

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA

PESQUISA DE ANTICORPORS ANTI-
RICKETTSIA SPP EM CÃES E EQUINOS NA
REGIÃO DE UBERLANDIA, MINAS GERAIS, BRASIL

Luis Gustavo Antunes Souza

Médico Veterinário

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL
Setembro de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINARIA

PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-
RICKETTSIA SPP EM CÃES E EQUINOS NA
REGIÃO DE UBERLANDIA, MINAS GERAIS, BRASIL

Luis Gustavo Antunes Souza

Orientador: Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó

Dissertação apresentada à
Faculdade de
Medicina Veterinária - UFU, como
parte das exigências para a
obtenção do título de Mestre em
Ciências Veterinárias (Saúde
Animal).

UBERLÂNDIA – MINAS GERAIS – BRASIL
Setembro de 2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S729p

Souza, Luis Gustavo Antunes, 1986-

Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia SPP* em cães e equinos na região de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil / Luis Gustavo Antunes Souza. – 2011.

47 f. : il.

Orientador: Matias Pablo Juan Szabó.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Rickettsioses em animais - Teses. 3. Rickettsia - Teses. 4. Cão - Doenças - Teses. 5. Equino - Doenças - Teses. I. Szabó, Matias Pablo Juan. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Luis Gustavo Antunes Souza, nascido em 25/01/1986 na cidade de Brasília – DF, é Médico Veterinário graduado pela Universidade Federal de Uberlândia no ano de 2009. Trabalha no Laboratório de Ixodologia da Universidade Federal de Uberlândia LABIX/UFU desde o ano de 2006, onde desenvolveu projeto de iniciação científica. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Faculdade Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, FAMEV/UFU no ano de 2009. No programa trabalha na área de Saúde Animal na linha de Clínica Médica e Investigação Etiológica, com doenças transmitidas por carrapatos.

EPÍGRAFE

“Há Homens que são excelentes, existem aqueles que são muito bons, outros nem tão bons assim. Alguns alcançam o sucesso, o dinheiro e o reconhecimento, outros, apenas o anonimato, a pobreza e a ingratidão, mas no fim são todos apenas homens. E nisso ninguém pode ser diferente debaixo do sol.”

DEDICATÓRIA

Dedico à minha família por estar sempre ao meu lado durante todo o percurso até aqui. Em especial ao meu Avô Miguel Rodrigues Araújo e a minha Mãe Lana Antunes Araújo. Juntos percorremos um árduo caminho, que talvez ainda esteja na metade, porém sempre com amor, lealdade e cumplicidade.

AGRADECIMENTOS

Sou grato a Deus por tornar o impossível possível em minha vida. Foram muitas lutas e dificuldades, porém sua mão me guiou até aqui. Obrigado Senhor.

Agradeço a minha Mãe Lana Antunes Araújo pela compreensão, paciência e cumplicidade. Mesmo não entendendo de Medicina Veterinária estive sempre ao meu lado apoiando-me e dando-me conselhos que vão além de conhecimentos acadêmicos. Te amo Mãe.

Ao Meu Avô Miguel Rodrigues Araújo por me passar valores e convicções que não poderia aprender nos bancos da Universidade. Muito Obrigado por tudo Vô.

Muito obrigado a toda minha família: Tia Maria Isabel, Tio Paulo Antônio, Tio Juarez por serem sempre amigos, companheiro e leais. Por apostarem quando eu me encontrava cansado. Vocês são muito especiais para mim.

Um abraço carinhoso a minha Tia Iolanda e primos Reginaldo, Angélica, Meigue e Vanusa que me receberam com atenção e carinho durante minha estadia em São Paulo.

Agradeço ao meu Tio e Padrinho Alan Antunes Araújo (*in memmorian*) que sempre apostou e sonhou com esse dia. Hoje não está presente, mas tenho certeza que se sentiria orgulhoso da nossa conquista.

Quero deixar minha gratidão pela minha namorada sempre tão presente Juliana Roland Teixeira. Estive ao meu lado, me auxiliando em todas as etapas desse processo. Amo você Juliana.

Ao Prof. Dr. Matias Pablo Juan Szabó pela sua orientação, tempo dedicado, conselhos profissionais e de amigos durante todos esses anos. É uma honra trabalhar com você.

Ao Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna por me receber de forma atenciosa no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade de São Paulo USP para aprendizado da técnica de RIFI.

Quero também agradecer pela colaboração da minha amiga Maria Marlene Martins Olegário, parceira de tantos trabalhos.

Um obrigado especial a Amália Barbieri que de forma paciente me ensinou a técnica de imunofluorescência indireta.

SUMÁRIO

RESUMO.....	I
SUMMARY	II
INTRODUÇÃO.....	1
REVISÃO DE LITERATURA.....	3
MATERIAL E MÉTODOS	9
ÁREA DE ESTUDO	9
COLETA DE AMOSTRAS	9
PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS	10
PROCESSAMENTO DE SANGUE	10
IDENTIFICAÇÃO DE CARRAPATOS	10
IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA	11
ANÁLISE DE DADOS	12
RESULTADOS	13
DISCUSSÃO	17
CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS	25
ANEXO I.....	30
ANEXO II.....	32
ANEXO III.....	33
ANEXO IV.....	34
ANEXO V.....	35

EPIDEMIOLOGIA SOROLÓGICA DE *RICKETTSIA* SSP. EM CÃES E EQUINOS NA REGIÃO DE UBERLÂNDIA, MINAS GERAIS, BRASIL

RESUMO - Carrapatos são ectoparasitos hematofágicos, vetores de doenças a seres humanos e animais. Algumas dessas classificadas como zoonoses com destaque para as riquetsioses. Riquetsioses são causadas por bactérias do gênero *Rickettsia* spp., sendo algumas letais. Essas bactérias são transmitidas por artrópodes como pulgas e carrapatos, que se infectam em seus hospedeiros e transmitem aos seres humanos e outros animais. Esses animais podem ser silvestres ou domésticos, e alguns são agentes amplificadores desses patógenos no meio, infectando outros ectoparasitos. Para se estabelecer um perfil epidemiológico da possível presença de riquetsias no ambiente, testes sorológicos são de suma importância. Isto posto, o objetivo do presente trabalho foi realizar um inquérito soroepidemiológico com cães e equinos na região de Uberlândia, Minas Gerais. Foram visitadas 18 fazendas na região onde coletou-se sangue de 50 cães e 15 equídeos. Carrapatos, informações a respeito do comportamento dos mesmos na propriedade e a circulação de animais silvestres também foram coletadas. Nos testes de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), foram apresentados títulos de anticorpos para *Rickettsia* spp. em 19 (38%) cães e 13 (86,7%) equinos. Em todas as propriedades que apresentaram títulos, os proprietários informaram que os cães transitavam livremente nas mesmas. Os presentes resultados indicam a presença de mais de uma espécie de *Rickettsia* spp. na região de Uberlândia, Minas Gerais, o que torna necessário estudos para o isolamento e caracterização molecular das mesmas. Doenças febris em seres humanos com histórico de picada de carrapatos devem ser tratadas com atenção a Febre Maculosa Brasileira (FMB).

Palavras-Chave: Carrapatos, Febre Maculosa, RIFI, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rickettsia* spp.

SEROEPIDEMIOLOGY OF *RICKETTSIA* SPP. IN DOGS AND HORSES IN THE REGION OF UBERLANDIA, MINAS GERAIS, BRAZIL

SUMMARY - Ticks are ectoparasites, vectors of diseases to humans and animals. Some of these are classified as zoonosis, with particular attention for the rickettsiosis. Rickettsial diseases are caused by bacteria of genus *Rickettsia* spp., and some of them are lethal. These bacteria are transmitted by arthropods as leas and ticks, which infect themselves in their host, than transmit for humans and ther animals. These animals can be wild or domestics and some of them are amplifiers agents of this pathogens in the environment, infecting other ectoparasites. To stablish a seroepidemiology profile of possible presence of *Rickettsia* spp. in the environment serologic assays are very important. Therefore, the aim of this study as to make a seroepidemiology investigation with dogs and horses on the rural area of Uberlandia, Minas Gerais, Brazil. Were visited 18 farms on the Region,where was collected blood of 50 dogs and 15 horses. Ticks, information about animal behavior and the presence of wild animals, was also collected. Indirect immunofluorescence assay (IFA) detected antibodies against *Rickettsia* spp. in 19 (38%) of the dogs and 13 (86.7%) of the horses. In all the farms that had animals with detected antibodies, the owners described that the dogs had free circulation in the entire farm. These results indicate the possible presence of more than one species of *Rickettsia* spp. In Uberlandia region. More studies becomes necessary for the isolation and molecular characterization of this pathogen. Fever diseases in humans with a historic of tick born have to be treated with attention for Brazilian Spotted Fever.

