

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV

MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ALESSANDRA PEREIRA MEDEIROS

**DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM IXODÍDEOS E DE ANTICORPOS CONTRA
Rickettsia spp. EM EQUINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL.**

Trabalho de dissertação apresentado ao Programa de Pós-graduação do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. PhD. Antonio Pereira de Souza

Lages, SC

2010

ALESSANDRA PEREIRA MEDEIROS

DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM IXODÍDEOS E DE ANTICORPOS CONTRA
Rickettsia spp. EM EQUINOS NO ESTADO DE SANTA CATARINA, BRASIL.

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no Curso de Mestrado em Ciência Animal, área de concentração Saúde Animal, do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina.

Banca examinadora

Professor PhD Antonio Pereira de Souza (Orientador)
Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) - UDESC

Professor Doutor Anderson de Moura Barbosa (Co-orientador)
Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) - UDESC

Professor PhD Valdomiro Bellato
Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) - UDESC

Professor Doutor Odilon Vidotto
Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Lages, SC 08 de Outubro de 2010

Dedico este trabalho a todos os pesquisadores da área, em especial aos meus professores colaboradores deste projeto. A minha família, em especial minha mãe e ao meu companheiro, amigo e amor.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. PhD. Antonio Pereira de Souza, e ao Prof. DSc. Anderson, pela dedicação em todos os projetos que levamos juntos, ensinando, conversando e ajudando. Verdadeiros disciplinadores.

Aos bolsistas de Iniciação Científica do Laboratório de Parasitologia do Centro de Ciências Agroveterinárias CAV-UDESC.

Ao Prof. DSc. Marcelo Bahia Labruna e toda sua equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP) (Fernanda Nieri, Tiaguinho, Iara, Aline, Jonas, Gaúcho) que me acolheram e me ensinaram uma nova vida na medicina veterinária.

Ao DSc. Rodrigo Angerami da UNICAMP, pela ajuda na execução da dissertação.

Ao Prof. PhD. Valdomiro Bellato, pela ajuda e o companheirismo no Rio de Janeiro, e a Professora PhD. Amélia A. Sartor pelas longas conversas.

Aos meus funcionários da Bichos da Serra Pet Shop: Bruno, Fernanda, Joselita, mas principalmente as mais antigas funcionárias Ana Maria, Jéssica e Mariana por terem cuidado da “nossa” empresa em todo tempo de ausência, e que não foi pouco, e o mais importante, sem deixar cair nossos resultados. Esta vitória também é de vocês.

Minha mãe Albertina, mulher corajosa que estabeleceu seus títulos, sobrevivendo à distância, à saudade, à solidão, mas que em nenhum minuto, deixou nos faltar qualquer centímetro de carinho, amor e proteção.

Ao meu pai, meu anjo, a quem dedico todas minhas vitórias sempre.

À doçura, à paciência e o carinho da minha linda irmã Carolina e ao meu irmão, Rodrigo sempre ausente, mas com presença marcante e título suficiente para orgulhar qualquer irmã.

Ao meu “PAIdrinho” Back, meu amigo e conselheiro.

As minhas tias Ermã, Shirley e minha madrinha, como também a minha Vovó Mercedes e Vovó Zuleida, simplesmente por suas existências e importância na minha vida, saibam que o carinho de vocês me fazem querer estar a todo tempo em casa, e que às vezes esqueço que já cresci.

Aos meus primos Beto, Bruna e Sara e meu amigo Jack pelo carinho na hora que já estava cansada de pensar sério, sempre tinham um cantinho na casa deles, um papo à toa e uma cervejinha gelada para passar o stress, pessoas como vocês explicam o sentido da amizade.

Ao meu sogro e minha sogra, por cuidarem bem de meu noivo em minha ausência e, por saber entender que esta ausência é para o bem dos dois.

Reservo o fim destes agradecimentos à pessoa fundamental na minha vida, em Lages, e no meu mestrado; ao meu amor Emiliano, meu companheiro, amigo e noivo. Sempre com sua paciência em todas as minhas viagens, segurou a onda da clínica, da nossa vida, da nossa casa. A você meu amor, agradeço todo seu carinho e sua credibilidade e dedico todo sucesso da minha carreira.

"O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis."

JOSÉ DE ALENCAR

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com objetivo de investigar as espécies de *Rickettsia* spp. que ocorrem no estado de Santa Catarina, por meio de pesquisa em ixodídeos coletados de diversas espécies animais, utilizando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e sequenciamento genético, e detectar anticorpos contra *Rickettsia* spp. em equinos, pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Os carrapatos coletados foram encaminhados para o Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) para identificação taxonômica e, posteriormente processados pela PCR e sequenciamento no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP). Os carrapatos (n=288) foram analisados para os genes rickettsiais *gltA*, presente possivelmente em todas as espécies do gênero *Rickettsia*, e *ompA*, comum às rickettsias do grupo da febre maculosa. Para o gene *gltA*, 14 amostras foram positivas, infectando os vetores das espécies *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma aureolatum*, *A. ovale*, *A. longirostre*, *A. tigrinum* e *Anocentor nitens*. Nove amostras foram positivas para o gene *ompA* (*A. aureolatum*, *A. ovale*, *A. longirostre*, *R. sanguineus*). As amostras positivas para *ompA* foram sequenciadas. O resultado do sequenciamento indica que em Santa Catarina circulam os agentes *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica e *Rickettsia amblyommii* cepa AL. Além dos carrapatos, 150 amostras de sangue foram colhidas de equinos de duas mesorregiões de Santa Catarina (Serra Catarinense e Vale do Itajaí) para análise de anticorpos contra *Rickettsia* spp. Foram considerados positivos animais com RIFI $\geq 1:64$. A soroprevalência para *Rickettsia* spp. observada em equinos do estado de Santa Catarina foi de 18,66%, ocorrendo reações cruzadas em todas as amostras para, no mínimo, duas das espécies testadas. Somente dois animais resultaram em um sorodiagnóstico conclusivo para *R. bellii* e *R. rickettsii* nas diluições máximas de 1:4096 e 1:512, respectivamente. Os resultados obtidos comprovam a importância do estudo da febre maculosa no estado de Santa Catarina e indicam a circulação de agentes da febre maculosa brasileira (FMB), tanto nos reservatórios como em seus vetores, e sugere que esta doença possa estar ocorrendo neste estado.

Palavras chaves: *Rickettsia* spp.; Ixodídeos; Sequenciamento; Sorologia de Equinos.

ABSTRACT

The present study was intended to characterize *Rickettsia* spp. circulating in arthropod vectors in Santa Catarina, Brazil, utilizing to technical of Reaction of Chain of the Polimerase (PCR) and sequencing genetic and investigate the presence of antibodies against the spotted fever Rickettsiae group (SFRG) in horses. 288 arthropods were collected and taxonomically identified in the Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC) and, subsequently prosecuted by the PCR and sequencing in the Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Preventiva e Saúde Animal (VPS) of the Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) of the Universidade de São Paulo (USP). *Amblyomma ovale*, *A. aureolatum*, *A. longirostre*, *Rhipicephalus sanguineus* and *Dermacentor nitens* showed sequences homology with *R. parkeri* cepa Mata Atlântica e *R. amblyommi* cepa AL. Equine (150) serum samples were tested by indirect fluorescent antibody (IFA) using *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommi*, *R. rhipicephali*, *R. belli* and *R. felis* antigen. Only two of the equine sera tested (1.33%) had conclusive results of antibody titers. Molecular detection of rickettsiae species potentially pathogenic to humans in arthropod vectors and the presence of seroreactivity to SFRG in horses show the risk of transmission of rickettsiosis in this area and the need to maintain continuous epidemiological surveillance for rickettsial diseases.

Key-words: *Rickettsia* spp.; Ixodidae; Sequences; Equine sorology;

LISTA DE TABELA

Tabela 1- Espécies de Rickettsias isoladas nos diferentes continentes.....	23
Tabela 2- Métodos a ser utilizado e como proceder para o envio de material para o diagnóstico de <i>Rickettsia</i> spp.	35
Tabela 3- Ciclos do PCR que se repete 36 vezes para <i>gltA</i> , com suas diferentes temperaturas e tempo estimado para determinada temperatura.....	43
Tabela 4- Resultados das PCRs realizadas para os genes <i>gltA</i> , <i>ompA</i> e do sequenciamento segundo o ixodídeo e a região de origem.....	48
Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina.....	68
Tabela 6- Recíproca de títulos de anticorpos (RIFI) contra <i>Rickettsia</i> spp. em equinos de Santa Catarina. 2009.....	78

LISTAS DE FIGURA

- Figura 1- Gráfico demonstrativo dos principais sinais clínicos presentes em paciente do estado de São Paulo com diagnóstico confirmado de FMB entre 2003 a 2008.....30
- Figura 2- Mesorregiões do estado de Santa Catarina.....48

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
1 REVISÃO DE LITERATURA	18
1.1 RICKETTSIAS	18
1.1.1 Febre Maculosa	19
1.1.2 O agente	19
1.1.3 Principais espécies de Rickettsias patogênicas	20
1.1.3.1 <i>Rickettsia rickettsii</i>	20
1.1.3.2 <i>Rickettsia parkeri</i>	20
1.1.3.3 <i>Rickettsia conorii</i>	21
1.1.3.4 <i>Rickettsia sibirica</i>	22
1.1.3.5 <i>Rickettsia amblyommii</i>	22
1.1.3.6 <i>Rickettsia felis</i>	22
1.1.3.7 <i>Rickettsia australis</i> e <i>R. slovacica</i>	22
1.1.4 Vetores	23
1.1.5 Hospedeiros, reservatórios e sentinelas	26
1.1.6 Patogenia e sintomas	27
1.1.7 Diagnóstico	31
1.1.7.1 Sorologia	31
1.1.7.2 Cultivo celular	33
1.1.7.3 Imunohistoquímica	33
1.1.7.4 Reação de cadeia de polimerase (PCR)	34
1.2 FEBRE MACULOSA BRASILEIRA	35
1.2.1 Febre Maculosa em Santa Catarina	37
1.3 A IMPORTÂNCIA DOS EQUINOS	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	40
2.1 DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE RICKETTSIAS EM IXODÍDEOS COLETADOS EM TERRITÓRIO CATARINENSE	40
2.1.1 Caracterização da região de estudo	40
2.1.2 Coleta de carrapatos	41
2.1.3 Extração de DNA	42
2.1.4 PCR e sequenciamento	42
2. DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA RICKETTSIAS DO GRUPO 2 DA FEBRE MACULOSA EM SOROS DE EQUINOS DAS MESORREGIÕES SERRANAS E VALE DO ITAJAÍ EM SANTA CATARINA	44
2.2.1 Obtenção de soros de equinos	44
2.2.2 Sorologia	45
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.1 PCR PARA OS GENES <i>gltA</i> E <i>ompA</i>	47

3.2 SOROLOGIA DOS EQUINOS 50

CONCLUSÃO 56

INTRODUÇÃO

A febre maculosa é uma doença zoonótica, de difícil diagnóstico, que pode ser confundida com outras doenças de fácil resolução como a gripe, por causarem dores de cabeça, febre, dores articulares e diarreia. Espécies de bactérias do gênero *Rickettsia* são as responsáveis por esta doença humana, de rápida evolução e que pode levar o indivíduo à morte (SOUZA et al., 2004; ANGERAMI, 2006). Foi relatada pela primeira vez no Brasil, na cidade de São Paulo por Piza em 1929 e, até hoje, as secretarias e órgãos públicos responsáveis continuam relatando casos em todo Brasil. Em Minas Gerais de 1981 a 2000, dos casos registrados, 50% evoluíram para óbito, caracterizando uma epidemia de febre maculosa no estado (FONSECA; MARTINS, 2007). No Brasil, além de Minas Gerais, já foram registrados casos no Rio de Janeiro, Espírito Santo, São Paulo, Bahia e Santa Catarina. Com exceção do último Estado onde os casos são isolados e brandos, nos últimos dez anos no Brasil houve 386 casos com 107 óbitos (BARCI; NOGUEIRA, 2006).

Desde que foi comprovado que os carrapatos eram capazes de transmitir doenças aos humanos, o campo de pesquisa nesta área tem crescido muito, e conseqüentemente novas cepas de *Rickettsia* spp. foram descritas. São microorganismos gram-negativos, parasitas intracelulares obrigatórios com divisão binária nas células de seus hospedeiros (vertebrados ou invertebrados), apresentam pleomorfismo cocobacilar, com uma parede complexa contendo ácido murânico, e estrutura interna composta de ácidos nucléico e ribonucleico (HOOGSTRAAL, 1967). São coradas pela coloração de Gimenez (GIMENEZ, 1964) e, mais fracamente, pelo Gram. São as menores e mais rudimentares bactérias e possuem uma distribuição universal. As rickettsias são divididas em dois grupos: o grupo do tifo (GT) e o grupo da febre maculosa (GFM).

As *Rickettsias* do grupo da febre maculosa (GFM) são transmitidas em sua maioria, por carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. No estado de São Paulo além do *Amblyomma cajennense*, também o *A. aureolatum* foi apontado na transmissão da doença em humanos (PINTER et al., 2008). O *A. cajennense* está amplamente distribuído pelo Brasil principalmente na região sudeste, e é considerado o principal vetor da *Rickettsia rickettsii*, sendo esta o principal agente da febre maculosa brasileira. Porém, Eremeeva et al. (2006) isolaram um gene rickettsial em um carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus* no estado do Arizona (USA). Da mesma forma, Parola (2005) incrimina o carrapato marrom dos cães, como importante transmissor de febre maculosa. Nos Estados Unidos o *Dermacentor* spp. é o

carrapato encontrado com maior frequência na transmissão de *R. rickettsii*, e por ser parasito de cães, se torna um carreador para o ambiente humano (McDADE; NEWHOUSE, 1986).

As rickettsias foram diagnosticadas em todos os continentes apresentando ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais e, no Brasil, já foram detectadas no Espírito Santo, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, mas tem maior ocorrência em Minas Gerais e São Paulo (GALVÃO; RIBEIRO, 1993; HORTA, 2002). De 1985 a 2000, um total de 47 casos de febre maculosa foram diagnosticados em São Paulo, sendo que 19 (40,42%) dos casos estavam na cidade de Pedreira e 25 (53,19%) em cidades vizinhas a este município como Jaguariúna, Amparo e Campinas (LIMA et al., 2001).

As fêmeas de *A. cajennense*, depois de fecundadas e ingurgitadas, caem no solo e após aproximadamente de 12 dias, iniciam sua oviposição em torno de 5000 ovos durante 25 dias finalizando com sua morte (SUCEN, 2010). Os equinos são os hospedeiros primários, mas podem parasitar felinos, bovinos, leporinos, carnívoros silvestres e o ser humano. As larvas e ninfas apresentam baixa especificidade pelos seus hospedeiros, podendo parasitar diferentes espécies, ao contrário da fase adulta que apresentam preferência por grandes mamíferos tais como equinos, antas e capivaras. Eventualmente quando a população apresenta-se numerosa, a fase adulta pode parasitar inclusive seres humanos. Este comportamento faz dos carrapatos trioxenos importantes transmissores de patógenos (VIEIRA et al., 2008).

Para a circulação e manutenção da doença é necessário um reservatório. A capivara é um potencial reservatório de *Rickettsia* spp., pois através de estudos com infecção experimental, apresentou capacidade de manter o agente circulante no organismo sem apresentar sinais clínicos da doença (TRAVASSOS; VALLEJO, 1942; PEREIRA; LABRUNA, 1998)

A participação dos equinos no ciclo de transmissão é discutível, havendo evidências de que além de transportadores de carrapatos infectados também possam atuar como animais sentinela, assim como os cães. Em equinos, não há relatos de sinais clínicos, mas em contrapartida apresentam altos títulos (≥ 1024) de anticorpos contra *R. rickettsii* (LEMOS et al., 1996a). Além de sentinela, o cavalo é um importante reservatório da doença, por ter o carrapato estrela (*A. cajennense*), como principal espécie de ixodídeo parasitando esta espécie animal.

