinos, situadas em várias direções em raio crescente de 100 Km. A colheita nos animais foi realizada por Médico Veterinário auxiliado por um técnico da Agência Goiana de Defesa Agropecuária. Aplicou-se questionário epidemiológico elaborado com base em TRHUSFIELD, (2004).

Caracterização da região.

O município de Quirinópolis-GO, com população estimada em 2007 de 38.064 habitantes, sendo 33.746 habitantes urbanos e 4.318 habitantes rurais (SEPIN, 2009), se localiza dentro do Bioma Cerrado, clima tropical, altitude média de 542 metros, área de 3.780 km², latitude 18°26'52"S e longitude 50°27'07"W, a 290km da capital Goiânia, no sudoeste do Estado de Goiás. Em Goiás, Quirinópolis faz divisa ao sul com o município de Paranaiguara, ao sudoeste com

Cachoeira Alta, ao norte com Rio Verde, Castelândia e Bom Jesus de Goiás e ao leste com Gouvelândia e, também, com a região Sudeste do Brasil, pela divisa com o Estado de Minas Gerais (SEPIN, 2009).

A hidrografia em Quirinópolis é constituída, principalmente, pelos rios: Rio dos Bois, São Francisco, Fortaleza, Inhumas, Rio das Pedras, Rio Preto, Rio Alegre e o Rio Paranaíba, cuja coleção de águas compõe o Lago Dourado formado pela Barragem São Simão, que divide os Estados de Goiás e Minas Gerais.

A atividade econômica da região é essencialmente agropecuária. Em Quirinópolis, no campo da agricultura a atividade predominante é a produção de grãos e cana-de-açúcar. Na pecuária, o município conta com rebanho de cerca de 367.000 bovinos, 11.000 suínos, 6.000 eqüinos e 508.000 aves (SEPIN, 2009).

Anamnese.

Dados obtidos com os responsáveis pela criança-NFSC, caso suspeito, destacam que o pai era vaqueiro em três fazendas de Quirinópolis e em sua residência havia dois cães infestados por carrapatos. A mãe da criança relatou que a mesma sempre “pegava” carrapatos. O pai da criança, trabalhador rural em três propriedades rurais de Quirinópolis, Goiás, relatou já ter chegado em sua residência trazendo consigo alguns exemplares de carrapatos na roupa. Além disso, declarou que NFSC esteve nas propriedades rurais onde trabalha, tendo contato direto com eqüinos de montaria.

Colheita e identificação de carrapatos.

Na primeira etapa de amostragem (fev e mar/2007) foram visitadas 23 propriedades rurais. Na mesma época também foram colhidos carrapatos em cães domiciliares urbanos oriundos do suspeito foco de FM.

Na segunda etapa de amostragem (mar/2008) foi possível colher carrapatos em eqüinos pertencentes a uma propriedade rural, onde a presença de capivaras foi relatada ser mais constante do que nas demais. Adicionalmente, colheram-se carrapatos em cães errantes provenientes da área urbana de Quirinópolis, animais capturados ou abandonados mantidos em canil de uma ONG da cidade.

Os ectoparasitos foram colhidos por todo o corpo dos animais com o auxílio de uma pinça e conservados em álcool isopropílico PA, conforme SUCEN (2004), até o momento de sua identificação e análise.

Os carrapatos foram identificados de acordo com BATTESTI et al. (2006) no Centro de Parasitologia da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás. Após a identificação, os carrapatos permaneceram em álcool isopropílico PA até o momento da extração do DNA, segundo orientações contidas no “Manual de Vigilância Acarológica” (SUCEN, 2004).

5.2.2. Extração do DNA de *Rickettsia* sp. dos carrapatos

Para realizar a extração do DNA, os carrapatos foram retirados do álcool e submetidos à secagem ao ambiente durante 24 horas para total evaporação do álcool. Em seguida, os carrapatos foram cortados em sentido longitudinal, preservando-se uma das metades em freezer a -80°C e a outra foi submetida a extração de DNA.