Keywords: IFA, *Rhipicephalus sanguineus*, *Rickettsia* spp, Spotted Fever, Ticks

INTRODUÇÃO

Carrapatos são artrópodes pertencentes à família Ixodidae de importância para saúde pública por transmitir para animais e seres humanos uma grande quantidade de doenças. No mundo são descritas 885 espécies de carrapatos, sendo que, destas 61 espécies distribuídas em nove gêneros estão presentes no Brasil.

Como vetores de doenças para seres humanos os carrapatos são apenas menos importantes que os mosquitos, com destaque para os flebotomíneos. Entre os animais os carrapatos são os vetores mais importantes de doenças. Destaque para: erliquiose monocítica canina, babesiose, teileriose, borreliose, leishmaniose, hepatozoonose e a febre maculosa.

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença de curso agudo caracterizada clinicamente por febre, lesões maculares na pele e hemorragias de graus variados. O principal agente etiológico da doença é uma bactéria denominada *Rickettsia rickettsii* que é mais comumente transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma* spp., sendo destes o de maior importância o ixodídeo *Amblyomma cajennense*.

A FMB tem sido considerada reemergente no último século, onde os casos têm aumentado consideravelmente na região Sudeste do Brasil, que é considerada endêmica. O maior número de casos está localizado no estado de Minas Gerais, seguido por São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo. No estado de São Paulo entre os anos de 2003 a 2006 foram registrados 31 casos da doença, sendo que, a Febre Maculosa Brasileira é a doença zoonótica mais letal nesse estado.

A cadeia epidemiológica da FMB é complexa e envolve diversos fatores como: bioecologia de vetores, hospedeiros, ambiente entre outros, o que torna difícil sua total compreensão.

Devido à complexidade de todos esses fatores, a pesquisa de anticorpos anti riquetsias em animais de zona rural é uma ferramenta bastante eficiente. Os animais de zona rural são escolhidos pela maior probabilidade de ter contato com carrapatos infectados por riquetsias.

Isto posto, o objetivo do presente trabalho foi realizar um inquérito sorológico de cães e eqüinos da zona rural da região de Uberlândia, Minas Gerais Brasil, para pesquisa de anticorpos anti riquetsias. Os resultados obtidos de tal inquérito pode ajudar na especulação da presença e circulação de riquetsias no município.

REVISÃO DE LITERATURA

Carrapatos são ácaros pertencentes a família Ixodidae de importância epidemiológica e de saúde pública. Estes artrópodes são os principais vetores de doenças infecto-contagiosas para os animais e são somente menos importantes do que mosquitos no caso de seres humanos (CUPP, 1991; HOSKINS & CUPP, 1988). A ampla distribuição geográfica dos carrapatos e o elevado número de hospedeiros que os mesmos parasitam explicam esta capacidade vetorial.

Dentre as principais doenças transmitidas por carrapatos aos humanos e animais podemos citar a babesiose, teileriose, erliquiose, hepatozoonose, leishmaniose, borreliose de Lyme ou Doença de Lyme e as diversas riquetsioses (ESTRADA-PEÑA & JONGEJAN, 1999; JONGEJAN & UILENBERG, 2004).

Embora ainda não sejam bem compreendidos todos os aspectos epidemiológicos de todas essas doenças, sabe-se que em algumas o carrapato pode manter-se infectado por todos os estádios da sua vida e ainda infectar seus descendentes, o que faz com que os mesmos permaneçam infectados por um longo período e sirvam como agentes propagadores e reservatórios de patógenos no meio ambiente (AESCHLIMANN, 1991; LABUDA & NUTTALL, 2004; DANTAS-TORRES, 2009).

No mundo são descritas aproximadamente 885 espécies de carrapatos, sendo que, no Brasil a fauna de carrapatos é representada por 61 espécies distribuídas em nove gêneros. Entre estas espécies 61 estão algumas relevantes para a Saúde Pública e Veterinária por causarem danos diretos e transmitirem agentes infecciosos aos animais e homens durante sua alimentação (DANTASTORRES et al., 2009).

Entre as doenças transmitidas por carrapatos para animais domésticos no Brasil estão a erliquiose canina e babesiose. No que diz respeito aos seres humanos destacamos a febre maculosa, uma doença de notificação obrigatória e frequentemente fatal. Esta doença causada pela *Rickettsia rickettsii*, é transmitida por artrópodes do gênero *Amblyomma* spp. como: *A. cajennense* e *A. aureolatum* (LABRUNA, 2009) e têm preocupado as autoridades sanitárias, pois tem sido considerada reemergente em nosso país.

Na verdade, em todo o mundo a emergência ou reemergência de doenças zoonóticas transmitidas por carrapato tem sido motivo de preocupação (TELFORD III; GOETHERT, 2004). No entanto, o conceito de emergência das riquetsioses tem sido discutido devido a duas questões. A primeira é a sua importância na saúde pública, visto que, algumas são caracterizadas zoonoses de alta letalidade. O segundo ponto é o fato de que algumas das novas espécies descobertas como agentes etiológicos já haviam sido descritas anteriormente sem se conhecer seu potencial patogênico. Um exemplo claro disso é a atribuição dos créditos a Burgdorfer et. al. (1939) pela “descoberta” da *R. amblyommii*, uma riquetsia pertencente ao Grupo da Febre Maculosa (GFM) comumente encontrada em carrapatos *Amblyomma americanum* nos Estados Unidos da América, porém, o primeiro reconhecimento desse patógeno foi feito por CAWDRY 1920, enquanto realizava um inquérito bacteriológico em artrópodes (COWDRY, 1923). Portanto, não sabemos ao certo se tais doenças estão de fato emergindo ou reemergindo nesse momento ou se foram negligenciadas pela falta de diagnóstico por parte dos profissionais da saúde ao longo do tempo.

Provavelmente diversas riquetsioses já afetavam seres humanos antes da caracterização do patógeno. Estas podem ter sido atribuídas a outros agentes etiológicos pela pluralidade e similaridade dos sintomas com os de outras doenças (HORTA, 2007). Exemplo disso é a identificação de agentes mais patogênicos em detrimento a agentes menos patogênicos, como o caso das riquetsioses por *Rickettsia felis* serem atribuídas a *Rickettsia typhi* (SCHRIEFER et al., 1994; WILLIAMS, et al., 1992).

As riquetsioses são causadas por parasitos intracelulares obrigatórios pertencentes ao gênero *Rickettsia spp.* As riquetsias são divididas em dois grupos; o Grupo do Tifo (GT) com duas espécies, *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi* transmitidas por piolhos e pulgas respectivamente. No segundo grupo, o da Febre Maculosa (GFM); estão agrupadas aproximadamente 20 espécies; e a maioria das espécies desse grupo está intimamente relacionada com carrapatos como a *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri* e uma minoria com pulgas como é o caso da *Rickettsia felis* e seu vetor o *Ctenocephalides felis* (HORTA, 2007). No entanto, alguns autores consideram um terceiro e distinto grupo, grupo ancestral, de riquetsias que compartilham características

antigênicas, genéticas e ecológicas com o Grupo do Tifo e o Grupo da Febre Maculosa. Espécies como *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis* são citadas como exemplo deste grupo (PAROLA et. al., 2005).

Como a ecologia e a epidemiologia das riquetsioses estão relacionadas ao comportamento de seus vetores, as pulgas e notadamente os carrapatos, a pesquisa da bioecologia destes vetores é deveras importante.

A FMB é a riquetsiose mais importante no Brasil e tem como agente etiológico a *Rickettsia rickettsii* (DIAS, 1939; MAGALHÃES, 1952). A mesma foi descrita pela primeira vez no Brasil em 1929 (PIZA et al., 1932) e sua casuística vem aumentando consideravelmente nos últimos 20 anos (VIANNA et al., 2008).