A importância dos equinos como reservatórios do agente causador da febre maculosa brasileira (FMB) se dá pela grande capacidade de albergar altas infestações de ectoparasitos, sem adoecer. Em condições naturais, um único equino pode se apresentar parasitado por mais de 50 mil larvas ou 12 mil ninfas ou dois mil adultos de *A. cajennense*, sem que sua vida esteja em risco (LABRUNA, 2000). Os equinos domésticos geralmente ficam em estábulos onde a densidade populacional é maior. Isso colabora para o desenvolvimento do ciclo do carrapato que se encontra no solo (larvas, ninfas ou adultos) a espera de um hospedeiro para sua alimentação (FONSECA; MARTINS, 2007). Deve-se levar em consideração ainda que, segundo o IBGE (2006) a população rural brasileira é de 19% e, no meio rural, o transporte é feito através dos equinos, o que aumenta a relação homem-animal, aumentando os riscos de transmissão da doença (PORTAL BRASIL, 2010).

Além do *Amblyomma* spp., equinos são também parasitados pelo *Anocentor nitens* que é uma espécie monoxênica e quase sempre adota equídeos como hospedeiros, mas é algumas vezes encontrado em outros animais como bovinos, ovinos, veados e búfalos. A fêmea, após alimentada e ingurgitada, cai no solo e inicia de três a 15 dias a ovipostura com aproximadamente 3000 a 6000 ovos. A duração da fase parasitária do ciclo no cavalo é de 24 a 28 dias. Sua distribuição geográfica é ampla por todo Brasil, porém Pinter et al. (2010) desconsideram a importância deste vetor na epidemiologia da febre maculosa.

As características ecológicas e a distribuição geográfica do carrapato vetor, são de suma importância para os aspectos epidemiológicos da doença (LEMOS et al., 1996c), mas deve se considerar que os casos humanos de FMB tem caráter sazonal, sendo o segundo semestre do ano, quando as formas de ninfas (menos específicas quanto ao hospedeiro) predominam. Isso explica a baixa incidência de casos humanos de FMB no verão, quando há predominância de formas adultas que, além de serem em menor quantidade, têm baixa predileção para parasitar seres humanos (SANGIONI, 2003).

Para a transmissão da doença é necessário que o carrapato fique fixado de cinco a 20 horas no hospedeiro (COMER, 1991). Além da falta de especificidade da larva, sua menor dimensão facilita este tempo de fixação. O carrapato adulto tem uma maior dimensão e a fixação no hospedeiro mais dolorosa, o que diminui a probabilidade de uma pessoa permitir que um adulto fique fixado por mais de cinco horas (SANGIONI, 2003).

A doença se manifesta no homem subitamente com febre contínua, calafrios, dor de cabeça, mialgia, artralgia principalmente nos punhos e tornozelos, de dois a 14 dias após a

mordida do carrapato infectado (MELLES et al, 1999). Erupções cutâneas maculopapulares aparecem a partir do segundo dia pós-infecção e se estendem para corpo, face, palmas das mãos e dos pés.

Nos Estados Unidos já foram descritos casos em cães com sinais clínicos (McDADE; NEWHOUSE, 1986), igualmente no Brasil Labruna et al. (2010) descreveram um caso clínico de infecção canina por *Rickettsia* spp. em São Paulo.

A febre maculosa é de difícil diagnóstico, principalmente nas áreas não endêmicas da doença. O diagnóstico em áreas endêmicas é feito pelo critério clínico-epidemiológico, mas podem ser ainda utilizadas técnicas sorológicas, de isolamento, de genoma e detecção do antígeno. Atualmente a sorologia é o método mais utilizado embora os títulos de anticorpos apareçam somente sete a 10 dias após o início da doença (FONSECA; MARTINS, 2007). Vieira et al. (2008) elegeram além da sorologia para detecção de anticorpos, a cultura em células para isolar o agente etiológico. Detecção e identificação do agente em tecidos por meio da imunohistoquímica foram realizadas em pacientes de São Paulo (ANGERAMI et al., 2009a).

O presente trabalho foi realizado com os objetivos de detectar e identificar, por meio de PCR e do sequenciamento, as espécies de *Rickettsia* spp. que ocorrem em ixodídeos de animais domésticos e silvestres de Santa Catarina e a detecção de anticorpos contra rickettsias GFM, por meio de imunofluorescência indireta, em equinos na mesorregião serrana e vale do Itajaí, e correlacionar com os achados nos ácaros processados para biologia molecular.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. RICKETTSIAS

De acordo com Garrity et al. (2004) as rickettsias pertencem ao Filo Proteobactérias, classe Alphaproteobactérias, ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae e gênero *Rickettsia*. Do ponto de vista clínico e epidemiológico este gênero é o mais importante da família por ser o causador das principais doenças como a febre maculosa, o tifo e a doença causada pela *R. tsutsugamushi*, nomeada *Orientia tsutsugamushi* (TAMURA et al, 1995).

As rickettsias são consideradas pertencentes a um grupo separado de bactérias por apresentarem aspectos comuns entre elas e por serem disseminadas por artrópodes que servem de vetores. Vários gêneros e espécies da família Rickettsiaceae mantêm ciclos zoonóticos na natureza, representando uma ameaça à Saúde Pública. As bactérias do gênero *Rickettsia* spp. são transmitidas frequentemente por ectoparasitos (SOUSA et al., 2003).

O gênero *Rickettsia* está dividido taxonomicamente em dois grupos distintos: o grupo do tifo (GT) que inclui *R. prowazekii*, agente do tifo endêmico; *R. tiphy*, agente causador do tifo murino e; *R. canadensis*, isolada de carrapatos (*Haemaphysalis leporispalustris*) de coelhos em Ontário, Canadá (PAROLA et. al., 2005). E o grupo da febre maculosa (GFM) que englobam inúmeros espécies como a *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. slovaca*, *R. felis*, *R. parkeri* entre outros. A parede celular é composta por peptidoglicano e lipopolissacarídeo (LPS). Os LPS estão presentes em todas rickettsias GFM e em pouca quantidade no GT. Por serem antígenos específicos das rickettsias GFM, têm papel na fixação do complemento e estão na origem das reações imunitárias cruzadas que ocorrem entre as rickettsias e outras bactérias (BACELLAR, 1996).

As rickettsias têm sofrido intensa reorganização taxonômica durante os últimos dez anos, a família Bartonellaceae foi removida da ordem Rickettsiales e adicionada a esta última ordem duas famílias: Anaplasmataceae e Rickettsiaceae, na família Rickettsiaceae foram incluídos os gêneros *Rickettsia* e *Orientia* (DUMLER et al., 2001).

1.1.1 Febre Maculosa

1.1.1.1 O Agente

Em 1899 Edward E. Maxey relatou pela primeira vez um caso clínico de febre maculosa das Montanhas Rochosas, tipicamente de rickettsiose transmitida por carrapato (MAXEY, 1899). Howard T. Ricketts, em 1906, relatou a importância do carrapato na transmissão da febre maculosa das Montanhas Rochosas (Rocky Mountain spotted fever – RMSF) e isolou o agente *Rickettsia rickettsii*. Suas pesquisas continuaram sobre o agente causal da doença e acabaram por levá-lo a morte, contaminado em seu laboratório durante suas pesquisas. No Brasil, a doença foi descrita pela primeira vez pelo médico e pesquisador José Toledo Piza em 1929, em São Paulo.

Durante muito tempo, o agente foi considerado como vírus e, em 1977, Buxton e Fraser, passaram a classificá-lo como bactéria. Durante 90 anos *R. rickettsii* foi o único agente associada à doença em humanos no hemisfério ocidental e no decorrer do século XX as pesquisas foram se intensificando sobre esta doença de grande importância zoonótica e outras espécies de rickettsias foram identificadas: *R. parkeri*, em 1939, *R. montana*, em 1963 e *R. rhipicephali* em 1978 (PAROLA et al., 2005). O reconhecimento de 11 espécies ou subespécies nestes últimos 20 anos (1984 a 2005) tem sido facilitado pelas técnicas de cultura em célula e também pelo desenvolvimento da biologia molecular.

1.1.1.2 Principais espécies de Rickettsias patogênicas:

1.1.1.2.1 *Rickettsia rickettsii*

Agente da Rocky Mountain Spotted Fever e da febre maculosa brasileira, bactéria mais patogênica que continua causando significativa mortalidade nos Estados Unidos (PAROLA et al., 2005) e, no Brasil. O vetor primário nos Estados Unidos é o *Dermacentor variabilis*, carrapato típico de cães, cuja atividade ninfal e adulta inicia-se em março/abril e se estende até agosto/setembro. No Canadá, o *D. variabilis* é um importante vetor de febre maculosa (PAROLA et al., 2005). Nas Américas Central e do Sul, infecções naturais com *R. rickettsii* também foram detectadas em *A. cajennense* coletados no Panamá (DE RODANICHE, 1953), México (BUSTAMENTE et al., 1946) e Brasil (DIAS; MARTINS, 1939), onde foi isolada de

A. aureolatum (SANGIONI et al., 2005). Parola et al. (2005), relataram que o carrapato marrom dos cães, *R. sanguineus*, como um importante vetor desta espécie. O período de incubação é de dois a 14 dias (SEXTON; KAYE, 2002; SUCEN, 2010). Os sinais clínicos incluem dor de cabeça, febre alta, mialgia, náuseas e vômito. Algumas manifestações neurológicas como surdez, convulsões e hemiplegia podem ocorrer. A taxa de casos fatais em pessoas não tratadas varia de 10 a 25% dependendo da idade do paciente, entre outros pontos, e geralmente metade dos óbitos ocorre antes do oitavo dia da infecção (MASTER et al., 2003).

1.1.1.2.2 *Rickettsia parkeri*

Das espécies reconhecidas, a *R. parkeri*, foi considerada não patogênica por mais de 60 anos e atualmente foi documentada causando infecções humanas nos Estados Unidos (RAOULT, 2004), no Brasil (SILVEIRA et al., 2007) e no Uruguai (CONTI-DIAZ et al., 2009). As infecções por *R. parkeri* são de caráter mais brando e sem óbitos, ao contrário do que ocorre com a *R. rickettsii*. Angerami et al. (2009c), fizeram uma comparação dos quadros ocorridos no estado de São Paulo (comprovados por meio de imunofluorescência, cultivo celular e imunohistoquímica), e em Santa Catarina (somente imunofluorescência). Os autores sugerem que em Santa Catarina a *R. amblyomii*, ou a *R. parkeri*, seja o agente causador.

Paddock et al. (2004) relataram os primeiros casos de febre maculosa por *R. parkeri* em humanos. O caso ocorreu no Sudeste da Virgínia (EUA) onde o paciente apresentou febre, dor de cabeça, mialgia difusa, artralgia e escaras em extremidades baixas. Foi diagnosticada como doença transmitida por carrapato e posteriormente conseguiram isolar de biópsia de escara. Geralmente ocorrem várias escaras da fixação do carrapato na pele do hospedeiro. Os mesmos autores, através de sintomas clínicos de pacientes, epidemiologia e evidências sorológicas sugerem que infecções em humanos têm ocorrido na Flórida, Mississippi e Carolina do Sul.

Sangioni et al. (2005) em estudos preliminares sugerem que o *A. cajenense* propicia o crescimento e a sobrevivência da *R. parkeri*. Nos Estados Unidos o vetor envolvido foi *A. maculatum* (PAROLA et al., 2005). Recentemente, DNA desta bactéria foi isolado de *A. triste* no Uruguai (VENZAL et al., 2004). Os mesmos autores demonstraram em seu trabalho *A. triste* infectada por *R. parkeri* no Brasil e Uruguai, responsável por rickettsiose humana.

Pacientes mordidos por *A. triste*, sugerem que rickettsioses causada por *R. parkeri*, ocorrem no Sul da América como verificado no trabalho de Silveira et al. (2007), que suspeitaram do aparecimento da doença na cidade de Paulicéia, estado de São Paulo. Causa sintomas brandos e sem mortes registradas.

1.1.1.2.3 *Rickettsia conorii*

Agente da doença escaronodular diagnosticada no Uruguai (CONTI-DIAZ et al., 1990) e agente de febre maculosa do Mediterrâneo (FMM), foi chamada de febre botonosa, pois causava lesão máculo papular. A FMM é endêmica na área do mediterrâneo incluindo o norte da África e sul da Europa. A doença já foi diagnosticada na Itália, Portugal e Turquia. Alguns casos foram esporadicamente diagnosticados na Europa central e norte onde os *R. sanguineus* importados para o peridomicílio, encontraram condições microclimáticas adequadas para a sua sobrevivência, inclusive em cães e casas (PAROLA; RAOULT, 2001). Na Europa já foram encontrados casos no final da primavera e no verão quando o vetor é mais ativo. A alta especificidade do *R. sanguineus* por cães explica a baixa incidência da doença em seres humanos, como observado no Sul da França (PAROLA et al., 2005). O agente apresenta um período de incubação de aproximadamente seis dias e o início da sintomatologia é abrupto. Casos típicos apresentam febre alta e escaras negras no local da fixação do carrapato (ANTON et al., 2003). Em poucos casos o local da fixação ocorre dentro da conjuntiva ocular e o paciente apresenta conjuntivite (PAROLA et al., 2005). Após sete dias aparecem manchas máculo papulares envolvendo a palma da mão, sola do pé e face e geralmente o paciente se recupera sem nenhuma sequela. A taxa de mortalidade é estimada em 2,5% dos casos diagnosticados.

1.1.1.2.4 *Rickettsia sibirica*

Agente da febre maculosa diagnosticada no Oeste da Sibéria e na região de Krasnoyarsk, assim como na Rússia asiática. Vários carrapatos têm se apresentado como vetores da doença entre eles *D. nuttalli* dos locais montanhosos do Oeste e Leste da Sibéria, *D. marginatus*, *D. silvarum*, nas florestas de arbustos e *Haemaphysalis concinna* em áreas pantanosas (PAROLLA et al., 2005). Mais recentemente foi isolada de *Ixodes persulcatus*. O período de incubação é de quatro a sete dias, quando inicia o aparecimento de febre alta, escara de inoculação pelo vetor, que posteriormente acompanha uma linfadenite, além de dor

de cabeça, mialgia e distúrbios digestivos. Esta doença geralmente apresenta sintomatologia de caráter mediano e raramente ocorrem maiores complicações.

1.1.1.2.5 *Rickettsia amblyommii*

Foi isolada inicialmente em *A. americanum* no Tennessee em 1974. O papel desta bactéria como agente de doenças humanas foi sugerido por Parola et al. (2005), que observaram um grupo de 12 militares que apresentou febre mediana e anticorpos reativos para rickettsias GFM, sendo que cinco destes exibiram perfil específico com reatividade maior para o antígeno de proteína de superfície 85-1034. Tem sido detectada em *A. cajennense* e *A. coelebs*, do Oeste da Floresta Amazônica (LABRUNA et al., 2004a). Também referida como cepa 85-1034 (PAROLA et al., 2005).

1.1.1.2.6 *Rickettsia felis*

O vetor desta doença, diferentemente das outras rickettsias apresentadas, é a pulga. Foi implicada em casos de doença humana sendo detectada por biologia molecular nestes artrópodes (GALVÃO et al., 2004). Pela filogenia se enquadra no biogrupo das Febres Maculosas, porém não foi isolada de humanos (CALIC, 2004).

1.1.1.2.7 *Rickettsia australis* e *Rickettsia slovaca*

Ainda não associadas a quadros clínicos específicos.

Além das rickettsias relatadas acima, outras espécies foram descritas em trabalhos pelo mundo como *R. prowazekii*, pertencente ao GT, transmitida por piolho no Peru Andino e historicamente presente no México, na América Central e América do Sul. A *R. canadensis* foi retirada do grupo do tifo exantemático e, juntamente com a *R. bellii*, foi proposta a compor um novo grupo ancestral, que não se enquadram nem no GT nem nas rickettsias GFM (FONSECA; MARTINS, 2007). Na Tabela 1 encontram-se as principais rickettsias isoladas em diferentes continentes.