Seguiu-se protocolo de extração de DNA descrito por CHOMCZYNSKI (1993). Cada carrapato foi triturado em um tubo cônico de 1,5 mL, com auxílio de um micropistilo. Ao macerado, foram adicionados 150 µL de TE (10 mM Tris HCl; 1 mM de EDTA, pH 8) e 450 µL de isotiocianato de guanidina, seguindo-se homogeneização por 10 minutos à 56°C, com homogeneização a cada 2 min. Foi acrescentado 100 µL de clorofórmio e submeteu-se a mistura à centrifugação (12.000 g, 5 minutos). Adicionou-se 400 µL de pronanol à fase aquosa, seguindo-se um descanso de 2 horas (-20 °C). Após centrifugação (12.000 g, 5 minutos) foi adicionado 800 µL de etanol 70% ao sedimento seguindo-se uma nova centrifugação (12.000 g, 5 minutos). Após desprezar o sobrenadante, secou-se o sedimento em temperatura ambiente, e ele foi ressuspensionado em 30 µL de TE, em banho-maria (56 °C, 15 minutos). O material extraído foi armazenado em freezer à -20°C até o momento do uso.

5.2.3. Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR).

O PCR em carrapatos foi realizado sob a forma de *pools* contendo o material extraído de três carrapatos adultos. Uma alíquota do DNA extraído dos carrapatos foi usada como molde para amplificação dos fragmentos. A ocorrência

de *Rickettsia* sp. nas amostras de DNA extraídos dos carrapatos foi avaliada por meio da amplificação de um fragmento de 401 pb do gene cintrato sintase (*gltA*), presente em todas as espécies de *Rickettsia*. Foi utilizado um par de oligonucleotídeos iniciadores denominados CS-78 (*forward*), de extensão de bases GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT, e CS-323 (*reverse*) de extensão de bases GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT (LABRUNA et al., 2004). O volume utilizado para a reação de PCR foi de 25 µL por tubo de amostra, sendo 22,5 µL de mix e 2,5 µL da amostra de DNA extraído dos carrapatos. O mix da reação foi preparado com 12,6 µL de água miliQ; 4 µL de DNTP; 2,5 µL de buffer; 0,75 µL de MgCl₂; 1,25 µL de *primer forward*; 1,25 µL de *primer reverse*; 0,15 µL de Taq DNApolimerase. A amplificação foi realizada em 3 min / 95°C para desnaturação inicial, 40 ciclos de 95°C / 15 seg, 48°C / 30 seg e 72°C – 30 seg, 7 min / 72°C para extensão final.

Análise dos produtos da amplificação

Para a confirmação de DNA amplificado 10 µL do produto amplificado foi submetido à eletroforese em gel de agarose a 2% (Sigma), em cuba horizontal com tampão de corrida TBE 0,5X (0,045 Tris-borato e 0,001 M EDTA, pH 8,0), sob voltagem de 100 volts por aproximadamente uma hora, e depois corado com brometo de etídio (0,5 µg/mL) por 15 min. A visualização das bandas foi realizada em transiluminador ultravioleta (SAMBROOK et al., 1989). Como controle negativo foi utilizada água milliQ e como controle positivo amostras de DNA extraído de carrapatos *A. cajennense* experimentalmente infectados com *R. parkeri* como descrito em SANGIONI et al. (2005).

5.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 100% das propriedades rurais houve relato da presença de capivaras e, em algumas delas, durante a visita, as capivaras foram vistas transitando por locais onde os eqüinos eram manejados. As capivaras, hospedeiros primários de todos os estádios parasitários do *A. cajennense* e *A. dubitatum* (SUCEN, 2004), são consideradas um potencial reservatório de *R. rickettsii* (TRAVASSOS & VALLEJO, 1942a, b; SOUZA et al., 2009).