Os casos são mais frequentes nos estados da região sudeste, São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo (GALVAO et al., 2003; LEMOS et al., 2001; ROZENTAL et al., 2002; SEXTON et al., 1993), sendo que, dentre estes os maiores índices se encontram em Minas Gerais (LEMOS et al., 1994). No entanto, o estado de São Paulo vem apresentando um crescimento significativo no número de casos da doença (CVE, 2007). O maior índice de letalidade por doença zoonótica nesse estado é atribuído a FMB, causada por *Rickettsia rickettsii*. Somente no estado de São Paulo, 128 casos com fatalidade de 29% foram confirmados de 2005 a 2007 (SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DE SÃO PAULO).

Dois contextos ecológicos distintos estão associados a doença em seres humanos: Uma primeira situação envolvendo capivaras e o carrapato *Amblyomma cajennense*, e uma segunda na Mata Atlântica, cães e carrapatos *Amblyomma aureolatum*. No primeiro contexto, o Cerrado, o principal vetor da FMB é o carrapato *A. cajennense*. Este carrapato depende para sua manutenção na natureza de hospedeiros primários, aqueles que alimentam todos os estádios evolutivos, especialmente as formas adultas, mais hospedeiro-específicas. São considerados hospedeiros primários para *A. cajennense* o cavalo, a capivara, a anta (LABRUNA et al., 2001) e, provavelmente suídeos selvagens. No segundo ambiente, em áreas de Mata Atlântica, o artrópode responsável pela transmissão do patógeno na natureza é *A. aureolatum* (PINTER et al., 2006). Em sua fase adulta, o *A. aureolatum* parasita geralmente carnívoros silvestres, porém não raramente o cão doméstico que se torna aqui o animal sentinela e não apenas um

reservatório ou agente amplificador. Em áreas de Mata Atlântica o perfil sorológico se comporta com títulos mais altos em cães, médios a baixos em seres humanos e pequenos em equinos.

Apesar da existência de dois contextos distintos para a FMB, sem dúvida o principal vetor da mesma é o carrapato do cavalo *Amblyomma cajennense*, especialmente em seus estágios imaturos que frequentemente se alimentam também em seres humanos e cães (DIAS, 1939; VALLEJO-FREIRE et al., 1945).

Além dos carrapatos supracitados existe também a suspeita de que o carrapato *Amblyomma dubitatum* que tem como hospedeiro as capivaras, participe do ciclo epidemiológico da FMB (LABRUNA, et. al., 2004). PACHECO et al. (2009) afirma que o *Amblyomma dubitatum* no estado de São Paulo se encontra infectado por *R. belli* uma riquetsia não patogênica considerada do grupo ancestral.

Até meados do ano 2000 eram conhecidas apenas três espécies na América do Sul, as duas do GT e apenas a *Rickettsia rickettsii* do GFM, sendo todas as três agentes zoonóticos. Durante esse novo século ao menos sete novas espécies foram descobertas: *Rickettsia felis* infectando pulgas na Argentina, *Rickettsia parkeri* infectando carrapatos no Brasil e Uruguai, *Rickettsia massiliae* infectando carrapatos na Argentina, *Rickettsia amblyommi* infectando carrapatos da Argentina, Brasil e Guiana Francesa *Rickettsia bellii* infectando carrapatos na Argentina e Brasil, *Rickettsia rhipicephali* infectando carrapatos no Brasil e *Rickettsia andeanae* infectando carrapatos no Peru (LABRUNA, 2009).

Um passo inicial na detecção de riquetsias em uma dada área pode ser dado pela pesquisa de anticorpos anti riquetsia em animais “sentinelas”. Geralmente esse termo é usado para denominar animais que: sejam bons hospedeiros para vetores do agente, possuam mobilidade na área de estudo e sejam sensíveis ao patógeno, ou seja, desenvolvam uma riquetsemia. A obtenção destes soros é relativamente fácil e em áreas rurais cães e equinos preenchem os requisitos e têm sido utilizados para tal.

No período de 1999 a 2002 foram reportados na região de Itabira – Minas Gerais 18 casos de FMB. Entretanto, apenas sete destes foram confirmados por testes sorológicos. Dois outros casos sem confirmação laboratorial tiveram curso fatal com sinais clínicos e patológicos característicos da doença. Ao realizar um

inquérito soro epidemiológico na cidade com seres humanos, caninos e equinos obteve-se uma porcentagem de reatividade de 8,2%; 81,3% e 100% respectivamente. Já entre os 356 carrapatos coletados não foram encontrados resultados positivos para a presença das bactérias via hemolinfa ou Reação em Cadeia Polimerase (PCR) (VIANNA et al., 2008).

CARDOSO et. al. 2006 realizaram uma caracterização de *Rickettsia spp.* circulante em um foco silencioso de FMB no município de Caratinga, Minas Gerais. A pesquisa realizada por PCR em vetores artrópodes (pulgas e carrapatos), bem como resultados sorológicos de cães e equinos obteve um resultado de aproximadamente 100% de homologia com *R. felis* das sequências obtidas de *Ctenocephalides felis* e 99% daquelas obtidas de *Rhipicephalus sanguineus*. O resultado da extração dos carrapatos identificados como *A. cajennense* apresentaram cerca de 97% de homologia com *R. honei* e *R. rickettsii*. Nesse mesmo estudo apenas 17% dos equinos apresentaram títulos a RIFI, enquanto nenhum cão reagiu positivamente.

Recentemente, em estudos sobre carrapatos em áreas preservadas, rurais e urbanas do Cerrado (SZABÓ et al., 2007; 2008; 2010, QUEIROGAS et al., 2010; QUEIROGAS 2010; VERONEZ et al., 2010), observaram, a presença de grandes populações de capivaras e carrapatos em áreas de lazer urbano do município de Uberlândia. Uma dessas áreas em especial apresentou características preocupantes. O Parque do Sabiá, um parque urbano, apresentou uma infestação por carrapatos com as espécies *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum*, muitas vezes insustentável, pela frequente picada dos usuários. Ademais, o médico infectologista Dr. Marcelo Simão Ferreira, Professor Titular da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, comunicou verbalmente ao responsável deste projeto que pacientes picados por carrapatos no Parque e em outros locais do município apresentavam “sintomatologia compatível da doença de Lyme”, inclusive com eritema característico no local da picada (FERREIRA, 2009, Universidade Federal de Uberlândia). Embora o agente desta doença, a *Borrelia burgdorferi*, nunca tenha sido isolada no Brasil, tal sintomatologia poderia ser compatível com riquetsioses mais brandas como aquela recentemente descrita em área de Mata Atlântica (SPOLIDORIO et al, 2010). De fato, em uma avaliação preliminar em quatro

capivaras do Parque do Sabiá detectou-se anticorpos anti riquetsias em todos os animais com títulos de até 1:2048 contra *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia belii* e muitos carrapatos destas capivaras com hemolinfa apresentaram estruturas compatíveis com riquetsias. Estas observações fazem supor a circulação de riquetsias no município. Considerando os fatos supracitados o presente trabalho objetivou a realização de um inquérito soropidemiológico de riquetsias em cães e equinos da zona rural na região de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil, para detectar e localizar áreas do município com a circulação de riquetsias.

MATERIAL E MÉTODOS

1 Área de Estudo

O trabalho foi desenvolvido no município de Uberlândia. De acordo com (IBGE, 2010 Finotti, 2006): Uberlândia é o município com a segunda maior população do Estado de Minas Gerais e o maior do Triângulo Mineiro com população estimada em 604.013 mil habitantes em 2010. Localiza-se na Mesorregião do Triângulo Mineiro/Alto Paranaíba, Estado de Minas Gerais, Região Sudeste do Brasil (Latitude - 18° 55'23" Sul; Longitude - 48°17'19" Oeste). O município está situado no domínio dos Planaltos e Chapadas da Bacia Sedimentar do Paraná, inserido na sub unidade do Planalto Meridional da Bacia do Paraná (Radam/Brasil/83), caracterizando-se por ser tabular, levemente ondulado, com altitude inferior a 1.000 m. Em sua porção sul, a altitude varia de 700 a 900 m e apresenta relevo típico de chapada (relevo suavemente ondulado sobre formações sedimentares, apresentando vales espaçados e raros). Nesse conjunto a vegetação característica é o Cerrado entrecortado por veredas, encontrando-se também em boa parte das áreas, o campo cerrado. O clima predominante de Uberlândia é classificado como tropical de altitude, ou seja, com temperaturas amenas e precipitações pluviométricas distribuídas em duas estações: úmida e seca. A média térmica anual se situa em torno de 23° C e o Índice Pluviométrico é de 1.500 a 1.600 mm anual. Sua área urbana abrange 219 km² e a rural 3.896 km².

