

## Comunicação

[Communication]

### Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Estado do Paraná, Brasil

[Anti rickettsia-antibody for spotted fever group in horses and dogs in the North of Paraná Stated, Brazil]

F.H. Otomura<sup>1</sup>, L.A. Sangioni<sup>2</sup>, R.C. Pacheco<sup>3</sup>, M.B. Labruna<sup>3</sup>, J.A. Galhardo<sup>4</sup>,  
M.G. Ribeiro<sup>4</sup>, U. Teodoro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Aluno de pós-graduação - UEM – Maringá, PR

<sup>2</sup>Universidade Federal de Santa Maria – Santa Maria, PR

<sup>3</sup>Universidade de São Paulo – São Paulo, SP

<sup>4</sup>Universidade Estadual de Maringá – Maringá, PR

A febre maculosa, conhecida também como febre maculosa brasileira (FMB), é uma doença que pode ser fatal caso não seja tratada precocemente. Além disso, é uma das mais importantes doenças rickettsiais no Brasil (Horta et al., 2004). É causada por rickettsias do grupo da febre maculosa (GFM) e tem como principal agente causal *Rickettsia rickettsii*, responsável também pela febre maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR) nos Estados Unidos da América (Paddock, 2002). Outras rickettsias do GFM têm sido isoladas, no Brasil, em carrapatos e pulgas, entre elas a *R. belli* (Horta et al., 2004), *R. parkeri* (Silveira et al., 2007) e *R. felis* (Sangioni, 2003). Embora o antígeno mais utilizado em inquéritos sorológicos no Brasil seja o de *R. rickettsii*, pesquisas recentes (Silveira et al., 2007) revelaram a presença de *R. parkeri* no Brasil, a qual tem sido comprovada como causadora de febre maculosa nos Estados Unidos, e possivelmente no Uruguai (Paddock, 2005).

Atualmente, a doença tem ocorrido na região Sudeste do país, nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, mas já foi descrita no Espírito Santo e, recentemente, em Santa Catarina e no Paraná (Ministério..., 2006). Em todo o território nacional, foram registrados 263 casos da doença, no período de 1995 a 2003, com taxa de letalidade de 28%. Somente em outubro de 2001, a FMB foi incluída na lista de doenças de notificação compulsória. No Estado

do Paraná, o primeiro caso humano confirmado de FMB, diagnosticado pela RIFI, foi notificado pela Secretaria de Saúde do Estado, em 2005 (Ministério..., 2006). Freitas (2007) realizou uma pesquisa de anticorpos para *R. rickettsii* em cavalos carroceiros de São José dos Pinhais, local do registro do primeiro caso paranaense, verificando que 6,5% dos animais testados apresentaram sorologia positiva para essa rickettsia.

No Brasil, o principal vetor das rickettsias do GFM é o carrapato *Amblyomma cajennense* (Labruna et al., 2002), especialmente nas fases de larva e ninfa (Lemos et al., 1996), que usualmente fazem o repasto sanguíneo em cães, equinos, capivaras, antas e humanos (Labruna et al., 2002; Paddock et al., 2002).

Equinos e cães com sorologia positiva têm sido frequentemente registrados em regiões endêmicas, sendo indicados como animais sentinelas em estudos epidemiológicos, pois podem se infectar sem apresentar a sintomatologia clínica (Paddock et al., 2002; Sangioni, 2003; Pinter et al., 2008). No entanto, a importância desses animais domésticos como hospedeiros amplificadores de *Rickettsia* spp., para o carrapato vetor, ainda não está esclarecida. Há suspeitas de que alguns roedores da fauna brasileira, principalmente as capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*), possam desempenhar papel importante no ciclo silvestre

do agente da FMB, pois em condições experimentais elas são capazes de manter a rickettsemia sem manifestações clínicas. A infecção humana é acidental e depende da infestação por carrapatos dos equinos, cães e roedores que coabitam no mesmo ambiente que o homem (Lemos et al, 1996).

