

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Evidência sorológica de infecção por riquetsias do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii* em pequenos mamíferos na área periurbana de Uberlândia, Minas Gerais.

Marcella Gonçalves Coelho

Uberlândia - MG
Fevereiro - 2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas
Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas

Evidência sorológica de infecção por riquetsias do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii* em pequenos mamíferos na área periurbana de Uberlândia, Minas Gerais.

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Marcella Gonçalves Coelho

Orientador: Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó

Uberlândia - MG
Fevereiro - 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C672e Coelho, Marcella Gonçalves, 1990-
2013 Evidência sorológica de infecção por riquetsias do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii* em pequenos mamíferos na área periurbana de Uberlândia, Minas Gerais / Marcella Gonçalves Coelho. -- 2013. 68 f. : il.

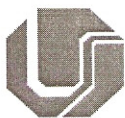
Orientador: Matias Pablo Juan Szabó.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Inclui bibliografia.

1. Imunologia - Teses. 2. Parasitologia - Teses. 3. Rickettsioses em animais - Teses. 4. Febre maculosa - Teses. I. Szabó, Matias Pablo Juan. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas. III. Título.

CDU: 612.017



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Instituto de Ciências Biomédicas

Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas
E-Mail: coipa@ufu.br - Telefax: www.imunoparasito.ufu.br (034)3218-2333



Marcella Gonçalves Coelho

“Evidência sorológica de infecção por riquetsias do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii* em pequenos mamíferos na área periurbana de Uberlândia, Minas Gerais”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Aplicadas da Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Imunologia e Parasitologia Aplicadas.

Banca Examinadora:

Uberlândia, 26 de fevereiro de 2013.

Prof. Dr. Richard Campos Pacheco – UFMT

Profa. Dra. Natália Oliveira Leiner – INBIO/UFU

Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó (orientador) – FAMEV/UFU

Dedico este trabalho aos meus pais, Marcos e Valéria, ao meu irmão, Matheus, e ao meu namorado, Esdras. Com muito amor, carinho, e sabedoria, estão sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando, em uma caminhada para o sucesso.

MUITO OBRIGADA!!!

Agradecimentos...

Primeiramente agradeço a Deus, Ele que me guiou por toda minha vida e neste trabalho, e me protegeu e afastou os perigos do trabalho em campo.

Aos meus pais, irmão e ao meu namorado, que são peças fundamentais na minha vida.

Ao professor Matias pela orientação na realização deste trabalho, auxiliando em todos os momentos, pelo exemplo de profissionalismo e pela oportunidade.

Aos colegas da turma de mestrado, que dividimos muitas risadas, alegrias, momentos de desesperos, e companheirismo, momentos que marcaram e que ajudaram a cada um a reconhecer que é capaz de superar desafios, e que nada é impossível.

Aos colegas do Laboratório de Ixodologia (LABIX), Vanessa, Moníze, Jean, Vinícius, Marlene, Grazi, Carol, Tathí, Aline, Sarah, Ana Helena, Khelma, Adha, Elis, Jamile e Guilherme. Em especial a Vanessa que desde o início deste trabalho me auxiliou em todas as etapas, planejamento, campo e análise de dados; ao Jean pela parceria nas campanhas; e ao Vinícius e Carol, pela ajuda no campo.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia de Mamíferos (LEMA), prof. Natália Leiner, Jenifer, Ana Letícia, Stefanny, Thomás, Gabriel, Graziella, que me receberam de “braços abertos”, pela parceria em diversas campanhas na Fazenda do Glória e na Reserva do Panga, e empréstimo de algumas armadilhas.

Ao pessoal do Centro de Controle de Zoonoses de Uberlândia que me ajudou no trabalho de campo, Jean, Lázaro, Joel, Darcí, Amaral e Luís. E a Cristiane, Elenice e Alcides, que me receberam no Laboratório de Sorologia.

A professora Elba, ao Alex, Sócrates Neto, João e Joaquim, do Laboratório de Hantavíroses e Rickettsioses, e Laboratório de Biologia e Parasitologia de

Mamíferos Silvestres Reservatórios do Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), na parceria das campanhas de captura dos pequenos mamíferos.

Ao pessoal do Laboratório de Doenças Parasitária da Universidade de São Paulo (VPS-USP) pelo auxílio no laboratório e o fornecimento de antígenos de *Rickettsia* sp.. Em especial ao professor Marcelo Labruna, Jonas, Amália, Tatiana e a Júlia.

Aos laboratórios de Imunoparasitologia, Biologia Molecular e o Laboratório do Centro de Referência Nacional em Hanseníase pela utilização dos equipamentos em diversas etapas do estudo.

Às secretárias da Pós-graduação, Lucélia e Lucileide. Obrigada por tudo, pela orientação nas burocracias, na solução de problemas e pelo apoio.

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado, e ao CNPq e FAPEMIG (Rede Mineira) pelo apoio financeiro aos projetos vinculados.

A todos que de alguma forma contribuíram para este trabalho, e a todas as dificuldades que enfrentei, elas foram o degrau para meu crescimento.

Obrigada!!!

LISTA DE ABREVIACÕES

BOD	Demanda biológica de oxigênio
BSF	Brazilian Spotted Fever
CEUA	Comissão de Ética na Utilização de Animais
FITC	Fluoresceína isotiocianato
FMB	Febre Maculosa Brasileira
g	gravidade
G1	grupo 1
G2	grupo 2
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IgG	Imunoglobulina G
mL	mililitro
MSF	Mediterranean Spotted Fever
PAIRS	possível antígeno indutor da reação sorológica
PBS	solução salina tamponada com fosfato
RIFI	reação de imunofluorescência indireta
RMSF	Rocky Mountain Spotted Fever
GFM	Grupo da Febre Maculosa (Spotted Fever Group)
SISBIO	Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade
TG	Grupo Tifo (Typhus Group)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Localização geográfica do município de Uberlândia, MG. A) Brasil, em destaque o estado de Minas Gerais. B) Município de Uberlândia em destaque.....23
- Figura 2.** Locais de captura de pequenos mamíferos e de coleta de carrapatos, no município de Uberlândia, MG, 2011-2012.....25
- Figura 3.** Brinco de identificação do roedor.....27
- Figura 4.** Coleta de sangue por punção da veia caudal.....27
- Figura 5.** Vistoria do roedor a procura de carrapatos fixados (esquerda). Carrapatos fixados no roedor (direita) (Uberlândia, MG, 2011-2012).....30
- Figura 6.** Coleta de carrapatos no ambiente por arraste (Uberlândia, MG, 2011-2012).30
- Figura 7.** Distribuição de pequenos mamíferos soropositivos para *Rickettsia* spp. do grupo da febre maculosa e *R. bellii*, e possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS), no município de Uberlândia, de julho de 2011 a agosto de 2012.....40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Disposição das armadilhas, localização e tipo de vegetação nos locais de captura de pequenos mamíferos e de coleta de carrapatos, entre os meses de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.	24
Tabela 2. Cronograma, número de armadilhas usadas por campanha e o esforço amostral, nas campanhas de capturas de pequenos mamíferos realizadas entre os meses de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.	28
Tabela 3. Número, prevalência e intensidade média de carrapatos por espécie de hospedeiros, capturados e recapturados de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.	35
Tabela 4. Número de carrapatos por espécie de hospedeiros capturados e recapturados de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.	36
Tabela 5. Relação das espécies de carrapatos por espécie de pequenos mamíferos capturados e recapturados de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.	37
Tabela 6. Carrapatos coletados no ambiente nos locais de captura de pequenos mamíferos entre os meses de dezembro de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG. ...	38
Tabela 7. Percentual de amostras de soro reativas para <i>Rickettsia</i> spp. do grupo da febre maculosa e <i>Rickettsia bellii</i> em pequenos mamíferos capturados de julho de 2011 a agosto de 2012 no município de Uberlândia, MG.	41
Tabela 8. Relação do possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS) com as espécies de pequenos mamíferos capturados de julho de 2011 a agosto de 2012 no município de Uberlândia, MG.	41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	21
2.1. Geral.....	21
2.2. Específicos	21
3. MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1. Área de estudo	23
3.2. Captura de pequenos mamíferos	26
3.3. Coleta de carrapatos	29
3.4. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-riquetsias em roedores e marsupiais	31
3.5. Licenças	32
4. RESULTADOS	34
4.1. Roedores silvestres e marsupiais capturados	34
4.2. Carrapatos coletados	34
4.3. Sorologia para riquetsias	39
5. DISCUSSÃO	43
6. CONCLUSÕES	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
APÊNDICE	62
Apêndice 1. Fotos dos carrapatos coletados no ambiente e nos pequenos mamíferos capturados no município de Uberlândia, MG, 2011-2012.....	63
Apêndice 2. Título de anticorpos contra riquetsias do grupo da febre maculosa e <i>Rickettsia bellii</i> , e possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS) em marsupiais do município de Uberlândia, MG, 2011-2012.	64
Apêndice 3. Título de anticorpos contra riquetsias do grupo da febre maculosa e <i>Rickettsia bellii</i> , e possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS) em pequenos roedores do município de Uberlândia, MG, 2011-2012.	65
ANEXO.....	67
Anexo 1. Parecer CEUA	68

RESUMO

Riquetsiose é uma doença causada em humanos por bactérias do gênero *Rickettsia*, e tem como principais vetores os carrapatos, que são considerados também reservatórios de riquetsias do grupo da febre maculosa no Brasil. Frequentemente os estágios imaturos de carrapatos vetores de riquetsioses têm pequenos mamíferos como hospedeiros, e sabe-se que algumas espécies de pequenos mamíferos são hospedeiros amplificadores para *Rickettsia* sp.. O objetivo deste trabalho foi determinar a sororreatividade contra cinco espécies de riquetsias e a fauna de carrapatos de pequenos mamíferos na região periurbana de Uberlândia, MG, Brasil. Foram capturados, entre julho de 2011 a agosto de 2012, 416 animais representando 13 espécies de roedores silvestres e marsupiais. Destes, 48 estavam infestados com carrapatos dos gêneros *Amblyomma* e *Ixodes*, e 70 (16,8%) dos animais foram soropositivos para *Rickettsia* spp.. Nossos resultados indicam a circulação de quatro espécies de riquetsias, *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali* e *R. bellii*, próximo à área urbana do município de Uberlândia. As duas primeiras espécies são consideradas patogênicas ao homem, evidenciando a necessidade de se realizar uma investigação mais minuciosa tanto para a confirmação das espécies de bactérias circulantes, quanto para a compreensão do ambiente que mantém as riquetsias nos locais de detecção.

Palavras-chave: *Rickettsia*, pequenos mamíferos, carrapatos, sorologia, Uberlândia

ABSTRACT

Rickettsiosis is a human disease caused by bacteria of the genus *Rickettsia*, and its main vector ticks (Ixodidae), which are also considered reservoirs of the Spotted Fever Group rickettsiae in Brazil. Small mammals are frequent hosts for immature stages of rickettsial diseases vector ticks, and it is known that some species of small mammals are hosts amplifiers for *Rickettsia* sp.. The aim of this study was to determine seropositivity against five species of *Rickettsia* and tick fauna of small mammals captured in periurban region of Uberlândia, MG, Brazil. For this purpose, 416 small mammals representing 13 species of wild rodents and marsupials were captured between the months of July 2011 to August 2012. Of these, 48 were infested with ticks of the genus *Amblyomma* and *Ixodes*, and 70 (16.8%) of the animals were seropositive for *Rickettsia* spp.. Our results indicate the circulation of four species of *Rickettsia*, *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali* and *R. bellii*, in the periurban area of Uberlândia. The first two *Rickettsia* species are considered pathogenic to man and thus a more thorough investigation to confirm the species of bacteria and epidemiological aspects related to these *Rickettsia* spp. is the detection locations.