Amostras foram coletadas em 18 propriedades rurais (fazendas) entre 15 de outubro de 2010 a 15 de novembro de 2010. Para uma amostragem mais abrangente, as propriedades escolhidas estavam dispersas por todo o município. O nome e a localização das fazendas estão apresentados na Tabela 1.

2 Coleta de Amostras

Foram coletadas amostras de 50 cães e 15 equinos. Para obtenção de soro, punções venosas foram realizadas nas veias cefálicas e jugular de

respectivamente, cães e equinos. O sangue foi coletado em tubos de plástico de 10 4.5mL com gel separador e a vácuo (Venosafe®). Após a coleta as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo até serem encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) para obtenção do soro.

Carrapatos foram também coletados de cães e equinos. Os parasitos de cada hospedeiro foram mantidos em frascos plásticos e identificados (data de coleta, hospedeiro e origem). Posteriormente foram levados ao Laboratório de Ixodologia (LABIX) da UFU e armazenados em álcool até sua identificação.

Para caracterização epidemiológica dados de cada hospedeiro foram anotados, bem como: espécie, raça, sexo, idade, e principalmente aspectos comportamentais e de trabalho que revelassem a amplitude, localização e frequência de deslocamento dos animais na propriedade e cercanias. Atenção particular foi dada para a utilização por estes animais de áreas naturais em sobreposição com animais selvagens, notadamente capivaras.

3 Processamento das Amostras

3.1 Processamento sanguíneo

Após a retração dos coágulos as amostras sanguíneas foram centrifugadas por 6 minutos a 8000 x *g* e o soro acondicionado em tubos cônicos de plástico de 2mL eppendorf®). O soro permaneceu então armazenado a -20°C até sua utilização na Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

3.2 Identificação dos carrapatos

Os carrapatos foram identificados usando chaves dicotômicas de ONOFRIO et al., (2006) para adultos. Posteriormente amostras de carrapatos foram depositadas na Coleção de Carrapatos da Universidade de Uberlândia.

3.3 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Essa etapa do trabalho foi realizada inicialmente no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (VPS/FMVZ/USP). Posteriormente as reações foram realizadas no LABIX da UFU. Para cães foram utilizadas lâminas com antígenos de seis espécies de riquetsias (*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia amblyommii*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia rhipicephali*) preparadas conforme descrito por HORTA et al., (2004). Devido a disponibilidade restrita de lâminas para titulação do soro de equinos, foram utilizadas lâminas com antígenos de cinco espécies de riquetsias (*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia rhipicephali* e *Rickettsia amblyommii*). Todas as lâminas foram cedidas pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da USP.

O teste de RIFI foi realizado segundo ZAVALA-VELAZQUEZ et al. (1996) com modificações. Para triagem dos animais foi considerado o ponto de corte de títulos reagindo a partir da diluição do soro de 1:64. Os soros reagentes foram então titulados até a máxima diluição com reatividade para cada antígeno.

Inicialmente as lâminas preparadas com os antígenos foram descongeladas em solução salina tamponada por fosfato (PBS) pH 7,4 por 10 minutos e depois secadas em estufa a 37°C.

Sobre as lâminas secas foram depositadas 15 µl por poço das amostras de soro. Utilizou-se uma diluição inicial do soro de 1:64 em PBS pH 7,4. Em cada lâmina, foram ainda utilizados um soro controle positivo (animal sabidamente reativo fornecido pelo VPS/USP) e um negativo. Em seguida as lâminas foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos a 37°C, lavadas em solução tampão de lavagem (PBS pH 7,4 e Triton® X 1:1000) duas vezes pelo período de dez minutos e posteriormente secas da maneira já mencionada anteriormente. Na sequência foram instilados 15 µl por poço de conjugado IgG anti-cavalo (Sigma®) ou anti cão (Sigma®) diluído em PBS pH 7,4 (1:400/1:1200 respectivamente). Posteriormente as lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos a 27°C e foram lavadas duas vezes com solução a 0,5% de tampão de lavagem e Azul de

Evans (Vetec) por 10 minutos. Por último, as lâminas foram secas em temperatura ambiente e ao abrigo da luz.

Para avaliação da reação as lâminas secas foram cobertas com glicerina (50%) e lamínula e avaliadas em microscópio de imunofluorescência.

3.4 Análise de Dados

Correlacionou-se a taxa de sororeatividade nas fazendas ao ambiente e espécies de carrapatos encontradas na propriedade quando possível

RESULTADOS

Foram obtidas amostras de um total de 18 propriedades. Listagem das propriedades das quais as amostras de soro e carrapatos de cães e/ou cavalos foram obtidas para o presente trabalho está disponível no Quadro 1. Em alguns casos diversas pequenas propriedades, originárias da partilha de uma fazenda, estão agrupadas pela similaridade fitogeográfica.

Quadro 1. Propriedades rurais da região de Uberlândia amostradas e descrição das cercanias, número de soros coletados, porcentagem de animais sororeagentes a pelo menos um antígeno de *Rickettsia* spp, Uberlândia, Minas Gerais 2010 e 2011.

Propriedade	Animais soropositivos/Animais amostrados (%)		Descrição da Propriedade
	Cães	Equinos	
Região Rio Araguari (04)	01/04 25,00%	03/03 100%	Quatro pequenas propriedades de agricultura familiar. Cursos de água (córregos, nascentes e afluentes do Rio Araguari) com suas Áreas de Preservação Permanente (APP's). Possui diversas espécies de animais silvestres, como capivaras.
Região Douradinho (06)	06/10 60,00%	01/03 33,33%	Sete pequenas propriedades de agricultura familiar e comercial (bovinocultura de corte). Cursos de água (Ribeirão Douradinho) com Área de APP. Nascentes a região, presença de animais silvestres, como capivaras.
Fazenda Cabeceira do Lobo (01)	02/06 33,33%	-	Fazenda de exploração comercial (Bovinicultura de Leite) margeada pelo Rio Uberabinha com APP. Presença significativa de capivara.
Fazenda Pouso Alegre (01)	03/07 42,85%	-	Propriedade de exploração comercial, várias espécies de animais silvestres incluindo-se capivaras. Cães tem acesso a todas as áreas
Fazenda São José (01)	02/13 15,38%	-	Propriedade de exploração comercial intensificada com áreas de aguadas e grande presença de capivaras. Animais criados em canil. Fazenda cortada pelo Rio das Pedras.
Região Ipanema (05)	05/10 50,00%	9/9 100%	Propriedade de agricultura familiar. Início do vale do Rio Araguari. Presença acentuada de capivara e carrapatos.

Soro foi obtido de um total de 50 cães, 23 (46%) machos e 27 (54%) fêmeas sendo, 40 (80%) adultos e dez (20%) filhotes. Vinte e cinco (50%) foram classificados cães sem raça definida (SRD), enquanto a segunda metade se dividia em diversas raças.

Observou-se infestação por carrapatos em 40% dos cães e as espécies de carrapatos encontradas foram: *Rhipicephalus sanguineus*, *Amblyomma cajennense*, e *Amblyomma ovale*. O carrapato mais prevalente foi *Rhipicephalus sanguineus*, encontrado em todos os cães (100%) infestados, enquanto o menos prevalente foi *Amblyomma ovale*, (5%) em apenas um cão. Apenas carrapatos adultos foram coletados embora a presença de larvas e ninfas foi observada.

A avaliação sorológica dos cães (RIFI) revelou 19 (38%) animais reagentes ao menos uma espécie de riquetsia. Dos sororeagentes nove cães eram fêmeas (47,4%) e dez machos (52,6%), 17 (89,5%) adultos e apenas dois (10,5%) filhotes. A maioria desses cães (15/78,9%) não tinham uma raça definida.