Continentes	Espécies descritas
Europa	<i>R. conorii</i> , <i>R. felis</i> , <i>R. aeschlimanii</i> , <i>R. sibirica</i> , <i>R. sibirica</i> estirpe mongolotimonae, <i>R. slovacica</i> , <i>R. akari</i> , Grupo <i>R. massilae</i> , <i>R. helvética</i> e <i>R. ripicephali</i>
América	<i>R. rickettsii</i> , <i>R. bellii</i> , <i>R. montana</i> , <i>R. ripicephali</i> , <i>R. akari</i> , <i>R. canadá</i> , <i>R. parkeri</i> , <i>R. amblyomii</i> e <i>R. felis</i>
África	<i>R. conorii</i> , <i>R. sibirica</i> estirpe mongolotimonae, Grupo <i>R. massilae</i> , <i>R. felis</i> , <i>R. aeschlimanii</i> , <i>R. africanae</i>
Ásia	<i>R. sibirica</i> , <i>R. sibirica</i> estirpe mongolotimonae, <i>R. conorii</i> , <i>R. akari</i> , <i>R. japônica</i>
Oceania	<i>R. australis</i> , <i>R. honei</i>

Fonte: Duarte, 2008

1.1.1.3 Vetores

Carrapatos, mosquitos, pulgas e moscas são incriminados de atuarem como vetores destas bactérias, entretanto no caso das rickettsias GFM estão implicados exclusivamente os ixodídeos e, em geral, do gênero *Amblyomma*, com exceção da *R. akari* e *R. felis* transmitida por gamasídeos e pulgas, respectivamente (SOUSA et al., 2003). O *R. sanguineus* também foi implicado nos casos de febre maculosa do Mediterrâneo. No Brasil, já se identificou a presença da *R. rickettsii* em *A. nitens*, por isso podem ser implicados na manutenção da FMB (BRITO, 2010). Segundo Fonseca e Martins (2007) e Brito (2010), as rickettsias se multiplicam no artrópode e, no caso do *A. cajennense*, tanto a transmissão transovariana quanto a transtadial podem ocorrer. Isto permite que o carrapato permaneça infectado por toda a sua vida (transtadial) e por muitas gerações (transovariana), atuando como vetor e também como reservatório destas bactérias na natureza.

Os carrapatos do gênero *Amblyomma* são os principais vetores de *R. rickettsii*, principal agente da FMB, que nos últimos anos tem apresentado incidência crescente no Brasil. As 106 espécies de *Amblyomma* estão distribuídas por todo o mundo. São geralmente trioxenos, e seus hospedeiros compreendem a maioria das ordens de mamíferos. Aves raramente são parasitadas pelo estágio adulto, porém frequentemente são hospedeiras das formas imaturas de algumas espécies de *Amblyomma*.

1.1.1.4 Hospedeiro, reservatório e sentinela

Hospedeiro é a pessoa, ou animal, inclusive aves e artrópodes que, em circunstâncias naturais, permitem a subsistência ou alojamento do agente infeccioso (AVILA-PIRES, 1989). Para que um vertebrado seja considerado bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, deve ser susceptível à infecção, manter a bactéria circulante em níveis plasmáticos suficientes para infectar vetores, ter alta taxa de renovação populacional, ser abundante na área endêmica e ser bom hospedeiro do carrapato vetor em condições naturais.

Considerando a definição de reservatório da American Association Public Health, como sendo qualquer ser humano, animal, artrópode, plantas ou matéria inanimada onde vive e se multiplica um agente infeccioso, da qual depende para sua sobrevivência, reproduzindo-se de maneira a que consiga ser transmitido a um hospedeiro suscetível (AVILA-PIRES, 1989), alguns vertebrados, como gambás, cavalos, bois, capivaras e outros também podem ser reservatórios e infectarem o carrapato na fase de bacteremia. Segundo o Ministério da Saúde (2005) os equídeos, roedores, como a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*), e marsupiais, como o gambá (*Didelphis spp.*), têm importante participação no ciclo de transmissão da febre maculosa e há estudos recentes sobre o envolvimento desses animais como reservatórios ou amplificadores de *Rickettsia spp.*, assim como transportadores de carrapatos potencialmente infectados. Entretanto, quanto ao papel das capivaras no ciclo da FMB, Estrada et al. (2006) posicionam-se que não existe isolados de rickettsias a partir destes animais.

Equinos e cães que vivem no peri-domicílio humano, são considerados animais sentinelas para FMB, atuando também como amplificadores da população de carrapatos (FREITAS et al., 2009). Num estudo realizado em Vila do Capoeirão, Itabira (MG), Vianna et al. (2008), por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), detectaram anticorpos contra *R. rickettsii* em 8,2% dos soros humanos, 81,3% dos cães e em 100% dos equídeos. Porém dos carrapatos avaliados, nenhuma das 356 amostras se mostrou positiva para *Rickettsia spp.* no teste de hemolinfa e na reação em cadeia pela polimerase (PCR). Sangioni et al. (2005) relataram que as áreas onde *A. cajennense* é o principal vetor da FMB, os equinos destacam-se como sentinelas por serem estes os hospedeiros primários de todos os estágios desta espécie de ixodídeo.

Lemos et al. (1996a) obtiveram 36,4% de cães e 77,8% de equinos, na área endêmica, sororeativos. O trabalho, realizado em Pedreira (SP), cidade com 17 casos de FMB, sugeriu que, além dos cães, os equinos podem servir como animais sentinela. Um cavalo ou uma capivara infectados apresentam bacteremia por até três semanas e podem, por sua vez, contaminar outros carrapatos. Lemos et al. (1996a) mostraram que 77,8% dos equinos pesquisados em área endêmica apresentavam sorologia positiva para FMB com títulos maior ou igual a 64 e foi observada uma menor prevalência nos cães. Estes resultados sugerem que os equinos podem ser indicados como animais sentinelas. Sangioni (2003) realizou RIFI em equinos de regiões endêmicas (Pedreira) e não endêmicas (Pirassununga, Cotia e Sorocaba) do estado de São Paulo, obtendo 65,3% dos equinos positivos na área endêmica contra 2% daqueles da área não endêmica, sugerindo a circulação de *R. rickettsii* nesta região. Cardoso et al. (2006) descreveram em seu trabalho o cão e o cavalo como animais próximos do ser humano e relacionaram a ausência de sorologia positiva em caninos com a não ocorrência de casos humanos nos últimos 12 anos no município de Caratinga, Minas Gerais.

1.1.1.5 Patogenia e Sintomas

As rickettsias GFM atacam o endotélio levando a distúrbios circulatórios como edema, aumento do volume extracelular com consequente hipotensão, necrose local e coagulação intravascular disseminada. Obstruções dos vasos sanguíneos com isquemia cerebral, principalmente no mesencéfalo e na região do núcleo e, menos frequentemente no coração, também podem ocorrer. No fígado pode haver lesão perivascular com degeneração vascular dos hepatócitos. No rim podem ocorrer lesões vasculares intersticiais focais (BARCI; NOGUEIRA, 2006). A vasculite rickettsial e a trombose luminal oclusiva são associadas com a necrose coagulante cutânea e epidérmica, que dão formas às escaras.

Os sintomas geralmente iniciam de quatro a 10 dias após inoculação com dor de cabeça, febre, dor muscular, linfadenite local e escara no local da fixação do carrapato. Os sinais variam dependendo da espécie de rickettsia envolvida (RAOULT; ROUX, 1997). O período de incubação varia de dois a 14 dias, de acordo com a carga de bacteriana inoculada. Os sintomas mais evidentes são febre, náuseas, vômito, mialgia, lesões vasculares que se

manifestam como petéquias e/ou equimoses na palma da mão e sola dos pés e que se espalham através dos membros, tórax e abdome (BARCI; NOGUEIRA, 2006).

Fonseca e Martins (2007) relataram que o agente da FMB, *R. rickettsii*, apresenta como manifestações clínicas hipertermia (40-41°C), irritabilidade, raquialgia e mialgia intensas, agitação e insônia, sinais de irritação meníngea. Estes mesmos autores, afirmam que nos casos mais típicos, por volta do quarto dia do período febril, surgem máculas róseas de bordos mal definidos com dois a seis milímetros de diâmetro que se distribuem por todo corpo, punhos, tornozelos, membros, troncos e face. Decorridas 12 horas, a erupção se estende às partes centrais do corpo. Mais quatro dias e seu aspecto se modifica surgindo petéquias que evoluem para exantema equimótico, exantema purpúrico e por último, necrose. Em casos mais graves, o exantema pode tornar-se hemorrágico e evoluir para necrose de extremidades como dedos, orelhas e genitais e, dessa forma, levar a toxemia.

A FMB caracteriza-se por febre alta, mialgia, artralgia e exantema típico que foram observados em 52% dos pacientes (ANGERAMI et al., 2006) geralmente associado a quadro clínico severo, com disfunção em vários órgãos. Relataram ainda a sintomatologia de 23 pacientes que chegaram ao hospital da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) de 1985 a 2003, diagnosticados por isolamento de *R. rickettsii* de sangue ou pele, por RIFI ou ainda por critério de correlação clínico epidemiológico. Destas 23 pessoas todos tiveram febre. Sintomas gerais foram mialgia, dor de cabeça, vômito e dor abdominal, 52% tiveram icterícia, 43% distúrbios do sistema nervoso central, 37% problemas respiratórios, insuficiência renal aguda em 35,3%, manifestações hemorrágicas de diferentes proporções como petéquias. Hemorragias cutâneas foram vistas em 69,5% dos casos. Trombocitopenias e aumento das enzimas hepáticas (AST e ALT) foram vistas em 100% dos casos e 30% deles foram fatais.

Sintomas semelhantes ocorreram em 2476 suspeitos com idade entre zero e 17 anos, dos quais 60 casos foram confirmados ou compatíveis com a doença (sendo que 44 casos foram diagnosticados com exame laboratorial, três confirmados com critério clínico epidemiológico e 13 confirmados com RIFI, entretanto sem aumento do título em quatro vezes em relação a primeira coleta), onde 90% tiveram febre, 91,7% dor de cabeça, 85% mialgia, 56,7% prostração, 45% dor abdominal, náuseas e/ou vômito, 40% exantema, 21,7%

diarreia, 21,7% hiperemia conjuntival, 3,3% hepato e esplenomegalia e 8,3% linfadenopatia (ANGERAMI et al., 2009b).

Katz et al. (2009) fizeram uma análise das fichas de investigação epidemiológica dos casos ocorridos entre 2003 a 2008 de FMB no estado de São Paulo. Durante este período 240 casos foram confirmados (69% por método sorológico, 17% por meio de isolamento de *Rickettsia* e somente 4% por critério clínico epidemiológico) distribuídos em 61 municípios, com 71 óbitos e observaram que o percentual de exantema (43,5%) foi maior naqueles que se curaram. Observaram ainda, que os sinais que melhor caracterizam a doença, exantema e petéquias, apareceram em 40% e 37,5%, respectivamente. Os mesmos autores salientam que dos casos confirmados neste período, houve um percentual de 21 a 40% de letalidade.

Na Figura 1 constam os principais sinais clínicos presentes na investigação epidemiológica feita em São Paulo de 2003 a 2008 por Katz et al. (2009).

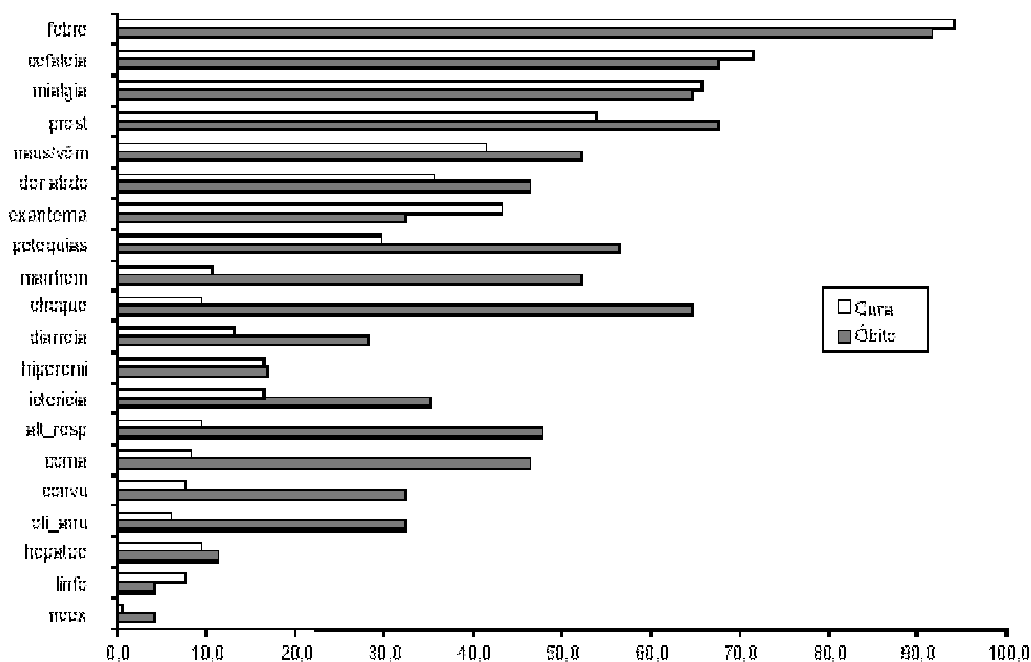


Figura 1 - Gráfico demonstrativo dos principais sinais clínicos presentes em pacientes do estado de São Paulo com diagnóstico confirmado de FMB entre 2003 e 2008. Fonte: Katz et al., 2009

A infecção humana por *R. parkeri* tem sido descrita como uma febre maculosa mais branda, sem letalidade, quando comparada à infecção por *R. rickettsii*. É possível que casos de rickettsioses por *R. parkeri* possam ter ocorrido no estado de Santa Catarina (ANGERAMI et

al., 2009c), porém, segundo Philip et al. (1978), a RIFI, utilizado para o diagnóstico dos casos deste Estado, não permite a identificação da espécie responsável pela viragem sorológica, uma vez que todas as rickettsias do GFM apresentam alguma reação sorológica cruzada entre si.

Conti-Diaz et al. (2009) sugeriram o envolvimento de *R. parkeri* em três casos de febre maculosa no Uruguai, em que os pacientes apresentaram febre moderada (<40°C), mal-estar, cefaléia, exantema, escara de inoculação no sítio de fixação do carrapato, linfadenopatia regional e ausência de letalidade.

Angerami et al. (2009c) compararam duas áreas geográficas do Brasil, São Paulo (126 casos comprovados por Imunohistoquímica ou RIFI, ou ainda por isolamento de *R. rickettsii* de tecido ou sangue) e Santa Catarina (61 casos comprovados com RIFI). Os casos de SC apresentaram sintomatologia branda, sugerindo o envolvimento de *R. parkeri*, como nos casos do Uruguai ou *R. amblyommii*.

Spolidório et al. (2010) observaram o caso de um paciente de área rural, parasitado por carrapato, e que apresentou, febre mediana, dores articular e muscular, escaras, erupção cutânea e sem linfadenite, comum nos casos de infecções por *R. parkeri*, *R. africae* e *R. sibirica*. A análise molecular com sequenciamento revelou um grau de similaridade com as três espécies citadas, mas não foi possível uma identificação conclusiva, sendo este agente denominado como *Rickettsia* sp. cepa mata atlântica.

1.1.1.6 Diagnóstico

Os métodos de identificação tradicionalmente usados em bacteriologia não podem ser aplicados para as rickettsias devido sua natureza estritamente intracelular (PAROLA et al., 2005).

O diagnóstico das rickettsioses é sempre difícil, principalmente quando não se conhece a prevalência endêmica e epidêmica da doença em uma determinada região (FONSECA; MARTINS, 2007). Embora sintomas característicos sejam indicativos da infecção, em animais e humanos, é necessária a confirmação por meio de exames laboratoriais para o diagnóstico diferencial com meningococemia, leptospirose, febre tifóide e infecções por

enterovírus (MELLES et al., 1999). A confirmação pode ser feita por meio de pesquisa de anticorpos específicos e isolamento do agente a partir de sangue, biópsia de pele e, ainda, de carrapatos coletados do paciente e/ou de animais reservatórios.