Keywords: *Rickettsia*, small mammals, ticks, serology, Uberlândia

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Riquetsias são bactérias gram negativas e parasitos intracelulares obrigatórios, pertencentes à classe *Alphaproteobacteria*, família *Rickettsiaceae*, e representam potencial risco à saúde humana (GILLESPIE et al., 2008; SCHORN et al., 2011), pois muitas espécies são patogênicas ao homem (GEHRKE et al., 2009; ROZENTAL et al., 2009). O gênero *Rickettsia* é subdividido em dois grupos principais, o grupo da febre maculosa (GFM) (“Spotted Fever Group” - SFG) e grupo tifo (TG – “Typhus Group”), além de duas espécies genética e antigenicamente distintas destes grupos, *R. bellii* e *R. canadensis* (LABRUNA et al., 2007; FOURNIER, RAOULT, 2009).

O GFM é o grupo de maior importância para saúde pública, sendo que muitas espécies são patogênicas ao homem e ocasionam infecções de brandas a letais conhecidas como riquetsioses (GEHRKE et al., 2009; ROZENTAL et al., 2009). De forma geral, riquetsiose é uma doença transmitida para o ser humano por meio da picada do carrapato infectado com riquetsia, e caracteriza-se por quadro clínico composto de cefaléia, febre, erupções com manchas e formação de pápulas, agravando para hemorragia e disfunção múltipla dos órgãos (RYDKINA, 1999; ANGERAMI et al., 2009).

Entre os principais agentes etiológicos de riquetsioses, podemos citar a *R. conorii*, o agente causador da Febre Maculosa do Mediterrâneo (MSF - Mediterranean Spotted Fever) (LEVIN, KILLMASTER, ZEMTSOVA, 2012) e *R. rickettsii*, a espécie mais patogênica e causadora da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (“Rocky Mountain Spotted Fever” - RMSF) ou Febre Maculosa Brasileira (FMB) (“Brazilian Spotted Fever” - BSF). Em verdade o agente da RMSF é o mesmo da FMB, a diferença entre as duas reside nas espécies de carrapatos envolvidas na transmissão da bactéria e o local de ocorrência; a primeira na

América do Norte e a segunda, no Brasil (GUEDES et al., 2005; GEHRKE et al., 2009; LABRUNA, 2009; ROZENTAL et al., 2009).

Riquetsias do GFM tem como principal vetor e reservatório no Brasil, os carrapatos pertencentes à família Ixodidae, com destaque para o gênero *Amblyomma* (LABRUNA, 2009; SABATINI et al., 2010). A exemplo, os carrapatos vetores da *R. rickettsii* são variados, diferindo de acordo com a área geográfica que habitam. Na América do Sul, em especial a região sudeste do Brasil, o vetor mais importante é o *Amblyomma cajennense* (popularmente conhecido como “carrapato-estrela”), (GUEDES et al., 2005; LABRUNA, 2009; ANGERAMI et al., 2009), enquanto na região da grande São Paulo, o *Amblyomma aureolatum* é o principal vetor (LABRUNA, 2009).

Os carrapatos tem importante papel na manutenção da *Rickettsia* no ambiente selvagem, sendo que a infecção nos carrapatos por esta bactéria é transmitida para outras gerações pela transmissão transovariana, e de um estágio para outro pela transmissão transtadial. Estes dois tipos de transmissão possibilitam a infecção de diversas gerações e em todos os estágios (DEL FIOLE et al., 2010). Outro modo de transmissão é a horizontal, quando o carrapato ao parasitar hospedeiro com riquetsemia, se infecta (GILLESPIE et al., 2008; TIJSSE-KLASSEN et al., 2011).

Entretanto, vários estudos no sudeste brasileiro demonstram a baixa prevalência de infecção de populações de carrapatos por *R. rickettsii*. A espécie *A. cajennense* demonstra ser parcialmente refratária a infecção por *R. rickettsii*, no estudo Guedes e colaboradores (2005) a população deste carrapato apresentou taxa de infecção em torno de 1%, e outro estudo, uma amostra com 3.545 espécimes, nenhum *A. cajennense* estava infectado (PACHECO et al., 2009). Outro exemplo é a patogenicidade de *R. rickettsii* ao carrapato vetor *A. aureolatum*, este é um vetor eficiente na transmissão da FMB, sendo que a manutenção da infecção por *R. rickettsii* neste vetor se mantém por até quatro gerações por meio da transmissão transtadial

e transovariana, porém, a infecção interfere na sobrevivência e desempenho reprodutivo das fêmeas infectadas (LABRUNA et al., 2011).

Outro elemento envolvido na manutenção da *Rickettsia* no ambiente é o hospedeiro vertebrado, por atuar como amplificador da taxa de infecção de carrapatos durante a riquetsemia. Neste período de alguns dias, o hospedeiro amplificador infecta muitos carrapatos, permitindo a transmissão horizontal (LABRUNA, 2009; LABRUNA et al., 2011). Segundo Labruna (2009), para serem considerados hospedeiros amplificadores de riquetsias os hospedeiros devem atender a cinco requisitos: o hospedeiro vertebrado deve ser abundante na área de endemidade da *Rickettsia*; ser hospedeiro para o carrapato vetor; ser susceptível a *Rickettsia* spp.; desenvolver a riquetsemia a um grau que possibilite a infecção dos carrapatos que o parasitar; e por fim, que suas crias não sejam resistentes a primeira infecção por riquetsia.

Os hospedeiros vertebrados que funcionam como amplificadores, também influenciam na distribuição das espécies de vetores, por exemplo, o hospedeiro amplificador sabidamente conhecido para *R. rickettsii* é a capivara, sendo este parasitado, principalmente, por carrapatos da espécie *A. cajennense* e *Amblyomma dubitatum* (LABRUNA, 2009).

Pequenos roedores são muitas vezes considerados hospedeiros sentinelas por terem o contato com *Rickettsia* spp. e soroconverterem, mas seu papel como potencial amplificador deve ser investigado (FRANKE et al., 2010; SCHEX et al., 2011) considerando a grande diversidade de espécies e a ixodofauna associada, pois sabe-se que na América do Norte algumas espécies de pequenos roedores são hospedeiros amplificadores para *R. rickettsii*, a exemplo *Microtus pennsylvanicus*, *Pitymus pinetorum*, *Peromyscus leucopus* e *Sigmodon hispidus* (BURGDORFER, FRIEDHOFF, LANCASTER JR, 1966; BURGDORFER, 1977). Estes pequenos mamíferos são hospedeiros importantes para os estágios imaturos de diversas

espécies de carrapatos, notadamente do gênero *Ixodes* spp. e *Amblyomma* spp. (LABRUNA, 2009; FRANKE et al., 2010; GUGLIELMONE, NAVA, 2011).

A FMB é considerada uma doença reemergente, com os primeiros relatos em 1920, posterior queda na década de 50, e acentuado registro da patogenia a partir da década de 80. Entretanto, a classificação de doença reemergente deve ser vista com cautela, uma vez que as notificações de casos de febre maculosa no Brasil se tornaram obrigatórias a partir do ano 2001, além da disponibilidade de técnicas diagnósticas mais sensíveis e específicas colaborarem com o aumento no reconhecimento de casos antes não diagnosticados (LABRUNA, 2009). A detecção de anticorpos reativos contra *Rickettsia* spp. é uma metodologia de diagnóstico amplamente utilizada por ser de baixo custo, e permite determinar a circulação de espécies de riquetsias em uma dada região através do inquérito sorológico em hospedeiros sentinelas (SAITO et al., 2008).

Até o ano 2000, *R. rickettsii* era a única espécie do GFM conhecida na América do Sul, posteriormente sete novas espécies foram descritas, sendo algumas patogênicas como a *R. felis*, *R. parkeri*, e *R. massiliae* (LABRUNA, 2009). A atual atenção a estas espécies se deve à descoberta recente de sua patogenicidade (LABRUNA et al., 2011). Exemplo disso foi o relato do primeiro caso de doença humana causada por *R. parkeri* nos Estados Unidos em 2004, seis décadas após o seu isolamento no carrapato *Amblyomma maculatum* (PADDOCK et al., 2004). Recentemente foi relatado no Brasil um caso de infecção humana por *R. parkeri* (SPOLIDORIO et al., 2010) e, há a suspeita de que esta espécie seja o agente etiológico de inúmeros casos de febre maculosa mais branda (não letal) no sul do país (ANGERAMI et al., 2009). A infecção por *R. parkeri* é caracterizada pela escara de inoculação “tache noir”, linfadenopatia, febre e úlceras na mucosa oral (SILVA et al., 2011).

Outra espécie constantemente detectada é a *R. bellii*, sua ocorrência é relatada no Brasil e na Argentina tendo diversas espécies de carrapatos como vetores (LABRUNA, 2009),

em El Salvador infectando *Amblyomma sabanerae* (BARBIERI, ROMERO, LABRUNA, 2012) e no Peru em *Amblyomma varium* (OGRZEWALSKA et al., 2012). *Rickettsia bellii* é espécie com patogenicidade desconhecida para os hospedeiros vertebrados e carrapatos, e apresenta alta taxa de transmissão transovariana e transtadial (HORTA et al., 2006). Sua importância está na coinfeção dos carrapatos com riquetsias patogênicas, pois *R. bellii* parece interferir no mecanismo de transmissão destas riquetsias e, conseqüentemente no estabelecimento de infecções por espécies patogênicas (BURGDORFER, 1988; MACALUSO et al., 2002).

Duas outras espécies de riquetsias são ainda pouco conhecidas quanto a patogenicidade para humanos e animais, *R. rhipicephali* e *R. amblyommii*. Ambas foram descritas no Brasil, e *R. amblyommii* encontra-se também na Argentina e Guiana Francesa. Altas taxas de infecção destas espécies são encontradas no vetor, sugerindo possíveis espécies não patogênicas para carrapatos (LABRUNA, 2009). Com relação à doença humana não há relato de casos de infecção humana, porém, há dúvidas sobre a patogenicidade da *R. amblyommii* ao homem (NICHOLSON, MASTERS, WORMSER, 2009).

A saber, nenhuma pesquisa com riquetsias foi realizada na região do Triângulo Mineiro, que está localizada em Minas Gerais, o 2º estado com maior número de casos de Febre Maculosa no Brasil entre 1997 a 2011 de acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação do Ministério da Saúde (2011). E a forma mais abrangente para se iniciar uma investigação neste contexto é avaliar a sororreatividade de hospedeiros importantes, para se definir a possível circulação e regiões afetadas.