Foi possível colher carrapatos em 14 das 23 propriedades rurais visitadas. Em duas das três propriedades onde NFSC esteve antes do surgimento de sinais compatíveis com FM, não foram constatadas espécies de *Amblyomma* e em uma houve tratamento carrapaticida nos equinos previamente ao presente estudo e, portanto, não foram encontrados carrapatos. Foram colhidos um total de 675 exemplares de carrapatos parasitando equinos no meio rural de Quirinópolis em 2007 sendo nove larvas, 79 ninfas e 587 adultos (Tabela 1). Os adultos caracterizados de acordo com BATTESTI et al. (2006) eram de três diferentes espécies: *R. (Boophilus) microplus* (55 fêmeas e 17 machos), *Dermacentor nitens* (274 fêmeas e 235 machos) e *A. cajennense* (cinco fêmeas e um macho). Este último somente foi observado em uma (7,1%) das 14 propriedades amostradas. A presença de DNA riquetsial não foi identificada em nenhum dos 675 carrapatos pela técnica da PCR.

TABELA 1 – Carrapatos colhidos em equinos parasitados, no período de fevereiro e março de 2007, em propriedades rurais de Quirinópolis, Goiás.

	CARRAPATOS									
Fazenda (km*)	Total por estágio			Total por Espécie/sexo/propriedade						
				R.B.microplus		D. nitens		A. cajennense		Total
	Larv a	ninfa	adulto	F	M	F	M	F	M	
01(08)**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
02(25)**	3	1	9	6	2	0	1	0	0	13
03(15)	2	17	24	3	0	14	7	0	0	43
04(50)**	0	5	67	0	0	49	18	0	0	72
05 (12)	0	3	25	0	0	20	5	0	0	28
06 (45)	1	0	6	0	0	0	0	5	1	7
07 (30)	0	1	7	5	2	0	0	0	0	8
08 (36)	2	0	13	9	4	0	0	0	0	15
09 (38)	0	3	106	0	0	61	45	0	0	109
10 (50)	0	1	23	7	2	8	6	0	0	24
11 (28)	0	6	47	0	0	24	23	0	0	53
12 (20)	0	6	13	0	0	5	8	0	0	19
13 (50)	0	11	154	0	0	65	89	0	0	165
14 (30)	1	22	59	0	0	28	31	0	0	82
15 (70)	0	3	34	25	7	0	2	0	0	37
Total	9	79	587	55	17	274	235	5	1	675

Legenda: *R.B.microplus* = *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*;

D. nitens = *Dermacentor nitens*; Km* = distância da área urbana até a propriedade rural;

** propriedades rurais onde NFSC esteve antes do quadro enfermo suspeito de FM.

A frequência do *A. cajennense* foi somente de 1,0%, em relação ao total de carrapatos adultos colhidos, considerando os 292 eqüinos nos quais os ectoparasitas foram colhidos. Num estudo sobre Ixodídeos na microrregião de Goiânia-GO, em 1993, BORGES & SILVA (1994) constataram frequência de 3,9% do *A. cajennense* em 77 eqüinos. Dos sete exemplares de carrapatos colhidos na única propriedade onde o *A. cajennense* foi identificado, seis eram adultos desta espécie, o que é condizente com seu ciclo de vida de uma geração ao ano em que o estágio adulto é mais freqüente e predomina nos meses quentes e chuvosos, de outubro a março, na Região Sudeste do Brasil (SUCEN, 2004). A respeito do baixo número de exemplares do carrapato *A. cajennense* encontrados no presente estudo, futuros estudos talvez possam considerar períodos mais longos, podendo abranger o ciclo anual integral do *A. cajennense*, consiedando sua sazonalidade local no Bioma Cerrado.

No Brasil, o parasitismo por carrapatos *R. (Boophilus) microplus* em seres humanos foi evidenciado cientificamente por LABRUNA et al. (2005) em Rondônia e por SOARES et al. (2007) em São Maria, Rio Grande do Sul. Mas, segundo PINTER et al. (2005), no Brasil, as espécies de carrapato dos gêneros *Rhipicephalus* e *Dermacentor* não teriam importância na epidemiologia da *R. rickettsii*, contudo, mais recentemente MORAES-FILHO et al. (2009) demonstraram que essa situação tende a mudar como pode ser verificado mais abaixo.