1.1.1.6.1 Sorologia

A sorologia se refere ao estudo da quantidade de anticorpos estimulado por um microorganismo durante uma infecção ativa. No laboratório os anticorpos reagem contra os antígenos de maneiras específicas que podem ser utilizadas para confirmar a identidade do microorganismo. Existem diversas técnicas de sorologia que podem ser utilizadas a qual incluem aglutinação, precipitação, fixação do complemento, anticorpos fluorescentes, entre outras, porém até que as novas tecnologias sejam completamente desenvolvidas e clinicamente avaliadas o diagnóstico de doenças rickettsiais continuará sendo realizado por meio de reação de imunofluorescência como padrão (FONSECA; MARTINS, 2007).

Para a pesquisa de anticorpos pela RIFI foi utilizada a técnica de acordo com Moraes-Filho (2009).

Labruna et al. (2007a) testaram, por meio de RIFI, 164 cães de área rural e 153 de área urbana, no município de Monte Negro, Rondônia para anticorpos contra *R. bellii*, *R. amblyommii*, *R. rhipicephali*, *R. rickettsii*, *R. parkeri* e *R. felis* e verificaram que 11,9% e 3,9% foram reativos para ao menos uma das rickettsias testadas, respectivamente. Na área rural três soros mostraram título para *R. parkeri*, quatro vezes mais alto que os outros cinco antígenos. Esse soro foi considerado homólogo para *R. parkeri* ou com genótipo semelhante. Usando o mesmo critério, dois soros da área rural foram considerados homólogos para *R. amblyommii*, dois outros soros rurais para *R. rhipicephali*, e um soro urbano para *R. parkeri*.

A técnica de RIFI foi utilizada por Angerami et al. (2009a) como prova padrão, que realizaram uma retrospectiva da FMB em seres humanos dos casos de São Paulo entre 2001 e 2008. Para a confirmação dos casos, foram utilizados RIFI, ou Imunohistoquímica (em pacientes que foram a óbito) e cultura de célula, comprovando a eficiência e confiabilidade dos testes aplicados.

1.1.1.6.2 Cultivo celular

Conjunto de técnicas que permitem cultivar ou manter células isoladas fora do organismo onde existem, mantendo as características próprias. Podem fazer-se culturas a partir de tecidos humanos, animais e vegetais. A cultura de tecidos implica a prévia desagregação (mecânica ou enzimática) do tecido original em que as células são cultivadas numa camada aderente, num substrato sólido ou em suspensão em meio de cultura (NEVES et al., 2004).

O isolamento de *Rickettsia* spp. em cultivo celular, feito em saco vitelino de ovo embrionado de galinha ou em células do rim de macaco verde (células vero). Das membranas de ovo embrionado infectadas são realizados esfregaços corados pelo método de Machiavello ou Castaneda. Esta técnica permite a visualização dos corpúsculos elementares de *Rickettsia* spp. (FONSECA; MARTINS, 2007). Possibilita o estudo de fenômenos, inacessíveis em tecidos intactos. As vantagens desta técnica são o controle das condições ambientais (pH, temperatura, concentração de O² e CO², etc), a obtenção de células com boa homogeneidade e bem caracterizadas, economia de reagentes e tempo, além do conhecimento do comportamento e funções de uma população isolada de células. Em contrapartida as desvantagens são os gastos elevados de material, condição de crescimento e instabilidade da cultura celular, a perda de características e a dificuldade de extrapolação para o modelo de organismo intacto (NEVES et al., 2004).

O isolamento de agente etiológico também pode ser realizado a partir de sangue coletado do paciente em fase aguda e inoculado em cobaio por via intracardíaca. Após, é coletado o exudato intraperitoneal ou da lesão testicular dos animais doentes, corado e visualizado por microscopia.

1.1.1.6.3 Imunohistoquímica

A imunohistoquímica combina técnicas histológicas, imunológicas e bioquímicas objetivando identificar componentes celulares e tissulares (antígenos) através de reação com anticorpos específicos em uma seção histológica, esfregaço, ou suspensão celular. Esta técnica possibilita visualizar a distribuição e a localização de componentes celulares específicos no tecido ou célula. Para isso o antígeno deve permanecer insolúvel e sua estrutura terciária deve estar preservada permitindo a ligação com o anticorpo. O anticorpo de detecção, antígeno específico, é marcado com substrato, as amostras são incubadas com substrato

enzimático, quando o anticorpo está marcado com enzima, produzindo um produto que sofre precipitação direta no corte histológico gerando uma coloração castanha ou vermelha que reflete a distribuição do antígeno alvo no tecido/célula analisada. Por meio da técnica de imunohistoquímica, *Rickettsia* spp. pode ser detectada por diversas colorações inclusive Giemsa e Gimenez (LA SCOLA; RAOULT, 1997), entretanto, as rickettsias GFM são melhor visualizadas quando o material é fixado em formalina e o tecido é embebido em parafina de autópsia e ou de biópsia cutânea simples (PAROLA et al., 2005).

1.1.1.6.4 Reação de cadeia de polimerase (PCR)

A PCR e o sequenciamento são métodos utilizados como sensíveis e rápidos para detectar e identificar as rickettsias a partir de sangue, pele e, inclusive, de carrapatos. A detecção das rickettsias baseia-se no reconhecimento de sequências de diferentes genes presentes na membrana com diferentes pesos moleculares com as proteínas de membrana *ompA* e *ompB* (proteína da membrana externa), além do 17 KDA e citrato sintase (*gltA*) (SOUSA et al., 2008).

A técnica da PCR (*polymerase chain reaction* - reação em cadeia pela polimerase) baseia-se no processo de replicação de DNA. Na PCR são usadas elevadas temperaturas de forma a separar as moléculas de DNA em duas cadeias simples, permitindo então a ligação de oligonucleótidos iniciadores (*primers*), também em cadeia simples e geralmente constituídos por 15 a 30 nucleótidos, obtidos por síntese química. Para amplificar uma determinada região são necessários dois iniciadores complementares das sequências que flanqueiam o fragmento de DNA a amplificar, nos seus terminais 3'-5', de modo a permitir a atuação da DNA polimerase durante a síntese da cadeia complementar, usando como molde cada uma das duas cadeias simples constituintes do DNA a amplificar sequências de iniciadores de vários genes como *gltA*, que codifica a enzima citrato sintase de *Rickettsia* spp., permite a detecção de todos os organismos do gênero *Rickettsia*; *ompA*, para detecção de *Rickettsia* spp. do GFM, que codifica uma proteína externa de membrana de 190 kD; *ompB*, *gltA* e gen D têm sido usadas por pesquisadores em todo o mundo.

Na Tabela 2 verifica-se um resumo das principais técnicas diagnósticas para *Rickettsia* spp., assim como a metodologia para coleta de acordo com o material e exame solicitado, utilizado pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN).

Tabela 2- Método a ser utilizado e como proceder para o envio de material para o diagnóstico de *Rickettsia*.

Exame	Material	Fase da Coleta	Quantidade e recipiente	Conservação e Transporte
Sorologia	Soro	1ª amostra: no início fase aguda 2ª amostra: duas semanas após a coleta da 1ª amostra	5 mL de sangue tubo seco ou vacutainer (sem anticoagulante)	Soro: refrigerar 4 a 8°C. Máximo 24 horas. Transporte em caixa de isopor com gelo
	Fragmento de pele	No início dos sintomas antes do tratamento ou 48 horas do início da medicação	Fragmento de pele flaconete criorresistente com 1 mL BHI	Máximo de 24 horas (6 horas) em caixa de isopor/congelar 70° ou N ₂ líquido
Isolamento	Coágulo sanguíneo	Fase aguda: antes da tratamento ou até 48 horas do início da medicação	Coágulo: 5 mL de sangue, flaconete criorresistente/1 mL BHI	Máximo de 24 horas (6 horas) em caixa de isopor/congelar 70° ou N ₂ líquido
Imunohistoquímica	Fígado, Pulmão	Logo após o óbito ou no máximo 48 horas	Colher 1 cm do órgão, armazenar formol a 10% ou bloco de parafina	Até 48 horas em temperatura ambiente.
	Biópsia de pele	Após surgimento de petéquias	Colher um fragmento de pele e colocar em frasco com formol a 10%	Encaminhar ao laboratório em até 48 horas em temperatura ambiente.

Fonte: Pinter et al.(2010) Informe técnico do Centro de Vigilância Epidemiológica

1.2 Febre Maculosa Brasileira

O primeiro caso foi descrito em 1929, no estado de São Paulo e mais tarde em Minas Gerais, Bahia e Rio de Janeiro. Segundo Greca et al. (2008), febre maculosa foi considerada uma enfermidade reemergente em áreas que eram tidas como livres da zoonose e que agora se comportam como endêmicas, como mostra seu trabalho em Coronel Pacheco, distrito de Juiz de Fora, MG, onde 65 novos casos foram relatados entre 2001 e 2004. Guedes et al. (2005),

na mesma cidade, demonstraram evidência molecular, por meio da PCR, da presença de *R. rickettsii* em *A. cajennense*. Outra espécie de ixodídeo incriminada na transmissão de rickettsias no Brasil é o *A. aureolatum* da qual, em São Paulo, se isolou *Rickettsia* spp., por meio de cultivo celular e, por técnicas de biologia molecular.

Fonseca e Martins (2007) citaram que nos anos de 1981, 1984, 1992, 1995 e 2000 as investigações epidemiológicas no Brasil se intensificaram em função dos surtos ocorridos. No estado de Minas Gerais concentrou 50% dos casos fatais e São Paulo foi o estado em que mais se registrou casos de febre maculosa. De 1985 a 2002, foram registrados 76 casos, dos quais 47,6% resultaram em óbitos. No município de Pedreira, SP, Del Guercio et al. (1997) observaram 5,3% de positividade em pessoas sem sinais clínicos da doença, evidenciando taxa de soroprevalência semelhante à de áreas endêmicas do Brasil.

No Rio de Janeiro, no período de 1980 a 2003, foram registrados 57 casos de FMB, com taxa de letalidade de 23% (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005). De acordo com dados do Ministério da Saúde (2010), foram confirmados 55 casos, com taxa de letalidade de 36,4%. Nesse estado, os casos ocorreram com maior frequência na região de Barra do Piraí e, em 2005, foi registrado um surto no município de Petrópolis.

No Espírito Santo, nesse mesmo período, foram registrados 31 casos, com taxa de letalidade de 16,2%. Surtos ocorreram nos municípios de Pancas, Barra de São Francisco, Nova Venécia e Baixo Guandu (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

No estado do Paraná foram registrados casos de FMB em 2005 (dois casos), 2006 (três casos) e 2008 (dois casos), sem ocorrência de óbitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Segundo a publicação do Boletim Epidemiológico da Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre (2005), até 2005 no Rio Grande do sul não existiram registros de casos de febre maculosa, além disso não foi diagnosticado a ocorrência de carrapato da espécie *A. cajennense* até aquela data. Entre os anos de 2005 a 2007 o estado apresentou cinco casos de FMB (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Na região Centro-Oeste, o Distrito Federal confirmou um caso em 2005, com evolução para cura (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

1.2.1 Febre Maculosa em Santa Catarina

No Estado de Santa Catarina, verifica-se uma carência de estudos direcionados para a detecção de rickettsias, quer em animais, seres humanos ou nos seus vetores, carrapatos ixodídeos, tendo sido apenas realizados diagnósticos por RIFI (ANGERAMI et al., 2009c). Em Santa Catarina, a partir de outubro de 2003 até abril/2004 foram notificados 11 casos da doença, ocorridos na região do médio Vale do Itajaí, sem registro de óbitos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

Segundo o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) foram registrados casos humanos (sorologia de febre maculosa) no município de Blumenau (seis casos em 2003 e oito em 2004). Em 2005 foram registradas ocorrências em Biguaçu, Blumenau, Corupá, Nova Veneza, Pomerode e Timbó e em 2006, nos municípios de Benedito Novo, Blumenau, Brusque, Corupá, Guaramirim, Itajaí, Jaraguá do Sul, Joinville, Massaranduba e Timbó.

1.3 A IMPORTÂNCIA DOS EQUINOS

Para que haja atividade rickettsial, é necessária a coexistência de uma relação de positividade do vetor, hospedeiros e reservatórios incluindo animais silvestres (CARDOSO et al., 2006). Estes mesmos autores, em um estudo realizado em Caratinga (MG), verificaram a ocorrência de rickettsias potencialmente patogênicas ao ser humano em vetores, detectadas pela técnica de PCR. Além disto, 17% de cavalos apresentaram sorologia positiva para rickettsias GFM que apresentaram o risco de transmissão de febre maculosa nesta área de foco silencioso. Os equinos podem albergar centenas de ixodídeos e são considerados animais sentinela. Além disso, convivem intimamente com seres humanos, indicando risco a saúde.

Lemos et al. (1996a) realizam um estudo comparativo em áreas endêmica e não endêmica do estado de São Paulo, utilizando a técnica de RIFI. Chegaram ao resultado de 77,8% de equinos sororreativos em área endêmica contra 30% da área não endêmica. Com estes resultados, associados com casos humanos confirmados e o isolamento de rickettsias em carrapatos por cultura de células, os autores sugerem que o cavalo pode ser um hospedeiro sentinela para infecções de FMB na região de estudo.

Galvão (1996) estudou o comportamento da FMB no município de Caratinga, Minas Gerais, e por meio de inquérito sorológico registrou uma soroprevalência de 2% em humanos, 25% em cães e 53% em eqüinos, utilizando a RIFI realizada com antígeno específico de *R. rickettsii*. Desde então e até os dias atuais, apenas um caso novo de FMB foi registrado naquele município, logo no primeiro ano após o surto. Para um melhor conhecimento do ciclo natural das rickettsias, os autores reavaliaram o foco peri-urbano de Caratinga, aparentemente silencioso. Para tanto, foram utilizadas a sorologia RIFI e a PCR com o objetivo de melhor conhecer a dinâmica da infecção dos hospedeiros e vetores das rickettsias na referida área, e estimar o risco ao qual está submetida sua população, contribuindo, dessa forma, para o conhecimento da epidemiologia das rickettsioses. Nenhum dos soros de cães analisados (n = 73) apresentou resultado positivo à RIFI, enquanto que 3/18 dos soros de equinos (17%) mostraram-se positivos nos títulos 1:64 (n=1) e 1:128 (n=2).

Sangioni (2003) com objetivo de estudar a epidemiologia da FMB em área endêmica e não endêmica do estado de São Paulo comparou as áreas, testando soros de equinos por meio da RIFI e obteve 65,3% dos animais sororreativos contra 2% da região não endêmica.

Moraes-Filho et al. (2009) investigaram a presença de *R. rickettsii* em equinos, onde o *A. cajennense* é o principal vetor da FMB, encaminhados ao Centro de Controle de Zoonose do município de São Paulo (CCZ/SP) no período de 2003 a 2005. De 363 equinos avaliados pela RIFI, 64 (17,6%) se mostraram reagente a *R. rickettsii*. Com a baixa sororreatividade das amostras os autores sugerem que o *A. cajennense* possa não ser a espécie responsável pela transmissão da FMB na cidade.

Em equinos, apesar de frequentemente apresentarem altos títulos contra- *Rickettsia rickettsii* (acima de 1024), não há trabalhos que relatem sinais clínicos nesta espécie animal (LEMOS, 1996a).

Casos de febre maculosa em humanos são acidentais e estão relacionados ao íntimo convívio de humanos com equinos e caninos, que vivem no peri- domicílio e este convívio tem importante função na epidemiologia da doença, pois, estas espécies são considerados animais sentinelas para FMB (LEMOS, 1996a), atuando como amplificadores da população de carrapatos.