Neste trabalho, a infecção por riquetsias em pequenos mamíferos da região periurbana de Uberlândia, Minas Gerais, foi investigada através da detecção de anticorpos e titulação dos níveis séricos por meio de testes sorológicos. Este trabalho é justificado pela noção de que pequenos mamíferos são hospedeiros importantes para os estágios imaturos dos carrapatos,

especialmente dos gêneros *Ixodes* spp. e *Amblyomma* spp. (LABRUNA, 2009; FRANKE et al., 2010; GUGLIELMONE, NAVA, 2011), e ao fato de serem hospedeiros amplificadores para riquetsias nos EUA (BURGDORFER, FRIEDHOFF, LANCASTER JR, 1966; Burgdorfer, 1977). Além disso, carrapatos são os principais vetores e reservatórios no Brasil para riquetsias do GFM, com destaque para o gênero *Amblyomma* (LABRUNA, 2009; SABATINI et al., 2010). Finalmente sabe-se que em áreas periurbanas a ação antrópica pode acidentalmente favorecer a circulação de determinadas espécies de patógenos, hospedeiros e vetores (COMER, PADDOCK, CHILDS, 2001).

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar a sororreatividade contra riquetsias e a fauna de carrapatos de pequenos mamíferos na região periurbana de Uberlândia, MG, Brasil.

2.2. Específicos

- Avaliar a sororreatividade de marsupiais e pequenos roedores da região peri-urbana de Uberlândia, Minas Gerais, contra antígenos de *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii* e *R. bellii*.
- Identificar as espécies de carrapatos e possíveis vetores de riquetsias nos pequenos mamíferos da região periurbana de Uberlândia, Minas Gerais.

Materiais & Métodos

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O estudo foi realizado no município de Uberlândia (18° 54'S e 48° 15'O), estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil (Figura 1). Esta região é caracterizada por clima tropical com duas estações bem definidas (verão quente/úmido e inverno frio/seco) e vegetação característica de cerrado (IBGE, 2010). A coleta de material foi realizada em nove locais do município, no entorno da área urbana, com vegetação caracterizada por Cerrado nativo (RIBEIRO, WALTER, 2008) e áreas com alterações antrópicas (Tabela 1; Figura 2).

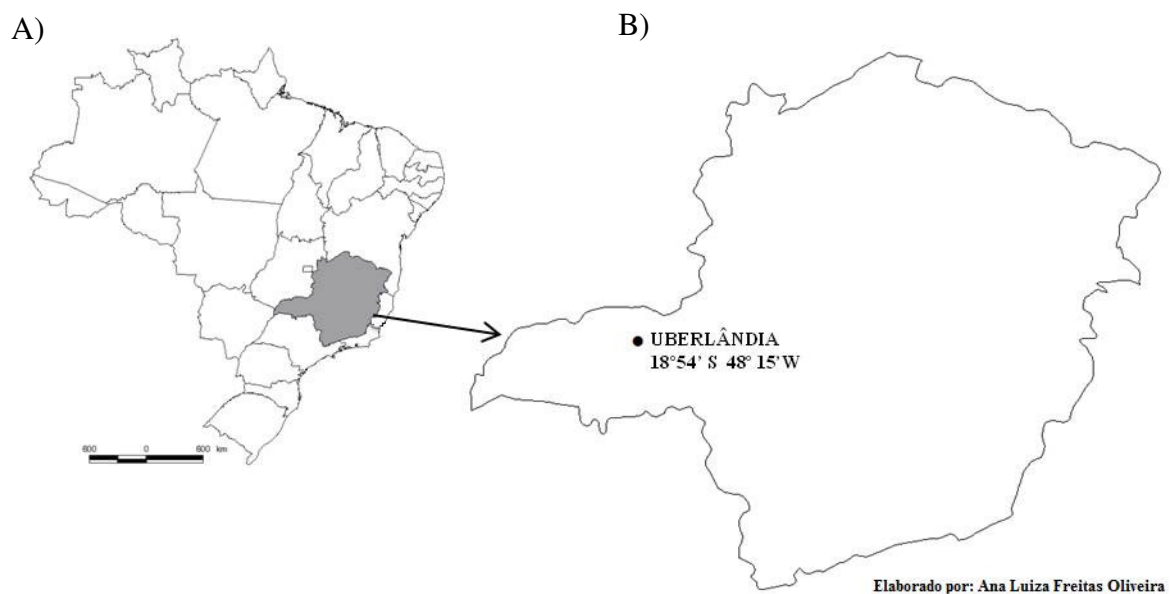


Figura 1. Localização geográfica do município de Uberlândia, MG. A) Brasil, em destaque o estado de Minas Gerais. B) Município de Uberlândia em destaque.

Tabela 1. Disposição das armadilhas, localização e tipo de vegetação nos locais de captura de pequenos mamíferos e de coleta de carrapatos, entre os meses de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.

Grupo*	Local de captura	Coordenadas geográficas	Vegetação
G1 (Grade)	Fazenda do Glória	18° 57'S 48° 12'O	Interior da Mata Seca Semidecídua.
	Reserva do Panga	19° 09'S 48° 23'O	Cerrado sentido restrito.
G2 (Transecto)	Fazenda do Glória	18° 57'S 48° 12'O	Borda da Mata Seca Semidecídua.
	Fazenda Veadinho	18° 57'S 48° 03'O	Área com plantação de capim e cana-de-açúcar.
	Fazenda da Fernanda	18°57'S 48°04'O	Mata Seca Semidecídua.
	Instituto Federal	18°46'S 48° 17'O	Borda de Mata Seca Semidecídua e plantação de cana-de-açúcar.
	Chácara Eldorado	18°59'S 48°26'O	Área com braquiaria próxima a domicílios e a represa.
	Chácara Bálsamo	19°01'S 48°11'O	Vereda
	Condomínio Morada do Sol	18°53'S 48°21'O	Mata Seca Semidecídua.
	Estrada para Campo Florido	19°00'S 48°19'O	Cerrado sentido restrito.

* Os grupos 1 e 2 apresentam metodologia diferentes
Caracterização da vegetação de acordo com Ribeiro e Walter (2008).

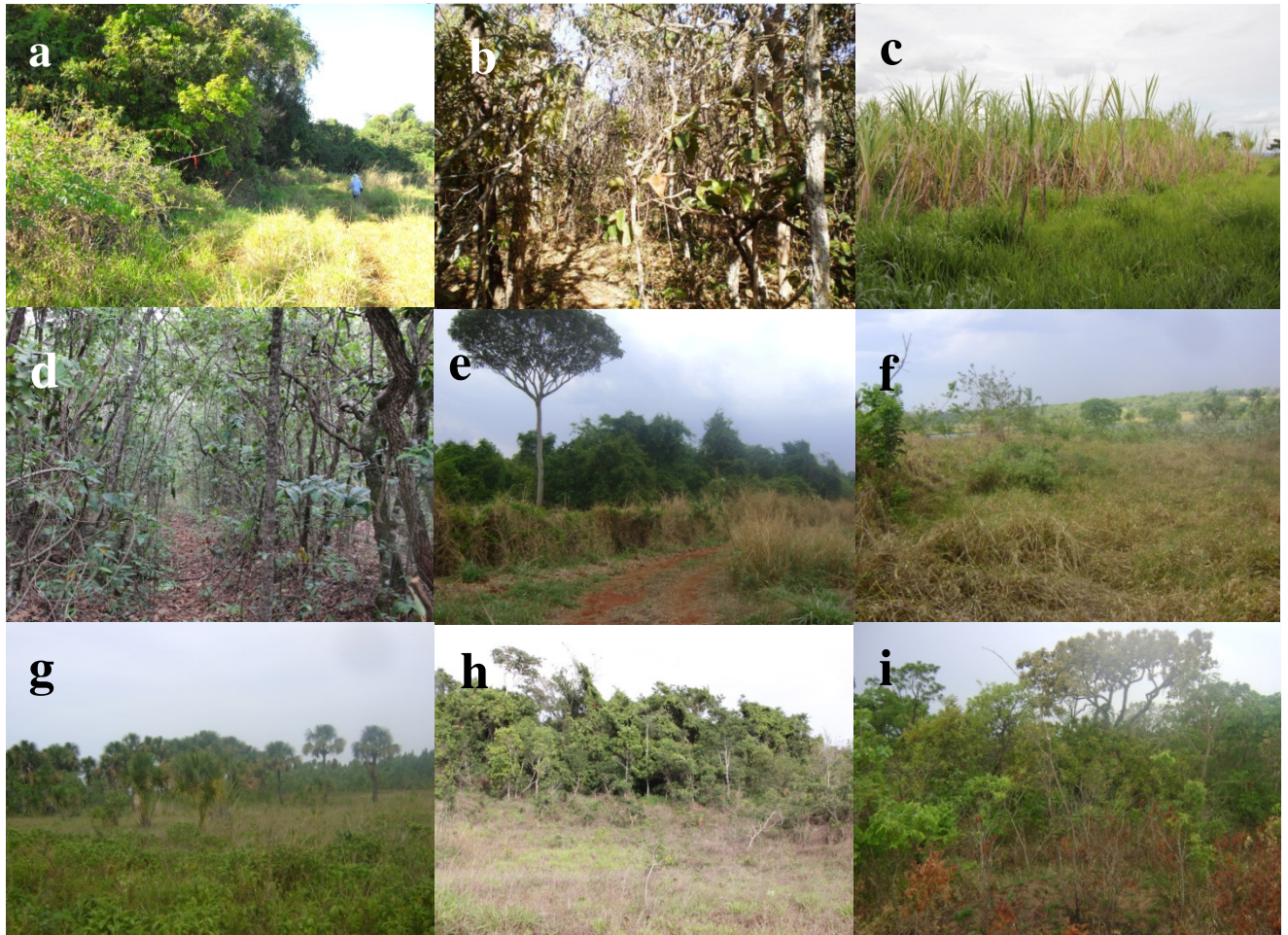


Figura 2. Locais de captura de pequenos mamíferos e de coleta de carrapatos, no município de Uberlândia, MG, 2011-2012.

a) Fazenda do Glória; b) Reserva do Panga; c) Fazenda Veadinho; d) Fazenda da Fernanda; e) Instituto Federal; f) Chácaras Eldorado; g) Chácara Bálsamo; h) Condomínio Morada do Sol; i) Estrada para Campo Florido.

(Fonte: a,c,d, h: Marcella G. Coelho; e,f, g,i: Jean E. Limongi; b: Gabriel P. Lopes)

3.2. Captura de pequenos mamíferos

As campanhas para capturas dos pequenos mamíferos foram realizadas de julho de 2011 a agosto de 2012 em nove localidades no entorno do município de Uberlândia, estas localidades foram divididas em dois grupos, grupo 1 (G1) e grupo 2 (G2), de acordo com a disposição das armadilhas no espaço, em grade ou transecto (Tabela 1). Nas localidades do grupo 1 (Fazenda do Glória e a Reserva do Panga) as armadilhas de captura foram dispostas em grade (*grid*), e nas localidades do grupo 2 (Fazenda do Glória, Fazenda Veadinho, Fazenda da Fernanda, Instituto Federal, Chácara Eldorado, Chácara Bálsamo, Condomínio Morada do Sol e Estrada para Campo Florido) foram dispostas em transectos lineares, totalizando um esforço de captura de 8840 armadilhas x noite (Tabela 2).

Na Fazenda do Glória e a Reserva do Panga, as armadilhas foram dispostas em grades com 40 e 35 estações de captura, respectivamente, por 4 noites consecutivas. Cada estação era constituída por duas armadilhas do tipo Sherman, a menor (25 x 8 x 9 cm) era colocada na árvore a aproximadamente 1,5 metros do solo, e a maior (31 x 8 x 9 cm) no solo. Nas localidades do grupo 2 as armadilhas foram dispostas em transectos lineares com 20 estações e uma armadilha por estação, durante 5 noites consecutivas. Nos transectos havia 5 armadilhas do tipo Tomahawk (40 x 12 x 12 cm) e 15 do tipo Sherman (30 x 7 x 9 cm).

