



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DE BOTUCATU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANTIROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

**Botucatu
2011**

LUÍS HENRIQUE LOZANO JOANNITTI

**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANTIROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Medicina Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia de Botucatu da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
como requisito para a obtenção do título de
Mestre em Saúde Animal, Saúde Pública
Veterinária e Segurança Alimentar.

Orientador: Prof. Dr. José Rafael Modolo
Co - Orientador: Prof. Dr. Cassiano
Victória

BOTUCATU
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: RÔSEMEIRE APARECIDA VICENTE

Joannitti, Luís Henrique Lozano.

Estimativa da febre maculosa em cães para a vigilância e monitoramento da antropozoonose no município de Botucatu, no Estado de São Paulo / Luís Henrique Lozano Joannitti. – Botucatu : 61p, 2011

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: José Rafael Modolo

Capes: 50502050

1. Cão - Doenças. 2. Rickettsioses em animais. 3. Carrapato como transmissor de doenças.

Palavras-chave: Cão; Febre maculosa; *Rickettsia*.

LUÍS HENRIQUE LOZANO JOANNITTI

**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANTROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós -
Graduação em Medicina Veterinária da
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia de Botucatu da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
como requisito para a obtenção do título de
Mestre em Saúde Animal, Saúde Pública
Veterinária e Segurança Alimentar.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Cassiano Victória

Presidente e Co - Orientador
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
UNESP – FMVZ - Botucatu

Prof. Dr. Luiz Carlos de Souza

Membro Titular
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
UNESP – FMVZ - Botucatu

Prof. Dr. Samir Issa Samara

Membro Titular
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
UNESP – FMVZ - Jaboticabal

Botucatu, 26 de setembro de 2011.

DEDICATÓRIA

Dedico este projeto as pessoas mais importantes da minha vida, que são a razão da conquista e realização de mais este desafio, as minhas filhas Victória e Luísa, a minha esposa Juliana, ao meu pai José e a minha mãe Marilene.

AGRADECIMENTO

Agradeço a Deus, pela natureza e pelas suas infinitas maravilhas.

Aos meus pais, José Joannitti e Marilene Lozano Joannitti, pelo apoio durante toda minha vida, sem eles, jamais estaria aqui.

Ao meu orientador Professor Dr. José Rafael Modolo, pela amizade, paciência e pela confiança depositada no desenvolvimento desta pesquisa.

Ao meu Co-orientador Professor Dr. Cassiano Victória pelos seus importantes conselhos e ensinamentos, principalmente na etapa final da dissertação e também por autorizar a colheita das amostras dos cães quando ainda trabalhava na Prefeitura de Botucatu.

Ao Professor Dr. Carlos Roberto Padovani do Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências - UNESP – Botucatu, pela consultoria prestada nas análises estatísticas, juntamente com sua pós doutoranda Nilza Regina da Silva.

Aos funcionários do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública que de alguma forma contribuíram nesta pesquisa.

A Assistente de Suporte Acadêmico II do Planejamento de Saúde Animal e Veterinária Preventiva, Tânia Maria Martins pela ajuda na colheita das amostras e contribuição durante todo este projeto.

A Adriana Pavan Vieira (Dri) do Laboratório de Planejamento de Saúde Animal, Selene Daniela Babboni e Ení Falcão da Costa que contribuíram desde as primeiras fases desta pesquisa, nas colheitas das amostras e no laboratório.

Aos residentes Igor Adolfo Dexheimer Paploski e Cinthya Peres Cappellete do Planejamento de Saúde Animal, que contribuíram nas colheitas das amostras.

Aos alunos do 4º ano da FMVZ – UNESP – Botucatu, que ajudaram na contenção dos animais para a possível colheita das amostras.

Um agradecimento especial a minha querida Gislaine Mathias, que foi uma verdadeira amiga, que me ajudou nos momentos mais difíceis deste projeto sem medir esforços, principalmente nas colheitas das amostras e no laboratório.

A Sandra Nicoletti do Laboratório do CCZ/SP, pela sua orientação com as amostras.

Aos proprietários de todos os cães que participaram com seus animais para a realização desta pesquisa.

A todos os funcionários da prefeitura de Botucatu que de alguma forma contribuíram neste projeto.

Aos funcionários da Secretaria de Pós Graduação, José Roberto, Maria e Patrícia que sempre foram prestativos quando solicitados.

Aos professores da Banca de Qualificação Prof. Dr. Luiz Carlos de Souza (Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública) e Prof. Dr. Paulo Francisco Domingues (Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública), pelos seus conselhos.

Aos funcionários da biblioteca do Campus da UNESP de Botucatu, que foram prestativos e sempre me orientaram.

A Luciana Pizzani, bibliotecária do Campus da UNESP de Botucatu, pelos seus importantes serviços e conselhos quanto a minha dissertação.

EPÍGRAFE

“Há homens que lutam um dia e são bons, há outros que lutam um ano e são melhores, há os que lutam muitos anos e são muito bons. Mas há os que lutam toda a vida e estes são imprescindíveis”
(Bertold Brecht)

JOANNITTI, L.H.L. Estimativa da febre maculosa em cães para a vigilância e monitoramento da antropozoonose no município de Botucatu, no Estado de São Paulo. Botucatu, 2011. 61p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu, São Paulo.

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é causada por bactérias do gênero *Rickettsia* e é uma zoonose de grande importância em Saúde Pública. Transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma sp.*, é uma riquetsiose de ocorrência reconhecida no país. Casos humanos têm sido descritos desde a década de 20, principalmente na região sudeste do país. Sua ocorrência vem aumentando progressivamente nos últimos anos e já abrange grande parte do território nacional. Entretanto há pouca informação sobre a epidemiologia da doença em áreas não endêmicas, o que pode ser explicado por falhas no diagnóstico e subnotificação. Com letalidade de até 80% em casos não tratados, a doença é considerada um desafio do ponto de vista clínico, pois exige precocidade no diagnóstico e tratamento adequado. A doença passou a ser de notificação compulsória no estado de São Paulo a partir de 2002. De 2003 a 2008 foram confirmados 240 casos de FMB em seres humanos em território paulista, com 71 óbitos e letalidade que variou de 21,9% a 40,0%. Com o objetivo de iniciar estudos da vigilância da FMB no município de Botucatu, Estado de São Paulo, considerada área não endêmica, foram colhidas amostras de sangue de cães que vieram para campanha anual de vacinação antirrábica no ano de 2009, através de adesão voluntária dos proprietários. As amostras de um total de 640 cães foram encaminhadas ao Centro de Controle de Zoonoses no município de São Paulo (CCZ/SP) e processadas pela técnica de reação de imunofluorescência indireta, que é considerada padrão para diagnóstico sorológico da FMB. Dentre as amostras analisadas, seis apresentaram reagentes para a FMB frente à técnica realizada, resultado este, que contribuirá de forma a consubstanciar informações junto aos órgãos de saúde do município, servindo para futuras estratégias de controle e prevenção desta enfermidade.

Palavras-chave: Febre Maculosa Brasileira. *Rickettsia*. Cão.

JOANNITTI, L.H.L. Estimation of spotted fever in dogs for the surveillance and monitoring anthroponosis in the city of Botucatu, State of Sao Paulo. Botucatu, 2011. 61p. Dissertation (Master's Degree) - University of Veterinary Medicine, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho." Botucatu, São Paulo.

ABSTRACT

Brazilian spotted fever (BSF) is caused by bacteria of the genus *Rickettsia* and is a zoonosis of great importance in public health. Transmitted by *Amblyomma* sp., is a recognized rickettsial disease occurring in the country. Human cases have been described since the '20s, especially in the southeast of the country. Its occurrence has been increasing steadily in recent years and now covers much of the country. However there is little information on the epidemiology of the disease in non-endemic areas, which can be explained by failures in diagnosis and underreporting. With a fatality rate of up to 80% in untreated cases, the disease is considered a challenge from a clinical standpoint, it requires early diagnosis and appropriate treatment. The disease became notifiable in the state of São Paulo from 2002. From 2003 to 2008 were 240 confirmed cases of BSF in humans in the state territory, with 71 deaths and mortality rates ranged from 21.9% to 40.0%. In order to initiate studies of BSF surveillance in Botucatu, São Paulo, considered non-endemic area, blood samples were collected from dogs that came to the annual campaign rabies vaccination in 2009, through the voluntary owners. Samples from a total of 640 dogs were sent to the Zoonosis Control Center in São Paulo (CCZ / SP) and processed by the technique of indirect immunofluorescence, which is considered standard for serological diagnosis of BSF. Among the samples analyzed, six-reactive to the front of the BSF technique performed, a result which will help to substantiate the information from health agencies in the city, serving for future strategies for control and prevention of this disease.

Keywords: Brazilian spotted fever. *Rickettsia*. Dog.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Mapa da área territorial urbana de Botucatu – SP, indicando os cinco postos onde foram realizadas as colheitas das amostras para a pesquisa	25
Figura 2- Imagem da microscopia fluorescente de <i>Rickettsia rickettsi</i>	29
Figura 3- Variação dos títulos sorológicos reagentes para FMB e suas respectivas localizações no município de Botucatu, 2009	30
Figura 4- Distribuição representativa da ocorrência dos cães reagentes à RIFI, para a FMB na área territorial urbana de Botucatu, 2009	31
Figura 5- Estimativa da proporção mínima e máxima de cães suspeitos para a FMB distribuídos geograficamente pelo município de Botucatu	33
Figura 6- Representação da estimativa de ocorrência mínima e máxima dos animais suspeitos para FMB da população canina do Município, no ano de 2009	34

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Riquetsioses patogênicas do grupo febre maculosa	15
Tabela 2- Proporção percentual da amostra e número de cães amostrados nas 5 regiões	25
Tabela 3- Resultado da reatividade sorológica para a FMB no sangue de cães amostrados na área territorial urbana de Botucatu – SP, 2009	29
Tabela 4- Distribuição dos resultados do teste da imunofluorescência indireta para FMB em 640 cães, nos 5 postos de colheita de amostras, na área territorial urbana de Botucatu – SP, 2009	30

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

1	INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	14
2	OBJETIVOS	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Caracterização da área de estudo	23
3.2	Definição da amostra	23
3.2.1	Procedimento amostral	24
3.3	Colheita das amostras	26
3.4	Procedimento laboratorial	27
4	RESULTADOS	29
5	DISCUSSÃO	35
6	CONCLUSÕES	38
7	REFERÊNCIAS	39
8	ARTIGO CIENTÍFICO	44
9	ANEXO	61

1 - INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A FMB é uma doença infecciosa que foi relatada pela primeira vez em 1899 por Kenneth Marxy, na região montanhosa do noroeste dos Estados Unidos, descrevendo as manifestações clínicas da febre das montanhas rochosas, tendo sido definida como doença febril endêmica (HARDEN, 1990).

Howard Taylor Rickets, em 1909, conseguiu com sucesso realizar a transmissão da doença em cobaias, denominando ser o carrapato o principal vetor, observando riquetsias a partir de tecidos dos mesmos. No ano de 1916 a bactéria foi nomeada de *Rickettsia* (WEISS; STRAUSS, 1991). A FMB teve seus primeiros relatos na cidade de São Paulo, de outubro de 1929 a setembro de 1933 onde 88 casos foram diagnosticados em seres humanos (MONTEIRO, 1933).

A FMB representa um sério risco epidemiológico devido às altas taxas de letalidade apresentadas. É uma doença rara, porém em ascensão, com o número de pessoas diagnosticadas aumentando desde 1996, quando tornou-se obrigatória a sua notificação na região de Campinas, Estado de São Paulo, e a nível nacional, no ano de 2002. Estima-se que a maior parte dos casos não é diagnosticada e que os dados disponíveis são provavelmente inferiores a real incidência. Esta antropozoonose continua sendo um importante problema de Saúde Pública, por estar estreitamente relacionada ao meio ambiente humano (GALVÃO, 1988).

As riquetsias são bactérias que se especializaram em nichos ecológicos muito restritos e, seu ciclo natural, depende apenas de um hospedeiro, geralmente um artrópode (BACELLAR, 1996).

Desde a década de 20, o Brasil apresenta histórico de doença riquetsial, sendo a FMB a mais severa das riquetsioses descritas (Tabela 1). Esta antropozoonose é considerada a mais prevalente doença riquetsial no Brasil (LEMOS et al., 2001).