Os 89 carrapatos adultos (17 machos e 72 fêmeas) colhidos em 24 cães errantes urbanos foram caracterizados como pertencentes à espécie *R. sanguineus*, mas nenhum foi positivo ao PCR para *Rickettsia* spp. DEMMA et al., (2005) apontaram o carrapato *R. sanguineus* como possível vetor de FM, depois de tê-lo encontrado parasitando um indivíduo que contraiu FM após a picada do carrapato no Estado do Arizona, EUA. A presença de *R. rickettsii*, foi detectada por PCR e isolada em cultura celular tanto no carrapato retirado do indivíduo quanto em carrapatos *R. sanguineus* colhidos do cão que pertencia a este paciente

Em Goiânia, Goiás, LOULY et al. (2006) relataram pela primeira vez no Brasil, o parasitismo em seres humanos pelo *R. sanguineus*, carrapato comum de cães. Nos achados dos referidos autores, as vítimas do parasitismo relataram que após a remoção do carrapato houve lesão no sítio de fixação do carrapato. Em Minas Gerais, onde a FM é endêmica, CARDOSO et al. (2006) utilizando a

técnica do PCR identificaram seqüências genômicas com 100% de homologia com *R. felis*. em pulgas do gênero *Ctenocephalides* e em carrapatos *A. cajennense*. Em carrapatos *R. sanguineus* uma seqüência apresentou 99% de homologia com *R. felis* e uma seqüência obtida de *A. cajennense* apresentou 97% de homologia com *R. honei* e *R. rickettsii*. Esse estudo reforça a possibilidade de ocorrência de mais de uma espécie de *Rickettsia* nos casos onde antes a *R. rickettsii* era a única incriminada.

Informações obtidas com a aplicação do questionário epidemiológico revelaram que na residência de NFSC havia dois cães adultos, SRD, infestados de carrapatos. Os 20 carrapatos adultos colhidos nestes animais, quatro machos e 16 fêmeas, e caracterizados, de acordo com BATTESTI et al. (2006), como pertencentes a espécie *R. sanguineus*, foram negativos ao PCR para detecção de *Rickettsia* spp. Carrapatos *R. sanguineus*, comum em cães, são apontados como possíveis vetores de riquetsiose no México (CDC, 2006).

Um estudo recente realizado em São Paulo, por MORAES-FILHO et al. (2009), constatou *R. sanguineus* infectados com *R. rickettsii* por meio do PCR. Esses autores sugeriram pela primeira vez no Brasil a possibilidade da participação deste carrapato como vetor na epidemiologia da FM, já que nos EUA a participação do *R. sanguineus* como vetor da FMMR foi evidenciada por DEMMA et al. (2005).

Em nova amostragem realizada em março de 2008 em Quirinópolis, um ano após a primeira, na propriedade rural onde a presença de capivara foi relatada ser mais constante do que nas demais, colheram-se 212 carrapatos adultos (53 machos e 159 fêmeas) em 24 eqüinos, os quais foram caracterizados como pertencentes à espécie *D. nitens* e foram da mesma forma que na primeira amostragem de 2007, negativos ao PCR para detecção de *Rickettsia* spp.

Independente da espécie, do total de 908 carrapatos adultos colhidos, 64% (581/908) eram fêmeas e destas 99% (575/581) estavam ingurgitadas ou repletas de sangue. Diversos fatores deletérios originam falsos negativos: a ação de DNases, RNases, a inibição da reação pelo íon Fe^{+2} ou pela heparina (GALVÃO et al., 2005). Logo, o resultado da amplificação de DNA riquetsial pelo PCR envolvendo carrapatos fêmeas no presente estudo pode ter sido

comprometido pelo excesso da presença do íon Fe^{+2} e níveis de heparina sanguínea presente nestas amostras.

Obstantes aos resultados de PCR obtidos no presente estudo, diversas espécies de carrapatos provenientes da Região Sudeste do Brasil têm sido alvo de freqüentes estudos que resultam no isolamento ou caracterização de espécies patogênicas de *Rickettsia*: *A. cajennense* infectado com *R. felis* (SANGIONI, 2003) e com *R. rickettsii* (GUEDES et al., 2005), *A. triste* infectado com *R. pakeri* (SILVEIRA, 2006), *A. aureolatum* infectado com *R. rickettsii* (PINTER & LABRUNA, 2006), *R. sanguineus* infectado com *R. felis* (OLIVEIRA et al., 2008) e com *R. rickettsii* (MORAES-FILHO et al., 2009), e vários outros.