Para as capturas as armadilhas foram iscadas com massa constituída de banana, paçoca (doce de amendoim) e aveia, com reposição diária. Os animais capturados foram colocados em sacos de tecido de algodão e anestesiados com associação anestésica 9:1 de cetamina (Cloridrato de Cetamina 10% - Syntec) e acepran (Acepromazina 1% - Vetnil) na dosagem de 0,005 mL para cada 10 gramas do peso corpóreo. Sob efeito anestésico os pequenos mamíferos foram identificados com base em caracteres morfológicos externos (BONVICINO, DE OLIVEIRA, D'ANDREA, 2008) e marcados com brincos de identificação para permitir

seu reconhecimento no caso de recaptura (Figura 3). Foram coletados dos animais 0,5 a 1 ml de amostras de sangue por punção da veia caudal ou punção cardíaca (Figura 4), após a retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 5000 g por 10 minutos e o soro transferido para outro tubo e armazenado a -20°C até o uso. No caso de animais recapturados somente a primeira amostra de sangue foi analisada.

Os animais do grupo 1 eram soltos nas estações de captura após a recuperação da anestesia, ao passo que todos os animais do grupo 2 foram sacrificados e enviados para o Museu Nacional da UFRJ (Universidade Federal do Rio de Janeiro).



Figura 3. Brinco de identificação do roedor.



Figura 4. Coleta de sangue por punção da veia caudal.

Tabela 2. Cronograma, número de armadilhas usadas por campanha e o esforço amostral, nas campanhas de capturas de pequenos mamíferos realizadas entre os meses de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.

Grupo	Área	Número de armadilhas/campanha														Esforço amostral (armadilhas x noite)
		2011						2012								
		Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Maio	Jun	Jul	Ago	
G1 (grade)	Fazenda do Glória	80	-	80	-	80	80	80	80	80	80	80	-	-	-	2880
	Reserva do Panga	-	-	-	-	-	70	70	70	70	-	-	70	-	-	1400
G2 (transecto)	Fazenda do Glória	-	-	-	-	-	40	-	-	20	-	-	-	-	20	400
	Fazenda Veadinho	-	-	-	-	-	60	-	-	40	-	-	-	-	40	700
	Fazenda da Fernanda	-	-	-	-	-	20	-	-	20	-	-	-	-	20	300
	Instituto Federal	-	-	-	-	-	40	-	-	20	-	-	-	-	20	400
	Chácaras Eldorado	-	-	-	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	40	400
	Chácara Bálsamo	-	-	-	-	-	40	-	-	40	-	-	-	-	40	600
	Condomínio Morada do Sol	-	-	-	-	-	40	-	-	-	-	60	-	-	-	680
	Estrada para Campo Florido	-	-	-	-	-	40	-	-	40	-	60	-	-	40	1080
Total																8840

3.3. Coleta de carrapatos

Os roedores e marsupiais capturados foram minuciosamente examinados e seus carrapatos coletados com pinça (Figura 5). Carrapatos ainda pouco alimentados foram armazenados em álcool isopropílico, e aqueles ingurgitados foram mantidos vivos em estufa BOD a 27°C, umidade relativa de, aproximadamente, 80% e fotoperíodo de 12/12h, para sofrerem ecdise. Este procedimento visou à obtenção de ninfas ou adultos de carrapatos, para as quais existem chaves de identificação (ONOFRIO et al., 2006a; ONOFRIO et al., 2006b; MARTINS et al., 2010). Na análise dos carrapatos estão incluídas amostras coletadas nos animais recapturados, uma vez que o intuito maior era conhecer a diversidade de espécies de vetores nos pequenos mamíferos da região periurbana de Uberlândia.

Carrapatos do ambiente foram coletados em todas as localidades do estudo, por arraste (Figura 6) como descrito por Terassini et al. (2010), com flanelas claras de 1 x 2 m arrastadas sobre a vegetação por 100 metros em trilhas, sempre no horário de 8 às 10 horas. Todos os carrapatos coletados desta maneira foram armazenados em álcool isopropílico 100%.



Figura 5. Vistoria do roedor a procura de carrapatos fixados (esquerda). Carrapatos fixados no roedor (direita) (Uberlândia, MG, 2011-2012).



Figura 6. Coleta de carrapatos no ambiente por arraste (Uberlândia, MG, 2011-2012).

3.4. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-riquetsias em roedores e marsupiais

Para detecção e avaliação de títulos sorológicos de anticorpos anti-riquetsia, foi realizada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Utilizou-se antígenos de cinco espécies de riquetsias isoladas no Brasil: *R. rickettsii* cepa Taiaçu, *R. parkeri* cepa At24, *R. amblyommii* cepa Ac37, *R. rhipicephali* cepa HJ5, *R. bellii* cepa Mogi das Cruzes, em lâminas recobertas com os antígenos conforme descrito por Labruna et al. (2007).

A RIFI foi realizada de acordo com trabalhos prévios (HORTA et al., 2004; LABRUNA et al., 2007; PACHECO et al., 2007). De forma resumida, os soros diluídos a 1:64 em solução salina tamponada com fosfato (PBS; pH 7,4) foram aplicados às lâminas contendo os antígenos fixados e incubados por 30 minutos a 37°C em câmara úmida, seguida por duas lavagens de 10 minutos com tampão de lavagem (PBS com Triton X-100). Após a secagem das lâminas foi instilado conjugado apropriado, seguido de incubação a 37°C por 30 minutos. Na sequência, as lâminas foram lavadas duas vezes por 10 minutos com tampão de lavagem acrescido de Azul de Evans. Após a secagem, à temperatura ambiente e protegidas da luz, recobriram-se as lâminas com glicerina tamponada (pH 9,0) e lamínula. A reação foi avaliada sob microscópio de imunofluorescência (ZEISS – SCOPE A1) em aumento de 40x. Cada lâmina preparada com soros teste era acompanhada de soros controle sabidamente positivo e negativo. Os soros que foram considerados positivos (título ≥ 64) na triagem foram titulados. Para isso, as amostras foram diluídas em série na razão dois e avaliadas por RIFI para obtenção da maior diluição reativa, definindo o título daquele soro.

Considerando a diversidade de espécies de roedores capturados, todos os soros destes animais foram testados na triagem com dois anticorpos secundários: 1- Anti-imunoglobulina G de rato (conjugado anti-rato) (Sigma, IgG de cabra conjugado a FITC) e 2- Anti-

imunoglobulina G de camundongo (anti-camundongo) (Sigma, IgG de ovelha conjugado a FITC), com exceção dos soros de *Mus musculus* que foram testados somente com conjugado anti-camundongo. Na triagem, o conjugado de melhor reatividade foi considerado para a titulação. Os soros dos marsupiais foram testados com anti-imunoglobulina G de gambá (IgG de coelho conjugado a FITC) produzido pelo Centro de Controle de Zoonoses de São Paulo (CCZ/SP).

3.5. Licenças

Os procedimentos descritos foram aprovados pela Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (Nº 071/11) (Anexo 1). Licenças para a captura dos pequenos mamíferos foram expedidas pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) via Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), sob nº 22629-1 e nº 13373-1, e licença para coleta de ixodídeos sob nº 10762-1.

Resultados

4. RESULTADOS

4.1. Roedores silvestres e marsupiais capturados

Com esforço amostral de 8840 armadilhas x noite, foram capturados 416 animais. Destes, 48 são da ordem Marsupialia, representada por duas espécies; *Didelphis albiventris* e *Gracilinanus agilis*; e 368 animais da ordem Rodentia, com uma espécie da subfamília Murinae (*Mus musculus*) e dez espécies da subfamília Sigmodontinae (*Calomys* sp., *Cerradomys* sp., *Euryoryzomys* sp., *Hylaeamys megacephalus*, *Necomys lasiurus*, *Nectomys* sp., *Oecomys bicolor*, *Oligoryzomys* sp., *Oxymycterus* sp., *Rhipidomys macrurus*).

4.2. Carrapatos coletados

Dos 416 mamíferos capturados, 48 estavam infestados (Tabela 3). Foram coletados carrapatos em todos os estágios parasitários de animais capturados e recapturados na mesma semana e em outras campanhas; 41 espécimes de larvas de *Amblyomma* sp. e 29 de *Ixodes* sp., destas haviam 5 ingurgitadas que sofreram ecdise, 13 espécimes de ninfas de *A. dubitatum* e 56 de *Ixodes* sp., das quais 14 ingurgitadas que sofreram ecdise foram identificadas como *Ixodes loricatus*, e os seis adultos de *Ixodes loricatus* (Tabela 4 e 5).

Das nove localidades pesquisadas apenas cinco apresentaram carrapatos no ambiente, totalizando 48 espécimes, sendo 29 larvas de *Amblyomma* sp., nove ninfas e dez adultos de *A. cajennense* (Tabela 6).

Fotos dos carrapatos coletados nos hospedeiros e no ambiente encontram-se no Apêndice 1.

Tabela 3. Número, prevalência e intensidade média de carrapatos por espécie de hospedeiros, capturados e recapturados de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.

Ordem	Espécie de mamíferos	nº mamíferos capturados	nº mamíferos infestados*	nº carrapatos	Prevalência (%)	Intensidade média
Marsupialia	<i>Didelphis albiventris</i>	8	3	19	37,5	6,3
	<i>Gracilinanus agilis</i>	40	7	16	17,5	2,3
Rodentia	<i>Calomys</i> sp.	32	0	0	-	-
	<i>Cerradomys</i> sp.	13	0	0	-	-
	<i>Euryoryzomys</i> sp.	1	0	0	-	-
	<i>Hylaeamys megacephalus</i>	35	21	47	60	2,2
	<i>Mus musculus</i>	2	0	0	-	-
	<i>Necomys lasiurus</i>	166	4	4	2,4	1
	<i>Nectomys</i> sp.	1	0	0	-	-
	<i>Oecomys bicolor</i>	11	0	0	-	-
	<i>Oligoryzomys</i> sp.	16	6	41	37,5	6,8
	<i>Oxymycterus</i> sp.	5	0	0	-	-
	<i>Rhipidomys macrurus</i>	86	7	8	8,1	1,1
Total		416	48	135	11,54	2,8

* Os dados referem-se somente as capturas e recapturas mensais, os animais infestados e recapturados na mesma campanha não foram considerados para o cálculo de prevalência e intensidade média.

Tabela 4. Número de carrapatos por espécie de hospedeiros capturados e recapturados de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.

Ordem	Espécie	Nº capturados/ Nº infestados*	Nº de carrapatos	Estágio evolutivo		
				Larva	Ninfa	Adulto
Marsupialia	<i>Didelphis albiventris</i>	8/3	22	14	3	5
	<i>Gracilinanus agilis</i>	40/7	19	12	6	1
Rodentia	<i>Calomys</i> sp.	32/0	-	-	-	-
	<i>Cerradomys</i> sp.	13/0	-	-	-	-
	<i>Euryoryzomys</i> sp.	1/0	-	-	-	-
	<i>Hylaeamys megacephalus</i>	35/21	50	12	38	-
	<i>Mus musculus</i>	2/0	-	-	-	-
	<i>Necromys lasiurus</i>	166/4	4	3	1	-
	<i>Nectomys</i> sp.	1/0	-	-	-	-
	<i>Oecomys bicolor</i>	11/0	-	-	-	-
	<i>Oligoryzomys</i> sp.	16/6	41	24	17	-
	<i>Oxymycterus</i> sp.	5/0	-	-	-	-
	<i>Rhipidomys macrurus</i>	86/7	9	5	4	-
Total		416/48	145	70	69	6

* Os dados referem-se aos animais capturados e recapturados na mesma campanha e em campanhas diferentes.