O estudo da epidemiologia desta doença torna-se importante para o conhecimento dos focos naturais desta zoonose, estabelecendo assim, os fatores de riscos existentes em determinados ecossistemas, a circulação de agentes entre os animais domésticos e silvestres, a importância do diagnóstico dessas doenças nestes animais subsidiando as ações dos serviços de Saúde Pública no país. As doenças transmitidas por carrapatos vêm sendo um importante problema de saúde pública no mundo. O interesse mundial pelas infecções humanas causadas

pelo gênero *Rickettsia* é crescente devido ao fato de que a sua incidência e distribuição são maiores do que os estimados preliminarmente (GALVÃO et al., 2003).

O principal agente causador da FMB é a bactéria denominada *Rickettsia rickettsii*. Trata-se de uma bactéria intracelular obrigatória da Ordem Rickettsiales, Família Rickettsiaceae. A bactéria gram negativa é encontrada em células intestinais, glândulas salivares e ovários de artrópodes, necessitando de células eucariontes de hospedeiros e ou vetores artrópodes para se multiplicarem (ACHA; SZYFRES, 2003; RAOULT; PAROLA; PADDOCK, 2005). Morfologicamente elas se caracterizam como cocobacilos gramnegativos de 0,3mm de largura por 1,5mm de comprimento, possuem citocromo e suas reações metabólicas são aeróbias. O Gênero *Rickettsiae* é composto por dois grupos, o grupo tífico que contém três espécies; *R. prowazekii* agente do tifo epidêmico, *R. typhi* agente do tifo murino e *R. canadensis*, cujos vetores são piolhos, pulgas e carrapatos; e o grupo da febre maculosa, cujo principal vetor é o carrapato (BEATI; RAOULT, 1998; BURGDORFER, 1970). O grupo da febre maculosa está constituído até o momento por 60 espécies, dos quais 12 são patogênicas para seres humanos (Tabela 1). *Rickettsias* de patogenicidade baixa ou desconhecida são: *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii*, *R. montanensis*, *R. peacockii*, *R. massiliae*, *R. sharonii* e *R. helongjiangi* (BEATI; RAOULT, 1998).

TABELA 1 - Riquetsioses patogênicas do grupo febre maculosa.

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

Fonte: BEATI; RAOULT (1998); SANGIONI (2003).

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

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

O *Amblyomma cajennense* pertence ao Filo Arthropoda; Classe Arachnida; Ordem Acarina; Família Ixodidae; Sub-família Amblyomminae; Gênero *Amblyomma* e Espécie *cajennense*. A denominação *Amblyomma* vem de “amblys”, encoberto e “omma”, olho; e *cajennense* vem de Caiena, local onde foi descrita a espécie. Trata-se de um carrapato heteroxeno de três hospedeiros, cujas larvas são hexapodes e as ninfas e adultos são octópodes. Possui rostro alongado e hipostômio composto de três fileiras de dentes, tem peritrema triangular com ângulos arredondados, órgão de Haller e festões marginais presentes (SLOSS; ZAJAC; RUSSEL, 1999).

O *Amblyomma sp.* é responsável pela manutenção de *Rickettsia rickettsii* na natureza pois ocorre transmissão transovariana e transtadial (AZAD; BEARDT, 1998; VIEIRA et al., 2004). Carrapatos machos podem transferir *Rickettsia rickettsii* para a fêmea através de fluidos corporais ou esperma durante a cópula (RAOULT; PAROLA; PADDOCK, 2005). Esta característica biológica permite ao carrapato permanecer infectado durante toda sua vida (18 meses) e disseminar o organismo para novas gerações. No Brasil, em geral nos meses de abril a junho (predomínio de larvas) e de julho a novembro (predomínio de ninfas), o homem é infestado de maneira maciça por larvas e ninfas dos carrapatos e é quando há maior ocorrência de casos (GALVÃO, 1988; GALVÃO et al., 2003; SPICKETT et al., 1991).

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

No Brasil, entre os meses de novembro a março existe o predomínio de adultos de *Amblyomma cajennense* (LABRUNA, 2002), e estes por terem uma picada dolorosa são facilmente percebidos e retirados. Este fato caracteriza a sazonalidade da doença no Brasil, com maior ocorrência em humanos no segundo semestre do ano (LE MOS, 1996; LABRUNA, 2002; SANGIONI, 2003).

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

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

Diversos animais auxiliam na manutenção do ciclo da doença, participando como hospedeiros primários ou acidentais. Aves domésticas e selvagens, mamíferos, roedores

selvagens e até animais de sangue frio como ofídio podem albergar algumas das riquetsias (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004).

Admite-se que roedores tenham grande importância no ciclo silvestre de riquetsias e que as capivaras sejam o elo entre os ciclos enzoótico e zoonótico da doença, preenchendo grande parte dos requisitos supracitados (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004). A presença da capivara tem sido associada à FMB, e como sua presença em vários locais rurais e urbanos é alta, este roedor tem grande importância na epidemiologia da doença. Travassos e Valejo (1942) demonstraram através de infecção experimental que capivaras não apresentam sinais clínicos da doença, atuando como um hospedeiro mantenedor, além de seu papel como amplificador da população de carrapatos (SOUZA; CALIC; CAMARGO, 2004; GUEDES et al., 2005).

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

Para que um vertebrado seja considerado bom hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* na natureza, este deve preencher alguns requisitos como: ser susceptível à infecção; manter a bactéria circulante em níveis plasmáticos suficientes para infectar vetores; ter alta taxa de renovação populacional; ser abundante na área endêmica e ser bom hospedeiro do carrapato vetor em condições naturais (LABRUNA, 2006).

O risco de infecção para humanos é baixo tendo em vista que apenas uma parcela da população se expõe ao contato com carrapatos. No mundo, a taxa de infecção em carrapatos é de somente 1 a 3%, inclusive em áreas consideradas endêmicas (RAOULT; PAROLA; PADDOCK, 2005). É possível que os estádios adultos de *Amblyomma sp.* tenham maior chance de serem encontrados infectados devido ao maior número de repastos sanguíneos ocorridos ao longo de suas vidas (ESTRADA et al., 2006).

Equinos e cães são considerados animais sentinela para FMB (LE MOS, 1996), atuando também como amplificadores da população de carrapatos, e por viverem muito próximos do homem, tem grande importância na epidemiologia da doença (TIRIBA, 1972).

É importante nunca espremer o carrapato na mão e ter cuidado ao retirar o ixodídeo fixado no corpo, pois este pode se romper liberando junto com a hemolinfa, riquetsias, que possuem capacidade de penetrar através de microlesões na pele (PEREIRA; LABRUNA, 1998).

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

O ciclo celular de riquetsias se dá pela aderência inicial na célula endotelial aos receptores do colesterol. As riquetsias induzem sua própria fagocitose ao penetrarem nas células endoteliais, e uma vez dentro do citoplasma, escapam do fagossoma pela ação da fosfolipase na membrana fagossomal, e quando livres no citoplasma replicam-se por fissão binária simples (WALKER; VALBUENA; OLANO, 2003).

A *Rickettsia rickettsii* é capaz de converter F-actina em actina e utilizá-la para promover sua propulsão. Ao saírem da célula, estas bactérias seguem infectando células vizinhas (WALKER; VALBUENA; OLANO, 2003; MURRAY et al., 1998). Este processo produz focos de vasculite multissistêmica podendo ocasionar, pneumonia intersticial, miopericardite, exantemas cutâneos, meningite linfocítica, bem como afecções hepáticas, renais e gastrintestinais. Um grande dano proveniente de vasculite é a liberação de pirogênicos e enzimas produtoras de quinina, que induzem à febre e ao aumento da permeabilidade capilar (WALKER; VALBUENA; OLANO, 2003). Este aumento leva ao extravasamento de líquido rico em proteína ao interstício, gerando queda de albumina intracapilar e aumento de pressão oncótica, ocasionando seqüestro do líquido exsudado. Este processo culmina com hipovolemia e hipoalbuminemia e conseqüente insuficiência pré renal secundária devido à diminuição da filtração glomerular, aumento da aldosterona e retenção de sódio e água (CHEVILLE, 1993; WALKER; VALBUENA; OLANO, 2003; GREENE; BREITSCHWERDT, 2006).

Rickettsia rickettsii tem como principal alvo o endotélio vascular, portanto as lesões cutâneas derivam de sua proliferação no endotélio de pequenos vasos seguido de formação de trombos, hemorragias, infiltração perivascular e necroses focais. Na pele, miocárdio e tecido cerebral formam-se nódulos típicos (VERONESI; FOCACCIA, 1996). Distúrbios

hemostáticos como trombocitopenia e aumento do tempo de coagulação estão relacionados com efeitos citopáticos celulares e atividades de endotoxinas desta riquetsia (DAVIDSON et al., 1990).

A solução de continuidade devido à destruição das células endoteliais promove exposição do colágeno, que é determinante para a agregação de plaquetas. As plaquetas ao aderirem no endotélio modificam-se na sua forma, passando de discos lisos a esferas com espículas, expondo o fator plaquetário três, desencadeando assim a via intrínseca de coagulação. Estas plaquetas alteradas irão se agregar a novas plaquetas circulantes, evoluindo para um agregado irreversível e formando um tampão hemostático plaquetário. O grande consumo de plaquetas leva a trombocitopenia. O tampão hemostático plaquetário firme se dá pela adesão de fibrina proveniente da ativação do sistema de coagulação, através da liberação de serotonina e ADP (Adenosina Difosfato), que ativará a protrombina em trombina, bem como a polimerização de fibrinogênio em fibrina (BERNABEU-WITTEL; SEGURA-PORTA, 2005).

Após o período de riquetsemia os microorganismos são disseminados para outros tecidos pela via circulatória ou linfática. Caso a deposição de redes de fibrina se sobreponha a fibrinólise, haverá deposição multisistêmica desta na micro e macrovasculatura. Este processo tem evolução mórbida culminando com a coagulação intravascular disseminada (CID) em casos graves (BERNABEU-WITTEL; SEGURA-PORTA, 2005; GREENE; BREITSCHWERDT, 2006).

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

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

Os sintomas em seres humanos são: febre, náuseas, cefaléias, mialgia, e máculas. As máculas, que são sinais clássicos, inicialmente são pequenas, achatadas e rosadas, aparecendo após dois a cinco dias de febre (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATESTI, 2001).

Existe uma subnotificação dos casos de FMB em razão do seu diagnóstico clínico, pois pode ser confundida com outras doenças, como doença meningocócica (ANGERAMI, 2006), e em épocas de chuvas com a leptospirose, pois o quadro clínico inicial das duas doenças é muito parecido (DEBERALDINI et al., 1996).

Para realização do diagnóstico, é fundamental o conhecimento da situação epidemiológica da região e a procedência do paciente nos últimos quinze dias. Também é importante que os familiares informem o possível contato do paciente com carrapatos e se o mesmo frequentou áreas de risco da doença (PEREIRA; LABRUNA, 1998).

Os achados clínicos iniciais são febre (39,2 a 40,5°C), ocorrendo de quatro a cinco dias após a picada do carrapato (WARNER; MARSH, 2002), anorexia, depressão, petéquias e equimoses, epistaxe, injeções esclerais e conjuntivite são vistas nas mucosas oral, ocular e genital (BREITSCHWERDT et al., 1988), tosse, dispnéia e aumento de sons broncovesiculares, linfadenite, perda de peso e desidratação são também sinais clínicos comuns (LISSMAN; BENACH, 1980).

Outros achados podem incluir dor abdominal, anorexia, status mental alterado (sinais de depressão e esturpor), mialgia, poliartrite, alterações vestibulares (andar em círculo e nistagmo). Alguns sinais como lesões disseminadas e edemas substanciais indicam prognóstico ruim (WARNER; MARSH, 2002).

Cães infectados experimentalmente têm aumentado a atividade sorológica da fosfatase alcalina, dos níveis de colesterol, hiponatremia e hipocloremia (LISSMAN; BENACH, 1980).

No caso dos cães recém chegados a áreas endêmicas ou que tiveram a primeira exposição a carrapatos após perda da atividade dos anticorpos maternos podem ter um curso mais severo da infecção (LISSMAN; BENACH, 1980).

A confirmação laboratorial pode ser feita através da pesquisa de anticorpos específicos (Figura 1), presentes alguns dias após o aparecimento da doença, através do isolamento do agente em amostras de sangue ou biópsia de pele e por amostras de carrapatos coletados no paciente (SANGIONI, 2003).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é a prova recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como inquérito padrão a ser utilizado no diagnóstico das rickettsioses (CALIC, 2004), contudo, a amostra somente será considerada reagente à RIFI,

quando apresentar título maior ou igual a 1:64 (NEWHOUSE et al., 1979). É uma metodologia simples, econômica e com uma sensibilidade acima de 90% (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004), contudo esses testes não são capazes de distinguir a espécie de riquetsia dentre os isolados podendo ocorrer à existência de reações cruzadas (HORTA, 2002), fazendo com que o diagnóstico seja baseado em fatores epidemiológicos (CALIC, 2004).