O crescente número de casos e óbitos provocados pela FM confirmados pelo MS na Região Sudeste do Brasil (BRASIL, 2009a e 2009b), a presença do *A. cajennense*, principal vetor da FM, observada neste estudo, constantes evidências científicas da presença de vetores da FM infectados com espécies de *Rickettsia* nos Estados limítrofes à Goiás, e os dois casos de FM confirmados pelo Ministério da Saúde no DF, ainda que sem informações de serem ou não autóctones, leva a suspeita de que bactérias do gênero *Rickettsia* possam estar circulando no Estado de Goiás.

Sugere-se que novos estudos, com dimensões maiores, maior quantidade de amostras em área de estudo mais amplas e com melhor distribuição, devem ser realizados em Goiás, abrangendo também ectoparasitos de vida livre, a fim de se constatar a real ausência de artrópodes vetores infectados com espécies de *Rickettsia* neste Estado.

5.4. CONCLUSÕES

Apesar de identificados o carrapato *A. cajennense* parasitando eqüino no meio rural e o *R. sanguineus* em cães urbanos, dois potenciais vetores para a FM, nas condições em que foi realizado o presente estudo não foi detectada ao PCR a presença de DNA riquetsial nos exemplares de carrapatos colhidos em animais, seja de área rural ou urbana, do Município de Quirinópolis, Estado de Goiás:.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BATTESTI, D.M.B.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: **VOX/ICTTD-3/Butantan**, 2006, 223p.
2. BORGES, L. M. F.; SILVA, C. R. F. Ixodídeos parasitos de bovinos e eqüinos da microrregião de Goiânia, Goiás. **Rev. Parasit. Trop.** v.23,n.1, p.69-74, 1994.
3. BRASIL. Ministério da Saúde. Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2008*. Acessado dia 13/03/2009(a). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_maculosa.pdf.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990-2008. Acessado dia 13/03/2009(b). Disponível no site: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/obitos_por_febre_maculosa.pdf.
5. BURGDORFER, W.; NEWHOUSE, V.F.; PICKENS, E.G.; LACKMAND, B. Ecology of rocky mountain spotted fever in Western Montana – I. Isolation of *Rickettsia rickettsii* from wild mammals. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. n.76, p.293-301, 1962.
6. BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrubs typhus. **Biology of Rickettsial Diseases**, v.1, p.33-50, 1988.
7. CARDOSO, L. D.; FREITAS, R. N.; MAFRA, C. L.; NEVES, C. V. B.; FIGUEIRA, F. C. B.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n.3, p.495-501, 2006.
8. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. CDC, Atlanta, GA. v.55, n.RR-4, 36p, 2006.
9. CHOMCZYNSKI, P.A. A reagent for the single-step simultaneous isolation of RNA, DNA and proteins from cell and tissue sample. **Biotechniques**, v. 15, n. 3, p.532-7, 1993.
10. COMER, M.K. Rocky Mountain Spotted Fever. Veterinary Clinics of North America. **Small Animal Practice**. v.21, n.1, p.27-44, 1991.
11. DIAS, E.; MARTINS, A.V. Spotted Fever in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine**,v.19, p. 103-8, 1939.
12. DÍAZ, I. A. C. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (fiebre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella), Estado actual en Uruguay. **Rev Med Uruguay**; v. 17, n. 2, p.119-124, 2001.
13. DEMMA, L.J.; TRAEGER, M.S.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D.; BLAU, D.M.; EREMEEVA, M.E.; DASCH, G.A.; LEVIN, M.L.; SINGLETON, J. JR.;

ZAKI, S.R.; CHEEK, J.E.; SWERDLOW, D.L.; MCQUISTON, J.H. Rocky Mountain spotted fever from an unexpected tick vector in Arizona. **N Engl J Med**, v.353, n.6, p.551-553, 2005.