Pelo exposto torna-se clara a necessidade de investigação referente à FMB no estado de Santa Catarina, objetivo proposto e desenvolvido neste trabalho de pesquisa, por meio da detecção de *Rickettsia* spp. em ixodídeos e pela pesquisa de anticorpos contra *Rickettsia* spp. em equinos, animais sentinelas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 DETECÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM IXODÍDEOS COLETADOS EM TERRITÓRIO CATARINENSE

2.1.1 Caracterização da Região de estudo

A área de abrangência deste estudo compreendeu cinco das seis mesorregiões do estado de Santa Catarina que é formado pelas mesorregiões do Oeste, Norte, Serrana, Vale do Itajaí, Grande Florianópolis e Sul conforme ilustrado na Figura 2. Somente da mesorregião Oeste Catarinense não foi obtido material e foi dado ênfase à pesquisa no município de Blumenau, pertencente ao Vale do Itajaí, mesorregião onde ocorreram casos de febre maculosa.

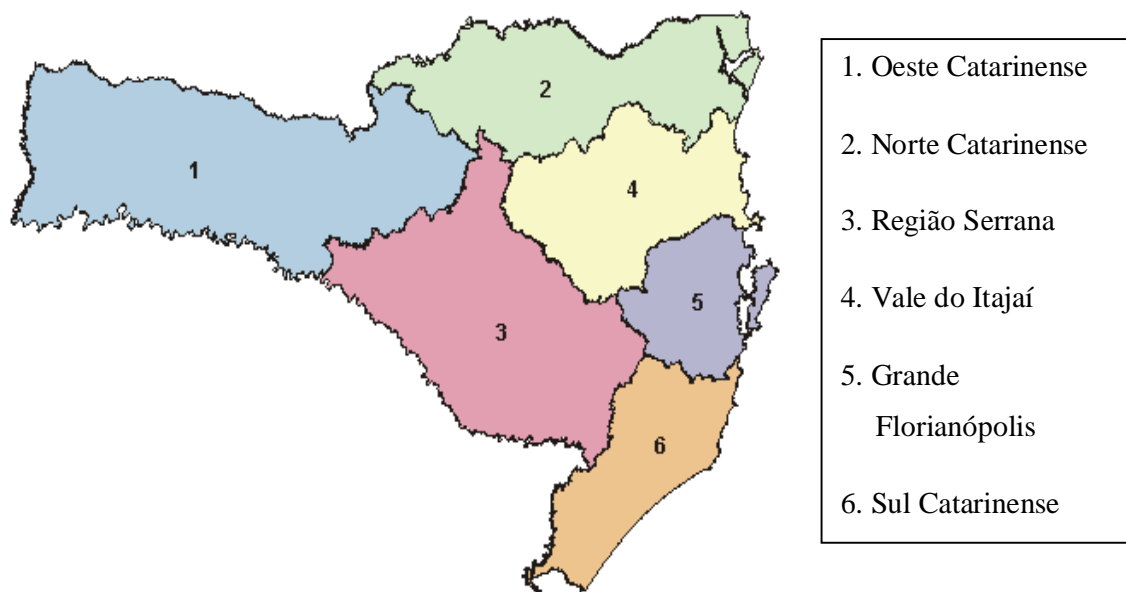


Figura 2 –Mesorregiões do estado de Santa Catarina

Fonte: http://cepa.epagri.sc.gov.br/agroturismo/mapa_meso.htm

O estado está localizado na região Sul do Brasil, o clima predominante é subtropical úmido com temperaturas amenas, variando entre 13 a 25°C, com índices pluviométricos elevados e distribuídos por todo ano, atingindo até 1500mm por ano. Sua posição no mapa está entre os paralelos 25°57'41" e 29°23'55" de latitude Sul e entre os meridianos 48°19'37" e 53°50'00" de longitude Oeste.

A vegetação desta região é composta por Floresta Tropical Atlântica, encontrada nas planícies costeiras, além de encostas e serras, constituída de árvores de grande porte;

Vegetação Litorânea, constituída por mangues; Floresta Subtropical formada a partir de vegetação rasteira; Floresta das Araucárias constituída, em maior número por pinheiros, no entanto, existem ainda canelas, cedros, erva-mate e xaxim; Campos formados basicamente por gramíneas.

2.1.2 Coleta de carrapatos

Foram coletados manualmente de animais domésticos e silvestres, do ambiente e inclusive de seres humanos. Posteriormente foram acondicionados em tubos com álcool absoluto e armazenados para devida identificação e classificação taxonômica de acordo com Aragão e Fonseca (1961) e Battesti et al. (2006). Os Carrapatos ixodídeos, de diferentes instares, provenientes das diferentes mesorregiões de Santa Catarina (Norte, Grande Florianópolis, Vale do Itajaí, Sul e Região Serrana) e mantidos na coleção do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias CAV – UDESC foram identificados por (SOUZA et al., 2009).

Em cada frasco foram anotados o nome da espécie hospedeira, a data e o local da coleta. Carrapatos de espécies diferentes de um mesmo hospedeiro foram separados por tubos, identificados com o mesmo número da amostra. Uma planilha foi organizada para as amostras que continham informações tais como: número da amostra, espécie do hospedeiro, local da coleta, data da coleta, identificação do vetor, sexo do carrapato. Foram coletados adultos e estágios imaturos, não se fazendo nestes casos a identificação da espécie.

Foram coletados um total de 1248 carrapatos, em 151 amostras. Nas amostras com apenas um elemento foram utilizados 100%. Amostras com dois a cinco exemplares foram processados em média de 30 a 50%. Já em amostras com mais de 10 elementos foram utilizados em média 10 a 20% dos carrapatos. Um total de 288 carrapatos constituíram a amostragem para processamento dos dados (extração de DNA e PCR e sequenciamento). Após devidamente registrados, os carrapatos foram encaminhados para o Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP).

2.1.3 Extração de DNA

DNA das amostras foi extraído usando o protocolo GT (Tiocianato de guanidina) de extração de DNA de carrapatos. Para tanto foi triturado o carrapato com auxílio de agulha 40 x 12 e deixado secar a temperatura ambiente por pelo menos uma hora, para remoção do álcool utilizado na conservação do ácaro. Após a secagem, foram adicionados 150µl de TE pH 8,0 (ou PBS) para a maceração, e agitados (vórtex) por dez segundos. Foram adicionados 450µL de GT realizada uma nova mixigenação em vórtex e adicionado 100µL de clorofórmio. Deixado em repouso por dois minutos e novamente mixigenado por dez segundos no vórtex o que resultava numa mistura “leitosa”. Após processo de centrifugação (12.000 rpm por 5 minutos), 400µL foram transferidos para um novo tubo, desprezando-se o tubo com o restante. No novo tubo, já devidamente identificado (como o tubo desprezado) foram adicionados 600µL de (iso) propanol. A mistura foi mantida a -20°C “Overnight”. No dia seguinte foi centrifugado a 12.000 rpm a 4°C por 15 minutos, desprezado o sobrenadante e adicionados 800µL etanol 70%. Mais uma centrifugação 12.000 rpm a temperatura de 4°C por 5 minutos e novamente foi desprezado o sobrenadante, secado o pellet a temperatura ambiente (1 hora no mínimo ou usado termobloco a 56°C por 15 minutos) com os tubos abertos. Ressuspensão do pellet em TE (30-60µL), homogeneização manual, termobloco a 56°C por 15 minutos e congelamento a -4°C.

2.1.4 PCR e Sequenciamento

Para *Rickettsia* spp., o DNA extraído de cada carrapato, foi testado pela PCR inicialmente utilizando os iniciadores CS-78 (forward [5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3']), CS-323 (reverse [5'-GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT-3']), CS-239 (forward [5'-GCTCTTCTCATCCTATGGCTATTAT-3']), CS-1069 (reverse [5'-CAGGGTCTTCGTGCATTTCTT-3']) que amplificam um fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*gltA*) presente possivelmente em todas as espécies do gênero *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2004b). As amostras positivas para esta reação de PCR, foram processadas para outro iniciador, que amplifica um segmento de 530 pb do gene *ompA*;

Rr190.70p (forward [5'-3' ATGGCGAATATTTCTCCAAAA]) e Rr190.602n (reverse [5'-3' AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT]), presente em rickettsias do grupo da febre maculosa (LABRUNA et al., 2007). Para cada reação, 5µL de DNA de cada amostra foram adicionados para cada 5 µl de tampão PCR (10X), 8µL de desoxinucleotídeos triphosfato mixture - dNTPs (1,25 mM), 1,5µL MgCl₂ (50 mM), 25pmol de cada primer, 0,25µL de Taq polimerase (5000 U/mL) e água bidestilada para formar o volume final de 50µL. O controle positivo utilizado foi o DNA extraído de *A. cajennense* experimentalmente inoculado com *R. parkeri* (SANGIONI et al., 2005) gentilmente cedido pelo VPS/FMVZ/USP e três alíquotas de água bidestilada como controle negativo foram utilizadas em todas as ampliações. As condições termais utilizadas estão descritas na tabela 3 abaixo.

Tabela 3- Ciclos do PCR que se repete 36 vezes para CS2, com suas diferentes temperaturas e tempo estimado para determinada temperatura:

Ciclos	Temperatura	Tempo
01	95°C	5 minutos
40	95°C	30 segundos
01	50°C	30 segundos
01	72°C	40 segundos
01	72°C	7 minutos

Fonte: (Labruna et al, 2004b)

Dez µL do produto da PCR adicionados de 2µL de corante, homogeneizada num parafilme, transferidos para gel de agarose 1,5%, mergulhado em TBE e mantido durante 30 minutos em cuba para eletroforese a 100 volts, para as amostras correrem o gel. Colocar o gel no agitador por 15 minutos com brometo de etídio. Após este período as bandas foram lidas através de transluminador UV com o programa alpha imagem. Os produtos resultantes da amplificação do PCR foram purificados por meio de EXOSAP (US) e sequenciados em sequenciador automático (ABI Prism 3100 Genetic - Applied Biosystems/Perkim Elmer, Califórnia, USA). As sequências parciais obtidas foram submetidas à análise BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) análise (ALTSCHUL et al., 1990) para determinar a similaridade com outras espécies de *Rickettsia*.

2.2 DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA RICKETTSIAS DO GRUPO DA FEBRE MACULOSA EM SOROS DE EQUINOS DAS MESORREGIÕES SERRANA E VALE DO ITAJAÍ, EM SANTA CATARINA

2.2.1. Obtenção de soro de equinos

As amostras (n=150) de soro utilizadas no presente trabalho são provenientes da amostragem empregada no projeto de pesquisa intitulado “Fatores de risco e ocorrência de anticorpos contra *Neospora* spp. em equinos das regiões Serrana e Litorânea do estado de Santa Catarina”, registrado sob no 01.126/09 06/05/09 CAV/UDESC, aprovado pelos comitês de ética em experimentação animal do CAV/UDESC (protocolo 1.05.09) e em pesquisa envolvendo seres humanos da UDESC (protocolo 73/09 em 10.08.09).

Do total de 150 equinos submetidos a coleta de sangue, 93 eram oriundos do município de Lages (cavalaria da Polícia Militar Montada, e de equinos de carroceiros; 57 de animais alojados na hípica de Balneário Camboriú situada a aproximadamente 70 km da área onde ocorreram casos de FMB no estado de Santa Catarina (Blumenau). Blumenau está situada a latitude de -26° 55'10'' e longitude 49° 03'58''. Duas regiões distantes uma da outra, com clima e relevo distintos.

2.2.2. Sorologia

As amostras de soros foram encaminhadas para o Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), onde foram processadas para imunoflorescência indireta usando antígeno de seis rickettsias isoladas no Brasil *R. rickettsii* cepa Taiacu (HORTA et al. 2006; PINTER; LABRUNA 2006), *R. parkeri* cepa At24 (HORTA et al. 2006; PINTER; LABRUNA 2006), *R. amblyommi* cepa Ac37 (LABRUNA et al., 2004a, 2005), *R. rhipicephali* cepa HJ5 (LABRUNA et al., 2004a, 2005), *R. bellii* cepa Mogi das Cruzes (LABRUNA et al., 2004a e LABRUNA, 2005), *R. felis* cepa Pedreira (HORTA et al. 2006; PINTER; LABRUNA, 2006).

Os antígenos foram fixados nas lâminas de acordo com Horta et al. (2004). Cada cepa de *rickettsia* foi cultivada em Celulas Vero (ou C6/36 cells no caso de *R. felis*.) e colhida quase que 100% das infectadas, que foram então centrifugadas a 4000 g por 10 minutos e o sobrenadante foi lavado em 0,1M de tampão salino fosfato (PBS), pH 7,4, centrifugado novamente e ressuspendido em PBS contendo 1% de soro fetal bovino e 0,1% de azida sódica. Dez microlitros de células infectadas com *Rickettsia* spp. foram aplicadas em cada um das 12 cavidades da lâmina de imunofluorescência, secada ao ar e fixado em acetona, por 10 minutos e estocado a -80°C.

Os soros equinos foram diluídos em PBS (0,1M, pH 7,2) a partir de 1:64. Vinte microlitros da diluição foram adicionados para cada poço da lâmina contendo os antígenos. As lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°C por 30 minutos. As lâminas foram lavadas com solução PBS (0,1M, pH 7,2) e mantidas em uma cuba com uma mesma solução durante 15 minutos em PBS, por duas vezes. Após secarem foram incubadas a 37°C por 30 minutos com conjugado anti IgG de equino (sigma Diagnostics, St Louis) acopladas com isotiocianato de fluoresceína na diluição 1:100. As lâminas foram lavadas como descrito acima e coradas em solução de PBS (0,1M, pH 7,2) contendo 0,2% de azul de Evans. Após completamente secas, as lâminas foram montadas com glicerina tamponada e lamínula. Por fim as lâminas foram lidas em microscópio com luz ultravioleta (Olympus BX60, Tokyo, Japan) com objetiva de 40X (MORAES-FILHO et al., 2009).

Foram consideradas sororreagentes as amostras com títulos ≥ 64 . Em cada lâmina o soro previamente testado não reativo (controle negativo) e o sabidamente positivo (controle positivo) foram testados na diluição 1:64. Este soro de controle positivo reagiu com *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. bellii* e *R. felis*, no título de ponto de corte de 8192, 2048, 1024, 1024, respectivamente (PINTER et al., 2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se, através de técnicas moleculares, a infecção por *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica em carrapatos ixodídeos das espécies *A. ovale*, *A. aureolatum* e *R. sanguineus*, e também por *R. amblyommii* cepa AL em *A. longirostre*.

3.1 PCR PARA OS GENES *gltA* E *ompA*

Na Tabela 4 constam os resultados obtidos por PCR, em 288 amostras de carrapatos, para os genes *gltA* e *ompA* e do posterior sequenciamento.

Tabela 4- Resultados positivos das PCRs realizadas para os genes *gltA*, *ompA* e do sequenciamento segundo o ixodídeo e a mesorregião catarinense de origem.

Ixodídeos	Região	Resultado PCR Cs2	Resultado PCR OmpA	Similaridade do sequenciamento
<i>Amblyomma</i>	Grande Florianópolis	1 Positivo	1 positivos	<i>Rickettsia parkeri</i> cepa

<i>ovale</i>	Região Sul	1 Positivo	1 positivos	Mata Atlântica <i>Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica
	Vale do Itajaí	1 Positivo	1 positivos	<i>Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica
<i>Amblyomma tigrinum</i>	Planalto Serrano	1 positivo	Não realizado	–
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Região Serrana	1 positivos	Não realizado	–
	Região Sul	3 positivos	1 positivo	–
	Vale do Itajaí	3 positivos	3 positivos	<i>Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica
<i>Amblyomma longirostre</i>	Vale do Itajaí	1 positivo	1 positivo	<i>Rickettsia ambliommii</i> cepa AL
<i>Anocentor nitens</i>	Região Norte	1 positivo	Não realizado	–
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Vale do Itajaí	1 positivo	1 positivo	<i>Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica

Na mesorregião Norte uma espécime de *A. nitens*, coletado de equino na cidade de Araquari, foi positivo na PCR para o gene *gltA* indicando ser uma amostra infectada com *Rickettsia* spp. A mesma situação ocorreu na mesorregião Serrana onde, de 63 amostras, um *A. tigrinum*, coletado do município de Capão Alto de um canino, e um da espécie *A. aureolatum* coletado de um Leão Baio (*Puma concolor*), do município de Lages, foram positivos para *gltA*. Dessas amostras não foi realizada a PCR para o gene *ompA* portanto não se pode concluir se estes carrapatos estavam infectados com rickettsias GFM.