A medida preventiva mais eficaz para FMB é o controle da população de carrapatos a níveis mínimos (VIEIRA et al., 2004).

Pereira e Labruna (1998), Vieira et al. (2004) e Prata (2005), descrevem várias medidas que devem ser adotadas para prevenção de casos de FMB, como: manter a população do vetor sob controle, por que a maioria dos casos está relacionado à áreas com super populações destes carrapatos; ter em mente quais áreas são consideradas endêmicas para FMB; evitar caminhar em áreas infestadas por carrapatos; quando caminhar, realizar a vistoria de carrapatos no corpo em intervalos de duas a três horas, uma vez que para a transmissão da bactéria, o carrapato tem que estar fixado por, no mínimo 4 horas; usar barreiras físicas no corpo, como calças compridas, botas, blusas de manga cumprida e fitas dupla face na parte superior das botas; não matar o carrapato espremendo com as unhas, pois pode liberar riquetsias capazes de penetrar em microlesões da pele; em áreas endêmicas devem ser feitos trabalhos de conscientização da população próxima ao local, e quando se tratar de área pública devem ser colocadas placas com informações, e com medidas preventivas.

Por se tratar de uma zoonose importante, vale à pena ressaltar que no Brasil, a FMB foi incluída na lista de doenças de notificação compulsória, conforme Portaria nº 1.943, de 18 de outubro de 2001 (BRASIL, 2001).

Vale salientar que as áreas sabidamente endêmicas para FMB devem contar com a colaboração da população, que deve ser orientada através de atividades educativas. O treinamento dos profissionais de saúde para o diagnóstico e tratamento precoce é um ponto relevante no controle e prevenção da doença, visando minimizar sua ocorrência. As pessoas que habitam locais de risco devem procurar as Unidades Básicas de Saúde no caso de apresentarem febre ou terem sido picadas por carrapatos (VIEIRA et al., 2004).

No caso de áreas de transmissão não reconhecida é recomendado trabalho de orientação por parte das Secretarias Municipais de Saúde em grupos específicos de risco, como médicos veterinários, carroceiros, produtores rurais, tratadores de animais e pescadores. Além das

medidas preventivas citadas acima, vale ressaltar que quanto maior a população de carrapatos, maior o risco de se contrair a doença (VIEIRA et al., 2004).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Investigação sobre a ocorrência da reatividade sorológica para a FMB na população canina no município de Botucatu/SP.

2.2. Específicos

2.2.1 Estimar a ocorrência de FMB nos cães da área territorial urbana do município de Botucatu-SP.

2.2.2 Avaliar a distribuição dos cães sorologicamente reagentes para a FMB nas regiões geográficas do Município.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Caracterização da área de estudo

O município de Botucatu localiza-se na região Centro Sul do Estado de São Paulo (22,88583° latitude sul e 48,445° longitude oeste), situando-se a cerca de 805 metros acima do nível do mar e possui uma área territorial de 1.483km², dos quais 1.329km² corresponde à área rural e 154km² à zona urbana. Sua população é estimada em 127.370 habitantes. O clima é subtropical úmido com invernos secos e verões quentes com temperatura média de 19°C e precipitação pluviométrica de 1.250mm. A vegetação consiste de mata pluvial e cerrado (IBGE, 2010).

3.2 - Definição da Amostra

A colheita das amostras foi realizada na população alvo da 41ª campanha de vacinação anual contra a Raiva de cães e gatos de Botucatu de 2009, realizada pela Vigilância

Ambiental de Saúde da Secretária da Saúde de Botucatu, em parceria com a disciplina de planejamento de saúde animal e saúde pública do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) – UNESP – Botucatu.

Realizou-se inicialmente ao estudo um levantamento das últimas campanhas de vacinação antirrábica, para que fossem escolhidos dentro de cada um dos setores geograficamente distribuídos pelo município, os postos de vacinação que apresentaram maior número de cães vacinados.

As amostras foram colhidas de maneira que houvesse representação proporcional de animais em cada uma das cinco regiões setoriais do Município (FIGURA 2), não levando em consideração sexo, raça ou idade dos cães. Para isto foram escolhidos os postos de vacinação na região Norte (Jardim Continental), região Sul (COHAB I), região Leste (Jardim Cristina), região Oeste (Parque Marajoara) e região Central (Vila São Luiz).

3.2.1- Procedimento Amostral¹

A população canina vacinada na área urbana de Botucatu, em 2009 foi de 19.022 cães (MODOLO; CAPPELLETE, 2009). Considerando-se uma flutuação (erro de estimação) da ordem de 15% para a proporção de casos e um nível de 95% de confiança, foram amostrados 640 cães por procedimento randômico, para constituir a amostra do presente estudo (NORMAN; STREINER, 2008).

Estes 640 cães foram submetidos à RIFI para diagnosticar a FMB, dos quais foram amostrados em cinco postos de vacinação representando as cinco regiões da área urbana do Município que estão representados na TABELA 2 e FIGURA 1.

¹ Consultor: Prof. Titular Carlos Roberto Padovani – Disciplina de Bioestatística do Instituto de Biociências – UNESP – Botucatu.

TABELA 2. Proporção percentual da amostra e número de cães amostrados nas 5 regiões.

Região	Número de cães amostrados	Proporção (%) da amostra
COHAB	131	20,47
Jardim Continental	90	14,06
Jardim Cristina	161	25,16
Parque Marajoara	151	23,59
Vila São Luiz (centro)	107	16,72
Total	640	100,00



FIGURA 1 - Mapa da área territorial urbana de Botucatu – SP, indicando os cinco postos onde foram realizadas as colheitas das amostras para a pesquisa.

Para a construção do intervalo de confiança para a proporção de casos suspeitos, utilizou-se o procedimento de estimação por intervalo que consiste em estabelecer limites simétricos em relação ao centro (dado pela estimativa pontual da proporção) com

afastamentos proporcionais (nível de confiança adotado, no caso, 95%) ao erro padrão do estimador. Desta maneira, os limites no presente estudo ficaram definidos por:

$$\text{Intervalo de Confiança de 95\%} = p \pm (1,96) * ep \quad \text{onde,}$$

p = proporção amostral

ep = erro padrão amostral da proporção

$$ep = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

A partir dos limites de 95% de confiança para a proporção de casos suspeitos da FMB, foi determinado o número mínimo e máximo de cães suspeitos na população vacinada; em seguida, esses valores foram distribuídos proporcionalmente às regiões correspondentes aos cinco pontos de amostragem.

Para melhor entendimento do cálculo, procedeu-se da seguinte maneira: o total de casos suspeitos mínimos (ou máximos) corresponde aos 100% enquanto o total da região à x .

O número de cães da região é dado (arredondamento para valor inteiro) por

$$n_R = \frac{P_{\text{Região}}(\%) * N^{\circ} \text{mínimo}}{100} \quad (\text{cães}).$$

Procedimento similar realizou-se substituindo o número mínimo pelo número máximo.

3.3- Colheitas das amostras

O projeto de pesquisa contou com a aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Campus Botucatu, sob o protocolo nº 58/2009.

Após autorização dos proprietários para a inclusão dos seus animais no inquérito soroepidemiológico, foi preenchido um cadastro permitindo a identificação dos cães e do seu domicílio (ANEXO 1).

As amostras de sangue foram colhidas pela punção da veia cefálica, safena ou jugular com seringa de 3mL e agulha 30X7 mm e acondicionadas em tubo de ensaio estéreis sem anticoagulante. Em seguida foram transportadas até o Laboratório de Planejamento de Saúde

Animal e Saúde Pública da FMVZ - UNESP - Botucatu – SP. Após permanecer em repouso para completa retração do coágulo, os tubos foram centrifugados a 1600G durante 10 minutos em centrífuga para a obtenção do soro sanguíneo, que em seguida foram aliquotados em microtubos esterilizados de 2mL, etiquetados e mantidos a -20°C, até o momento dos testes sorológicos.

3.4 - Procedimento Laboratorial

Para a pesquisa de anticorpos anti *Rickettsia* spp. foi realizada à RIFI frente a antígenos de *Rickettsia rickettsii*, onde procedeu-se as modificações descritas por Horta et al. (2004). A metodologia empregada seguiu os protocolos utilizados no laboratório do Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo.

1. Retirou-se da refrigeração as lâminas necessárias para testar as amostras, deixando-as imersas em PBS por 10 minutos à temperatura ambiente; em seguida foram secas a temperatura ambiente. Os controles positivos e negativos, e os demais reagentes somente foram usados após atingir a temperatura ambiente;
2. Diluiu-se as amostras testadas em PBS. Para a realização da diluição das amostras foi utilizado 2,5 µl de soro e adicionado 157,5 µl de PBS, homogeneizando suavemente evitando a formação de bolhas;
3. Adicionou-se 20µl das diluições das amostras e soros controles positivos e negativos em cada poço das lâminas;
4. As lâminas foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos em estufa à 37°C;
5. As lâminas foram lavadas com tampão de lavagem com pipeta de Pasteur como auxiliar;
6. As lâminas foram deixadas submersas em cuba com tampão de lavagem durante 15 minutos;
7. As lâminas foram transferidas para outra cuba, também com tampão de lavagem e aguardou mais 15 minutos;
8. As lâminas foram secas a temperatura ambiente;
9. Diluiu-se o conjugado anti-Ig canina marcado com fluoresceína, na proporção adequada obtida com a prévia titulação do conjugado, em PBS;
10. Adicionou-se 20 µl da diluição do conjugado em todos os poços das lâminas;

11. As lâminas foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos em estufa a 37°C, ao abrigo de qualquer fonte de luz;
12. As lâminas foram lavadas com tampão de lavagem;
13. Preparou-se uma solução com azul de Evans na proporção de 0,3 ml para cada 100 ml de tampão de lavagem; em cuba apropriada deixou-se as lâminas durante 15 minutos, cobertas com papel alumínio para proteger de qualquer fonte de luz;
14. Repetiu-se a etapa anterior por mais 15 minutos;
15. As lâminas foram secas a temperatura ambiente, sempre ao abrigo da luz;
16. Adicionou-se de 4 a 5 gotas de glicerina tamponada sobre cada lâmina, cobrindo-as com lamínula, evitando a formação de bolhas. Mantendo sob abrigo da luz e a seco, até o momento da leitura.

Para a leitura e interpretação das reações utilizou-se o microscópio de imunofluorescência e objetiva de 40X.

O poço de lâmina com o controle para soro positivo e soro negativo observaram-se o seguinte:

1. focalizou-se a lâmina na posição do soro controle positivo para comprovar a fluorescência presente em cerca de 90-100% das células;
2. focalizou-se a lâmina na posição do soro controle negativo para observar a ausência de fluorescência nas células, bem como a coloração de fundo.

As amostras foram consideradas como não reagentes quando, na microscopia, visualizou-se ausência de fluorescência intracelular compatível com o formato padrão de riquetsias (formas coco - bacilares) e para as amostras reagentes quando visualizou-se presença de fluorescência intracelular compatível com o formato padrão de riquetsias (formas coco - bacilares) no interior da grande maioria das células e no espaço extracelular (FIGURA 2) e que apresentaram titulações iguais ou superiores a 1:64.

Os soros reativos na diluição 1:64, foram testados em diluições seriadas (64, 128, 256,...) para determinação do título final de reatividade.

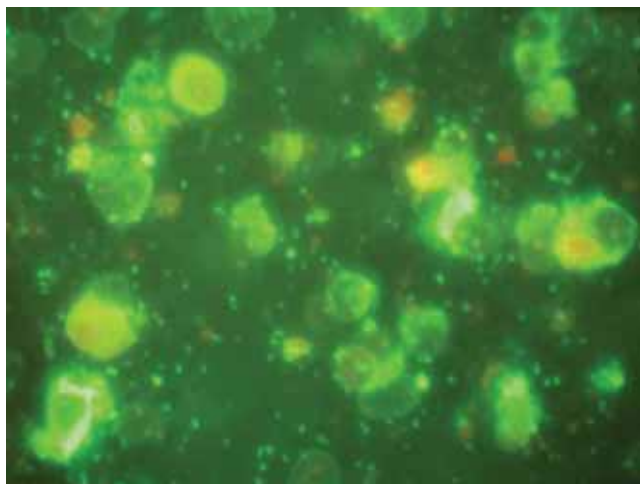


FIGURA 2 - Imagem da Microscopia Fluorescente de *Rickettsia rickettsii*.