A sororeatividade, as espécies de *Rickettsia* spp e respectivos títulos dos cães sororeagentes estão apresentados na Tabela 1. De maneira geral, os títulos observados foram baixos, não ultrapassando 512. Os cães reagiram contra quatro das seis riquetsias testadas, quais sejam: *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia rhipicephali*. Um maior número de cães reagiu contra *Rickettsia parkeri* (18%). Os títulos observados variaram de 64 a 512 e dois animais apresentaram títulos pelo menos quatro vezes superiores contra *R. parkeri* frente a qualquer outra espécie de riquetsia testada. Sete animais (14%) reagiram contra a *Rickettsia bellii* com títulos de até 256. Destes, três animais apresentaram títulos pelo menos quatro vezes superiores frente a qualquer outra espécie de riquetsia testada. Seis animais (12%) reagiram contra *R. rhipicephali* com títulos de até 256. Dois destes apresentaram títulos pelo menos quatro vezes superiores contra *R. rhipicephali* frente a qualquer outra espécie de riquetsia testada. Cinco animais (10%) reagiram contra *R. rickettsii* com títulos de até 256. Sete cães reagiram contra mais de uma espécie de riquetsia.

A distribuição geográfica dos cães soropositivos foi ampla, sem uma localização específica (Figura 1). Entretanto observou-se que as propriedades da região Ipanema apresentaram uma sororeatividade mais constante contra quatro

espécies de Riquetsias. Ressalta-se a proximidade da região da área urbana de Uberlândia.

Tabela 01: Títulos dos cães sororeativos pela reação de imunofluorescência indireta para seis espécies de *Rickettsia spp.*, Uberlândia, Minas Gerais, 2010-2011.

ESPÉCIES DE RIQUETSIIAS E TÍTULOS SOROLÓGICOS						
Animal	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. felis</i>	<i>R. bellii</i>
1	256	128	-	-	-	-
5	64	-	-	-	-	-
10	-	256	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	64
12	-	512	-	-	-	-
13	-	64	-	64	-	-
17	-	64	-	-	-	-
18	-	128	-	-	-	-
20	-	64	-	-	-	-
21	-	64	-	-	-	128
23	-	-	-	-	-	256
24	-	-	-	-	-	128
25	-	-	-	-	-	256
28	64	64	-	-	-	-
31	128	-	-	128	-	128
33	-	-	-	128	-	-
34	64	-	-	64	-	-
38	-	-	-	128	-	64
39	-	-	-	256	-	-
TOTAL						19

Soro e carrapatos foram coletados de 14 eqüinos e 1 muar, Destes 10 (66,6%) eram machos e 5 (33,3%) fêmeas, 14 (93,3%) adultos, e 12 (80%) sem raça definida.

A prevalência de infestação por carrapatos foi de 93,3% (14 animais) e três espécies de carrapatos foram encontradas nos eqüídeos; *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens* e *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. A espécie de carrapato mais prevalente foi *A. cajennense*, encontrado em todos os animais infestados por carrapatos. O carrapato *R. microplus* foi recuperado de dois animais (prevalência de 13,3%).

Treze (86,7%) dos equídeos sororeagiram contra pelo menos uma espécie de riquetsia (Tabela 2). Onze animais (73,3%) sororeagiram contra *R. bellii* com títulos de até 256. Destes, três apresentaram títulos pelo menos quatro vezes superiores em relação aos antígenos das outras riquetsias testadas. Quatro animais (26,7%) reagiram contra *R. parkeri* com títulos de até 512. Um equino apresentou título quatro vezes superior frente aos demais antígenos testados. Três animais (20%) reagiram contra *R. rickettsii* com títulos de até 256. Quatro equídeos sororeagiram contra duas espécies de riquetsias.

Os proprietários de todas as fazendas nas quais foram encontrados animais positivos, equinos ou cães, afirmaram haver animais selvagens na propriedade. Todos os cães que sororeagiram contra riquetsias tinham acesso as áreas de mata na propriedade.

Os dados de cada animal amostrado como: idade, raça, sexo e comportamento encontram-se nos Quadros 2 e 3 em anexo, assim como as figuras de localização das propriedades, de acordo com os resultados sorológicos obtidos para cães e equinos.

Tabela 2. Títulos dos equinos sororeativos pela reação de imunofluorescência indireta para cinco espécies de *Rickettsia spp.*, Uberlândia, Minas Gerais, 2010

ESPÉCIES DE RIQUETSIAS E TÍTULOS SOROLÓGICOS					
Animal	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. amblyommii</i>	<i>R. rhipicephali</i>	<i>R. bellii</i>
1	128	256	-	64	-
2	256	128	-	-	256
3	-	-	-	-	128
4	-	-	-	-	256
5	-	-	-	-	128
6	-	-	-	-	128
7	-	-	-	-	128
8	-	512	-	-	128
9	-	-	-	-	256
11	-	128	-	-	128
12	-	-	-	-	256
13	-	-	-	-	256
15	256	-	-	-	-
TOTAL					13

DISCUSSÃO

Riquetsioses graves como a Febre Maculosa Brasileira causada pela *Rickettsia rickettsii* já são reconhecidas há muito tempo, provavelmente pela elevada letalidade da enfermidade. Recentemente, porém, ocorreu um novo impulso na riquetsiologia devido a uma evolução na caracterização epidemiológica, microbiológica e molecular dos agentes etiológicos e que, entre outros, culminou com a identificação de nove espécies ou sub espécies novas de riquetsias no mundo entre 1984 e 2004 (PAROLA et. al., 2005). Por outro lado, houve a emergência ou reemergência destas infecções, mas a razão para este incremento das doenças humanas por riquetsias se deve a diversos fatores nem sempre bem compreendidos.

As riquetsioses mais brandas aos seres humanos são caracterizadas por doença com sintomatologia inespecífica como febre, mialgia e cefaléia persistentes (Paddock et al., 2004; Spolidorio et al., 2010, Silva et al., 2011) e por isso podem ser confundidas com doenças mais comuns como a dengue. Além disso, pouco se sabe sobre riquetsioses em animais. Capivaras parecem ser refratárias à febre maculosa pela *R.rickettsii*, apesar de sofrerem infecção e infectarem carrapatos (Souza et al., 2009). Cães com a mesma riquetsiose desenvolvem sintomatologia semelhante a erliquiose monocítica canina (Labruna et al., 2009), e como o tratamento de ambas é similar, a riquetsiose pode não ser percebida. Cobaias são extremamente sensíveis a infecção por *R. rickettsii* e desenvolvem doença com elevada letalidade (Piranda et al., 2011), são entretanto, animais de laboratório e o contato natural não ocorre.

Pelos motivos expostos o diagnóstico das riquetsioses é um desafio, mas pode ser incrementado por dados epidemiológicos dos agentes. O reconhecimento da presença das espécies de riquetsias, seus vetores e do ectoparasitismo em animais e seres humanos em uma dada região são fundamentais para a suspeita diagnóstica inicial. Neste contexto o inquérito sorológico é uma ferramenta de suma importância para o conhecimento da circulação de riquetsias em uma determinada área.

As amostras do presente trabalho foram coletadas exclusivamente em áreas rurais, objetivando-se obter animais que possivelmente foram expostos a

carrapatos infectados. Esses carrapatos infectam-se em animais silvestres, principalmente nos chamados hospedeiros amplificadores. Estes são hospedeiros que durante a fase de riquetsemia infectam um número grande de carrapatos, elevando o número de ectoparasitos infectados de uma determinada área. As capivaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) são conhecidas como os principais hospedeiros amplificadores no Brasil (TRAVASSOS, 1942), e o papel de gambás (*Didelphis aurita*) neste quesito também já foi confirmado (MOREIRA et. al., 1935; TRAVASSOS, 1937; DIAS et. al., 1939; BOZEMAN et. al., 1967; HORTA et. al., 2007). Animais domésticos infestam-se quando os mesmos têm acesso a áreas onde também circulam animais silvestres. No entanto, o inverso é verdadeiro e a entrada de animais silvestres em cercanias domésticas também possibilita esse contato. Dessa maneira algumas barreiras mecânicas naturais que limitam o ciclo epidemiológico das riquetsioses são quebradas e a cadeia epidemiológica é ampliada podendo encerrar no ser humano (PADDOCK et al., 2004; GORDON et al., 1984).