A FMB é uma doença multissistêmica com alta letalidade e que apresenta dificuldades para o diagnóstico em humanos, sobretudo na fase inicial. Por isso é importante o conhecimento das áreas endêmicas para agilizar o diagnóstico diferencial e iniciar o tratamento (Ministério..., 2006). Walker (2002) afirma que os casos fatais podem ocorrer sem que o diagnóstico definitivo tenha sido apurado, quando não se considera a possibilidade de ocorrência da febre maculosa.

Diante da carência de dados sobre a FMB no Estado do Paraná até o momento, e considerando que o norte do Paraná não é conhecido como uma área endêmica, o presente estudo foi realizado com o objetivo de investigar a ocorrência sorológica de rickettsia do grupo da febre maculosa em cães e equídeos nos municípios de Umuarama, Douradina e Arapongas.

O estudo foi realizado em nove propriedades rurais no norte do Estado do Paraná, das quais cinco estão localizadas no município de Douradina (4, 5, 6, 7 e 8), três em Umuarama (1, 2 e 3) e uma no município de Arapongas (9). Esses municípios localizam-se em áreas consideradas não endêmicas para a FMB. Os municípios de Umuarama (23°45'S - 53°19'O) e Douradina (23°22'S - 51°25'O) estão inseridos na Mesorregião Noroeste do Estado do Paraná e o município de Arapongas (23°25'S - 51°25'O) na Mesorregião Norte Central Paranaense. Nessas Mesorregiões, o clima é do tipo subtropical (Cfa), com relevo de planaltos rebaixados, de topos planos e poucos dissecados.

Em duas propriedades de Douradina e em duas de Umuarama, os equídeos são criados para comercialização, enquanto nas demais propriedades os animais são criados em pequeno número para o trabalho e/ou esporte. Em Arapongas, esses animais são criados para o lazer e a equoterapia. Todas as propriedades fazem o controle de carrapatos nos equídeos e

nos cães e mantêm áreas de mata remanescente de preservação. Os cães existentes nas propriedades têm livre acesso às áreas de criação dos equídeos, de matas remanescentes de preservação e ao ambiente domiciliar, porém, em algumas propriedades, são utilizados no trabalho de pastoreio, juntamente com os equídeos. Somente três propriedades (1, 2 e 9) não possuíam cães. A infestação por carrapatos em seres humanos foi relatada somente na propriedade 2.

De agosto a outubro de 2007, foram coletadas 29 amostras de sangue de cães, 251 de equinos e quatro de asininos aparentemente saudáveis, totalizando 284 amostras. A idade dos cães variou de três meses a 10 anos; dos equinos, de oito meses a 20 anos e dos asininos de três a 19 anos. As amostras coletadas representam 90% de todos os equídeos e 100% dos cães residentes no conjunto das propriedades estudadas.

As amostras de sangue foram coletadas por venocentese da cefálica e jugular, em cães, e da jugular em equídeos. Todas as amostras foram identificadas e acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo e transportadas para o laboratório. O soro de cada amostra de sangue foi separado por centrifugação a 3.000rpm, por 10 minutos, aliquotado em tubos tipo *Eppendorf* e congelado a -20°C até o momento da realização da RIFI.

A RIFI é o teste padrão de referência utilizado pelo Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, EUA (Ministério..., 2006); por este motivo foi o teste de escolha para a realização dessa pesquisa.

Os antígenos utilizados foram de *R. rickettsii* (cepa Taiacu) e de *R. parkeri* (cepa At24), cedidos pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade de São Paulo (VPS/USP), no qual também foram realizadas a preparação e a leitura das lâminas. A RIFI foi realizada segundo Horta et al. (2004). Em cada lâmina, soros conhecidos negativamente e positivamente foram utilizados como controle. As amostras que apresentaram fluorescência foram diluídas em razão de dois até 1:4.096 para a determinação de títulos de anticorpos. As amostras com títulos  $\geq$

1:64 para *R. rickettsii* e *R. parkeri* foram consideradas positivas.