Tabela 5. Relação das espécies de carrapatos por espécie de pequenos mamíferos capturados e recapturados de julho de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.

Espécie de mamíferos	Número do indivíduo	Larva		Ninfa		Adulto	
		<i>Ixodes</i> sp.†	<i>Amblyomma</i> sp.	<i>Ixodes</i> sp.	<i>Ixodes loricatus</i> *	<i>Amblyomma dubitatum</i>	<i>Ixodes loricatus</i>
<i>D. albiventris</i>	1					2	
<i>D. albiventris</i>	1 ®					1	
<i>D. albiventris</i>	1 ®						2
<i>D. albiventris</i>	1 ®						1
<i>D. albiventris</i>	2						1
<i>D. albiventris</i>	2 ®						1
<i>D. albiventris</i>	3		14				
<i>G.agilis</i>	4	1		4			
<i>G.agilis</i>	4 ®	3					
<i>G.agilis</i>	5	2					1
<i>G.agilis</i>	5 ®	2					
<i>G.agilis</i>	6			1			
<i>G.agilis</i>	7	1					
<i>G.agilis</i>	8	2					
<i>G.agilis</i>	9	1					
<i>G.agilis</i>	10				1		
<i>H. megacephalus</i>	11					1	
<i>H. megacephalus</i>	12				1		
<i>H. megacephalus</i>	13			1		1	
<i>H. megacephalus</i>	13®			1			
<i>H. megacephalus</i>	14			2			
<i>H. megacephalus</i>	14®	1					
<i>H. megacephalus</i>	15	1					
<i>H. megacephalus</i>	16			1			
<i>H. megacephalus</i>	16 ®			1			
<i>H. megacephalus</i>	17				1		
<i>H. megacephalus</i>	18			1			
<i>H. megacephalus</i>	19			1	1		
<i>H. megacephalus</i>	20			2			
<i>H. megacephalus</i>	20 ®				1		
<i>H. megacephalus</i>	21	1					
<i>H. megacephalus</i>	21 ®			11	1		
<i>H. megacephalus</i>	21 ®			1			
<i>H. megacephalus</i>	22	1					
<i>H. megacephalus</i>	23				2		
<i>H. megacephalus</i>	24			1			
<i>H. megacephalus</i>	25	1			2		
<i>H. megacephalus</i>	26				1		
<i>H. megacephalus</i>	27	1					

Continuação Tabela 5.

Espécie de mamíferos	Número do indivíduo	Larva		Ninfa		Adulto		
		<i>Ixodes</i> sp.†	<i>Amblyomma</i> sp.	<i>Ixodes</i> sp.	<i>Ixodes loricatus</i> *	<i>Amblyomma dubitatum</i>	<i>Ixodes loricatus</i>	<i>Amblyomma dubitatum</i>
<i>H. megacephalus</i>	28	4			2			
<i>H. megacephalus</i>	29	1						
<i>H. megacephalus</i>	30	1						
<i>H. megacephalus</i>	31				1			
<i>N. lasiurus</i>	32					1		
<i>N. lasiurus</i>	33		1					
<i>N. lasiurus</i>	34		1					
<i>N. lasiurus</i>	35		1					
<i>Oligoryzomys</i> sp.	36			2				
<i>Oligoryzomys</i> sp.	37					1		
<i>Oligoryzomys</i> sp.	38					1		
<i>Oligoryzomys</i> sp.	39			9				
<i>Oligoryzomys</i> sp.	40		1					
<i>Oligoryzomys</i> sp.	41		23			4		
<i>R. macrurus</i>	42	1						
<i>R. macrurus</i>	43			2				
<i>R. macrurus</i>	44	1						
<i>R. macrurus</i>	45	1						
<i>R. macrurus</i>	45 ®	1						
<i>R. macrurus</i>	46					1		
<i>R. macrurus</i>	47	1						
<i>R. macrurus</i>	48			1				
Total		29	41	42	14	13	6	0

† Todas as larvas coletadas, inclusive as larvas ingurgitadas que sofreram ecdise;

* Ninfas de *Ixodes* sp. ingurgitadas que sofreram ecdise e foram identificadas com *Ixodes loricatus*;

® Recaptura.

Tabela 6. Carrapatos coletados no ambiente nos locais de captura de pequenos mamíferos entre os meses de dezembro de 2011 a agosto de 2012, no município de Uberlândia, MG.

Local de coleta	Data	Espécie	Estágio evolutivo		
			Larva	Ninfa	Adulto
Reserva do Panga	fev/12	<i>Amblyomma cajennense</i>	-	-	3
Condomínio Morada do Sol	fev/12	<i>Amblyomma cajennense</i>	-	-	2
Estrada para Campo Florido	mar/12	<i>Amblyomma cajennense</i>	-	-	1
Reserva do Panga	mar/12	<i>Amblyomma cajennense</i>	-	-	3
Reserva do Panga	jun/12	<i>Amblyomma cajennense</i>	-	-	1
Fazenda do Glória	ago/12	<i>Amblyomma</i> sp.	29	-	-
Fazenda Veadinho	ago/12	<i>Amblyomma cajennense</i>	-	9	-
Total			29	9	10

4.3. Sorologia para riquetsias

Animais soropositivos foram encontrados em oito locais (Figura 7). Do total de 416 soros testados contra cinco antígenos de *Rickettsia* spp., 70 (16,8%) foram positivos para pelo menos um antígeno, destes 19 (27,1%) são marsupiais e 51 (72,8%) roedores (Tabela 7). Das amostras positivas, 46 (65,7%) foram reativas para uma espécie de *Rickettsia* sp., oito (11,4%) para duas espécies, cinco (7,1%) para três e cinco espécies, e seis (8,6%) para as quatro espécies de riquetsias testadas.

Para 37 animais soropositivos, foi definido o possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS), ou seja, soro com título pelo menos quatro vezes superior para uma espécie de riquetsia frente a todas as outras testadas, sendo considerada reação homóloga para este antígeno (Horta et al., 2004; Pacheco et al. 2007) (Apêndice 2 e 3). Nesta análise foram detectados nove animais soropositivos para *R. rickettsii*, quatro para *R. parkeri* e *R. rhipicephali*, e vinte para *R. bellii* (Tabela 8).

A sorologia dos roedores foi realizada com dois anticorpos secundários optando pelo de melhor reatividade para a titulação. Dos 51 soros positivos, 28 foram titulados com conjugado anti-rato e 23 com anti-camundongo.

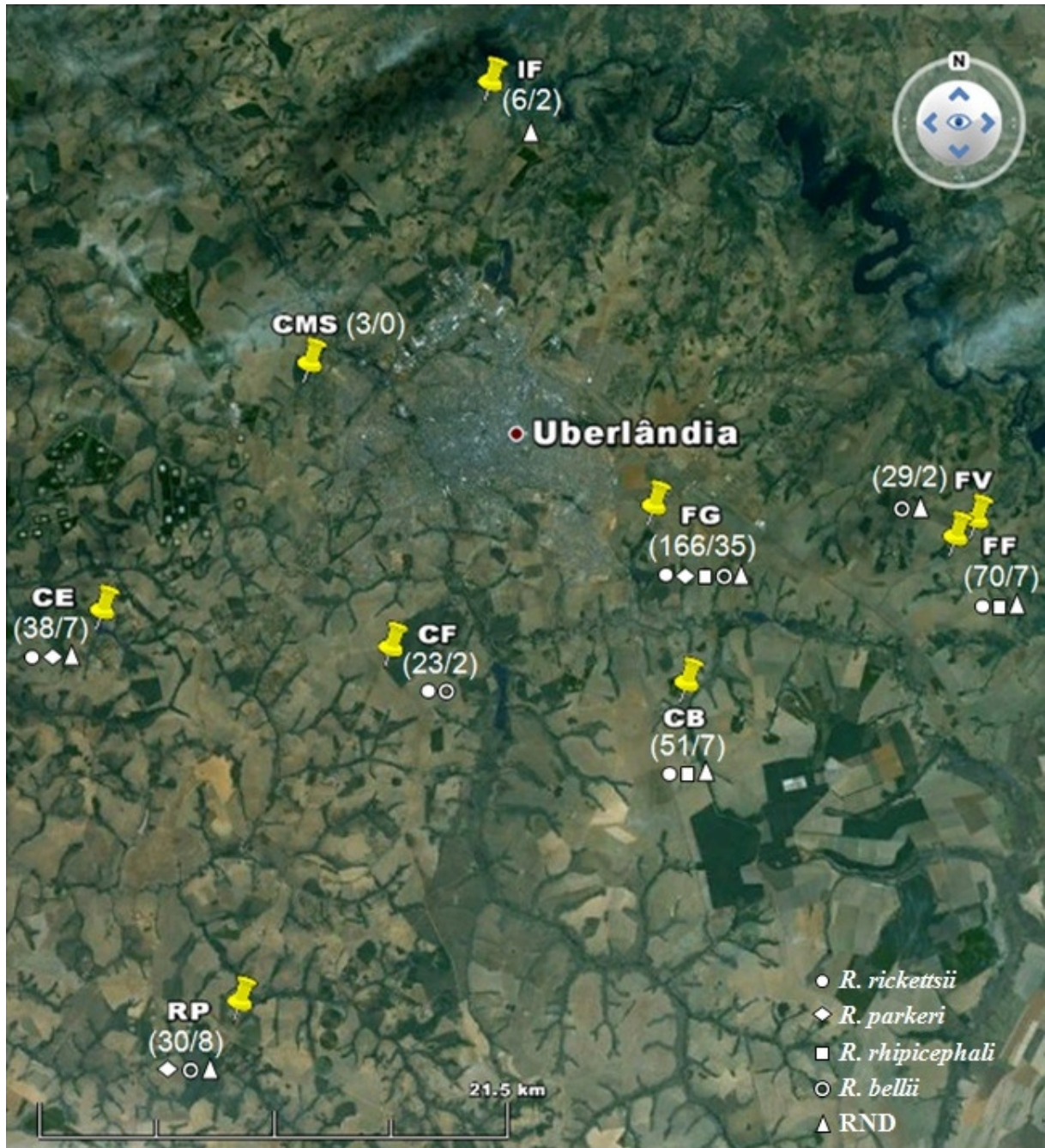


Figura 7. Distribuição de pequenos mamíferos soropositivos para *Rickettsia* spp. do grupo da febre maculosa e *R. bellii*, e possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS), no município de Uberlândia, de julho de 2011 a agosto de 2012.

Fazenda do Glória (FG); Reserva do Panga (RP); Fazenda Veadinho (FV); Fazenda da Fernanda (FF); Instituto Federal (IF); Chácara Eldorado (CE); Chácara Bálsamo (CB); Condomínio Morada do Sol (CMS); Estrada para Campo Florido (CF); Os números entre parênteses referem-se (Nº de animais capturados por área/ Nº de animais soropositivos por área); RND (Espécie de *Rickettsia* não definida).