As três espécies de ixodídeos encontradas em cães, *A. cajennense*, *R. sanguineus* e *A. ovale*, reafirmam o encontrado por SZABÓ et. al. (2009), durante a realização de um levantamento da fauna ixodológica no Município de Uberlândia. Merece menção que o carrapato *A. cajennense* é o principal vetor da FMB no Brasil (GUEDES et.al., 2005; DIAS et. al., 1939). Embora esse carrapato diminua consideravelmente seu desempenho biológico quando infectado com *R. rickettsii*, sua elevada densidade populacional e sua antropofilia o torna bom vetor para FMB (LABRUNA et. al., 2008). Durante um estudo realizado por PACHECO et. al. (2009) no estado de São Paulo, em um total de 3545 carrapatos dessa espécie, nenhum se mostrou positivo a Reação em Cadeia Polimerase. Tal fato poderia explicado em parte devido patogenicidade da *R. rickettsii* para *A. cajennense* quando comparada a outras espécies de carrapatos (LABRUNA et. al., 2008).

Os hospedeiros primários do carrapato *Amblyomma cajennense* na fase adulta são o cavalo (*Equus caballus*), a capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) e a anta (*Tapirus terrestris*) (LABRUNA, 2009); sendo os dois primeiros também conhecidos como hospedeiros sentinelas em regiões endêmicas para riquetsioses. Durante suas fases imaturas (larva e ninfa) esses carrapatos

possuem significativa inespecificidade de hospedeiros, podendo se alimentar em uma gama de animais silvestres e seres humanos (SANGIONI et. al., 2005). No seu estágio adulto, embora tenha um aumento da especificidade de hospedeiros, ainda sim esses ácaros podem se alimentar em seres humanos e outros animais (SANGIONI et. al., 2005). Seus principais hospedeiros primários, notadamente o cavalo e a capivara, são encontrados em abundância na região rural de Uberlândia o que justifica sua presença nos cães.

O ixodídeo *Rhipicephalus sanguineus*, mais prevalente neste estudo, também conhecido como carrapato marrom do cão, possui uma grande distribuição geográfica, sendo reconhecido como o principal carrapato do cão doméstico (SZABÓ et al., 2005). Seus hábitos alimentares são variáveis de acordo com a região do globo e especula-se sobre a identificação errônea e associada a um grupo de espécies morfologicamente similares (SZABÓ et. al., 2005). Outras diferenças como tamanho e forma também foram observadas em carrapatos de diferentes locais. Na América do Norte e região do mediterrâneo o mesmo possui hábito antropofílico durante a alimentação, o que o torna importante vetor de zoonoses (WALKER et al., 2000). No Brasil o *Rhipicephalus sanguineus* não possui o hábito de se alimentar em seres humanos, limitando-se assim aos cães, embora existam relatos de picadas no homem em caráter esporádico. Sob condições experimentais demonstrou-se a habilidade do mesmo em transmitir a leishmaniose visceral (COUTINHO et. al. 2005). A viabilidade da transmissão de riquetsias pelo *R. sanguineus* também foi avaliada por PACHECO et. al. (2010). Neste experimento constatou-se a habilidade do carrapato em transmitir o patógeno a outros animais, bem como transestadialmente e transovarianamente. Levando em consideração estes fatos cães poderiam ser considerados agentes amplificadores e não mais apenas animais sentinelas, podendo seu carrapato ser também um vetor da FMB, na região do estudo.

Vale ressaltar que, o estado de São Paulo vem apresentando um acréscimo significativo no número de FMB. Nessas áreas os cães têm importante papel epidemiológico na cadeia da doença, onde o principal vetor é o carrapato *Amblyomma aureolatum*. Esse carrapato tem como hospedeiros primários os carnívoros silvestres, porém se alimentam com frequência nos cães domésticos (PINTER et al. 2006). Uma vez infectados, esses cães irão infectar novas

populações de carrapatos, disseminando o agente no ambiente ao qual está. Durante suas fases imaturas ao se desprenderem para realizarem a muda esses carrapatos podem se fixar a seres humanos e então efetivar a transmissão de riquetsias (CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2007; PINTER et. al., 2006). Por estes motivos a presença de cães soropositivos para riquetsias e infestados com *R. sanguineus* e *A. cajennense* é motivo de preocupação.

Amblyomma ovale é um carrapato que se alimenta durante sua fase adulta em carnívoros, porém durante seus estágios imaturos pode se alimentar em um grande número de animais silvestres e domésticos incluindo-se o cão e homem. LABRUNA et. al. (2004) encontrou essa espécie infectada por *R. bellii*, uma riquetsia não patogênica considerada do grupo ancestral, no estado de Rondônia, Brasil.

Apesar da maioria dos trabalhos terem como foco os carrapatos *A. cajennense*, *A. aureolatum* entre outros, o *A. ovale* possivelmente possui importante papel nessa Cadeia. Recentemente detectou-se nesta espécie de carrapato da Mata Atlântica de São Paulo e na Bahia uma riquetsia patogênica para o ser humano, a *R. parkeri* (SABATINI et al., 2010, SPOLIDORIO et al., 2010, SILVA et al 2011). Portanto a associação desta espécie de carrapato e riquetsioses no Cerrado demandarão investigações mais profundas.

No caso dos equinos, dentre os carrapatos encontrados, aquele com maior envolvimento na circulação das riquetsias é o *A. cajennense*. As outras espécies de vetores não parecem desempenhar papel maior.

A soropositividade de 38% dos cães se assemelha ao encontrado por LEMOS et. al. (1996). Este estudo consistiu em um inquérito em área endêmica no estado de São Paulo, onde o mesmo encontrou uma taxa de 36,4% de soropositividade para riquetsias do grupo da febre maculosa. Deve se ressaltar porém que neste inquérito foram utilizados antígenos de apenas uma espécie de riquetsia (*R. rickettsii*), o que diverge do presente trabalho, e portanto a taxa poderá ter sido muito maior. De forma similar HORTA et. al. em (2004) encontrou uma taxa de 31% de reatividade em cães em três áreas do Município de Pedreira – SP onde haviam sido reportados casos humanos de FMB.

Durante trabalho realizado em Caratinga, Minas Gerais, CARDOSO et. al. (2006) não encontraram soropositividade entre os cães (n=73). Nessa mesma

área, foram encontrados pulgas e carrapatos positivos à presença de riquetsias (*R. felis*, *R. rickettsii* e *R. honei*) frente ao teste de Reação em Cadeia Polimerase. Tal fato leva a crer que as diversas espécies de riquetsias podem circular em hospedeiros, microambientes e vetores diversos exigindo, muitas vezes, investigações mais abrangentes.

VIANNA et. al. (2008) obtiveram uma soropositividade entre os cães de 81,3% em Itabira, Minas Gerais. Essa porcentagem é significativamente maior que os encontrados no presente estudo. No entanto, entre 1999 a abril de 2002 foram reportados 18 casos de FMB ao sistema de saúde local, onde sete casos foram confirmados laboratorialmente, dos quais três foram letais. A discrepância entre valores dos dois estudos deve-se ao fato de que a região estudada é uma área endêmica para FMB, logo a exposição dos animais aos agentes poderia ter sido maior. HORTA et. al. (2007) encontraram uma taxa de soropositividade de 60% entre os cães testados em cinco regiões do estado de São Paulo. Maiores taxas de soropositividade nesses animais são inerentes de regiões onde o principal vetor é o carrapato *A. aureolatum*, que é o caso do referido inquérito. Nesses locais as taxas de positividade são por vezes maiores as de equinos se assim comparadas. Neste caso por diferença na espécie de vetor neste bioma.

Um total de 86,66% dos equídeos testados apresentaram soropositividade, sendo eles, 12 equinos e um muar. Esse número foi maior do que o encontrado por HORTA et. al. (2007), onde obteve-se uma taxa de 72,9% no estado de São Paulo. Já VIANNA et. al. (2008) obtiveram uma taxa de 100% em equinos testados na região de Itabira, MG. No entanto, nessa área considerou-se títulos apenas para *Rickettsia rickettsii*. O fato de considerar apenas os títulos para *Rickettsia rickettsii* estabelece um significado epidemiológico diferente entre a região de Itabira e a região de Uberlândia, pois no presente estudo foram consideradas cinco espécies de riquetsias.

O achado de um muar soropositivo para riquetsioses no presente trabalho é interessante uma vez que VIANNA et al. 2008, encontrou asininos não reativos que dividiam a mesma pastagem com animais soropositivos. Tal fato é explicado pela resistência natural de asininos e muares a infestação de carrapatos.