14. GALVÃO, M. A. M. Febre Maculosa. **Revista da Pesquisa e Pós-graduação**. Ouro Preto: UFOP. v. 1, n.1 JAN./JUN. 1999.

15. 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 Saúde Pública**. v. 39, n. 5, p. 850-6, 2005.

16. GUEDES, E.; LEITE, R.C.; PRATA, M.C.A. et. al. - Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 100: 841-845, 2005.

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

18. LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: Ann. N.Y. Acad. Sci. **New York Academy of Sciences**. 11p. 2009. No prelo.

19. LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARY, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.01, p.90-98, 2004.

20. LOULY, C.C.B.; FONSECA, I.N.; OLIVEIRA, V.F.; BORGES, L.M.F. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 7, n. 1, p. 103-106, 2006.

21. MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R.C.; GUTMANN, T.B.; BARBOSA, S.O.; GONZÁLES, M.A.R.M.; MURARO, M.A.; CECÍLIO, S.R.M.; LABRUNA, M.B. New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. V.9, n.1, p.73-78, 2009.

22. OLIVEIRA, VAC. Comunicação pessoal - Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde, da Secretaria de Estado da Saúde, Goiás, 2006.

23. OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.A.; SILVA JR, A.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, D.H.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, V.103, n.2, p.191-194, 2008.

24. OPAS – Organização Pan-Americana da Saúde. Organização Mundial da Saúde. Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas – Relatório Final. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 18 - 19 de setembro de 2004. Disponível no site: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf> .

25. PEACOCK, M.G.; ORMSBEE, R.A.; JOHNSON, K.M. Rickettsioses of Central America. **Am J Trop Med Hyg.** v.20, p.941-9, 1971.
- PINTER, A.; HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre Maculosa –Informe Técnico II/Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof. Alexandre Vranjac”. Acessado dia 19/11/2005. Disponível no site: <http://cohabrp.com.br/SSAUDE/DOENCAS/febremaculosa.pdf>
27. PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, 1078: 523-529, 2006.
28. RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews.** v.10, n.4, p. 694-719, 1997.
29. SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular cloning: a laboratory manual. 2.ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
30. SANGIONI, L. A. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães e eqüinos e adultos de *Amblyomma cajennense*, em área endêmica e não-endêmica do Estado de São Paulo.** 2003. 86f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
31. SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Infection in Animals and Brazilian Spotted Fever Endemicity. **Emerg. Infect. Diseases.** v. 11, n. 2, p.265-270, 2005.
32. SILVEIRA, I. **Investigação da infecção pela bactéria *Rickettsia parkeri* em carrapatos *Amblyomma triste* no Estado de São Paulo.** 2006. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
33. SOARES, J.F.; SANGIONI, L.A.; VOGEL, F.S.F.; SILVAI, C.F.B. Parasitismo em ser humano por *B. microplus* (Acari: Ixodidae) em Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.5, p.1495-7, 2007.
34. SOUSA, R.; NÓBREGA, S. D.; BACELLAR, F.; TORGAL, J. Sobre a realidade da febre escaro-nodular em Portugal. **Acta Médica Portuguesa**; v.16, p. 429-436, 2003.
35. SUCEN. Superintendência de Controle de Endemias-SP. **Manual de Vigilância Acarológica**, São Paulo: SUCEN, 2004, 62p.
36. TRAVASSOS, J.; VALLEJO, 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. **Mem. Inst. Butantã**, v.15, p. 73-86, 1942a.
37. TRAVASSOS, J.; VALLEJO, A. Possibilidade de *Amblyomma cajennense* se infectar em *Hydrochoerus capybara* experimentalmente inoculado com o vírus da febre maculosa. **Mem. Inst. Butantã**, v.15, p. 87-90, 1942b.