Das 284 amostras testadas pela RIFI, 15 (5,29%) amostras de equinos continham anticorpos que reagiram com *R. rickettsii*. Destas, cinco reagiram também com *R. parkeri*, considerando como ponto de corte o título de 64. Nenhuma das 29 amostras de cães e as quatro de asininos reagiram para as rickettsias testadas. Das 15 amostras de soro de equinos com títulos positivos para a RIFI, oito (53,3%) apresentaram título de 1:64 para *R. rickettsii*, duas (13,3%) tiveram título de 128 para *R. rickettsii*, e cinco (33,3%) foram reagentes para *R. parkeri* e *R. rickettsii*, com títulos que variaram de 1:64 a 1>2048 e de 1:128 a 1:1024, respectivamente.

Desde o primeiro relato de febre maculosa no Brasil, em 1929, o Estado do Paraná manteve-se sem registro dessa doença até 2005, quando houve o primeiro caso humano no município de São José dos Pinhais (Ministério..., 2006).

Este estudo demonstrou a presença de anticorpos anti-rickettsia do GMF em 15 (6%) de 251 equinos. Nesta proporção de equinos com sorologia positiva, nas áreas onde esse trabalho foi realizado, a probabilidade de infecção humana é baixa. Este fato é reforçado pela ausência de anticorpos contra rickettsias do GMF nos cães. Além disso, até o momento, nenhum caso de FMB humana foi registrado nessas áreas. Cabe lembrar que a associação de casos humanos e caninos tem sido descrita em diversas áreas endêmicas de febre maculosa (Sangioni et al., 2005). Dessa forma, o risco de a enfermidade se tornar endêmica no norte do Paraná é baixo até o presente momento. No entanto, a existência de vetores da FMB, nesse Estado, sugere que a realização periódica de estudos sorológicos de animais sentinelas pode auxiliar na detecção de possíveis aumentos de soropositividade nesses animais, acarretando maior risco de infecção humana.

Os títulos de duas amostras de soro de equinos da propriedade 1 (um adulto e um potro) sugerem que os anticorpos foram estimulados por *R. parkeri*, pois o título para esta rickettsia foi quatro vezes maior do que para *R. rickettsii*. Segundo Horta et al. (2004), a confirmação sorológica de uma determinada espécie de

rickettsia causadora da doença só pode ser feita se o título de anticorpos para essa espécie for quatro vezes superior ao título encontrado para outras espécies de rickettsias. É importante ressaltar que o equino adulto (animal 3) circulou em outras áreas. A soropositividade do potro de 8 meses (animal 52), nascido na propriedade 1, sugere que a infecção ocorreu nesse local. O fato de o animal ter ficado apenas nessa propriedade reforça essa hipótese. Não foi possível a coleta de sangue da mãe do referido potro. As outras três amostras (animais 20, 159 e D144) que reagiram para *R. rickettsii* e *R. parkeri* tiveram títulos de anticorpos próximos, no máximo duas vezes maior para uma segunda espécie de rickettsia. Dessa forma, não foi possível afirmar qual dessas espécies estimulou a formação de anticorpos detectados pela RIFI. Seguindo o mesmo raciocínio, os soros de pelo menos dois equinos (69 e D93), que apresentaram títulos de 1:128 para *R. rickettsii* e não foram reativos para *R. parkeri* na diluição de 1:64, foram possivelmente estimulados por *R. rickettsii* ou por alguma espécie muito mais próxima de *R. rickettsii*. Tal raciocínio baseia-se no fato de que, se um soro foi negativo na diluição 1:64, seu título máximo esperado seria 32. Dessa forma, se este mesmo soro demonstrou títulos de 1:128 para uma segunda espécie de rickettsia, a diferença entre os títulos é, no mínimo, de quatro vezes.

Em São José dos Pinhais, PR, Freitas (2007) detectou 25% dos equinos e 12,5% dos cães positivos para *R. rickettsii* pela RIFI, com títulos de 1:64 a 1:1024. Horta et al. (2004) verificaram que 77% dos equinos e 31% dos cães reagiram positivamente para *R. rickettsii*, em Pedreira, SP. Esses estudos foram realizados em áreas com ocorrência de febre maculosa em humanos, o que justifica a maior positividade de equinos para *R. rickettsii*, quando comparado com os resultados do presente trabalho.