MORAES-FILHO et. al. (2009) ao realizarem um inquérito em equinos do Centro de Controle de Zoonoses do Município de São Paulo encontrou uma taxa

de infecção de 17,6%. Devemos ressaltar que a amostragem desse estudo foi de zona urbana e que o provável contato com carrapatos de animais silvestres é diminuto. Valor relativamente baixo (17%) também foi encontrado em Caratinga, Minas Gerais, por CARDOSO et. al. (2006), o que não é comum em áreas onde o principal vetor é o carrapato *A. cajennense*.

Os títulos de riquetsias encontrados para as espécies: *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephalli* e *R. bellii*, são indicativos da presença destas bactérias nas regiões pesquisadas. Embora deva ser visto com certa cautela, títulos contra uma determinada espécie de riquetsia, quatro vezes superiores em relação às outras, sugere uma reação homóloga (SAITO et al, 2008). Isto indicaria que em Uberlândia circulam quatro espécies de riquetsias, inclusive duas sabidamente patogênicas, *R. rickettsii* e *R. parkeri*. Esta observação demanda, portanto a tentativa de isolamento e caracterização molecular destas bactérias no município. *R. rickettsii* é a espécie patogênica mais importante em todo o mundo. A mesma pode ser transmitida por uma gama de carrapatos como: *A. cajennense*, *A. aureolatum*, *R. sanguineus*, *Dermacentor andersoni* e *Dermacentor variabilis* que irá variar de acordo com a posição no globo ao qual se encontra. O primeiro relato da doença no Brasil data em 1929, sendo agora considerada reemergente no Brasil. Na região sudeste entre os anos de 1995 a 2004 foram confirmados 334 casos sendo 31% fatais. Embora a titulação encontrada entre os cães seja relativamente baixa, a cidade de Uberlândia deve permanecer em vigilância epidemiológica. Fato que é reforçado pelas características ecológicas (animais silvestres, ambiente, carrapatos entre outros) que foram encontradas.

R. parkeri foi pela primeira vez descrita nos Estados unidos no ano de 1939, no entanto, seu reconhecimento como agente patogênico foi feito apenas no ano de 2004. Essa espécie tem como vetores os carrapatos *A. maculatum* e *A. triste*. O fato de o segundo carrapato estar amplamente distribuído em países da América do Sul torna possível a presença do patógeno nesses países. Em um estudo realizado por SILVEIRA et. al. (2007), detectou-se pela primeira vez a presença dessa espécie de riquetsia no nosso país. No referido trabalho aproximadamente 10% de carrapatos de uma população de *A. triste* estavam infectados. Além disso, trata-se de uma espécie que causa riquetsiose humana na Mata Atlântica.

R. bellii é considerada do grupo ancestral por possuir características comuns aos dois grupos, não patogênica (YU et al., 2003; ROUX et. al., 1997), não possuindo uma grande expressão epidemiológica para seres humanos. No entanto, alguns autores concordam que o estabelecimento de *Rickettsia bellii* em populações de carrapatos podem prevenir que outras espécies de riquetsias como a *R. rickettsii* se estabeleça (BURGDORFER, 1988; MACALUSO, 2002). No presente estudo observa-se claramente a possível circulação da mesma no ambiente, sendo dada atenção especial aos equídeos.

A *R. rhipicephali* é uma bactéria de patogenicidade desconhecida até o momento, mas considerando o histórico de outras riquetsias sua presença inspira atenção.

Buscando relacionar alguns aspectos ambientais com a soropositividade de títulos para riquetsias observa-se que: as propriedades com maiores números de animais reagentes são aquelas onde têm cursos de água com Áreas de Preservação Permanente (APP) e mata ciliares. Essa observação é explicada pelo favorecimento à passagem e permanência de animais silvestres nesse tipo de bioma, principalmente as capivaras, que têm predileção em áreas de aguadas para instalação de suas populações.

Dessa maneira supõe-se que as propriedades dessas cercanias estejam mais infestadas com carrapatos infectados, expondo dessa forma, seus animais a infestação e posterior infecção.

Outro importante aspecto a ser ressaltado é o comportamento dos animais dentro da propriedade com suas respectivas titulações. Podemos observar que aquelas fazendas onde os cães têm livre acesso a todas as áreas da apresentaram maiores títulos frente aquelas onde os cães são criados presos. Isso leva a crer que animais que tem liberdade de locomoção na propriedade estão mais propensos a infestação por carrapatos infectados por riquetsias. Os mesmos adentram áreas de permanência e passagem de animais silvestres onde provavelmente adquirem os parasitos, podendo os levar para casa. Dessa forma o ciclo silvestre da doença é ligado ao ciclo doméstico, podendo então chegar ao ser humano.

CONCLUSÕES

Os resultados do presente trabalho indicam que há circulação de quatro espécies de riquetsias no Município de Uberlândia. Esta circulação parece ser geograficamente extensa e exige novas investigações para uma melhor caracterização da presença em todo o Município bem como para a identificação molecular das mesmas. Atenção deve ser dada á doenças febris em seres humanos picados por carrapatos e cães com sintomatologia de erliquiose sem a demonstração de mórulas nos sangue circulante.

REFERÊNCIAS

- AESCHLIMANN, A. Ticks and disease: susceptible hosts, reservoir hosts and vectors. In: **Parasite-Host Associations Coexistence or Conflict?** Oxford University Press, Editors: Toft, C.A.; Aeschlimann, A., Bolis, L., chap. 8, p.148-156. 1991.
- BOZEMAN, F.M., SHIRAI, A., HUMPRIES, J.W.; FULLER, H.S. Ecology of Rocky Mountain spotted fever II. Natural infection of wild mammals and birds in Virginia and Maryland. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v.16. 48-59p. 1967.
- CARDOSO, L.D.; FREITAS, N.F.; MAFRA, C.L.; NEVES, C.V.B.; FIGUEIRA, F.C.B.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H.; GALVÃO, M.A.M. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **CAD. Saúde Pública.** v.22. 495-501p. 2006.
- COWDRY, E.V. The distribution of *Rickettsia* in tissues of insects and arachnids. **J. Exp. Med.** v.37. 431-56p. 1923.
- CUPP, E.W. Biology of ticks. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v.21, n.1, p. 1-25. 1991.
- CVE- **Centro de Vigilância Sanitária**, Governo do Estado de São Paulo. Disponível em: <[HTTP://www.cve.saude.sp.gov.br/htmtcve_fmb.html](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htmtcve_fmb.html)> Acesso em 13 de dez. de 2009.
- DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. The ticks (Acari:Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic & Applied Acarology.** v.14. p. 30-36. 2009.
- DIAS, E. MARTINS, A.V. Spotted fever in Brazil. **Am. J. Trop. Med.** v. 19. p103-108. 1939.
- ESTRADA-PEÑA, A.; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodidea with special reference to pathogen transmission. **Experimental and Applied Acarology**, v. 23, p. 685-715. 1999.
- GALVÃO, M.A.M.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B. Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. **Soc. Bras. Med. Trop.** v.39. p.135-140. 2003.
- GORDON, J.C.; GORDON, S.W. PETERSON, E.; PHILIP, R.N. Epidemiology of Rocky Mountain Spotted Fever in Ohio 1981: serologic evaluation of canines and

ricketsial isolation from ticks associated with human case exposure sites. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 33. p.1026-1031. 1984.

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

HORTA, M.C. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v.102. p.193-801. 2007.

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; WALKER, D.H. Prevalence of antibodies to spotted fever group *rickettsiae* in humans and domestic animals in a Brazilians spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *rickettsia*. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** p.93-97. 2004.

HOSKINS, J.D.; CUPP, E.W. Ticks of veterinary importance. PartI. The ixodidae family: identification, behavior and associated diseases. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v.10, n.5, p. 564-580. 1988.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G., The global importance of ticks. **Parasitology**, v.129, p. S3-S14. 2004.

LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia. Western Amazon, Brazil. **J. Med. Entomol.** v.41. p.1073-1081. 2004.

LABRUNA, M.B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology an Rickettsial Diseases-Fifth International Conference: **Ann. N.Y. Acad. Sci.** v 1166, p. 156-166. 2009.

LABRUNA, M.B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C. Rocky mountain spotted fever in dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases.** v.1, n.3, p. 458-460. 2009.

LABRUNA. M.B.; KERBER, C.E.; FERREIRA, F.; FACCINI, J.L.H.; WAAL, D.T.; GENNARI, S.M. Risk factors to Tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitology.** v.97. p.1-14. 2001.