(Fonte: Google Earth)

Tabela 7. Percentual de amostras de soro reativas para *Rickettsia* spp. do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii* em pequenos mamíferos capturados de julho de 2011 a agosto de 2012 no município de Uberlândia, MG.

Ordem	Espécie	Nº capturados/ Nº soro positivo	Prevalência soros positivos (%)
Marsupialia	<i>Didelphis albiventris</i>	8/3	37,5
	<i>Gracilinanus agilis</i>	40/16	40
Rodentia	<i>Calomys</i> sp.	32/1	3,1
	<i>Cerradomys</i> sp.	13/4	30,8
	<i>Euryoryzomys</i> sp.	1/1	100
	<i>Hylaeamys megacephalus</i>	35/2	5,7
	<i>Mus musculus</i>	2/0	-
	<i>Necomys lasiurus</i>	166/18	10,8
	<i>Nectomys</i> sp.	1/1	100
	<i>Oecomys bicolor</i>	11/0	-
	<i>Oligoryzomys</i> sp.	16/1	6,2
	<i>Oxymycterus</i> sp.	5/3	60
	<i>Rhipidomys macrurus</i>	86/20	23,2
Total		416/70	16,8

Tabela 8. Relação do possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS) com as espécies de pequenos mamíferos capturados de julho de 2011 a agosto de 2012 no município de Uberlândia, MG.

Espécie de mamíferos	Nº soro positivo	PAIRS				RND
		R. <i>rickettsii</i>	R. <i>parkeri</i>	R. <i>hipicephali</i>	R. <i>bellii</i>	
<i>Didelphis albiventris</i>	3	1	-	-	2	-
<i>Gracilinanus agilis</i>	16	-	1	1	9	5
<i>Calomys</i> sp.	1	-	-	-	-	1
<i>Cerradomys</i> sp.	4	1	-	-	1	2
<i>Euryoryzomys</i> sp.	1	-	-	-	-	1
<i>Hylaeamys megacephalus</i>	2	-	-	1	-	1
<i>Mus musculus</i>	0	-	-	-	-	-
<i>Necomys lasiurus</i>	18	4	1	1	1	11
<i>Nectomys</i> sp.	1	-	-	-	-	1
<i>Oecomys bicolor</i>	0	-	-	-	-	-
<i>Oligoryzomys</i> sp.	1	-	1	-	-	-
<i>Oxymycterus</i> sp.	3	1	-	1	-	1
<i>Rhipidomys macrurus</i>	20	2	1	-	7	10
Total	70	9	4	4	20	33

RND: Espécie de *Rickettsia* não definida

Discussão

5. DISCUSSÃO

As infestações por carrapatos nos pequenos mamíferos observadas neste estudo foram às esperadas, uma vez que dos *D. albiventris* capturados, três estavam parasitados por estágios imaturos de *Amblyomma* sp. e adultos de *I. loricatus*. Estes achados corroboram com dados anteriores que relatam marsupiais do gênero *Didelphis* como hospedeiros de estágios imaturos do gênero *Amblyomma* (LABRUNA, 2009) e adultos de *I. loricatus* (SCHUMAKER et al., 2000). A outra espécie de marsupial, *G. agilis*, estava infestada com imaturos de *Ixodes* sp., parasitismo já relatado anteriormente neste gênero (MARQUES et al., 2004), e um adulto de *I. loricatus*, que se constitui no primeiro relato desta espécie de adulto de carrapato neste hospedeiro.

Das 11 espécies de roedores silvestres capturados, quatro espécies estavam infestadas por carrapatos (*H. megacephalus*, *N. lasiurus*, *Oligoryzomys* sp. e *R. macrurus*). Nestes animais foram coletadas larvas de *Ixodes* spp. e *Amblyomma* spp., e ninfas de *A. dubitatum* e *Ixodes* sp. Estes achados confirmam a importância de pequenos mamíferos como hospedeiros para fases imaturas dos ixodídeos (MARQUES et al., 2004). A adequação destes hospedeiros para o ciclo de vida dos carrapatos foi reforçada pela coleta de carrapatos ingurgitados ou semingurgitados, e que em sua maioria, sofreram muda.

Merece menção também a ligação estabelecida entre roedores e marsupiais no ciclo de vida de carrapatos; nos roedores foram encontradas larvas e ninfas de *Ixodes* sp. (algumas identificadas como *I. loricatus* após sofrerem muda para adulto), e adultos de *I. loricatus* foram coletados em marsupiais *D. albiventris*. Este fato reforça as observações de Nava e Guglielmone (2012), os quais ressaltam que roedores e marsupiais compartilham o mesmo habitat e, consequentemente, as mesmas espécies de carrapatos. Este compartilhamento de

carrapatos abre caminho para a transmissão de microorganismos de uma espécie hospedeira para outra.

Capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) é considerada hospedeiro amplificador do agente da FMB, a *R. rickettsii*, em áreas endêmicas (LABRUNA, 2009; SOUZA et al., 2009). A capivara é também hospedeiro primário para todos os estágios parasitários do carrapato *A. dubitatum*. Entretanto de maneira geral, os estágios imaturos apresentam uma menor especificidade, e como consequência alimentam-se também em outros hospedeiros (LABRUNA, PINTER, TEIXEIRA, 2004). Em nosso trabalho, espécimes de *A. dubitatum* foram coletados em pequenos mamíferos na Fazenda do Glória, onde há relatos da presença de capivaras (ALVES, 2010), na Chácara Bálsamo, e nas Chácaras Eldorado.

Do carrapato *A. dubitatum* foram detectadas e/ou isoladas as riquetsias, *R. belli*, *R. parkeri* e *Rickettsia* sp. cepa Pampulha (LABRUNA et al., 2004; HORTA et al., 2007; PACHECO et al., 2009; ALMEIDA et al., 2011). Assim, podemos conjecturar que se esta espécie de carrapato estiver infectada com *Rickettsia* spp. pode vir a participar do ciclo de transmissão de riquetsias a outros hospedeiros. As observações em nosso trabalho das formas imaturas de carrapatos *A. dubitatum* parasitando roedores sigmodontíneos e marsupiais, indica a necessidade de estudos destes mamíferos na epidemiologia da FMB. O estudo destas relações é importante principalmente em áreas endêmicas e onde há capivaras, pois não há informação precisa sobre a origem das riquetsias que depois são amplificadas na infecção de capivaras, para centenas a milhares de carrapatos (LABRUNA, 2009).

A presença de *A. cajennense* nos ambientes estudados é resultado que deve ser analisado com cautela, já que esta espécie é considerada o principal vetor e também um reservatório da *R. rickettsii* no Brasil, e seus estágios imaturos são muito agressivos ao ser humano (ROZENTAL et al., 2009; LABRUNA, 2009). Apesar de ser o principal vetor para *R. rickettsii*, o *A. cajennense* não é um bom hospedeiro para esta riquetsia, em consequência

da patogenicidade da bactéria aos carrapatos em que observa-se uma baixa prevalência da bactéria em populações deste carrapato em áreas endêmicas no sudeste brasileiro (LABRUNA, 2009; SOARES et al., 2011). Em nosso trabalho o parasitismo dos pequenos mamíferos por *A. cajennense* não pôde ser comprovado. Não foi observada nenhuma ninfa deste carrapato nos animais, porém não podemos descartar a infestação por larvas deste carrapato em função da não identificação das espécies. Merece menção, entretanto, que nos trabalhos em que se realizou a identificação de larvas e ninfas de pequenos mamíferos, após alimentação em laboratório para obtenção das ninfas e adultos correspondentes, ou pela identificação molecular, a infestação por *A. cajennense* sempre foi baixa (Ramos comunicação pessoal). No conjunto estas observações sugerem a pequena participação de pequenos roedores na alimentação e eventual infecção por riquetsias de imaturos de *A. cajennense*, mesmo que o carrapato seja muito prevalente no ambiente.

Devido a grande diversidade de espécies de roedores capturadas, decidiu-se utilizar na triagem dos soros, dois anticorpos secundários (anti-rato e anti-camundongo), optando pelo de melhor reatividade para a titulação. Analisando a distância filogenética entre as espécies de roedores capturadas com as espécies usadas na preparação dos anticorpos, *Rattus rattus* e *Mus musculus*, verificamos que a distância filogenética é semelhante e, por isso, o uso de qualquer um dos conjugados não influenciaria no resultados. Isso foi confirmado pelos 51 soros de roedores positivos, destes 28 foram titulados com conjugado anti-rato e 23 com anti-camundongo. Porém, em análise qualitativa das reações de imunofluorescência, o conjugado anti-rato apresentou melhor reatividade.

Observou-se em nosso trabalho uma prevalência média de 16,8% na sororreatividade contra riquetsias em pequenos mamíferos de Uberlândia. Ademais, animais sororeativos foram capturados em oito das nove localidades estudadas, sugerindo uma distribuição ampla de *Rickettsia* spp. na área periurbana de Uberlândia. A sororreatividade em pequenos

mamíferos contra *Rickettsia* spp. foi descrita em vários estudos e indica que estes vertebrados são hospedeiros sentinelas (LABRUNA, 2009; MILAGRES et al., 2010), o que possibilita a avaliação epidemiológica de uma área, e a estimativa do risco de infecção humana. Infelizmente o teste sorológico RIFI não permite distinguir a espécie de riquetsia responsável pela produção do anticorpo, devido à ocorrência de reação cruzada com os antígenos das diversas espécies de riquetsias. Esta reação ocorre devido à presença de epítomos semelhantes em diferentes espécies do gênero *Rickettsia* (SAITO et al., 2008), entretanto, os títulos de anticorpos homólogos são mais elevados do que os títulos de anticorpos heterólogos. Por este motivo, se o título de anticorpos contra determinada espécie de riquetsia for pelo menos quatro vezes superior as demais, ela pode ser considerada a espécie homóloga e responsável pela infecção que estimulou o sistema imune do hospedeiro (LA SCOLA, RAOULT, 1997; HORTA et al., 2004).

Nestas condições nossos resultados indicam a circulação de quatro espécies de riquetsias, *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali* e *R. bellii*, próximo à área urbana do município de Uberlândia (Figura 7). Dentre as riquetsias, a *R. bellii* foi a mais prevalente, notadamente em marsupiais. Esta maior prevalência se justifica pela presença em nossa amostragem de carrapatos, o *A. dubitatum* e *I. loricatus*, e hospedeiros marsupiais sabidamente associados a transmissão e infecção por esta espécie de riquetsia (PACHECO et al., 2009; SZABÓ et al., 2013 – no prelo).

Por outro lado, as espécies *R. rickettsii* e *R. parkeri* são consideradas patogênicas ao homem (LABRUNA, 2009) e, por isso, sua presença na região deverá ser confirmada por métodos moleculares ou isolamento. Porém deve-se ressaltar que, de forma geral os títulos de anticorpos encontrados foram baixos na maioria das amostras, sugerindo infecções brandas ou antigas, sem a presença de um foco ativo de multiplicação de riquetsias.

Pequenos mamíferos são de suma importância para ecologia de alguns patógenos, a exemplo, para o *Borrelia burgdorferi*, o agente etiológico da Doença de Lyme. Levi e colaboradores (2012) confirmaram o modelo teórico que ilustra a redução dos predadores de pequenos mamíferos e, conseqüentemente, o aumento desta população, como fator de influência direta no aumento de prevalência da Doença de Lyme, isso porque os pequenos mamíferos são os hospedeiros para as fases imaturas do carrapato vetor da *B. burgdorferi*.