Fonte: SÃO PAULO (Estado). Secretaria Municipal de Saúde. Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo. Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores.

4 - RESULTADOS

A representação dos resultados dos testes sorológicos realizados no presente estudo está demonstrada na TABELA 3.

TABELA 3 – Resultado da reatividade sorológica para a FMB no sangue de cães amostrados na área territorial urbana de Botucatu - SP, 2009.

RESULTADO	Nº DE CÃES	%
<i>Reagente</i>	6	0,94
<i>Não reagente</i>	634	99,06
<i>Total</i>	640	100

Foi possível observar que dos 640 cães amostrados, 6 (0,94%) foram positivas à RIFI, apresentando título igual ou superior a 1:64.

Na TABELA 4 como na FIGURA 3, encontram-se as respectivas localizações dos postos de vacinação, as amostras reagentes e a distribuição dos resultados do teste de imunofluorescência indireta. Das regiões pesquisadas, verificou-se que no setor Leste, onde está situado o bairro Jardim Cristina, as duas amostras positivas à RIFI apresentaram títulos

de 1:128 e 1:256, no setor Central onde está localizado a vila São Luís, as duas amostras apresentaram títulos de 1:64 e 1:128 e no setor Oeste, onde se encontra o Parque Marajoara, as duas amostras apresentaram títulos de 1:64 e 1:128.

TABELA 4 – Distribuição dos resultados do teste da imunofluorescência indireta para FMB em 640 cães, nos 5 postos de colheita de amostras, na área territorial urbana de Botucatu – SP, 2009.

Posto	Reagente	Não Reagente	Total Amostras	% Reagentes
Jardim Continental	—	90	90	0
Vila São Luís	2	105	107	1,87
Jardim Cristina	2	159	161	1,24
Parque Marajoara	2	149	151	1,32
COHAB I	—	131	131	0

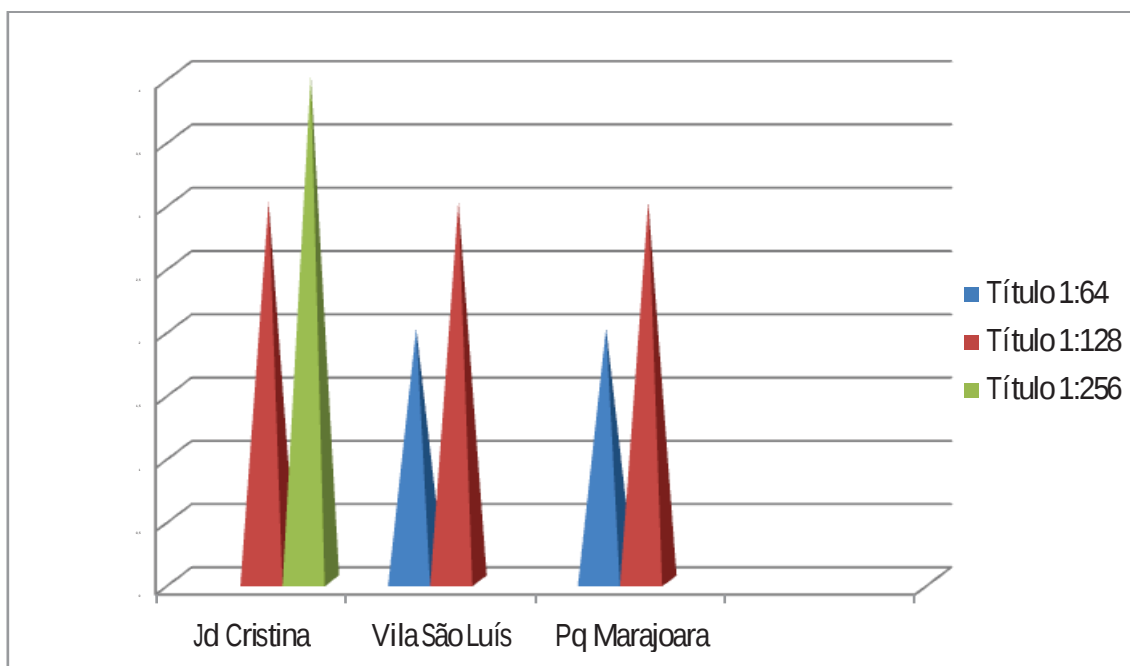


FIGURA 3 - Variação dos títulos sorológicos reagentes para FMB e suas respectivas localizações no município de Botucatu, 2009.

A FIGURA 4 expressa às três regiões setoriais do Município onde foram observadas as amostras reagentes à RIFI, a saber: região Central (Vila São Luiz), região Leste (Jardim Cristina) e região Oeste (Parque Marajoara).



FIGURA 4 - Distribuição representativa da ocorrência dos cães reagentes à RIFI, para a FMB na área territorial urbana de Botucatu, 2009.

Considerando-se uma população canina com densidade homogênea nas regiões distribuídas pelo Município, foram amostrados 640 cães e dentre eles encontrou-se seis casos suspeitos de FMB. Portanto, a proporção de ocorrências de cães suspeitos é igual a:

$$p = \frac{\text{número de cães suspeitos}}{\text{número de cães amostrados}}$$

$$p = \frac{6}{640} \rightarrow p = 0,0093 \quad \text{ou} \quad 9,3 \%$$

$$\text{Intervalo de Confiança de 95\%} = p \pm (1,96) * \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

$$IC(\pi) = 0,00938 \pm 1,96 * \sqrt{\frac{0,00938(1-0,00938)}{640}}$$

$$IC(\pi) = 0,00938 \pm 1,96 * 0,0038$$

$$IC(\pi) = 0,00938 \pm 0,007448$$

$$IC(\pi) = 0,001932 \text{ —|— } 0,016828 \quad \text{ou} \quad 0,001932 \leq \pi \leq 0,016828$$

$$IC(\pi) = 1,93 \% \text{ —|— } 16,83 \% \quad \text{ou} \quad 1,93 \% \leq \pi \leq 16,83 \%$$

Com base nos resultados das amostras reagentes para FMB, calculou-se a proporção de ocorrência de animais suspeitos, que foi de 0,0093, ou seja 9,3‰ (por mil). Estabeleceu-se em seguida um intervalo de confiança (IC) de 95% e obteve-se a proporção mínima de 1,93‰ e a proporção máxima de 16,85‰ de animais suspeitos para a FMB na área urbana do Município.

Estima-se que os casos suspeitos, com nível de 95% de confiança, situam-se entre 1,93‰ e 16,83‰. Portanto, considerando-se que a população vacinada é da ordem de 19.022 cães, espera-se, na confiança estabelecida, um mínimo de 37 cães e um máximo de 321 cães suspeitos. Em seguida calculou-se a distribuição destes, segundo o setor pesquisado, levando-se em consideração o número de amostras por setor. Os resultados destes cálculos estão expressos na FIGURA 5.

Se a população canina total (29.788) apresentar características semelhantes à vacinada, estima-se para esta população um número mínimo de 58 cães suspeitos e um máximo de 502 cães suspeitos (FIGURA 6).

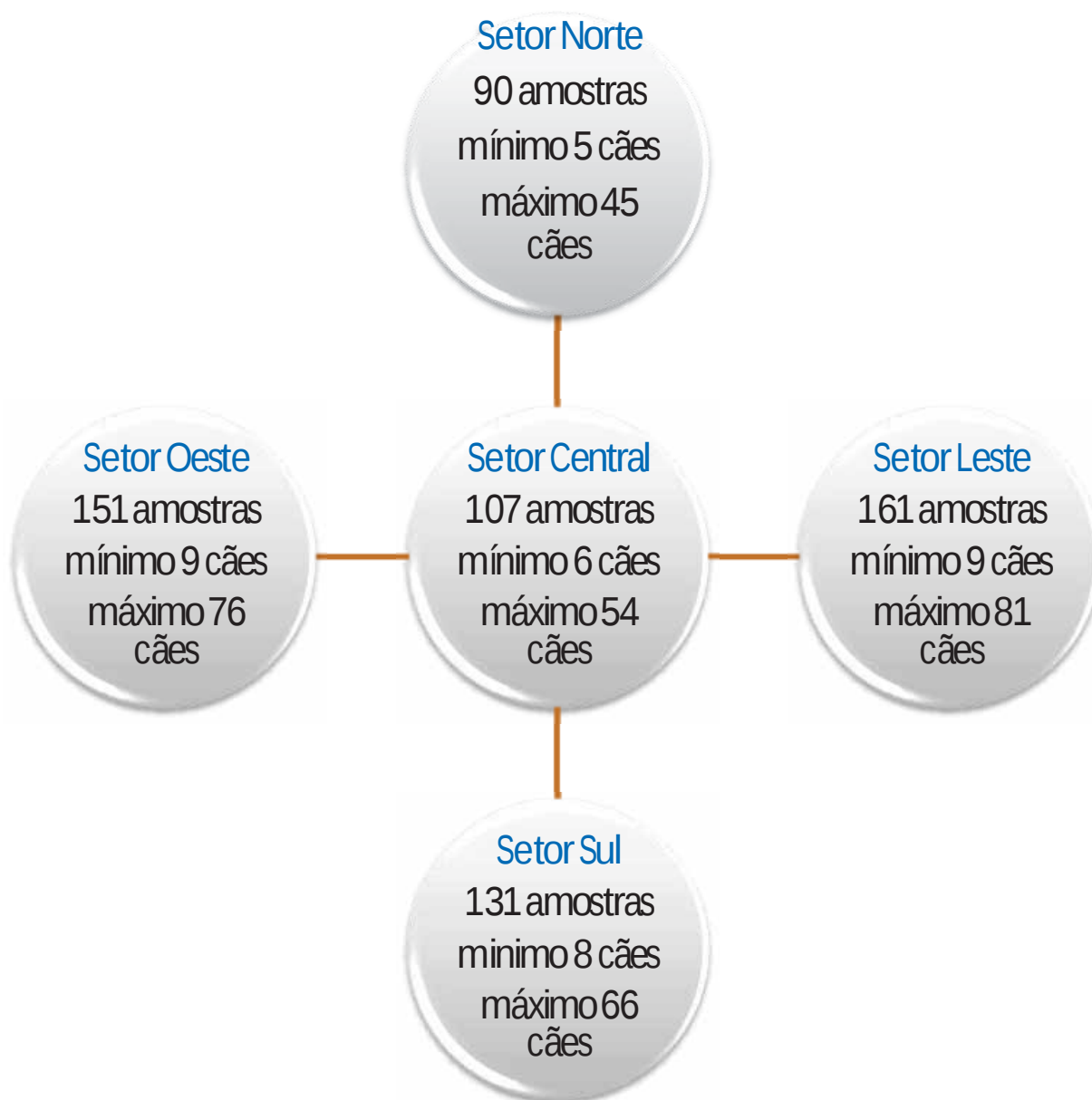


FIGURA 5 – Estimativa da proporção mínima e máxima de cães suspeitos para a FMB distribuídos geograficamente pelo município de Botucatu.

Observa-se, portanto que para os animais da população alvo, no setor Norte, onde se obteve 90 amostras, a proporção de cães suspeitos esperados para a FMB seria de no mínimo 5 cães e no máximo 45 cães, no setor Sul, onde se obteve 131 amostras, a proporção de suspeitos esperados seria de no mínimo 8 cães e no máximo 66 cães, no setor Leste, onde se obteve 161 amostras poderia se esperar no mínimo 9 cães e no máximo 81 cães, no setor

Oeste, onde se obteve 151 amostras seria de no mínimo 9 cães e no máximo 76 cães e no setor Central com 107 amostras seria de no mínimo 6 cães e máximo 54 cães.

Ainda com base nas proporções mínimas e máximas para o Município, foi possível calcular o número mínimo e máximo esperado de cães suspeitos para a FMB na população total estimada de cães no município de Botucatu, que no ano da presente pesquisa, era de 29.788 cães. Os resultados dos cálculos revelaram que na população total dos cães de Botucatu, poderia se esperar no mínimo de 57 e no máximo de 502 cães suspeitos para FMB. Estes resultados estão expressos na Figura 6.



FIGURA 6 - Representação da estimativa de ocorrência mínima e máxima dos animais suspeitos para FMB da população canina do Município, no ano de 2009.

5 – DISCUSSÃO

Cães são considerados animais sentinela para FMB segundo LEMOS (1996), atuando também como amplificadores da população de carrapatos, e por viverem muito próximos do homem, têm grande importância na epidemiologia da doença (TIRIBA, 1972).