Em São Paulo as espécies de vetores responsáveis pela transmissão são *A. aureolatum*, *A. cajennense* e *A. dubitatum* (antigo *A. cooperi*), que estão incriminadas na manutenção enzoótica e na transmissão da febre maculosa para humanos (DIAS; MARTINS, 1939; LIMA et al., 1995; LEMOS et al., 1996c). Em Santa Catarina, foram obtidos resultados positivos pela PCR usando os iniciadores *gltA* e *ompA* em ixodídeos das espécies *A. ovale*, *A. aureolatum* e *Rhipicephalus sanguineus*. O sequenciamento destas amostras apontaram *R. parkeri* cepa mata atlântica, com 100% de similaridade, o que sugere ser este o agente da febre maculosa em Santa Catarina como suspeitaram Angerami et al. (2009c) em pacientes diagnosticados pela RIFI.

Labruna et al. (2004a) desenvolveram um estudo sobre agentes rickettsiais em carrapatos *Amblyomma* spp., em oito áreas de Rondônia, AM, utilizando a técnica de PCR. Com o gene *gltA*, a taxa de infecção mínima para *A. ovale*, *A. cajennense*, *A. naponense*, *A.*

scalpturatum, *A. oblongoguttatum*, *A. incisum*, *A. rotundatum*, *A. coelebs*, e *A. humerale* foi respectivamente 28%, 27%, 0%, 11%, 3%, 0%, 87%, 10% e 50%, e as sequências parciais para *A. ovale*, *A. scalpturatum*, *A. oblongoguttatum*, *A. rotundatum*, e *A. humerale* para o gene *gltA*, foram 99,9% idênticas para *R. bellii*. Em relação aos ixodídeos das espécies *A. cajennense* e *A. coelebs*, a similaridade foi 100% idêntica a *R. amblyommii*. Na mesorregião do Vale do Itajaí, área acometida pela febre maculosa, 117 amostras de ixodídeos foram processadas. Destas, seis foram positivas e todas oriundas do município de Blumenau. Uma amostra coletada do piso de um casa urbana e identificada como *A. longirostre* foi positiva para os genes *gltA* e *ompA* e, no sequenciamento, apresentou 99% de similaridade com *R. amblyommii* cepa AL (GenBank: EU274656) oriunda de um carrapato *A. longirostre* do estado de São Paulo (OGRZEWALSKA et al., 2008). O *A. longirostre* foi inicialmente descrito em passeriformes (LABRUNA, 2007b).

Em São Paulo (SP) Spolidório et al. (2010) testaram, por meio da PCR e imunofluorescência, amostras de pele e sangue de um paciente que frequentava uma fazenda com vegetação predominante de Mata Atlântica, parasitado por carrapato, 10 dias antes do acontecimento dos sintomas. Para a PCR, utilizaram os iniciadores *gltA*, *ompA* e *ompB* com similaridade para *R. parkeri*, *R. africae* e *R. sibirica*. O soro foi testado para imunofluorescência para diversas espécies de *Rickettsia* e DNA de pele foi testado para PCR e posteriormente sequenciado. Os autores não chegaram a uma conclusão sobre a espécie de *Rickettsia* envolvida, designando então, como *Rickettsia* sp. cepa Mata atlântica.

Na mesorregião da Grande Florianópolis, de 24 amostras, um espécime de *A. ovale*, coletado do município de Águas Mornas de um Furão (*Mustela putorius*) foi positivo para os genes *gltA* e *ompA*. No sequenciamento foi encontrado similaridade de 100% com *R. parkeri* cepa Mata atlântica.

Na mesorregião Sul, das quatro amostras (três *A. aureolatum* e um *A. ovale*), procedentes do município de Urussanga, positivas para *gltA*, somente a espécime *A. ovale* foi avaliada para o gene *ompA* revelando-se, no sequenciamento, similaridade de 100% com a *R. parkeri* cepa Mata atlântica.

Uma amostra de *R. sanguineus* proveniente da cidade de Blumenau (mesorregião do vale de Itajaí) coletado de canino, positivo para os iniciadores *gltA* e *ompA* e sequenciado teve 100% de similaridade para *R. parkeri* cepa Mata atlântica. Mais quatro amostras foram

positivas para *gltA* e *ompA* com similaridade de 100% para *R. parkeri* cepa Mata atlântica. Dos vetores, três eram da espécie *A. aureolatum* e somente uma amostra era da espécie *A. ovale*.

As sequências de *ompA* dos carrapatos *A. ovale*, *A. aureolatum* e *R. sanguineus* deste trabalho foram 100% idênticas a sequência de *R. parkeri* cepa Mata Atlântica (GenBank: GQ855237) oriunda de um paciente de Peruíbe, estado de São Paulo (SPOLIDÓRIO et al., 2010).

3.2 SOROLOGIA DOS EQUINOS

Dos 150 soros equinos submetidos à RIFI para a detecção de anticorpos contra *Rickettsia* spp., 28 (18,66%) apresentaram resultados positivos para, ao menos, uma das espécies testadas (*R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommi*, *R. rhipicephalis*, *R. bellii* e *R. felis*). Destes, cinco foram reagentes para todas as espécies. Na Tabela 6 estão expressos os resultados da sorologia e as respectivas diluições máximas reativas (recíproca de títulos) para cada uma das espécies de *Rickettsia* spp. Em áreas endêmicas de febre maculosa a soroprevalência de cavalos reagentes a *R. rickettsii* foi de 31,2% (Horta et al., 2004) e 77,8% (LEMOS et al., 1996a).

Os equinos do presente estudo não apresentaram qualquer sintomatologia. Mesmo sendo rara a manifestação clínica da doença em equinos (HAYDON et al., 2008), animais de regiões endêmicas do estado de São Paulo demonstraram altos títulos de anticorpos, ao contrário dos animais de áreas não endêmicas (HORTA et al., 2004; SANGIONI et al., 2005). Há também evidências, através da RIFI em equinos, da presença de *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. amblyommi*, *R. rhipicephali*, *R. bellii* e *R. felis* não só na área onde casos de FMB foram registrados, mas também em áreas onde não há registros oficiais da ocorrência da enfermidade. Apesar dos equinos serem os hospedeiros primários do *A. cajennense*, poucos desses vetores foram coletados parasitando esta ou outras espécies em Santa Catarina (Tabela 5).

A RIFI é considerada uma técnica padrão para o diagnóstico sorológico de infecções por rickettsias, embora possa apresentar algumas reações cruzadas e esteja sujeita a

subjetividade do técnico. Porém, altos títulos de anticorpos são normalmente um forte indicativo de infecção específica (VIANNA et al., 2008).

Para a análise dos resultados, foram consideradas duas hipóteses. Na primeira, considerando-se os soros individualmente, e não se admitindo a hipótese de infecções mistas, quando um animal reagiu a mais de uma das rickettsias testadas (reação cruzada), o critério de positividade estabelecido foi que o maior título final obtido isoladamente para uma dada espécie deve ser quatro vezes maior que o(s) menor (es) título(s) encontrado(s) naquela amostra. Dos 28 soros positivos, todos foram reagentes a, no mínimo, duas espécies de *Rickettsia* spp. Assim, somente duas amostras resultaram em um sorodiagnóstico conclusivo (animais 5 e 125) para *R. bellii* e *R. rickettsii* nas diluições máximas de 1:4096 e 1:512, respectivamente.

O alto percentual de reações cruzadas obtidas no presente estudo não permite uma inferência definitiva quanto às espécies de *Rickettsia* spp. que mais ocorrem em equinos no estado de Santa Catarina, entretanto a soroconversão observada (18,66%) indica que agentes da FMB podem estar acometendo os equinos avaliados, reforçando a utilidade de inquéritos sorológicos nesta espécie, que, juntamente com cães, é considerada um animal sentinela para agentes da FMB.

Numa segunda hipótese, foram considerados positivos os animais que apresentaram anticorpos (RIFI ≥ 64) contra cada uma das espécies de *Rickettsia* spp., levando-se em conta que, teoricamente, infecções simultâneas podem acometer os equinos, o que inclusive poderia contribuir para sua importância como animal sentinela para diferentes rickettsias do GFM.

Assim, e considerando-se a importância de *R. rickettsii* nos casos de FMB (SANGIONI, 2003) e da sugestão de que *R. parkeri*, implicada como patogênica para o ser humano (PADDOCK et al., 2004) poderia ser a espécie envolvida nos casos ocorridos em Santa Catarina (ANGERAMI et al., 2009c), a soroconversão equina para estas duas rickettsias foi analisada isoladamente.

Em relação a *R. rickettsii*, principal agente causador da FMB, 16,6% (25/150) dos equinos foram sororreativos. Destes, 21 (28,8%) eram oriundos da região Serrana e quatro (7,0%) do Vale do Itajaí, mais precisamente do município de Camboriú. Embora a soropositividade para *R. rickettsii* tenha sido quatro vezes mais frequente em equinos da

região Serrana, os maiores títulos foram observados nos animais do Vale do Itajaí, com equinos apresentando reação nas diluições 1:512 (quatro), 1:2048 (um) e 1:4096 (um). Nesta região está localizado o município de Blumenau que, juntamente com outras cidades, registrou casos de FMB em seres humanos nos anos de 2003, 2004, 2005 e 2006.

Altos títulos ($\geq 1:1024$) de anticorpos contra as demais espécies de *Rickettsia* spp., com exceção para *R. felis*, também foram observados em maior proporção nos animais do Vale do Itajaí, indicando a circulação dos agentes da FMB nestes animais sentinelas desta região, o que corrobora os dados obtidos para *R. rickettsii*.

Equinos, e outros mamíferos (cães, felinos, marsupiais, capivaras, roedores silvestres) são descritos como possíveis reservatórios de agentes da FMB já que nestas espécies animais estudos têm mostrado a ocorrência de anticorpos contra *Rickettsia* spp. Ainda, equinos e cães soropositivos frequentemente são detectados em áreas endêmicas para FMB (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004). Além de reservatório, equinos são um dos principais hospedeiros primários do *A. cajennense* no Brasil (LABRUNA et al., 2001) e também atuam como amplificadores da FMB (ACHA; SZYFRES, 2003). Isto denota a importância na investigação da ocorrência de agentes da FMB em uma determinada área, uma prospecção do “status” sorológico da população equina local que, desta forma, atuam como animais sentinelas (HORTA et al., 2004; SANGIONI et al., 2005). A importância dos hospedeiros vertebrados, entre eles os equinos, também deve ser mensurada quando se observa que carrapatos adultos, mesmo em áreas endêmicas para FMB, apresentam baixas taxas de infecção. Nas Américas, a taxa de infecção em carrapatos está ao redor de 1%, inclusive em áreas consideradas endêmicas, o que pode ser justificado devido ao efeito letal que a *R. rickettsii* tem sobre o vetor artrópode (FREITAS et al., 2009). Assim, a influência dos equinos na manutenção dos agentes rickettsiais na natureza deve ser sempre levada em conta e, portanto, investigada. Estudos sorológicos da infecção por rickettsias do GFM em equinos pode ter particular interesse na determinação da atividade focal de rickettsias do GFM no Brasil (LEMO et al., 1996a).

Em Caratinga, MG, 17% (3/18) dos soros de equinos de um foco inativo de FMB, foram positivos para *R. rickettsii* (RIFI $\geq 1:64$) (CARDOSO, 2004), resultado semelhante ao observado no presente estudo. O autor sugere ainda que, mesmo em se tratando de foco inativo, equinos sororreagentes são um indicativo da necessidade de vigilância sobre áreas

onde casos de FMB tenham ocorrido, como foi o caso da região do Vale do Itajaí em Santa Catarina.

Ao contrário, no município de Itabira, também em Minas Gerais, Vianna et al. (2008), investigando a infecção por rickettsias do GFM em área endêmica, relatam 100% de infecção (RIFI \geq 1:64) em equinos (11) e asininos (três) daquela localidade. Todos os animais deste estudo apresentaram reação na diluição mínima de 1:256. Esta disparidade de resultados pode ser explicada porque neste estudo a área observada era de alta endemicidade para a FMB e também pelo contato frequente entre animais domésticos, selvagens e o ser humano, conforme evidenciaram as respostas obtidas na aplicação do inquérito epidemiológico utilizado pelos autores. Também em área endêmica, no estado de São Paulo, Horta et al. (2004) encontraram 77,3% de soropositividade nos cavalos avaliados. No nosso estudo, para *R. rickettsii*, dos 25 animais sororreagentes, quatro apresentaram títulos altos (1024 a 4096).

No Paraná, Freitas et al. (2010) observaram taxa de infecção por *R. rickettsii*, nos equinos carroceiros do município de São José dos Pinhais, de 9,33% (7/75), por meio da RIFI (\geq 1:64). Resultado inferior ao do presente estudo. Neste município, considerado área não endêmica, assim como Santa Catarina, foi registrado o primeiro caso humano de FMB do Paraná em 2005.

Em São Paulo, Moraes-Filho et al. (2009) identificaram 17,6% (64/363) dos equinos do Centro de Controle de Zoonoses daquele município soropositivos para *R. rickettsii*. Resultados semelhantes ao observado no presente trabalho. Os autores concluíram que naquela cidade possivelmente o *A. cajennense* não seja a espécie de carrapato envolvido no ciclo de transmissão para humanos, quando compararam seus resultados com os de outras áreas endêmicas para FMB onde normalmente os equinos apresentam sorologia positiva em altos percentuais. Lemos et al. (1996a), Horta et al. (2004) e Horta et al. (2007), em áreas endêmicas para FMB do interior de São Paulo, detectaram 77,8%, 56,5% e 72,9% dos equinos sororreagentes a *R. rickettsii*. No presente trabalho, três espécimes de *A. cajennense*, todos coletados na mesorregião do Vale do Itajaí (um de equino do município de Barra Velha e dois de um cão do município de Itapema), foram processados para a pesquisa de *Rickettsia* spp. Todos foram negativos para o gene *gltA*, não sendo identificados espécimes deste vetor infectados com *Rickettsia* spp. (Tabela 4). Embora reduzido o número de espécimes

investigados, em Santa Catarina possivelmente o *A. cajennense* também não esteja envolvido no ciclo de transmissão da febre maculosa neste estado.

No Espírito Santo (SPOLIDÓRIO, 2009), avaliando zoonoses transmitidas por carrapatos para humanos e animais domésticos, em seis municípios do Norte do estado, encontrou 25,9% (7/27) equinos sororreagentes para ao menos uma das espécies de *Rickettsia* testadas, valor intermediário considerando que nesta área, casos fatais de FMB humana foram registrados entre os anos de 2003 e 2005.

A utilização de uma metodologia padronizada ($RIFI \geq 64$) nos estudos avaliados permite concluir que as diferentes soroprevalências para *Rickettsia* spp. observadas em equinos de distintas regiões do país são devidas a endemicidade da área em estudo. Deste modo, a soroprevalência em equinos pode ser uma ferramenta útil para um estudo prévio em determinada região suspeita para FMB.

Com relação a *R. parkeri*, 10% (15/150) dos equinos foram sororreagentes ($RIFI \geq 64$) para esta espécie. Destes, quatro equinos eram do Vale do Itajaí e apresentaram reações nas titulações 128 (1), 256 (1) e 1024 (2). Poucos são os trabalhos de soroprevalência para espécies de rickettsias que não *R. rickettsii*. Ainda, infecções por *R. parkeri* podem ser subestimadas uma vez que normalmente os inquéritos sorológicos são normalmente baseados em infecções por *R. rickettsii* e, reações cruzadas entre estas duas espécies parecem ocorrer frequentemente (SILVEIRA et al., 2007). No Espírito Santo, Spolidório (2009) identificou 14,8% (4/27) dos equinos soropositivos para *R. parkeri* com títulos variando de 64 a 128, valores inferiores ao observado nos equinos de Camboriú. Freitas et al. (2010) no Paraná, testando 75 soros equinos contra *R. parkeri* não encontraram nenhum animal sororreagente a esta espécie. Também, no presente estudo, *R. parkeri* foi o agente encontrado em cinco das seis amostras de carrapato submetidas a PCR com resultados conclusivos após o sequenciamento, sendo definidas como *R. parkeri* cepa Mata Atlântica.