CAPÍTULO 6 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os indícios sorológicos do contato entre bactérias do gênero *Rickettsia*, ou microrganismos antígenicamente semelhante, com indivíduos e animais oriundos de Quirinópolis indicam que a febre maculosa e/ou outra riquetsiose pode estar ocorrendo em Goiás. Espera-se que, por se tratar de enfermidade sem sinais patognomônicos e que pode ser confundida com várias enfermidades com sinais e sintomas semelhantes, veterinários, médicos, agentes agropecuários e de saúde, e demais autoridades relacionadas, considerem a FM dentre as possíveis suspeitas clínicas. Assim, o conhecimento e treinamentos adequados devem surgir da base e, neste caso, a formação, principalmente dos profissionais da área da saúde e áreas afins da região atingida, deve disponibilizar tais condições, para que essa e outras enfermidades não sejam negligenciadas ou passem despercebidas.

Espera-se que este estudo venha colaborar com órgãos e entidades responsáveis pela saúde pública e coletiva, gerando dados iniciais sobre a situação de agentes do grupo da febre maculosa no Estado de Goiás, alimentando os mecanismos com os quais se viabiliza a vigilância epidemiológica.

Sugere-se que novos estudos, considerando maior número de amostras melhor distribuídas dentre os vários municípios do Estado, devem ser realizados em Goiás para se constatar a real ausência de carrapatos vetores infectados com agentes do GFM. Dentro deste universo de questões ainda por serem explicadas e/ou de possíveis descobertas no que tange às várias patologias ainda desconhecidas, ou sem importância, ou ainda não descritas ou não documentadas em toda a Região do Centro-Oeste do Brasil, espera-se que o presente estudo venha despertar o interesse da comunidade científica no que tange aos vários assuntos envolvendo os agentes do GFM. Neste contexto, merecem destaque: o ciclo anual integral do carrapato *A. cajennense* na sazonalidade local, a suposta participação do cão enquanto hospedeiro e fonte de infecção de agentes do GFM, bem como a participação do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* como vetor e a participação de carrapatos comum em eqüinos e/ou bovinos na transmissão desses agentes e, por último, no Bioma

Cerrado a participação de animais silvestres na manutenção dos ciclos destes agentes na natureza.

A presença de anticorpos anti-riquettsiais em indivíduos sem sinais da febre maculosa ou de enfermidade pode sugerir infecção sub-clínica ou inaparente ou até mesmo indivíduos resistentes à infecção. Futuros estudos que abordem esse tema poderiam trabalhar e esclarecer melhor essas indagações.

Os indícios sorológicos aqui encontrados trazem um alerta para a comunidade goiana, indicando a continuidade da vigilância para a FM e demais enfermidades abordadas, haja vista que tratam-se de zoonoses de cunho ainda desconhecido pelos técnicos locais da área da saúde e que há proximidade com Estados de São Paulo e Minas Gerais, onde a FM é endêmica.

Os resultados obtidos confirmam a condição da cidade de Quirinópolis-GO como não endêmica para Febre Maculosa Brasileira, com baixa prevalência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp em eqüinos e baixa frequência de soro-reagentes conclusivos nos humanos assintomáticos, pelo menos no momento em que este estudo foi realizado.

Todavia, assim como o MS do Brasil considerou a caso da criança NFSC de Quirinópolis como quadro de riquetsiose compatível com FM, os resultados deste estudo sugerem a reavaliação do Estado de Goiás como região indene para a FM.

Os resultados deste estudo revestem-se de grande importância para o estabelecimento de formas de amenizar, inibir ou impedir a disseminação de agentes da FM no Estado de Goiás. As informações aqui alcançadas devem sensibilizar os diversos segmentos da sociedade responsáveis pela saúde coletiva. Espera-se que o presente estudo abra caminho para novas linhas de pesquisas objetivando o bem comum que deve ser manter a integridade física e salutar dos seres vivos, especialmente dos seres humanos, pertencentes à comunidade goiana e/ou quem mais puder ser favorecido.

ANEXO 1

A) Preparo de soluções da RIFI para *Rickettsia* sp.

1) Solução PBS 10X:

Ingredientes:

NaCl (80g) + KCl (2g) + Na₂HPO₄ (14,9g) + KH₂PO₄ (2,4g) + H₂O destilada (1.000 mL).

2) Solução PBS 1X:

Ingredientes:

PBS 10X (100 mL) + H₂O destilada (900 mL)

3) Solução de lavagem

Ingredientes:

PBS 1X (1.000 mL) + Triton (1 mL)