Em uma região onde não se tem notificação da ocorrência da FMB no homem ou em outras espécies animais, considerada, portanto como área não endêmica, não é possível afirmar com esta metodologia de diagnóstico empregada no presente trabalho, que animais positivos apresentavam a doença, pois há possibilidade de reações cruzadas especialmente com a doença meningocócica (ANGERAMI, 2006) e em épocas de chuvas com a leptospirose, pois o quadro clínico inicial das duas doenças é muito parecido (DEBERALDINI et al., 1996), ou ainda reação cruzada com outras riquetsioses (HORTA, 2002).

Entretanto, em área considerada endêmica para a FMB onde então a bactéria está presente, as chances da sua disseminação e propagação são maiores do que em áreas não endêmicas. Portanto, estes resultados soro epidemiológicos precisam ser analisados considerando este fator relevante.

A maioria dos estudos sobre as riquetsioses em humanos e hospedeiros amplificadores, foram realizados em áreas endêmicas, onde a ocorrência de casos fatais se apresenta freqüente. A escolha do município de Botucatu foi oportuna, uma vez que o Estado de São Paulo apresenta elevada ocorrência de casos de FMB, com notificações registradas em quase todas as áreas do Estado (GALVÃO, 1988).

Diante dos resultados esperados de animais suspeitos dentre a população total de cães passíveis de amostrar foi possível observar que o número de cães suspeitos no presente estudo (6), estava abaixo dos valores esperados e isto pode estar relacionado ao fato de que o município de Botucatu não está localizado em região endêmica para FMB. Entretanto em uma região considerada não endêmica, isto pode ser um indício que a doença está presente sem que se manifeste clinicamente e sem que seja detectada, o que está de acordo com Horta (2002), que afirmou que, embora a RIFI não detecte especificamente infecção pela *Rickettsia rickettsii*, mas infecção por bactérias do grupo das riquetsioses, a bactéria pode estar circulando naturalmente na região não endêmicas, mas em equilíbrio, sem apresentar sintomas.

Segundo Cardoso et al. (2004), os autores utilizando a mesma metodologia de diagnóstico, no município de Caratinga (MG), não encontraram amostras de cães reagentes à RIFI. Enquanto que Horta et al. (2004), em área endêmica obtiveram 31,3% de cães reagentes, no município de Pedreira (SP).

Os dados do presente estudo foram contrários ainda, aos observados por Lemos et al., (1996a), quando pesquisaram anticorpos anti *Richettsia rickettsii* em cães em regiões não endêmicas com a mesma metodologia de diagnóstico, observando 12,9% de animais reagentes, enquanto que na presente pesquisa, observou-se 0,94% de cães reagentes ao teste sorológico.

Os estudos realizados para pesquisa de riquetsia do grupo febre maculosa em cães de área endêmica nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, e Espírito Santo apresentaram resultados discrepantes, variando entre 8% e 69,6% (LEMOS et al., 1994; LEMOS et al., 1996; PINTER et al., 2008).

Verificou-se também nesta pesquisa, que todos os cinco setores analisados apresentavam características físicas e ambientais favoráveis a multiplicação do vetor, constituídas por córregos, riachos, contendo arbustos e árvores nativas com relativa umidade no solo. Portanto com condições para manutenção de diversos animais participando do ciclo da doença, ou como hospedeiros primários ou acidentais. Aves domésticas e selvagens, mamíferos, roedores selvagens e até animais de sangue frio como ofídios podem albergar a riquetsia (NASCIMENTO; SCHUMAKER, 2004), principalmente gambás (*Didelphis sp*) por ser um animal comum em áreas urbanas e por ser um hospedeiro amplificador da bactéria (HORTA, 2006). Travassos e Vallejo (1942) desenvolveram um dos raros estudos sobre o papel das capivaras na manutenção da FMB, concluindo que estes animais podem apresentar um quadro riquetsêmico de pelo menos 10 dias, o que aumentaria a dificuldade em se encontrar um animal naturalmente infectado pela *R. rickettsii*. Contudo, o estudo da epidemiologia desta doença torna-se importante para o conhecimento dos focos naturais desta zoonose, estabelecendo assim, os fatores de riscos existentes em determinados ecossistemas, a circulação de agentes entre os animais domésticos e silvestres, a importância do diagnóstico, subsidiando as ações dos serviços de Saúde Pública no Município. As doenças transmitidas por carrapatos vêm sendo um importante problema de saúde pública no mundo. O interesse mundial pelas infecções humanas causadas pelo gênero *Rickettsia* é crescente devido a sua incidência e distribuição ser maior do que os estimados preliminarmente (GALVÃO et al.,

2003). Magnarelli et al., (1981), sugerem que para haver atividade riquetsial deve co existir uma correlação de positividade entre vetores, hospedeiros e reservatórios.

Pode-se observar diante dos resultados obtidos na presente pesquisa, que as três regiões que apresentaram amostras reagentes à RIFI são áreas geograficamente dispersas pelo Município, fato que pode estar relacionado a existência de condições favoráveis para a manutenção dos vetores e reservatórios em todo o Município, o que poderia favorecer a instalação de um possível surto epidêmico da doença. Diferente seria se as amostras reagentes estivessem concentradas em um único setor da cidade, o que indicaria o foco da doença restrito, valendo então ações de investigação e controle da doença por parte das equipes de Saúde só no local.

No caso de áreas onde a transmissão não pode ser definida é recomendado então trabalho de orientação por parte dos profissionais das Secretarias Municipais de Saúde concentrado nos grupos de risco específicos, como Médicos Veterinários, carroceiros, produtores rurais, tratadores de animais. Além das medidas preventivas, não pode ser negligenciado o fato de que quanto maior a população de carrapatos, maior o risco de se contrair a doença (VIEIRA et al., 2004).

6- CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir:

- Que os cães reagentes para a FMB estão difusos pela área territorial urbana do município de Botucatu.
- A variação dos resultados sorológicos indica que pode haver possibilidade da *Rickettsia rickettsii*, estar ativa no Município.
- Para a população canina de aproximadamente 30.000 cães, são estimados um mínimo de 58 e um máximo de 502 cães suspeitos para a FMB no Município.

7- REFERÊNCIAS¹

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3. ed. Washington: PAHO, 2003.

ANGERAMI, R. N. Clínica e epidemiologia das riquetsioses humanas no estado de São Paulo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 14. E SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE RIQUETSIOSES, 2., 2006, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: CBPV, 2006. p. 15.

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia: VIII lista e chave para os representantes para a fauna ixodológica brasileira. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 59, p. 115-129, 1961.

AZAD, A. F.; BEARDT, C. B. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. **Emergent Infectious Disease**, Baltimore. v. 4, p. 179-186, 1998.

BACELLAR, F.C. **Rickettsias isoladas em Portugal**: Contribuição para identificação e classificação de estirpes. 1996. 326 f. Tese (Doutorado em Biologia) - Universidade de Évora, Évora, 1996.

BEATI, L.; RAOULT, D. Mediterranean spotted fever and other spotted fever group Rickettsiae. In: PALMER, S. R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D. I. H. **Zoonoses**. Oxford: University Press, 1998. p. 217-240.

BERNABEU-WITTEL, M.; SEGURA-PORTA, F. Enfermedades producidas por *rickettsias*. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, Sevilla, v. 23, n. 03, p. 163-172, 2005.

BRASIL. Portaria nº 1.943, de 18 de outubro de 2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. **Informe epidemiológico do SUS**, v. 10, n. 1, 2001. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-16732001000100007&lng=pt&nrm=iss>. Acesso em: 18 maio 2011.

BREITSCHWERDT, E. B. et al. Clinical, hematologic, and humoral immune response in female dogs inoculated with *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia montana*. **American Journal Veterinary Research**, Raleigh, v.49, n.1, 1988.

BREITSCHWERDT, E. B. et al. Efficacy of Doxycycline, azithromycin, or trovafloxacin for treatment of experimental rocky mountain spotted fever in dogs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Raleigh, v. 43, n. 4, p. 813-821, 1999.

BURGDORFER, W. The Hemolymph test. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, n. 19, p. 1010-1014, 1970.

¹ ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação – Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

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

CARDOSO, L.D.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L. et al. Pesquisa de infecção por *Rickettsia* spp grupo da Febre Maculosa Brasileira na população animal do domicílio e peridomicílio do bairro da Cadeia, município de Caratinga, Minas Gerais. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.13, supl.1, p.358, 2004.

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

DAVIDSON, M. G. et al. Vascular permeability and coagulation during *Rickettsia rickettsii* infection in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Raleigh, v. 51, n. 1, p. 165-170, 1990.

DEBERALDINI, E. R. et al. **Febre Maculosa**: manual de orientação para vigilância epidemiológica. Campinas: [s. n.], 1996.

ESTRADA, D. A. et al. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 39, p. 68- 71, 2006.

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

GALVÃO, M. A. M. et al. Rickettsiosis of Genus *Rickettsia* in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 990, p. 57-61, 2003.

GREENE, C. E.; BREITSCHWERDT, E. B. Rocky mountain spotted fever, Murine Typhuslike disease, Rickettsialpox, Typhus, and Q Fever. In: **INFECTIOUS diseases of the dog and the cat**. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 2006.

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, p. 841-845, 2005.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATESTI, D. M. **Ectoparasitos de Importância Médico Veterinária**. São Paulo: FAPESP, 2001.

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

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

HORTA, M. C. **Pesquisa de infecção por riquetsia do grupo da febre maculosa em humanos, equídeos, caninos e em diferentes estádios de vida de *Amblyomma cajennense*, proveniente de uma área endêmica do estado de São Paulo**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

HORTA, M. C. 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: Serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group Rickettsia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Mclean, v. 71, p.93-97, 2004.

HORTA, M. C. Gambás e a febre maculosa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, XIV; SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE RICKETTSIOSES, II, 2006, São Paulo. **Anais...** São Paulo: [s. n.], 2006. p.156-157.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Censo demográfico 2010**. Brasília, 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/tabelas_pdf/sao_paulo.pdf>. Acesso em: 02 agosto 2011.

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

LABRUNA, M. B. Carta Acarológica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Ouro Preto, v. 23, p. 199-202, 2004.

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

LABRUNA, M. B. Epidemiologia da febre maculosa no Brasil e nas Américas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 1., 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIBAC, 2006. p. 63-72.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R. Rocky Mountain Spotted Fever in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 4, p. 497-501, 1994.

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

LEMOS, E. R. S.; MELLES, H. H. B.; COLOMBO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARAES, M. A. A.; SANSEVERINO, S. R.; A. Primary isolation of spotted fever group Rickettsiae from *Amblyomma cooperi* collected from *Hidrochaeris hidrochaeris* in Brazil. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 3 p. 273-275, 1996a.

LEMOS, E. R. et al. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of São Paulo. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Deerfield, v.65, n.4, p.329-334, 2001.

LABRUNA, M. B. Epidemiologia da febre maculosa no Brasil e nas Américas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 1., 2006, Viçosa. **Anais...** Viçosa: SIBAC, 2006. p. 63-72.

LISSMAN, B. A.; BENACH, J. L. Rocky Mountain Spotted Fever in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New Jersey, v.176, n.15, 1980.

MAGNARELLI, L.A.; ANDERSON, J.F.; PHILIP, R.N. et al. Endemicity of spotted fever group rickettsiae in Connecticut. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.30, p.239-52, 1981.

MODOLO, JR.; CAPPELLETE, CP. Relatório da FMVZ sobre a 41ª Campanha de Vacinação Antirrábica de Botucatu – 2009, realizada em parceria entre FMVZ e a Prefeitura Municipal. Botucatu: FMVZ, 2009. 12p. (Relatório).

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

MURRAY, P. R. et al. **Medical Microbiology**. 3.ed. St Louis: Mosby, 1998.

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

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

NORMAN, G.R.; STREINER, D.L. **Biostatistics: the bare essentials**. 3 ed. St. Louis: Mosby Year Book, 2008. 393p.

PRATA, M. C. A. Carrapato estrela: problemas e soluções para animais e humanos. In: FURLONG, J. **Carrapato: problemas e soluções**. Juiz de Fora: Embrapa, 2005. p. 51-65.

PEREIRA, M.; LABRUNA, M.B. Febre maculosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, n.12, p. 19-23, 1998.

PINTER, A., HORTA, M. C.; PACHECO, R. C.; FILHO, J. M.; LABRUNA, M. B. Serosurvey of Rickettsia spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the state of Sao Paulo, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 24, n.2, p. 247-252, 2008.