Chama atenção ainda os altos níveis de anticorpos contra *R. belli*, inclusive nos casos não conclusivos (animais 142 e 143), que apresentaram títulos até a diluição de 1:8192, indicando sua possível ocorrência entre os equinos avaliados no presente estudo. É uma das espécies de *Rickettsia* spp. que mais comumente é encontrada infectando carrapatos na América, já tendo sido isolada de ixodídeos dos gêneros *Dermacentor* e *Amblyomma*

(OGATA et al., 2006). Esta espécie já foi isolada no Brasil nos ixodídeos *A. aureolatum*, *A. dubitatum*, *A. humerale*, *A. rotundatum*, *A. oblongoguttatum*, *A. scalpturatum*, *A. ovale* (LABRUNA et al., 2004a; 2004b; LABRUNA 2005), de *Ixodes loricatus* (HORTA et al., 2006) e também de *Haemaphysalis juxtakochi* (LABRUNA et al., 2007b), entretanto seu papel na patogenia da FMB não está bem estabelecido até o momento. Embora pouco patogênica para coelhos experimentalmente infectados, mesmo quando são utilizados inóculos com grandes quantidades do agente (OGATA et al., 2006), seu papel em infecções humanas ainda precisa ser melhor definido. Também a classificação de *R. bellii* quanto ao grupo a que pertence não está muito bem estabelecida, sendo atualmente agrupada em um terceiro grupo pois difere filogeneticamente das espécies que compõem os grupos do tifo e da febre maculosa (OGATA et al., 2006).

Além dos altos títulos contra *R. bellii*, no presente estudo, dois animais (142 e 143) apresentaram sorologia positiva para outras *Rickettsia* spp. em altos títulos, até 4096 (Tabela 6), sugerindo a possibilidade destes animais serem portadores de infecções mistas. Em Goiás, Martins (2009), pesquisando anticorpos contra *Rickettsia* spp. em humanos, cães e equinos em suposto foco de FMB no município de Quirinópolis, encontrou em uma propriedade, entre 10 animais soropositivos para *Rickettsia* spp., quatro equinos apresentando reação cruzada entre *R. rickettsii* e *R. parkeri*. Este autor também identificou um equino com reação cruzada para *R. rickettsii*, *R. bellii* e *R. parkeri*, porém em outra propriedade analisada na região.

Este é o primeiro relato da detecção de *Rickettsia* spp. em ixodídeos coletados em Santa Catarina assim como o primeiro estudo da sorologia para agentes da FMB em equinos do estado.

CONCLUSÕES

Em Santa Catarina, carrapatos ixodídeos das espécies *Amblyomma ovale*, *A. aureolatum* e *Rhipicephalus sanguineus*, podem estar infectados por *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica e *A. longirostre* por *Rickettsia amblyommii* cepa AL.

Somente dois animais resultaram em um sorodiagnóstico conclusivo para *Rickettsia bellii* e *R. rickettsii* nas diluições máximas de 1:4096 e 1:512, respectivamente.

A ocorrência de anticorpos contra *Rickettsia* spp. em equinos de Santa Catarina, associada a detecção do agente em carrapatos, indicam a circulação de agentes da febre maculosa brasileira, tanto nos reservatórios como em seus vetores, e sugere que esta doença possa estar ocorrendo neste Estado.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES B. Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes Al Hombre Y A Los Animales. Publicación Científica y Técnica, 3 ed., n.580. **Organización Panamericana de La Salud**; 2003.

ANGERAMI, R. N. et al. Brazilian Spotted Fever: a case series from an endemic area in southasthern Brazil – Clinical Aspects . **Annals of the New York Academy of Sciences**. New York, v. 1078, p. 252-254, 2006.

ANGERAMI, R. N. et al. Clusters of Brazilian spotted fever in São Paulo State, southeastern Brazil. A review of official reports and the scientific literature. **Journal Compilation European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 2009a.

ANGERAMI, R. N.; MORAIS, E.; KATZ, G.; SILVA, L. J. Brazilian Spotted fever in the paediatric age segmentin the State of São Paulo, Southeastern Brazil, 2003-2006. Euopen Society of clinical Microbiology and Infectous diseases. **Jounal Compilation**, v.15, n.2 p.205-206. 2009b.

ANGERAMI, R. N. et al. Brazilian spotted fever: two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.15, n. supl. 2 p. 207-208. 2009c.

ANTON, E. B. et al. Clinical and laboratory characteristics of 144 patients with mediterranean spotted fever. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**. v. 22, p.126–128, 2003.

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN D. J. Basic Local alignment search tool. **Journal molecular biology**. v. 215, n.3, p. 403-410, 1990.

ARAGÃO, H.B.; FONSECA, F. Notas de ixodologia. **Memórias Instuto Oswaldo Cruz**, v. 59, p.119-129, 1961.

AVILA-PIRES, F. D. Zoonoses:Hospedeiros e reservatórios. **Caderno de Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v.5, n.1, p.82-97,1989.

BACELLAR, F. C.; Rickettsias isoladas e Portugal- contribuição para identificação e classificação das estirpes. **Dissertação de doutoramento em Biologia**. Universidade de Évora, Évora, 1996.

BARCI, A. G.; NOGUEIRA, A. H. C. **Febre Maculosa Brasileira**. 2006 Disponível em: <<http://www.infobibos.com/Artigos/febremaculosa/FEBRE%20MACULOSA%20BRASILEIRA.pdf>>

BARROS-BATTESTI D. M.; ARZUA M.; BECHARA G. H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região Neotropical. **Um guia ilustrado para identificação de espécies**, Butantã, São Paulo, p. 223. 2006.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO. Equipe de controle epidemiológico, Coordenadoria geral de vigilância em saúde, Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre, ano VIII, n. 28, 2005.

BRASIL ESCOLA. Disponível em: <<http://www.brasilecola.com/brasil/aspectos-naturais-santa-catarina.htm>>. Acesso em 09\06\2010

BRITO, L. G. Febre Maculosa: uma doença do meio rural. **Embrapa Rondônia**. Disponível em:< <http://www.cpafro.embrapa.br/embrapa/Artigos/frebermac.htm>>. Acesso em junho de 2010.

BUSTAMENTE, M.E.; VARELA, G.; MARIOTTE, C. O. Estudios de fiebre manchada em Mexico. Fiebre manchada em La Laguna. **Ver. Inst. Salub. Enferm. Trop.** v. 7, p. 39-49, 1946.

CALIC, S. B. Sorologia das Riquetsioses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, MG, v.13, supl. 1, v. p.185-187. 2004.

CARDOSO, L. D. Detecção e Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco inativo Peri-urbano do município de Caratinga, MG. **Tese de Mestrado**. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, Minas Gerais, 2004.

CARDOSO, D. et al. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 3, p.495-501, mar, 2006.

CENTRO DE SOCIECONOMIA E PLANEJAMENTO AGRÍCOLA CEPA/EPAGRI. Pesquisa sobre o turismo no espaço rural de Santa Catarina. Disponível em: <http://cepa.epagri.sc.gov.br/agroturismo/mapa_meso.htm>. Acesso em 17/06/2010.

COMER, M. K. Rocky mountain spotted fever. **Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice**. v.21, n.1, p.27-44, 1991.

CONTI-DIAZ, I. A.; RUBIO, I.; SOMMA MOREIRA, R. E.; PEREZ BÓRMIDA, G. Rickettsiosis cutâneo ganglionar por *Rickettsia conorii* en el Uruguay. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**. São Paulo, v.32, n.5, p.313-318, 1990.

CONTI-DIAZ, I. A.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M.B. Serological evidence of *Rickettsia parkeri* as the etiological agent of rickettsiosis in Uruguay. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.51, n.6, São Paulo, 2009.

Conselho Regional de Medicina Veterinária. Disponível em: <http://www.zoonoses.org.br/absoluto/midia/imagens/zoonoses/arquivos_1258562737/9472_crmv-pr_manual-zoonoses_febre-maculosa.pdf> Acesso em 12/06/2010

DASCH, G. A.; JACKSON, L. M.. Genetic analysis of isolates of the spotted fever group of rickettsiae belonging to the *R. conorii* complex. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.29, p.11-20. 1998.

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

De RODANICHE, E. C.; Natural Infection of the tick, *Amblyomma cajennense* with *Rickettsia rickettsii* in Panamá. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.2, p.696-699, 1953.

DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted fever in Brazil. A summary. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.19, p.103-108, 1939.

DUARTE, M. T. T. R. Riquetsioses do grupo das febres exantemáticas em canídeos domésticos em Portugal: Revisão bibliográfica e estudo retrospectivo. **Tese de Mestrado**. Universidade Técnica de Lisboa, Portugal, 2008.

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*, description of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **Internal Journal of Syst. Evol. Microbiology**, v.51, p.2145-2165, 2001.

EREMEEVA, M. E. et al. Isolation and Identification of *Rickettsia massiliae* from *Rhipicephalus sanguineus* Ticks Collected in Arizona. **Applied and Environmental Microbiology**, v.72, n.8, p.5569–5577, 2006.

ESTRADA, D. A.; SCHUMAKER, T. T. S.; SOUZA, C. E.; NETO, E. J. R.; LINHARES, A. X. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.1, p.68-71, 2006.

EUZÉBY, J. P. List of prokaryotic names with standing in nomenclature. Acessado em 15 de junho de 2010, disponível em: [www. Bacterio.cict.fr](http://www.Bacterio.cict.fr)

FONSECA, F. Validade da espécie e ciclo evolutivo do *Amblyomma striatum* KOCH, 1844 (ACARINA: IXODIDAE). **Memórias do Instituto Butantã**. v.9, p.43-58, 1935.

FONSECA, L. M.; MARTINS, A. V. Febre maculosa: Revisão de literatura – Artigo Revisão. **Saúde & ambiente em Revista**. v.2, n.1, p.01-20, Duque de Caxias, R.J., 2007.

FREITAS, M. O. et al. **Febre Maculosa: Primeiros Relatos do Paraná**. São José dos Pinhais. 2009. Disponível em: http://www.crmv-pr.org.br/?p=imprensa/artigo_detalhes&id=55. Acesso em 20 de julho de 2009.

FREITAS, M. C. D. O.; GRYCAJUK, M.; MOLENTO, M. B.; JOSÉ BONACIN; LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; MORAES-FILHO, J; DECONTO, I.; BIONDO, A.

W. Brazilian spotted fever in cart horses in a non-endemic area in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v.19, n.2, p.130-131, 2010.

GALVÃO, M. A. M.; RIBEIRO, J. G. L. Febre Maculosa. In: PEDROSO, E. R. P.; ROCHA, M. O. C.; SILVA, O. A. EDS. **Clínica Médica; os princípios da prática ambulatorial**. São Paulo; Atheneu, p.1374-1380, 1993.

GALVÃO, M. A. M. Febre maculosa em Minas Gerais: um estudo sobre a distribuição da doença no estado e seu comportamento em área de foco peri-urbano [**Tese de Doutorado**]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1996

GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C.; CHAMONE, C. B.; CALIC, S. B.; ZAVALA-VELAZQUEZ, J. E.; WALKER, D. H. Clinical and laboratorial evidence of *Rickettsia felis* infections in Latin America. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical** Uberaba, v.37, n.3, 2004.

GARRITY, G. M.; BELL, J. A.; LILBURN, T. G. Taxonomic outline of the prokariotes release 5.0. **Bergey's Manual of systematic of bacteriology**. 2ª edição, 2004.

GIMENEZ, D. F. Staining rickettsiae in yolk-sac cultures. **Stain Technology**. v. 39, p.135-140, 1964.

GRECA, H; LANGONI, H; SOUZA, L. C. Brazilian Spotted fever: a reemergnt zoonosis. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical diseases**, v.14, n.1, p.4, 2008.

GUEDES, E. 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. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n.8, p.841-845, 2005.

HAYDON, D.T.; CLEVALAND, S; TAYLOR, L.H.; LAURENSEN, M. K. Identifying reservoirs of infection: a conceptual and practical challenge. **Emerging Infectious Diseases Journal Homepage**. Disponível em: < <http://www.cdc.gov/ncidod/eid/vol8no12/01-0317.htm>> Acesso em: 1 maio 2008.

HOOGSTRAAL, H. Ticks in relation to human diseases caused by *Rickettsia* species. **Annual Review of Entomology**, v.12, p.377-420, 1967.

HORTA, M. C. Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, equídeos, caninos e em diferentes estádios de vida do *Amblyomma cajennense*, provenientes de uma área endêmica do estado de São Paulo. **Tese de Mestrado em epidemiologia experimental aplicada as zoonoses** Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 72, 2002.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SANGIONI, L.A. et al. - 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: serological evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group rickettsia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.71, p.93-97, 2004.

HORTA, M. C.; CHIEBAO D. P.; SOUZA D. B.; FERREIRA F.; PINHEIRO S. R.; LABRUNA M. B.; SCHUMAKER T. T. S. Prevalence of *Rickettsia felis* in the fleas ctenocephalides felis felis and Ctenocephalides canis from two Indian villages in Sao Paulo Municipality, Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.361-363, 2006.

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.

KATZ, G.; NEVES, V. L. F. C; ANGERAMI, R. N.; NASCIMENTO, E. M. M.; COLOMBO, S. Situação epidemiológica e importância da febre maculosa no Estado de São Paulo. **Boletim epidemiológico Paulista**, v.6, n.69, p.4-13, 2009.

LABRUNA, M. B. Aspectos da biologia e da epidemiologia dos carrapatos de equinos no Estado de São Paulo. **Tese de doutorado curso de pós graduação em epidemiologia experimental aplicada a zoonoses**. São Paulo, 2000. 76f.

LABRUNA, M.B.; KERBER, C.E.; FERREIRA, F. et al. - Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.97, p.1-14, 2001.

- LABRUNA, M. B. et al., *Rickettsia Belli* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 1073-1081, 2004a.
- LABRUNA, M. B. et al. *Rickettsia* espécies infecting *Amblyomma cooperi* ticks from na área in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, p.90-98. 2004b.
- 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 Rondônia, Brasil. **Veterinary Parasitology**, v.127, p.169-174, 2005.
- LABRUNA, M. B. et al. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Montenegro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases** , p.249-255, 2007a.
- LABRUNA, M. B.; PACHECO, R.; RICHTZENHAIN, L. J.; SZABÓ, M. P. J. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* Ticks in the State of São Paulo, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**. n.3, v.73, p.869-873, 2007b.
- LA SCOLA, B.; D. RAOULT. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. **Journal of Clinical Microbiology**. v.35, p.2715–2727, 1997.
- LEMOS, E.R.S. et al. Epidemiological aspectos of the brazilian spotted fever: serological survey of dogs and horses in a endemic área in the state of são Paulo, Brazil. **Revista do instituto de medicina tropical de são Paulo**, v.38, n 6, p.427-430, 1996a.
- LEMOS, E. R. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group *Rickettsiae* in Wild animals in the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.91, n 6, p.701-702, 1996b.
- LEMOS, E. R. S. et al. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: Seazonal activity of ticks collected in a endemic área in São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, n.30, v.3, p.181-185, 1996c.

LIMA, V. L. C.; FIGUEIREDO, A. C.; PIGNATTI, M. G.; MODOLO, M. Febre maculosa no município de Pedreira – Estado de São Paulo – Brasil. Relação entre ocorrência de casos e parasitismo humano por ixodídeos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.28, n 2, p.135-137, 1995.

LIMA, V. L. C. et al. Situação da febre maculosa na região administrativa de Campinas, São Paulo, Brasil. In: **I Simpósio de Doenças Transmitidas por Carrapatos**, Caderno de Saúde Pública. Rio de Janeiro. P, 2001.