Esta importante participação dos pequenos mamíferos na cadeia de transmissão da *B. burgdorferi*, nos alerta para uma investigação mais minuciosa por meio de técnicas moleculares, para a confirmação das espécies de riquétsias circulantes no município, visto que há espécies de roedores e marsupiais soropositivos para riquétsias e há carrapatos vetores associados a estes mamíferos na área periurbana.

Portanto, a área periurbana, uma área que está em constante modificação devido à ação antrópica, tem como resultado a aproximação do homem ao ambiente natural, da fauna e seus patógenos. Neste cenário, há um desequilíbrio ecológico na relação parasito-hospedeiro (Queirogas, 2010), o que favorece a transmissão acidental de patógenos ao homem. Neste sentido, constante vigilância epidemiológica deve ocorrer no município de Uberlândia, para que medidas preventivas possam ser definidas.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

- Pequenos mamíferos da região de Uberlândia são infestados por larvas de *Amblyomma* spp. e *Ixodes* spp., ninfas de *A. dubitatum*, *Ixodes* spp. e *I. loricatus*, e adultos de *I. loricatus*;
- Roedores e marsupiais soropositivos contra *Rickettsia* spp. foram detectados no município de Uberlândia, com reação homóloga contra quatro espécies, *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali* e *R. bellii*;
- *Amblyomma cajennense* foi coletado no ambiente, resultado importante, visto que esta espécie é considerada o principal vetor e também um reservatório da *R. rickettsii* no Brasil, e seus estágios imaturos são muito agressivos ao ser humano;
- Este trabalho possibilitou conhecer a situação do município de Uberlândia com relação à circulação de *Rickettsia* spp., sendo o passo inicial para mais estudos na região. É um alerta as autoridades que devem manter constante vigilância epidemiológica.

Referências Bibliográficas

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.P.; CUNHA, L.M.; BELLO, A.C.P.P.; DA CUNHA, A.P.; DOMINGUES, L.N.; LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B. A novel *Rickettsia* infecting *Amblyomma dubitatum* ticks in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 2, p. 209-212, 2011.

ALVES, G.B. **Mamíferos de médio e grande porte em fragmentos de Cerrado na Fazenda Experimental do Glória (Uberlândia, MG)**. 52 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2010.

ANGERAMI, R.N.; DA SILVA, A.M.; NASCIMENTO, E.M.; COLOMBO, S.; WADA, M.Y.; DOS SANTOS, F.C.; MANCINI, D.M.; DE OLIVEIRA, R.C.; KATZ, G.; MARTINS, E.C.; DA SILVA, L.J. Brazilian spotted fever: two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, suppl. 2, p. 207-208, 2009.

BARBIERI, A.R.M.; ROMERO, L.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* infecting *Amblyomma sabanerae* ticks in El Salvador. **Pathogens and Global Health**, v. 106, n. 3, p. 188-189, 2012.

BONVICINO, C.R.; DE OLIVEIRA, J.A.; D'ANDREA, P.S. **Guia dos Roedores do Brasil, com chave para gêneros baseadas em caracteres externos**. Centro Pan-Americano de Febre Aftosa - OPAS/OMS, Rio de Janeiro, p. 120, 2008.

BURGDORFER, W. Tick-borne diseases in the United States: Rocky Mountain spotted fever and Colorado tick fever. **Acta Tropica**, v. 34, p. 103-126, 1977.

BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrub typhus. In:____. **Biology of rickettsial diseases**. CRC, Boca Raton. Cap. 1, p. 33-50, 1988.

BURGDORFER, W.; FRIEDHOFF, K.T.; LANCASTER JR, J.L. Natural History of Tick-borne Spotted Fever in the USA: Susceptibility of Small Mammals to Virulent *Rickettsia rickettsii*. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 35, n. 2, p. 149-153, 1966.

COMER, J.A.; PADDOCK, C.D.; CHILDS, J.E. Urban zoonoses caused by *Bartonella*, *Coxiella*, *Ehrlichia*, and *Rickettsia* species. **Vector Borne Zoonotic Disease**, v. 1, p. 91-118, 2001.

DEL FIOL, F.S.; JUNQUEIRA, F.M.; ROCHA, M.C.P.; TOLEDO, M.I.; BARBERATO FILHO, S. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n. 6, p. 461–466, 2010.

FOURNIER, P-E.; RAOULT, D. Bacteriology, Taxonomy and Phylogeny of *Rickettsia*. In: RAOULT, D.; PAROLA, P. **Rickettsial diseases**. (eds) Informa Healthcare, New York. Cap. 1, p. 379, 2009.

FRANKE, J.; FRITZSCH, J.; TOMASO, H.; STRAUBE, E.; DORN, W.; HILDEBRANDT, A. Coexistence of pathogens in host-seeking and feeding ticks within a single natural habitat

in Central Germany. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 20, p. 6829-6836, 2010.

GEHRKE, F.S.; GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; RIBEIRO, A.; MARRELLI, M.T.; SCHUMAKER, T.T. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio de Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, suppl. 2, p. 267-268, 2009.

GILLESPIE, J.J.; WILLIAMS, K.; SHUKLA, M.; SNYDER, E.E.; NORDBERG, E.K.; CERAUL, S.M.; DHARMANOLLA, C.; RAINEY, D.; SONEJA, J.; SHALLOM, J.M.; VISHNUBHAT, N.D.; WATTAM, R.; PURKAYASTHA, A.; CZAR, M.; CRASTA, O.; SETUBAL, J.C.; AZAD, A.F.; SOBRAL, B.S. *Rickettsia* phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. **PLoS One**, v. 3, n. 4, 2008.

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

GUGLIELMONE, A.A.; NAVA, S. Rodents of the subfamily Sigmodontinae (Myomorpha: Cricetidae) as hosts for South American hard ticks (Acari: Ixodidae) with hypotheses on life history. **Zootaxa**, v. 2904, p. 45–65, 2011.

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

HORTA, M.C.; PINTER, A.; SCHUMAKER, T.T.S.; LABRUNA, M.B. Natural infection, transovarial transmission, and transstadial survival of *Rickettsia bellii* in the tick *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 285–290, 2006.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; LINARDI, P.M.; SCHUMAKER, T.T.S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 793-801, 2007.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA). **Cidades@: Uberlândia-MG**, 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/link.php?codmun=317020>>. Acesso em 24 de setembro de 2012.

LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Laboratory Diagnosis of Rickettsioses: Current Approaches to Diagnosis of Old and New Rickettsial Diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, p. 2715-2727, 1997.

LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in South America. **The New York Academy of Sciences**, v. 1166, p. 156-166, 2009.

LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; TEIXEIRA, R.H.F. Life-cycle of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) using capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as hosts. **Experimental and Applied Acarology**, v. 32, n. 1-2, p. 79-88, 2004.

LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian Spotted Fever is endemic. **Journal Of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 1, p. 90–98, 2004.

LABRUNA, M.B.; HORTA, M.C.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; PINTER, A.; GENNARI, S.M.; CAMARGO, L.M.A. Prevalence of *Rickettsia* Infection in Dogs from the Urban and Rural Areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 2, p. 249-256, 2007.

LABRUNA, B.M.; OGRZEWALSKA, M.; SOARES, J.F.; MARTINS, T.F.; SOARES, H.S.; MORAES-FILHO, J.; NIERI-BASTOS, F.A.; ALMEIDA, A.P.; PINTER, A. Experimental Infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 829-834, 2011.

LEVIN, M.L.; KILLMASTER, L.F.; ZEMTSOVA, GE. Domestic Dogs (*Canis familiaris*) as Reservoir Hosts for *Rickettsia conorii*. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 28-33, 2012.

LEVI, T.; KILPATRICK, A.M.; MANGEL, M.; WILMERS, C.C. Deer, predators, and the emergence of Lyme disease. **PNAS**, v. 109, n. 27, p. 10942-10947, 2012.

MACALUSO, K.R.; SONENSHINE, D.E.; CERAUL, S.M.; AZAD, A.F. Rickettsial infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second *Rickettsia*. **Journal of Medical Entomology**, v. 39, n. 6, p. 809-813, 2002.

MARQUES, S.; BARROS-BATTESTI, D.M.; ONOFRIO, V.C.; FAMADAS, K.M.; FACCINI, J.L.; KEIRANS, J.E. Redescription of larva, nymph and adults of *Ixodes (I.) loricatus* Neumann, 1899 (Acari: Ixodidae) based on light and scanning electron microscopy. **Systematic Parasitology**, n. 59, p. 135-146, 2004.

MARTINS, T.F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) in Brazil: descriptions, redescrptions and identification key. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, p. 75-99, 2010.

MILAGRES, B.S.; PADILHA, A.F.; BARCELOS, R.M.; GOMES, G.G.; MONTANDON, C.E.; PENA, D.C.H.; NIERI-BASTOS, F.A.; SILVEIRA, I.; PACHECO, R.; LABRUNA, M.B.; BOUYER, D.H.; FREITAS, R.N.; WALKER, D.H.; MAFRA, C.L.; GALVÃO, M.A.M. *Rickettsia* in synanthropic and domestic animals and their hosts from two areas of low endemicity for Brazilian Spotted Fever in the eastern region of Minas Gerais, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 83, p. 1305-1307, 2010.

NAVA, S.; GUGLIELMONE, A.A. A meta-analysis of host specificity in Neotropical hard ticks (Acari: Ixodidae). **Bulletin of Entomological Research**, p. 1-9. 2012.

NICHOLSON, W.L.; MASTERS, E.; WORMSER, G.P. Preliminary serologic investigation of '*Rickettsia amblyommii*' in the aetiology of Southern tick associated rash illness (STARI). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, p. 235-236, 2009.

OGRZEWALSKA, M.; LITERAK, I.; CARDENAS-CALLIRGOS, J.M.; CAPEK, M.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* in ticks *Amblyomma varium* Koch, 1844, from birds in Peru. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 3, p. 254-256, 2012.

ONOFRIO, V.C.; LABRUNA, M.B.; BARROS-BATTESTI, D.M. Comentários e chaves para as espécies do gênero *Ixodes*. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. **Carrapatos de Importância médico-veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies**. 1 ed. São Paulo/BR: Vox/ICTTD-3/Butantan. Cap. 5, pp. 41-51, 2006a.

ONOFRIO, V.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F.G.; BARROS-BATTESTI, D.M.; Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*. In: BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. **Carrapatos de Importância médico-veterinária da Região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies**. 1 ed. São Paulo/BR: Vox/ICTTD-3/Butantan. Cap. 6, pp. 53-113, 2006b.

PACHECO, R.C.; HORTA, M.C.; MORAES-FILHO, J.; ATALIBA, A.C.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from São

Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. **Biomédica**, v. 27, p. 364-371, 2007.

PACHECO, R.C.; HORTA, M.C.; PINTER, A.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; NARDI, M.S.; DE SOUZA, S.S.A.L.; DE SOUZA, C. E.; SZABÓ, M.P.J.; RICHTZENHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 3, p. 351-353, 2009.