RAOULT, D.; PAROLA, P.; PADDOCK, C. D. Tick-Bourne Rickettsioses around the World: emerging diseases challenging old concepts. **The American Society for Microbiology**, Washington, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.

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

SÃO PAULO (Estado). Secretaria Municipal de Saúde. Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo. Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por Vetores. **Estimativa da**

Febre Maculosa em cães para a vigilância e monitoramento da antropozoonose no município de Botucatu, no Estado de São Paulo. São Paulo, 2011.

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

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

SPICKETT, A. M. et al Drag-sampling of free-living Ixodid Ticks in the Kruger National Park. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 58, p. 27-32, 1991.

TIRIBA, A. C. Geografia médica das riquetsioses. In: LACAZ, C. S.; BURUZZI, R. G.; SIQUEIRA, J. R. **Introdução a geografia médica do Brasil.** São Paulo: Edgard Blucher, 1972.

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

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia.** São Paulo: Atheneu, 1996.

VIEIRA, A. M. L. et al. **Manual de vigilância acarológica.** São Paulo: SUCEN, 2004.

VRANJAC, A. Varicela, difteria e febre maculosa: aspectos epidemiológicos no Estado de São Paulo. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 6, n. 37, p. 817-820, 2003.

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

WARNER, R. D.; MARSH, W. W. Rocky Mountain spotted fever. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, New Jersey, v.15, p. 448-449, 2002.

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

WELLER, S. J. et al. Phylogenetic placement of Rickettsiae from ticks *Amblyomma americanum* and *Ixodes scapularis*. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, n. 5, p. 1305-1317, 1998.

8- ARTIGO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para a Revista.

NORMAS “VETERINÁRIA E ZOOTECNIA”

ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E MONITORAMENTO DA ANTROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU, NO ESTADO DE SÃO PAULO.

Luís Henrique Lozano Joannitti¹
 José Rafael Modolo²
 Cassiano Victória³
 Carlos Roberto Padovani⁴
 Sandra Regina Nicoletti D'auria⁵
 Maria Cecília G. de O. Camargo⁶

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é causada por bactérias do gênero *Rickettsia* e é uma zoonose de grande importância em Saúde Pública. Transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma sp.*, é uma riquetsiose de ocorrência reconhecida no país. Casos humanos têm sido descritos desde a década de 20, principalmente na região sudeste do país. Sua ocorrência

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública(DHVSP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia(FMVZ), Universidade Estadual Paulista(UNESP), Botucatu, SP, Brasil. Distrito de Rubião Junior, s/n. 18618-000 Botucatu, SP, Brasil. Email: ljoannitti@terra.com.br (L.H.L.Joannitti)

² Prof. Titular Dr. do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da FMVZ - UNESP - Botucatu, SP, Brasil

³ Prof. Ass. Dr. do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, da FMVZ - UNESP - Botucatu, SP, Brasil

⁴ Prof. Titular Dr. do Departamento de Bioestatística, da UNESP - Botucatu, SP, Brasil

⁵ Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por vetores do centro de Controle de Zoonoses de São Paulo, SP, Brasil. Setor Sorologia

⁶ Laboratório de Zoonoses e Doenças Transmitidas por vetores do centro de Controle de Zoonoses de São Paulo, SP, Brasil. Setor Sorologia

Joannitti LHL, Modolo JR, Victória C, Padovani CR, D'auria SRN, Camargo MCGO. Estimativa da febre maculosa em cães para a vigilância e monitoramento da antropozoonose no município de Botucatu, no Estado de São Paulo. Vet. E Zootec.

vem aumentando progressivamente nos últimos anos e já abrange grande parte do território nacional. Entretanto há pouca informação sobre a epidemiologia da doença em áreas não endêmicas, o que pode ser explicado por falhas no diagnóstico e subnotificação. Com letalidade de até 80% em casos não tratados, a doença é considerada um desafio do ponto de vista clínico, pois exige precocidade no diagnóstico e tratamento adequado. A doença passou a ser de notificação compulsória no estado de São Paulo a partir de 2002. De 2003 a 2008 foram confirmados 240 casos de FMB em seres humanos em território paulista, com 71 óbitos e letalidade que variou de 21,9% a 40,0%. Com o objetivo de iniciar estudos da vigilância da FMB no município de Botucatu, Estado de São Paulo, considerada área não endêmica, foram colhidas amostras de sangue de cães que vieram para campanha anual de vacinação antirábica no ano de 2009, através de adesão voluntária dos proprietários. As amostras de um total de 640 cães foram encaminhadas ao Centro de Controle de Zoonoses no município de São Paulo (CCZ/SP) e processadas pela técnica de reação de imunofluorescência indireta, que é considerada padrão para diagnóstico sorológico da FMB. Dentre as amostras analisadas, seis apresentaram reagentes para a FMB frente à técnica realizada, resultado este, que contribuirá de forma a consubstanciar informações junto aos órgãos de saúde do município, servindo para futuras estratégias de controle e prevenção desta enfermidade.

Palavras-chave: Febre Maculosa Brasileira. *Rickettsia*. Cão.

ESTIMATION OF SPOTTED FEVER IN DOGS FOR THE SURVEILLANCE AND MONITORING ANTHROPOZOONOSIS IN THE CITY OF BOTUCATU, STATE OF SAO PAULO.

ABSTRACT

Brazilian spotted fever (BSF) is caused by bacteria of the genus *Rickettsia* and is a zoonosis of great importance in public health. Transmitted by *Amblyomma* sp., is a recognized rickettsial disease occurring in the country. Human cases have been described since the '20s, especially in the southeast of the country. Its occurrence has been increasing steadily in recent

years and now covers much of the country. However there is little information on the epidemiology of the disease in non-endemic areas, which can be explained by failures in diagnosis and underreporting. With a fatality rate of up to 80% in untreated cases, the disease is considered a challenge from a clinical standpoint, it requires early diagnosis and appropriate treatment. The disease became notifiable in the state of São Paulo from 2002. From 2003 to 2008 were 240 confirmed cases of BSF in humans in the state territory, with 71 deaths and mortality rates ranged from 21.9% to 40.0%. In order to initiate studies of BSF surveillance in Botucatu, São Paulo, considered non-endemic area, blood samples were collected from dogs that came to the annual campaign rabies vaccination in 2009, through the voluntary owners. Samples from a total of 640 dogs were sent to the Zoonosis Control Center in São Paulo (CCZ / SP) and processed by the technique of indirect immunofluorescence, which is considered standard for serological diagnosis of BSF. Among the samples analyzed, six-reactive to the front of the BSF technique performed, a result which will help to substantiate the information from health agencies in the city, serving for future strategies for control and prevention of this disease.

Keywords: Brazilian spotted fever. *Rickettsia*. Dog.

RESUMEN

ESTIMACIÓN DE LA FIEBRE MANCHADA EN LOS PERROS PARA LA VIGILANCIA Y EL CONTROL ANTIPOZOONOSIS EN LA CIUDAD DE BOTUCATU, ESTADO DE SAO PAULO.

Brasil la fiebre manchada (BSF) es causada por bacterias del género *Rickettsia* y es una zoonosis de gran importancia en la salud pública. Transmitida por garrapatas del género *Amblyomma*, Es una enfermedad reconocida por rickettsias ocurren en el país. Los casos humanos se han descrito desde los años 20, especialmente en el sureste del país. Su presencia ha ido aumentando constantemente en los últimos años y ahora cubre gran parte del país. Sin embargo, existe poca información sobre la epidemiología de la enfermedad en áreas no endémicas, lo cual puede explicarse por fallas en el diagnóstico y de información. Con una tasa de mortalidad de hasta un 80% de los casos no tratados, la enfermedad se considera un desafío desde el punto de vista clínico, se requiere un diagnóstico temprano y tratamiento adecuado. La enfermedad se convirtió en obligatoria en el estado de São Paulo de 2002. De

2003 a 2008 fueron 240 los casos confirmados de la Federación en los seres humanos en el territorio estatal, con 71 defunciones y las tasas de mortalidad variaron del 21,9% al 40,0%. Con el fin de iniciar los estudios de BSF vigilancia en Botucatu, São Paulo, considerada no endémica zona, tomaron muestras de sangre de los perros que llegaron a la campaña de vacunación antirrábica anual de 2009, a través de los voluntarios propietarios. Las muestras de un total de 640 perros fueron enviados al Centro de Control de Zoonosis, en São Paulo (CCZ / SP) y procesadas por la técnica de inmunofluorescencia indirecta, que se considera estándar para el diagnóstico serológico de BSF. Entre las muestras analizadas, seis-reactiva en la parte delantera de la técnica de FMB a cabo, un resultado que le ayudará a corroborar la información de las agencias de salud en la ciudad, que sirve para futuras estrategias de control y prevención de esta enfermedad.

Palabras clave: fiebre manchada de Brasil. *Rickettsia*. Perros

INTRODUÇÃO

O principal agente causador da Febre Maculosa Brasileira é a bactéria denominada *Rickettsia rickettsii*. Trata-se de uma bactéria intracelular obrigatória da Ordem Rickettsiales, Família Rickettsiaceae. A bactéria gram negativa é encontrada em células intestinais, glândulas salivares e ovários de artrópodes, necessitando de células eucariontes de hospedeiros e ou vetores artrópodes para se multiplicarem (1-2).

Diversos animais auxiliam na manutenção do ciclo da doença, participando como hospedeiros primários ou acidentais. Aves domésticas e selvagens, mamíferos, roedores selvagens e até animais de sangue frio como ofídios podem albergar algumas das riquetsias (3).

A transmissão da FMB ocorre através da salivação do carrapato infectado no momento do repasto sanguíneo. Isto ocorre em um período de 4 a 6 horas após se fixar no hospedeiro, quando o artrópode regurgita o conteúdo com a bactéria, que penetra no hospedeiro através do sítio de fixação. Outra maneira é através da contaminação na pele do hospedeiro pelo esmagamento do carrapato, que pode ocorrer, caso o vetor seja retirado erroneamente (4).

Equinos e cães são considerados animais sentinela para FMB (5), atuando também como amplificadores da população de carrapatos, e por viverem muito próximos do homem, tem grande importância na epidemiologia da doença (6).

No cão, os sinais clínicos são febre, anorexia, cefaléias, letargia, náuseas, deficiência vestibular com nistagmo e incoordenação motora. As seqüelas pós ricketsemia podem incluir lesões neurológicas e visuais e amputação de extremidades, entre outras consideradas menos freqüentes (7). Existe uma subnotificação dos casos de febre maculosa em razão do seu diagnóstico clínico, pois pode ser confundida com outras doenças, como doença meningocócica (8), e em épocas de chuvas com a leptospirose, pois o quadro clínico inicial das duas doenças é muito parecido (9).

A confirmação laboratorial pode ser feita através da pesquisa de anticorpos específicos, presentes alguns dias após o aparecimento da doença, através do isolamento do agente em amostras de sangue ou biópsia de pele e por amostras de carrapatos coletados no paciente (10).

¹ A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é a prova recomendada pela OMS como inquérito padrão a ser utilizado no diagnóstico das rickettsioses. (11), contudo, a amostra somente será considerada reagente à RIFI, quando apresentar título maior ou igual a 1:64 (12). É uma metodologia simples, econômica e com uma sensibilidade acima de 90% (3).

A medida preventiva mais eficaz para Febre Maculosa Brasileira é o controle da população de carrapatos a níveis mínimos (4).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no município de Botucatu/SP, Brasil, onde foram colhidas as amostras de sangue dos cães durante a 41ª campanha de vacinação anual contra a Raiva de cães e gatos no ano de 2009.

As amostras foram colhidas de maneira que houvesse representação proporcional de animais em cada uma das cinco regiões setoriais do Município (figura I), não levando em consideração sexo, raça ou idade dos cães. Para isto foram escolhidos os postos de vacinação na região Norte (Jardim Continental), região Sul (COHAB I), região Leste (Jardim Cristina), região Oeste (Parque Marajoara) e região Central (Vila São Luiz).

Para a construção do intervalo de confiança para a proporção de casos suspeitos, utilizou-se o procedimento de estimação por intervalo que consiste em estabelecer limites simétricos em relação ao centro (dado pela estimativa pontual da proporção) com afastamentos proporcionais (nível de confiança adotado, no caso, 95%) ao erro padrão do estimador. Desta maneira, os limites no presente estudo ficaram definidos por:

$$\text{Intervalo de Confiança de 95\%} = p \pm (1,96) * ep \quad \text{onde,}$$

p = proporção amostral

ep = erro padrão amostral da proporção

$$ep = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

A partir dos limites de 95% de confiança para a proporção de casos suspeitos da FMB, foi determinado o número mínimo e máximo de cães suspeitos na população vacinada; em seguida, esses valores foram distribuídos proporcionalmente às regiões correspondentes aos cinco pontos de amostragem.