Pesquisas recentes revelam aumento dos casos humanos de FMB, principalmente, nos Estados de Minas Gerais e São Paulo (Sangioni, 2003), de 1985 a 2002. Tal aumento pode ser explicado pela implementação de programas de vigilância contínua nesses Estados e pelo fato de a doença ter notificação compulsória, a partir de 1996, no Estado de São Paulo e em todo o território nacional, a partir de 2001. O diagnóstico da FMB

pode ser dificultado principalmente em áreas onde a ocorrência da doença nunca foi notificada e outras doenças febris e exantemáticas são endêmicas, como é o caso da dengue no norte do Paraná (Ministério..., 2006). Diante desses fatos, supõe-se que os casos humanos de FMB no Paraná podem não ter sido diagnosticados. Assim, a vigilância ativa conduzida em animais sentinelas, como o presente trabalho, deve ser estimulada para a determinação de possíveis

áreas endêmicas, antes mesmo da ocorrência de casos humanos da doença. Essa vigilância poderá fornecer subsídios para a implementação de medidas educativas, com objetivos de evitar ou reduzir casos de febre maculosa em humanos nas áreas estudadas.

Palavras-chave: equino, cão, febre maculosa, epidemiologia

## ABSTRACT

*The Brazilian Spotted Fever (BSF) is a zoonosis that can be fatal if not treated. As there are few studies of the BSF in the Paraná State, the occurrence of BSF was serologically investigated in dogs and horses by indirect immunofluorescence assay (IFA), in the North of that State, in animals that are regarded as sentinels for BSF. A total of 241 samples of sera of equine, four of asinine, and 29 of dogs were collected in nine farms of three municipalities in the North of Paraná: Arapongas, Douradina, and Umuarama. From fifteen samples of equine serum with positive titres for RIF1, eight (53.3 %) had titre of 64 against R. rickettsii, two (13.3 %) 128 against R. rickettsii, and five (33.3 %) were reactants for R. parkeri and R. rickettsii, with titres ranging from 64 to 2048, and 128 to 1024, respectively. The results showed that domestic animals, sentinels for BSF, are under low exposition to ticks infected with spotted fever group Rickettsia, indicating low risk of human infection by these agents in the studied area.*

*Keywords: horses, Brazilian Spotted Fever, epidemiology*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FREITAS, M.C.D.O. *Detecção de Rickettsias do Grupo Febre Maculosa em cães e equinos em São José Dos Pinhais, Paraná*. 2007. 68f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SANGIONI, L.A. et al. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever – endemic area in the state of São Paulo, Brasil: Serologic evidence for infection by Rickettsia rickettsii and another spotted fever group Rickettsia. *Am. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.71, p.93-97, 2004.

LABRUNA, M.B.; KASAI, N.; FERREIRA, F. et al. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.105, p.65-77, 2002.

LEMONS, E.R.S.; MACHADO, R.D.; COURA, J.R. et al. Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: Serological survey of dogs and horses in an endemic area in the state of São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop.*, v.38, p.427-430, 1996.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasil. Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Paraná / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: MS, 2006.

PADDOCK, C.D.; BRENNER, O.; VAID, C. et al. Short Report: Concurrent rocky mountain spotted fever in dog and its owner. *Am. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.66, p.197-199, 2002.

PINTER, A.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C. et al. Serosurvey of Rickettsia spp. in dogs and humans from a endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. *Cad. Saúde Publ.*, v.24, p.247-252, 2008.

SANGIONI, L.A.; HORTA, M.C.; VIANNA, M.C.B. et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerg. Infect. Dis.*, v.11, p.265-270, 2005.

SILVEIRA, I.; PACHECO, R.C.; SZABÓ, M.P.J. et al. Rickettsia parkeri in Brasil. *Emerg. Infect. Dis.*, v.13, p.1111-1113, 2007.

WALKER, D.H. Editorial Rickettsia rickettsii: as virulent as ever. *Am. Soc. Trop. Med. Hyg.*, v.66, p.448-449, 2002.