MARTINS, M. E. P. Aspecto epidemiológico da febre maculosa no município de Quirinópolis, Goiás, Brasil. **Tese de Doutorado em Ciência Animal** da Universidade Federal de Goiás, 2009.

MASTERS, E. J., G. S. OLSON, S. J. WEINER, AND C. D. PADDOCK. Rocky mountain spotted fever - a clinician's dilemma. **Archives of Internal Medicine**. v.163, p.769-774, 2003.

MAXEY, E.E. Some observations of the so called spotted fever of Idaho. **Medical Sentinel**, v.10, p.433-438, 1899.

MCDADE, E.; NEWHOUSE, V.F. Natural history of *Rickettsia rickettsii*. **Annual Review of Microbiology**, n.40, p.287-309, 1986.

MELLES, H. H.; S. COLOMBO; SILVA M. V. Spotted fever: isolation of *Rickettsia* from a skin biopsy sample. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. São Paulo, v. 34, p.37-41. 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 6. ed., (Série A. Normas e Manuais Técnicos), Brasília, Ministério da Saúde, 2005. 816p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Febre Maculosa: descrição da doença**. Disponível em:<http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/visualizar_texto.cfm?idtxt=31458>. Acesso em: janeiro de 2010.

MORAES-FILHO, J. Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em eqüinos do Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/SP). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.46, n.2, p.85-91, 2009.

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

NEVES, D. et al. Cultura Celular. **Biologia Celular e Molecular**. v. 1, 2004 Acesso em novembro de 2009, disponível em: medicina.med.up.pt/bcm/trabalhos/2005/culturacelular.ppt

OGATA, H. et al., Genome sequence of *Rickettsia belli* illuminates the role of amoebae in gene exchanges between intracellular pathogens. **PLoS Genet**. v.2, p.76, 2006.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R. C.; UEZU, A.; FERREIRA, F;LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) Infesting Wild Birds in an Atlantic Forest Area in the State of São Paulo, Brazil, with Isolation of *Rickettsia* from the Tick *Amblyomma longirostre*. **Journal Of Medical Entomology**. v.45, n.4, 2008.

PADDOCK, C. D. et al. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases Chicago Journals**. v.38, p.805–811, 2004.

PAROLA, P.; RAOULT, D.. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. **Clinical Infectious Diseases Chicago Journals**. v.33, p.749, 2001

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick Borne Rickettsioses around the world: Emerging Diseases Challenging Old Concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.8, n.4, p. 719-756, 2005.

PEREIRA, M. C.; LABRUNA, M. B.; Febre Maculosa: aspectos clínicos epidemiológicos. **Clínica Veterinária**, n.12, p.19-23, 1998.

PHILIP, R. N.; CASPER, E. A.; BURGDORFER, W.; GERLOFF, R. K.; HUGHES, L. E. ; BELL, E. J. Serologic typing of rickettsiae of the spotted fever group by microimmunofluorescence. **The Journal of Immunology**. v.121, p.1961–1968, 1978.

PINTER, A., et al. Sorologia para *Rickettsia* spp. Em cães e humanos de uma área endêmica para febre maculosa brasileira no Estado de São Paulo, Brasil. **Caderno de Saúde pública**, n.24, v. 2, p.247-252, 2008.

PINTER, A.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B. Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em humanos e cães em uma área endêmica para febre maculosa brasileira no município de Mogi das Cruzes/ SP (abstract 04.025). In: **II Simpósio Latino Americano de Rickettsioses**, Ribeirão Preto, Brasil, p. 368. 2006.

PINTER, A.; HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B. Febre Maculosa. **Informe técnico II – Centro de Vigilância Epidemiológica**. Disposto em http://www.saude.sp.gov.br/resources/profissional/documentos_tecnicos/informes_tecnicos/f.maculosa.pdf. Acesso em 10/01/2010

PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 523-529, 2006.

PORTAL BRASIL. Brasil População. Disponível em: <http://www.portalbrasil.net/brasil_populacao.htm>. Acesso em abril 2009.

RAOULT, D. A new tick-borne rickettsiosis in the USA. **Clinic Infect Disease**. v. 38. P. 812-813, 2004.

RAOULT, D. ; RAOUX, D. H.. Rickettsioses as paradigmas of new or emerging infections disease. **Microbiology Clinical Microbiology Reviews**. v.10, p.694-719, 1997.

SANGIONI, L. A. Pesquisa de Infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, cães e equídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em região endêmica e não endêmica do estado de São Paulo. **Tese** (doutorado em epidemiologia experimental e aplicada a zoonoses). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 86p., 2003.

SANGIONI, L.A.; HORTA, M.C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A. M., et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, v.11, p.265-269, 2005.

SEXTON, D. J.; KAYE, K. S. Rocky mountain spotted fever. **Medical Clinics of North America**, v.86, p.351-360, 2002.

SILVEIRA, I. et al. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v.13, n.7, 2007.

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.

SOUSA, R. et al. Portuguese patient infected with *Rickettsia sibirica*. **Emerging infectious diseases**. v.14, n.3, p.529-531, 2008.

SOUZA, C. E. et al. O papel da capivara *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v.13, p.203-204, set. 2004.

SPOLIDÓRIO, M. G. Perfil sorológico e molecular de zoonose transmitida por carrapatos em humanos e animais domésticos oriundos de seis Municípios do Estado do Espírito Santo. **Tese de doutorado do curso de pós graduação em epidemiologia experimental aplicada a zoonoses pela Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2009.

SPOLIDÓRIO, M. et al. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.3, 2010.

SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS. Vetores e Doenças – Febre Maculosa. Disponível em: <<http://www.sucen.sp.gov.br/atuac/maculo.html>>. Acesso em: 01/09/2010.

TAMURA, A. OHASHI, N.; URAKAMI, H.; MIYAMURA, S. Classification of *Rickettsia tsutsugamushi* in a *Orientia* **gen. nov.**, as *Orientia tsutsugamushi* New Genus, **comb. nov.** **International Journal of systematic Bacteriology**, v.45, n.3, p.589-591, 1995.

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. **Memórias do Instituto Butantã**. n.15, p.73-86, 1942.

VENZAL J.M. et al. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. **Emerging Infectious Diseases Journal Homepage**, v.10, p.1493- 1495, 2004.

VIANNA, M. C. et al. Rickettsiose do grupo da febre maculosa na Vila de Capoeirão, Itabira, Minas Gerais, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**; volume 50, número 5, páginas 297-301. Outubro 2008.

VIEIRA, A. M. L. et al. **Febre Maculosa**. Disponível em; http://www.labcdl.com.br/artigos/febre_maculosa/default.htm Acessado em junho de 2008

VIEIRA, L. G. Febre maculosa : Uma doença do meio rural. **Nippo on line Jornal Nippo Brasil**, 2010. Acesso em maio de 2010. Disponível em: <http://www.nippo.com.br/campo/artigos/artigo448a.php>

VIEIRA, D. P. Técnicas de PCR: Aplicações e Padronização de Reações. Laboratório de Biologia Molecular-IPEN- **PCR: Princípios e tipos de Reação**. Disponível em: <http://www.credesh.ufu.br/sites/credesh.ufu.br/files/documentos/Principios_da_PCR_IPEN.pdf>. Acesso em maio de 2010.

ANEXOS

ANEXO A - Resultados da detecção e identificação das espécies de *Rickettsias* spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina.

ANEXO B - Recíproca de títulos de anticorpos (RIFI) contra *Rickettsia* spp. em equinos de Santa Catarina. 2009.

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continua)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
01	<i>A. tigrinum</i>	Joinville	Norte	N	N	NR
02	<i>A. aureolatum</i>	Joinville	Norte	N	N	NR
03	<i>A. aureolatum</i>	Joinville	Norte	N	N	NR
04	<i>A. aureolatum</i>	Joinville	Norte	N	N	NR
05	<i>A. nitens</i>	Araquari	Norte	N	N	NR
06	<i>A. nitens</i>	Araquari	Norte	P	NR	NR
07	<i>A. nitens</i>	Araquari	Norte	N	N	NR
08	<i>A. nitens</i>	Araquari	Norte	N	N	NR
09	<i>A. nitens</i>	Araquari	Norte	N	N	NR
10	<i>A. aureolatum</i>	Araquari	Norte	N	N	NR
11	<i>A. ovale</i>	Araquari	Norte	N	N	NR
12	<i>A. aureolatum</i>	S. J. Batista	Gde Fpolis	P	NR	NR
13	<i>A. aureolatum</i>	S. J. Batista	Gde Fpolis	N	N	NR
14	<i>A. ovale</i>	S. J. Batista	Gde Fpolis	N	N	NR
15	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
16	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
17	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
18	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
19	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
20	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
21	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	P	P	<i>R. parkeri</i> cepa Mata Atlântica
22	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
23	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
24	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR
25	<i>A. ovale</i>	Aguas Mornas	Gde Fpolis	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continua)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
26	<i>A. ovale</i>	Águas Mornas	Grande Fpolis	N	N	NR
27	<i>Ambl. spp</i>	Taió	Grande Fpolis	N	N	NR
28	<i>A. aureolatum</i>	Águas Mornas	Grande Fpolis	N	N	NR
29	<i>A. aureolatum</i>	Florianópolis	Grande Fpolis	N	N	NR
30	<i>A. aureolatum</i>	Águas Mornas	Grande Fpolis	N	N	NR
31	<i>A. aureolatum</i>	Águas Mornas	Grande Fpolis	N	N	NR
32	<i>A. aureolatum</i>	Águas Mornas	Grande Fpolis	N	N	NR
33	<i>A. aureolatum</i>	Águas Mornas	Grande Fpolis	N	N	NR
34	<i>R. sanguíneos</i>	Florianópolis	Grande Fpolis	N	N	NR
35	<i>R. sanguíneos</i>	Florianópolis	Grande Fpolis	N	N	NR
36	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
37	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	P	NR	NR
38	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
39	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
40	<i>A. aureolatum</i>	Otacílio Costa	Serrana	N	N	NR
41	<i>A. aureolatum</i>	Otacílio Costa	Serrana	N	N	NR
42	<i>A. aureolatum</i>	Curitibanos	Serrana	N	N	NR
43	<i>A. aureolatum</i>	Curitibanos	Serrana	N	N	NR
44	<i>A. aureolatum</i>	Curitibanos	Serrana	N	N	NR
45	<i>A. aureolatum</i>	Curitibanos	Serrana	N	N	NR
46	<i>Ambl. Spp</i>	Rio Rufino	Serrana	N	N	NR
47	<i>A. aureolatum</i>	Monte Castelo	Serrana	N	N	NR
48	<i>A. aureolatum</i>	Otacílio Costa	Serrana	N	N	NR
49	<i>A. aureolatum</i>	Monte Castelo	Serrana	N	N	NR
50	<i>A. aureolatum</i>	Bom Retiro	Serrana	N	N	NR
51	<i>A. aureolatum</i>	Bom Retiro	Serrana	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
52	<i>A. aureolatum</i>	Bom Retiro	Serrana	N	N	NR
53	<i>A. aureolatum</i>	Bom Retiro	Serrana	N	N	NR
54	<i>A. tigrinum</i>	Capão Alto	Serrana	N	N	NR
55	<i>A. tigrinum</i>	Capão Alto	Serrana	N	N	NR
56	<i>A. tigrinum</i>	Capão Alto	Serrana	N	N	NR
57	<i>A. tigrinum</i>	Capão Alto	Serrana	P	NR	NR
58	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
59	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
60	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
61	<i>A. aureolatum</i>	Urubici	Serrana	N	N	NR
62	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
63	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
64	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
65	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
66	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
67	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
68	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
69	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
70	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
71	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
72	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
73	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
74	<i>A. tigrinum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
75	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
76	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
77	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
78	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
79	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
80	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
81	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
82	<i>A. tigrinum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
83	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
84	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
85	<i>A. tigrinum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
86	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
87	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
88	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
89	<i>A. tigrinum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
90	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
91	<i>A. tigrinum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
92	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
93	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
94	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
95	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
96	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
97	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
98	<i>A. aureolatum</i>	Lages	Serrana	N	N	NR
99	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
100	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
101	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
102	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
103	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
104	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
105	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
106	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
107	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
108	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
109	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
110	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
111	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
112	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
113	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
114	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
115	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
116	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
117	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
118	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
119	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
120	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
121	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
122	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
123	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
124	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
125	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
126	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
127	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
128	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
129	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				GltA	ompA	Sequenciamento
130	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
131	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
132	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	P	NR	NR
133	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	P	P	<i>R. parkeri</i> cepa Mata Atlântica
134	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
135	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
136	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
137	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
138	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
139	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
140	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
141	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
142	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
143	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	P	NR	NR
144	<i>A. ovale</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
145	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
146	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
147	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
148	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
149	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	P	NR	NR
150	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
151	<i>A. aureolatum</i>	Urussanga	Sul	N	N	NR
152	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
153	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
154	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
155	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				GltA	ompA	Sequenciamento
156	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
157	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
158	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
159	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
160	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
161	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
162	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
163	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
164	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
165	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
166	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
167	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
168	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
169	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
170	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
171	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
172	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
173	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
174	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
175	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
176	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
177	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
178	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
179	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
180	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
181	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
182	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
183	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
184	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	P	P	<i>R. parkeri</i> cepa Mata Atlântica
185	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
186	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
187	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
188	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
189	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
190	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
191	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
192	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
193	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
194	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
195	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
196	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
197	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
198	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
199	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
200	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
201	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
202	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
203	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
204	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
205	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
206	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
207	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
208	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
209	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
210	<i>A. longistrostre</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	P	P	<i>Rickettsia amblyommii</i> cepa AL
211	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
212	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
213	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
214	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
215	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
216	<i>R. sanguíneos</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
217	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
218	<i>R. sanguíneos</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
219	<i>A. aureolatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
220	<i>A. aureolatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
221	<i>A. cajennense</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
222	<i>A. ovale</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
223	<i>A. aureolatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
224	<i>Ambl. Spp</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
225	<i>R. sanguíneos</i>	Itapema	Vale do Itajaí	N	N	NR
226	<i>Amb. Spp</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
227	<i>A. aureolatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
228	<i>A. dubitatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
229	<i>A. ovale</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
230	<i>Amb. Spp</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
231	<i>A. ovale</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
232	<i>A. aureolatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
233	<i>R. sanguíneos</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (continuação)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
234	<i>Amb. Spp</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
235	<i>A. dubitatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
236	<i>A. dubitatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
237	<i>A. dubitatum</i>	Taió	Vale do Itajaí	N	N	NR
238	<i>R. sanguíneos</i>	Barra Velha	Vale do Itajaí	N	N	NR
239	<i>A. cajennense</i>	Itapema	Vale do Itajaí	N	N	NR
240	<i>A. aureolatum</i>	Rio do Sul	Vale do Itajaí	N	N	NR
241	<i>A. aureolatum</i>	Salete	Vale do Itajaí	N	N	NR
242	<i>A. cajennense</i>	Itapema	Vale do Itajaí	N	N	NR
243	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
244	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	P	P	
245	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
246	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
247	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
248	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
249	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
250	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
251	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
252	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
253	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
254	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
255	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
256	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	P	P	<i>R. parkeri</i> cepa Mata Atlântica
257	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
258	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
259	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR

Tabela 5- Resultados da detecção e identificação das espécies de Rickettsias spp. que infectam carrapatos ixodídeos em Santa Catarina (concluído)

AMOSTRA	ESPÉCIE	MUNICÍPIO	MESORREGIÃO	RESULTADO		
				gltA	ompA	Sequenciamento
260	<i>R.(B.) microplus</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
261	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
262	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	P	P	<i>R. parkeri</i> cepa Mata Atlântica
263	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
264	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
265	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
266	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	P	P	<i>R. parkeri</i> cepa Mata Atlântica
267	<i>A. ovale</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR
268	<i>A. aureolatum</i>	Blumenau	Vale do Itajaí	N	N	NR

Legenda: P- positivo; N- negativo; NR- não realizado; *Amyl*- *Amblyomma*