Para melhor entendimento do cálculo, procedeu-se da seguinte maneira: o total de casos suspeitos mínimos (ou máximos) corresponde aos 100% enquanto o total da região à x .

O número de cães da região é dado (arredondamento para valor inteiro) por

$$n_R = \frac{P_{\text{Região}}(\%) * N^{\circ} \text{mínimo}}{100} \quad (\text{cães}).$$

Procedimento similar realizou-se substituindo o número mínimo pelo número máximo.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na tabela I como na figura II, estão distribuídos os resultados com as respectivas localizações dos postos de vacinações. Das regiões pesquisadas, verificou-se que no setor Leste, onde está situado o bairro Jardim Cristina, as duas amostras positivas à RIFI

apresentaram títulos de 1:128 e 1:256, no setor Central onde está localizado a vila São Luís, as duas amostras apresentaram títulos de 1:64 e 1:128 e no setor Oeste, onde se encontra o Parque Marajoara, as duas amostras apresentaram títulos de 1:64 e 1:128.

Considerando-se uma população canina com densidade homogênea nas regiões distribuídas pelo Município, foram amostrados 640 cães e dentre eles encontrou-se seis casos suspeitos de FMB. Portanto, a proporção de ocorrências de cães suspeitos é igual a:

$$p = \frac{\text{número de cães suspeitos}}{\text{número de cães amostrados}}$$

$$\text{número de cães amostrados}$$

$$p = \frac{6}{640} \rightarrow p = 0,0093 \quad \text{ou} \quad 9,3 \text{‰}$$

$$\text{Intervalo de Confiança de 95\%} = p \pm (1,96) * \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

$$IC(\pi) = 0,00938 \pm 1,96 * \sqrt{\frac{0,00938(1-0,00938)}{640}}$$

$$IC(\pi) = 0,00938 \pm 1,96 * 0,0038$$

$$IC(\pi) = 0,00938 \pm 0,007448$$

$$IC(\pi) = 0,001932 \text{ — } 0,016828 \quad \text{ou} \quad 0,001932 \leq \pi \leq 0,016828$$

$$IC(\pi) = 1,93 \text{‰} \text{ — } 16,83 \text{‰} \quad \text{ou} \quad 1,93 \text{‰} \leq \pi \leq 16,83 \text{‰}$$

Com base nos resultados das amostras reagentes para FMB, calculou-se a proporção de ocorrência de animais suspeitos, que foi de 0,0093, ou seja 9,3‰(por mil). Estabeleceu-se em seguida um intervalo de confiança (IC) de 95% e obteve-se a proporção mínima de 1,93‰ e a proporção máxima de 16,85‰ de animais suspeitos para a FMB na área urbana do Município.

Com base nas proporções mínimas e máximas para o Município e levando-se em consideração o total de 19.022 cães vacinados na campanha de vacinação, foi possível calcular o mínimo e o máximo esperados de animais suspeitos para a FMB dentre os animais vacinados, que foi de 37 e 321 cães respectivamente. Em seguida calculou-se a distribuição destes, segundo o setor pesquisado, levando-se em consideração o número de amostras por setor.

Os resultados revelaram que, para os animais vacinados, no Setor Norte, onde se obteve 90 amostras, a proporção de cães suspeitos esperados para a Febre Maculosa é de no mínimo

5 cães e no máximo 45 cães, no Setor Sul, onde se obteve 131 amostras, a proporção de suspeitos esperados é de no mínimo 8 cães e no máximo 66 cães, no Setor Leste, onde se obteve 161 amostras é de no mínimo 9 cães e no máximo 81 cães, no Setor Oeste, onde se obteve 151 amostras esperava-se no mínimo 9 cães e no máximo 76 cães e no Setor Central com 107 amostras esperava-se no mínimo 6 cães e máximo 54 cães (figura III).

Seguindo o mesmo raciocínio dos cães vacinados e usando mesmo procedimento dos cálculos estatísticos, foi analisada a população canina do Município em 2009 (29788) e observa-se um mínimo e um máximo esperado de 57 e 502 cães suspeitos respectivamente (figura IV).

Cães são considerados animais sentinela para FMB segundo LEMOS (1996) (5), atuando também como amplificadores da população de carrapatos, e por viverem muito próximos do homem, têm grande importância na epidemiologia da doença (6).

No presente estudo, observaram-se seis amostras reagentes à RIFI. Entretanto em uma região considerada não endêmica, isto pode ser um indício que a doença está presente sem que se manifeste clinicamente e sem que seja detectada, o que está de acordo com Horta (2002) (14), que afirmou que embora a RIFI não detecte especificamente infecção pela *Rickettsia rickettsii*, mas infecção por bactérias do grupo das riquetsioses, os dados encontrados na literatura sugerem que a riquetsia pode estar circulante naturalmente em regiões não endêmicas em equilíbrio, sem apresentar sintomas.

Segundo Cardoso et al. (2004) (15), utilizando a mesma metodologia de diagnóstico, no município de Caratinga (MG), não encontraram amostras de cães reagentes à RIFI. Enquanto que Horta et al. (2004) (14), obtiveram 31,3% de soro positividade em cães, no município de Pedreira (SP).

Os dados do presente estudo foram contrários ainda, aos observados por Lemos et al., (1996) (5), quando pesquisaram anticorpos anti *Richettsia rickettsii* em cães em regiões não endêmicas com a mesma metodologia observando positividade em 12,9% dos animais.

Os estudos realizados para pesquisa de riquetsia do grupo Febre Maculosa em cães de área endêmica nos estados de São Paulo, Minas Gerais, e Espírito Santo apresentaram resultados discrepantes, variando entre 8% e 69,6% (5-16).

Verificou-se através da análise estatística, que o resultado sorológico da FMB aos cães amostrados na área urbana de Botucatu neste projeto de pesquisa foi de 0,94%, diferente quando comparada a outro estudo (12,9%) obtido também em área não endêmica (16).

Verificou-se também nesta pesquisa, que todos os cinco setores analisados, apresentavam características físicas e ambientais favoráveis a multiplicação do vetor, constituídas por córregos, riachos, formados por arbustos e árvores nativas com relativa umidade no solo. Diversos animais auxiliam na manutenção do ciclo da doença, participando como hospedeiros primários ou acidentais. Aves domésticas e selvagens, mamíferos, roedores selvagens e até animais de sangue frio como ofídios podem albergar a riquetsia (3), principalmente gambás (*Didelphis sp*) por ser um animal comum em áreas urbanas e por ser um hospedeiro amplificador da bactéria (17). Travassos e Vallejo (1942) (18) desenvolveram um dos raros estudos sobre vertebrados em pesquisa brasileira. Os autores mostraram que as capivaras podem apresentar um quadro riquetsêmico de pelo menos 10 dias. Estes estudos mostram a dificuldade em se encontrar um animal naturalmente infectado pela *R. rickettsii*. Contudo, o estudo da epidemiologia desta doença, torna-se importante para o conhecimento dos focos naturais desta zoonose, estabelecendo assim, os fatores de riscos existentes em determinados ecossistemas, a circulação de agentes entre os animais domésticos e silvestres, a importância do diagnóstico, subsidiando as ações dos serviços de Saúde Pública no Município. As doenças transmitidas por carrapatos vêm sendo um importante problema de saúde pública no mundo. O interesse mundial pelas infecções humanas causadas pelo gênero *Rickettsia* é crescente devido ao fato de que a sua incidência e distribuição são maiores do que os estimados preliminarmente (19). Magnarelli et al., (1981) (20), sugerem que para haver atividade riquetsial deve co existir uma correlação de positividade entre vetores, hospedeiros e reservatórios.

Pode-se observar diante dos resultados obtidos nesta pesquisa, que as três regiões que apresentaram amostras reagentes à RIFI estavam dispersas nas áreas geograficamente distribuídas pelo Município, isto pode estar relacionado ao fato da existência de condições favoráveis para a manutenção dos vetores e reservatórios em todo o Município, o que favoreceria a instalação de um possível surto epidêmico da doença. Diferentemente do que se as amostras reagentes estivessem em um único setor na área urbana de Botucatu, o que

poderia indicar que o foco da doença estivesse restrito a uma região específica, sugerindo que alguns fatores estariam favorecendo a presença do agente naquela região, o que poderia contribuir para as ações de investigação e controle da doença por parte das equipes de Saúde.

No caso de áreas de transmissão não reconhecida é recomendado trabalho de orientação por parte das Secretarias Municipais de Saúde em grupos específicos de risco, como Médicos Veterinários, carroceiros, produtores rurais, tratadores de animais. Além das medidas preventivas, vale ressaltar que quanto maior a população de carrapatos, maior o risco de se contrair a doença (4).

CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir:

- Que os cães reagentes para a FMB estão difusos pela área territorial urbana do município de Botucatu.
- A variação dos resultados sorológicos indica que pode haver possibilidade da *Rickettsia rickettsii*, estar ativa no Município.
- Para a população canina de aproximadamente 30.000 cães, são estimados um mínimo de 58 e um máximo de 502 cães suspeitos para a FMB no Município.

REFERÊNCIAS

1-Acha, P. N.; Szyfres, B. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals. 3. ed. Washington: PAHO, 2003.

2- Raoul, D.; Parola, P.; Paddock, C. D. Tick-Borne Rickettsioses around the World: emerging diseases challenging old concepts. The American Society for Microbiology, Washington, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.

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

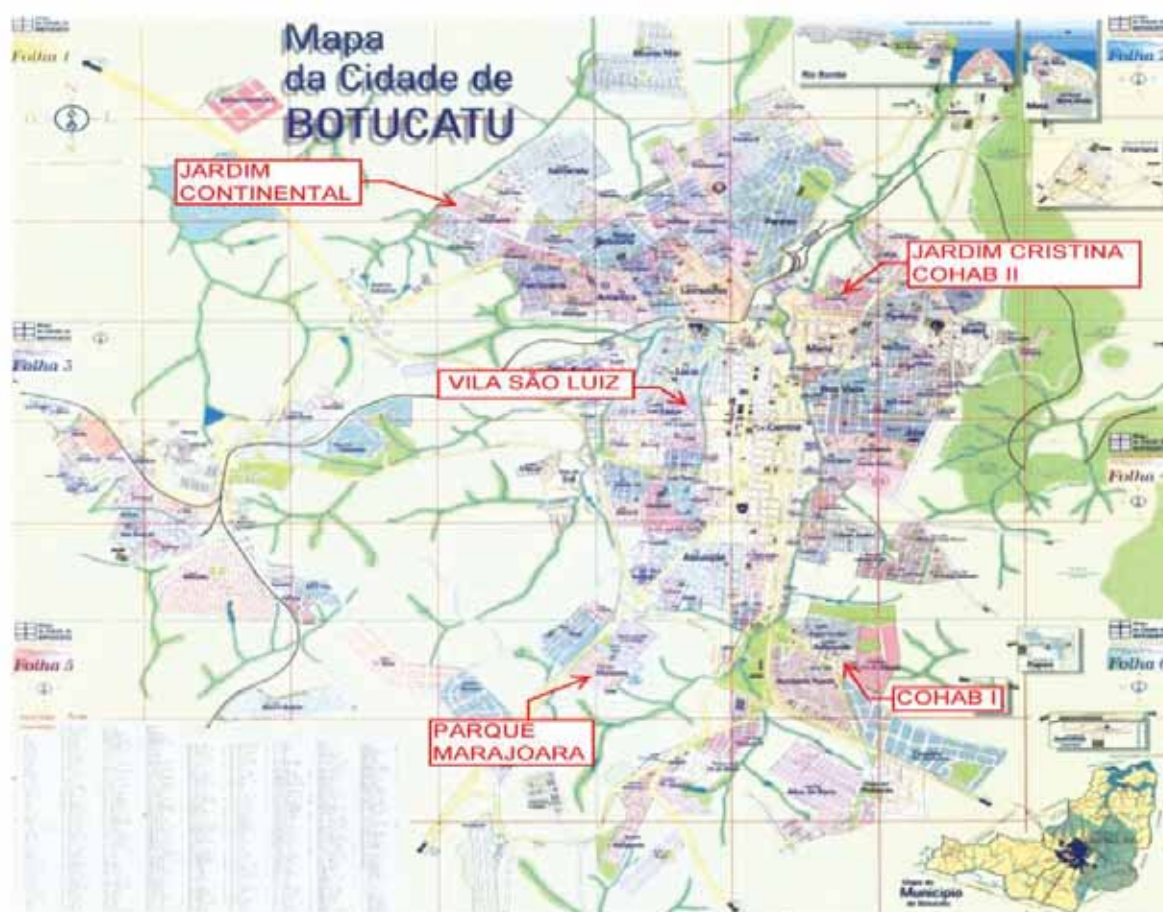
4- Vieira, A. M. L. et al. Manual de vigilância acarológica. São Paulo: SUCEN, 2004.