PADDOCK, C.D.; GODDARD, J.; SUMNER, J.W.; MCLELLAN, S.L.F.; COMER, J.A.; TAMMINGA, C.L.; ZAKI, S.R.; GOLDSMITH, C.S.; OHL, C. A.; *Rickettsia parkeri*: A Newly Recognized Cause of Spotted Fever Rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, p. 805–811, 2004.

QUEIROGAS, V.L.de., 2010. **Capivaras (Rodentia) e carrapatos (Acari: Ixodidae) [manuscrito]: alterações ecológicas e a interação do hospedeiro e parasita em áreas urbanas**. 57 p. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia. 2010.

RIBEIRO, J.F.; WALTER, B.M.T. As principais fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S.M.; DE ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: Ecologia e flora**, Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, Cap. 6, p. 152-212, 2008.

ROZENTAL, T.; FAVACHO, A.R.; BARREIRA, J.D.; OLIVEIRA, R.C.; GOMES, R.; ALMEIDA, D.N.; LEMOS, E.R. *Rickettsia* spp. infection in *Rhipicephalus sanguineus* ticks

in a Brazilian spotted fever endemic rural area in Rio de Janeiro state, Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 15, suppl. 2, p. 245-246, 2009.

RYDKINA, E.; ROUX, V.; FETISOVA, N.; RUDAKOV, N.; GAFAROVA, M.; TARASEVICH, I.; RAOULT, D. New Rickettsiae in Ticks Collected in Territories of the Former Soviet Union. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 6, p. 811-814, 1999.

SABATINI, G.S.; PINTER, A.; MARCILI, A.; NIERI-BASTOS, F.A.; LABRUNA, M.B. Survey of Ticks (Acari: Ixodidae) and Their *Rickettsia* in an Atlantic Rain Forest Reserve in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 47, n. 5, p. 913-916, 2010.

SAITO, T.B.; CUNHA-FILHO, N.A.; PACHECO, R.C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F.G.; FARIAS, N.A.R., LARSSON, C.E.; LABRUNA, M.B. Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in Southern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 79, n. 1, p. 102-108, 2008.

SCHEX, S.; DOBLER, G.; RIEHM, J.; MULLER, J.; ESSBAUER, S. *Rickettsia* spp. in wild small mammals in Lower Bavaria, South-Eastern Germany. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 5, p. 493-502, 2011.

SCHORN, S.; PFISTER, K.; REULEN, H.; MAHLING, M.; SILAGHI, C. Occurrence of *Babesia* spp., *Rickettsia* spp. and *Bartonella* spp. in *Ixodes ricinus* in Bavarian public parks, Germany. **Parasites & Vectors**, v. 4, p. 135-143, 2011.

SCHUMAKER, T.T.; LABRUNA, M.B.; ABEL-IDOS, S.; CLERICI, P.T. Life cycle of *Ixodes (Ixodes) loricatus* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, p. 714-720, 2000.

SILVA, N.; EREMEEVA, M.E.; ROZENTAL, T.; RIBEIRO, G.S.; PADDOCK, C.D.; RAMOS, E.A.G.; FAVACHO, A.R.M.; REIS, M.G.; DASCH, G.A.; DE LEMOS, E.R.S.; KO, A.I. Eschar-associated Spotted Fever Rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 2, p. 275-278, 2011.

SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO DO MINISTÉRIO DA SAÚDE (SINAN/SVS). **Portal da Saúde: Febre Maculosa – situação epidemiológica: Casos da doença no Brasil e Óbitos causados pela doença no Brasil, 2011**. Disponível em: < http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1555 >. Acesso em 01 de outubro de 2012.

SOARES, J.F.; SOARES, H.S.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 26, n. 2, p. 139–151, 2011.

SOUZA, C.E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWSKA, M.; UCHOA, F.C.; HORTA, M.C.; SOUZA, S.S.L.; BORBA, R.C.M.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Veterinary Parasitology**, v.161, p.116–121, 2009.

SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 3, 2010.

SZABÓ, M.P.J.; NIERI-BASTOS, F.A.; SPOLIDORIO, M.G.; MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, 140 (no prelo). doi:10.1017/S0031182012002065, 2013.

TERASSINI, F.A.; BARBIERI, F.S.; ALBUQUERQUE, S.; SZABÓ, M.P.J.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B. Comparison of two methods for collecting free-living ticks in the Amazonian forest. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 1, p. 194-196, 2010.

TIJSSE-KLASSEN, E.; JAMESON, L.J.; FONVILLE, M.; LEACH, S.; SPRONG, H.; MEDLOCK, J.M. First detection of spotted fever group rickettsiae in *Ixodes ricinus* and *Dermacentor reticulatus* ticks in the UK. **Epidemiology and Infection**, v. 139, n. 4, p. 524-529, 2011.

Apêndice

Apêndice 1. Fotos dos carrapatos coletados no ambiente e nos pequenos mamíferos capturados no município de Uberlândia, MG, 2011-2012.



Larva de *Ixodes* sp. (visão ventral)



Ninfa de *Ixodes* sp. (visão dorsal e ventral)

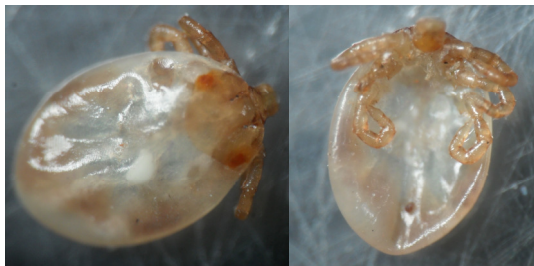


♂



♀

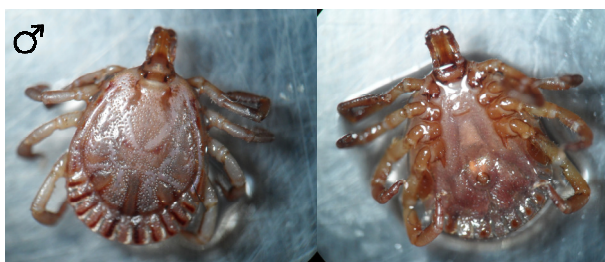
Macho e fêmea *Ixodes loricatus* (visão dorsal e ventral)



Larva (esquerda) e ninfa (direita) de *Amblyomma dubitatum* (Visão dorsal e ventral)



Gnatossoma de uma ninfa de *Amblyomma dubitatum* (esquerda), e ninfa de *Ixodes* sp.



♂



♀

Macho e fêmea *Amblyomma cajennense* (visão dorsal e ventral)

Apêndice 2. Título de anticorpos contra riquetsias do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii*, e possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS) em marsupiais do município de Uberlândia, MG, 2011-2012.

Espécie de mamíferos	Título final por antígeno					PAIRS
	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>	
<i>Didelphis albiventris</i>	256	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Didelphis albiventris</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Didelphis albiventris</i>	128	256	-	-	1024	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	64	-	-	-	*
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	256	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	128	-	<i>R. rhipicephali</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	256	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	64	-	-	-	*
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Gracilinanus agilis</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Gracilinanus agilis</i>	64	256	-	-	-	<i>R. parkeri</i>

- : soro não reativo no título 64 ou superior

* : Espécie de *Rickettsia* não definida

Apêndice 3. Título de anticorpos contra riquetsias do grupo da febre maculosa e *Rickettsia bellii*, e possível antígeno indutor da reação sorológica (PAIRS) em pequenos roedores do município de Uberlândia, MG, 2011-2012.

Espécie de mamíferos	Título final por antígeno					PAIRS
	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>	
<i>Calomys</i> sp.	-	-	-	-	64	*
<i>Cerradomys</i> sp.	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Cerradomys</i> sp.	-	-	-	-	64	*
<i>Cerradomys</i> sp.	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Cerradomys</i> sp.	512	256	256	256	64	*
<i>Euryoryzomys</i> sp.	64	64	-	64	-	*
<i>Hylaeamys megacephalus</i>	-	-	-	256	-	<i>R. rhipicephali</i>
<i>Hylaeamys megacephalus</i>	64	128	128	64	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	64	-	-	-	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	-	-	-	-	256	<i>R. bellii</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	-	128	-	-	-	<i>R. parkeri</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Necomys lasiurus</i>	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	64	-	-	-	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	64	-	-	-	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	-	-	-	128	-	<i>R. rhipicephali</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Necomys lasiurus</i>	64	-	-	128	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	128	-	-	64	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	512	128	64	-	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	256	256	256	256	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	128	128	64	64	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	256	256	64	256	-	*
<i>Necomys lasiurus</i>	512	256	128	256	-	*
<i>Nectomys</i> sp.	128	128	64	128	64	*
<i>Oligoryzomys</i> sp.	-	128	-	-	-	<i>R. parkeri</i>
<i>Oxymycterus</i> sp.	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Oxymycterus</i> sp.	-	64	-	256	-	<i>R. rhipicephali</i>
<i>Oxymycterus</i> sp.	512	512	256	512	512	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	256	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	128	-	-	-	<i>R. parkeri</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	128	-	-	-	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	256	<i>R. bellii</i>

Continuação apêndice 3.

Espécie de mamíferos	Título final por antígeno					PAIRS
	<i>R.</i> <i>rickettsii</i>	<i>R.</i> <i>parkeri</i>	<i>R.</i> <i>amblyommii</i>	<i>R.</i> <i>hipicephali</i>	<i>R.</i> <i>bellii</i>	
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	512	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	128	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	-	64	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	64	64	-	-	-	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	-	-	-	64	512	<i>R. bellii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	64	-	64	-	-	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	256	-	-	64	-	<i>R. rickettsii</i>
<i>Rhipidomys macrurus</i>	1024	512	-	512	-	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	64	128	64	-	-	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	64	64	128	64	-	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	2048	2048	1024	2048	1024	*
<i>Rhipidomys macrurus</i>	2048	2048	512	2048	512	*

- : soro não reativo no título 64 ou superior

* : Espécie de *Rickettsia* não definida

Anexo

Anexo 1. Parecer CEUA

Universidade Federal de Uberlândia
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA)
Avenida João Naves de Ávila, nº. 2160 - Bloco A, sala 224 - Campus Santa
Mônica - Uberlândia-MG –
CEP 38400-089 - FONE/FAX (34) 3239-4131; e-mail:ceua@propp.ufu.br;
www.comissoes.propp.ufu.br

**ANÁLISE FINAL Nº 185/11 DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE
ANIMAIS PARA O PROTOCOLO REGISTRO CEUA/UFU 071/11**

Projeto Pesquisa: “Caracterização de agentes zoonóticos em roedores sigmodontíneos, com ênfase em hantavírus e Rickettsia spp no Triângulo Mineiro, Minas Gerais”.

Pesquisador Responsável: Matias Pablo Juan Szabó

O protocolo não apresenta problemas de ética nas condutas de pesquisa com animais nos limites da redação e da metodologia apresentadas.

SITUAÇÃO: PROTOCOLO DE PESQUISA APROVADO.

OBS: O CEUA/UFU LEMBRA QUE QUALQUER MUDANÇA NO PROTOCOLO DEVE SER INFORMADA IMEDIATAMENTE AO CEUA PARA FINS DE ANÁLISE E APROVAÇÃO DA MESMA.

AO FINAL DA PESQUISA DEVE SER ENTREGUE À CEUA UM RELATÓRIO. O MODELO DESTES ESTÁ NO SITE.

.

Uberlândia, 11 de novembro de 2011

Prof. Dr. Evandro de Abreu Fernandes
Presidente da CEUA/UFU