- 5- Lemos, E. R. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in Wild animals in the state of São Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 701-702, 1996.
- 6- Tiriba, A. C. Geografia médica das riquetsioses. In: Lacaz, C. S.; Buruzzi, R. G.; Siqueira, J. R. *Introdução a geografia médica do Brasil*. São Paulo: Edgard Blucher, 1972.
- 7- Breitschwerdt, E. B et al. Efficacy of Doxycycline, azithromycin, or trovafloxacin for treatment of experimental rocky mountain spotted fever in dogs. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Raleigh, v. 43, n. 4, p. 813-821, 1999.
- 8- Angerami, R. N. Clínica e epidemiologia das riquetsioses humanas no estado de São Paulo. In: Congresso brasileiro de parasitologia veterinária, 14. e simpósio latino americano de riquetsioses, 2., 2006, Ribeirão Preto. *Anais...* Ribeirão Preto: CBPV, 2006. p. 15.
- 9- Deberaldini, E. R. et al. Febre Maculosa: manual de orientação para vigilância epidemiológica. Campinas: [s. n.], 1996.
- 10- Sangioni, L. A. Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo febre maculosa em humanos, cães, eqüídeos e em adultos de *Amblyomma cajennense*, em região endêmica e não endêmica no estado de São Paulo: epidemiologia experimental aplicada à zoonoses [dissertação] São Paulo: Universidade de São Paulo, 2003. 86 f.
- 11- Calic, S. B. Sorologia das Riquetsioses. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, São Paulo, v. 13, p. 185-187, 2004.
- 12- Newhouse, V. F.; Shepard, C. C.; Redus, M. D.; Tzianabos, T.; Mcdade, J. E. A Comparison of the complement fixation, Indirect Fluorescent Antibody and Microagglutination tests for the serological diagnosis of rickettsial diseases. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Northbrook, v. 28, p. 387- 395, 1979.
- 13- Norman, G.R.; Streiner, D.L. *Biostatistics: the bare essentials*. 3 ed. St. Louis: Mosby Year Book, 2008. 393p.
- 14- Horta, M. C. 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: Serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group Rickettsia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Mclean, v. 71, p.93-97, 2004.
- 15- Cardoso, L.D.; Galvão, M.A.M.; Mafra, C.L. et al. Pesquisa de infecção por *Rickettsia* spp grupo da Febre Maculosa Brasileira na população animal do domicílio e peri-domicílio do bairro da Cadeia, município de Caratinga, Minas Gerais. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.13, supl.1, p.358, 2004.

- 16- Lemos, E. R. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in Wild animals in the state of São Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 91, n. 6, p. 701-702, 1996.
- 17- Horta, M. C. Gambás e a febre maculosa. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, XIV; Simpósio Latino Americano de Rickettsioses, II, 2006, São Paulo. *Anais...* São Paulo: [s. n.], 2006. p.156-157.
- 18- Travassos, J.; Valejo, A. Comportamento de alguns cavídeos (*Cavia aperea* e *Hydrochoerus capybara*) às inoculações experimentais da febre maculosa: possibilidade desses cavídeos representarem o papel de depositários transitórios da bactéria na natureza. *Memórias do Instituto Butantã*, São Paulo, n. 15, p. 73-86, 1942.
- 19- Galvão, M. A. M. et al. Rickettsiosis of Genus *Rickettsia* in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences*, New York, v. 990, p. 57-61, 2003.
- 20- Magnarelli, L.A.; Anderson, J.F.; Philip, R.N. et al. Endemicity of spotted fever group rickettsiae in Connecticut. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v.30, p.239-52, 1981.

**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANIROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

Figura I - Mapa da área territorial urbana de Botucatu – SP, indicando os cinco postos onde foram realizadas as colheitas das amostras para a pesquisa.



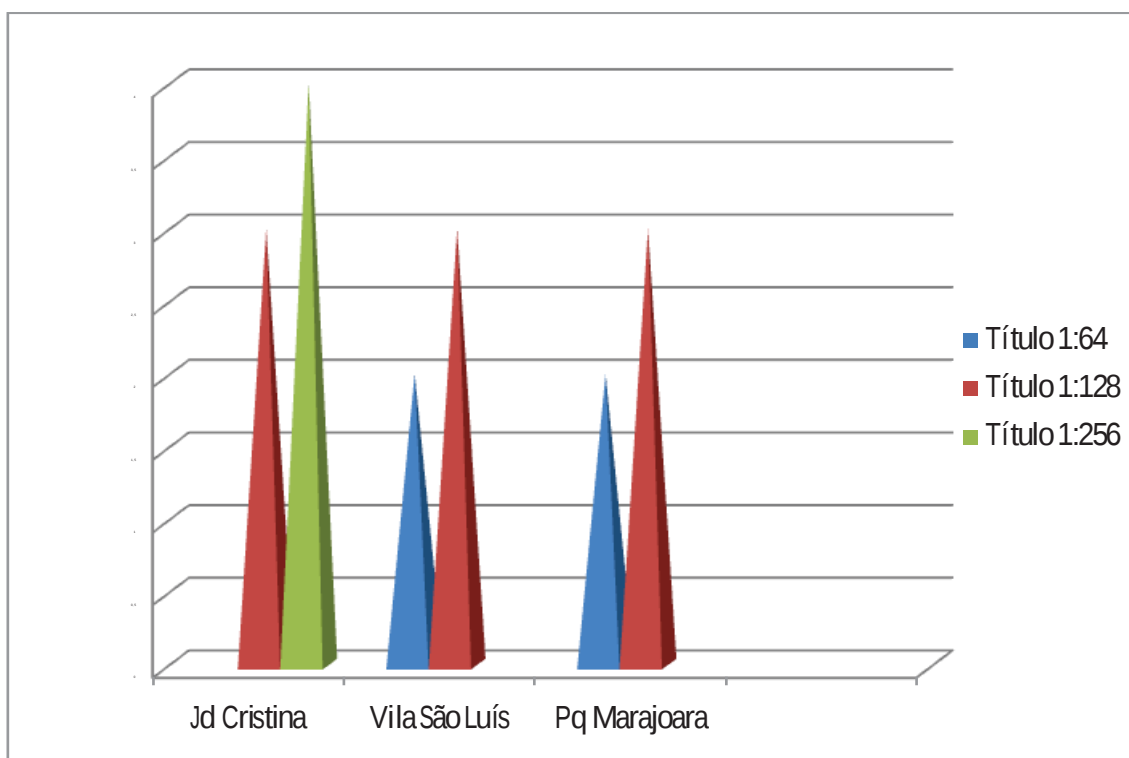
**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANIROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

Tabela I - Distribuição dos resultados do teste da imunofluorescência indireta para FMB em 640 cães, nos 5 postos de colheita de amostras, na área territorial urbana de Botucatu – SP, 2009.

Posto	Reagente	Não Reagente	Total Amostras	% Reagentes
Jardim Continental	—	90	90	0
Vila São Luís	2	105	107	0,0186
Jardim Cristina	2	159	161	0,0124
Parque Marajoara	2	149	151	0,0132
COHAB I	—	131	131	0

**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANTROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

Figura II - Variação dos títulos sorológicos reagentes para FMB e suas respectivas localizações no município de Botucatu, 2009.



**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANTIPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**

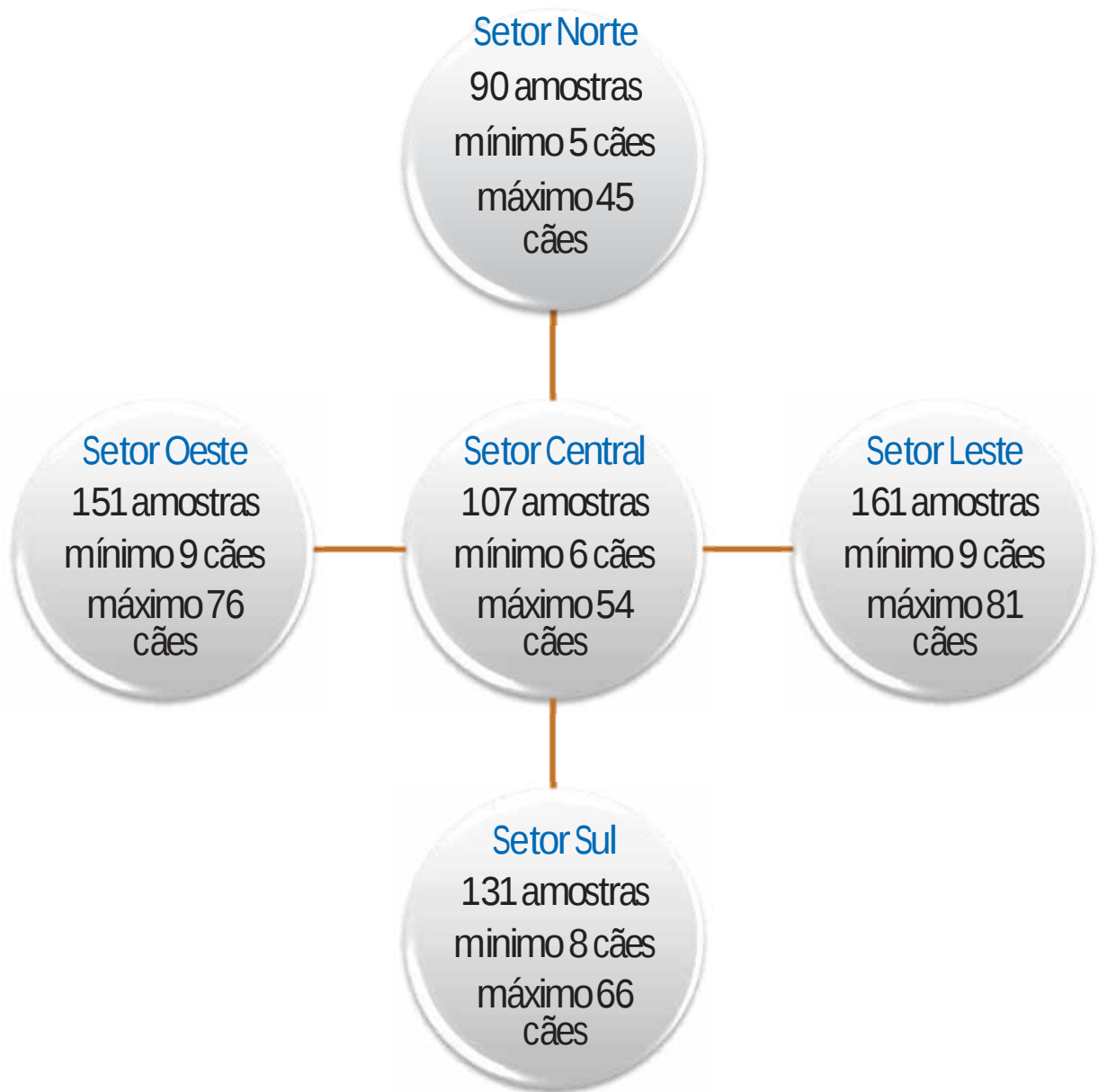


FIGURA III - Proporção mínima e máxima de cães suspeitos para a FMB distribuídos geograficamente pelo município de Botucatu.

**ESTIMATIVA DA FEBRE MACULOSA EM CÃES PARA A VIGILÂNCIA E
MONITORAMENTO DA ANTIROPOZOONOSE NO MUNICÍPIO DE BOTUCATU,
NO ESTADO DE SÃO PAULO.**



FIGURA IV - Representação da estimativa de ocorrência mínima e máxima dos animais suspeitos para FMB da população canina do Município, no ano de 2009.

9. ANEXO 1**IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL**

NOME:.....

SEXO/CASTRADO

FÊMEA ☐MACHO ☐CASTRADO ☐

IDADE

< 12 MESES ☐1 – 5 ANOS ☐> 5 ANOS ☐

RAÇA APARENTE.....

PELAGEM.....

PROPRIETÁRIO

NOME:.....

ENDEREÇO.....

BAIRRO.....

TELEFONE.....

REFERÊNCIAS.....