LEMOS, E.R.; ALVARENGA, F.B.; CINTRA, M.L. Spoted Fever in Brazil: a soroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of São Paulo. **Amr. J. Trop. Med. Hyg.** p.329-334. 2001.

LEMOS, E.R.S. MACHADO, R.D.; COURA, J.R. Rocky Mountain spotted fever in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v.89. p.497-501. 1994.

MAGALHÃES, O. Contribuição ao conhecimento das doenças do grupo do tifo exantemático. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**v.6. p.51-72. 1952.

MALACUSO, K.R. *Rickettsial* infection in *Dermacentor variabilis* (Acari:Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second *rickettsia*. **J. Med. Entomol.** v.39. p. 808-813 2002.

MORAES-FILHO, J.; HORTA, M.C.; PACHECO, R. de C.; MAEDA, M.M.; GALANO, A.; OLIVEIRA, M. de L.; YAI, L.E.O.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em eqüinos do Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/SP). **Braz. J. Vet. Sci.** v.46. p. 85-91. 2009.

MOREIRA, J.A.; MAGALHÃES, O. Thypho exanthematico em Minas Gerais. **Brasil Médico.** v.44. p.465-470. 1935.

PACHECO, R.C.; HORTA, M.C.; PINTER, A.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; NARDI, M.S.; SOUZA, S.S.A.L. de.; SOUZA, C.E.; SZABÓ, M.P.J., RICHTSENHAIN, J.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyoma dubitatum* no Estado de São Paulo. **Soc. Brás. de Med. Trop.** v.42. p.351-353. 2009.

PADDOCK CD, SUMNER JW, COMER JA, ZAKI SR, GOLDSMITH CS, GODDARD J, ET AL. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clin. Infect. Dis.** v.38, p. 812–813. 2004.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, R. Tick-borne rickettsiosis around the word: emerging diseases challenging old concepts. **Clin. Microbiol. Rev.** v.18. p.719-756. 2005.

PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of Nex York cademic Science.** p.523-529. 2006.

PIRANDA ET AL. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases.** Volume 11, Number 1, 2011.

PIZA, J.T.; MEYER, J.R.; SALLES-GOMES, L. Tifo exantemático de São Paulo. **Soc. Imp. Paulis..** v.11. p.119. 1932.

ROUX, V.; RYDKINA, E.; EREMEEVA, M.; RAOULT, D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis and its application for the *rickettsiae*. **Int. J. Syst. Bacteriol.** v.47. p.252-261. 1997.

ROZENTAL, T.; BUSTAMENTE, M.C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N.M.; LEMOS E.R. Evidence of spotted fever group *rickettsiae* in state of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo. v.44. p.155-158. 2002.

SABATINI, G.S.; PINTER, A.; NIERI-BASTOS, F.; MARCILI, A.; LABRUNA, M.B. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their *Rickettsia* in an atlantic rainforest reserve in the State of São Paulo, Brazil. **J.Med. Entomol.**, v.47, n.5, p. 913-916. 2010.

SANGIONI, L.A.; HORTA, M.C.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S.M.; SOARES, R.M.; GALVÃO, M.A.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerg Infect Dis.** v.11, p.265-270. 2005.

SCHRIEFER, M.E.; SACCI Jr.; DUMLER, V.S.; BULLEN, M.G.; AZAD, A.F. Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnose with murine typhus. **J. Cli. Microbiologia.** v.34. p.949-954. 1994.

SEXTON, D.J.; MUNIZ, M.; COREY, G.R. Spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. **Amer. J. Top. Med. Hyg.** v.49. p.222-226. 1993.

SILVA ET AL., **Emerging Infectious Diseases.** v. 17, n. 2, 2011. Disponível em: <www.cdc.gov/eid>. Acesso em: 12 fev. 2011.

SILVEIRA, I. First report of *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerg. Infect. Dis.** v.13. p. 1111-1113. 2007.

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

SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.3, p.521-523. 2010.

TRAVASSOS, J. Identification d'un virus semblante a celui Du “Typhus exantematique de São Paulo”, isole de La sarigue marsupiale (*Didelphis paraguayensis*). **Compt. Rend. Soc. Biol.** v.1226. 159 – 180p. 1937.

TRAVASSOS, J.; VALLEJO-FREIRE, A. Criação Artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa. **Mem. Inst. Butantan.** v.18. p.145-235. 1944-1945.

VIANNA, M.C.B.; HORTA, M.C.; SANGIONI, L.A.; CORTEZ, A.; SOARES, R.M.; MAFRA, C.L.; GALVÃO, M.A.M.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M. Rickettsial spotted fever in Capoeirão Village, Itabira, Minas Gerais, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** v.50. p.297-301. 2008.

WILLIAMS, S.G. Typus and Tiphuslike rickettsiae associated with opossums and their fleas in Los Angeles County, Califórnia. **J. Clin. Microbio.** v.30. p.1728-1762. 1992.

YU, X.J.; WALKER, D.H.; The Order Rickettsiales. Dworkin M, ed. **The Prokaryotes: An Aolving Electronic Resource for the Microbiology Community**. 3 ed. 2003.

ANEXO I

REGIÃO RIO ARAGUARI	
01(+)	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
02	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
03	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
04	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.

REGIÃO IPANEMA	
05 (+)	Cão, fêmea, adulto, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.
06	Cão, macho, adulto, dushound, circula em todas as áreas da propriedade.
07	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
08	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
09	Cão, fêmea, SRD, filhote, circula em todas as áreas da propriedade.
10 (+)	Cão, fêmea, Bull Riller, filhote, circula em todas as áreas da propriedade.
11 (+)	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
12 (+)	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
13 (+)	Cão, fêmea, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
14	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.

REGIÃO DOURADINHO	
15	Cão, macho, filhote, dálmata, circula em todas as áreas da propriedade.
16	Cão, fêmea, adulto, Fox Paulistinha, permanece na região da sede.
17 (+)	Cão, macho, Fox Paulistinha, adulto, permanece na região da sede.
18 (+)	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
19	Cão, fêmea, SRD, filhote, permanece na região da sede.
20 (+)	Cão, macho, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
21 (+)	Cão, macho, SRD, filhote, circula em todas as áreas da propriedade.
22	Cão, fêmea, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
23 (+)	Cão, fêmea, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.
24 (+)	Cão, fêmea, SRD, adulto, circula em todas as áreas da propriedade.

FAZENDA POUSO ALEGRE	
31	Cão, fêmea, adulto, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.
32	Cão, macho, adulto, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.
33	Cão, macho, filhote, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.
34	Cão, macho, adulto, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.
35	Cão, macho, filhote, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.
36	Cão, fêmea, adulto, Boxer, circula em todas as áreas da propriedade.
37	Cão, fêmea, adulto, SRD, circula em todas as áreas da propriedade.

FAZENDA CABECEIRA DO LOBO	
25	Cão, fêmea, adulto, Pastor Maremano, circula em todas as áreas da propriedade.
26	Cão, macho, adulto, Fox Paulistinha, circula em todas as áreas da propriedade.
27	Cão, macho, adulto, Fox Paulistinha, circula em todas as áreas da propriedade.
28 (+)	Cão, fêmea, filhote, Fox Paulistinha, circula em todas as áreas da propriedade.
29 (+)	Cão, fêmea, adulto, Pastor Maremano, circula em todas as áreas da propriedade.
30	Cão, fêmea, filhote, Fox Paulistinha, circula em todas as áreas da propriedade.

FAZENDA SÃO JOSÉ	
38 (+)	Cão macho, adulto, Sheep Dog, permanece na região da sede. Criado em canil.
39 (+)	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
40	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
41	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
42	Cão macho, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
43	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
44	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
45	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
46	Cão macho, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
47	Cão macho, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
48	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
49	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.
50	Cão fêmea, adulto, Fila Brasileiro, permanece na região da sede. Criado em canil.

ANEXO II

REGIÃO DO RIO ARAGUARI	
01 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.
02 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.
03 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.

REGIAO IPANEMA	
04 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.
05 (+)	Equino, fêmea, adulto, SRD.
06 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.
07 (+)	Equino, fêmea, adulto, SRD.
08 (+)	Equino, fêmea, adulto, SRD.
09 (+)	Equino, fêmea, adulto, SRD.
10	Equino, fêmea, adulto, SRD.
11 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.
12 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.
13 (+)	Muar, macho, adulto, SRD.
14	Equino, macho, adulto, SRD.
15 (+)	Equino, macho, adulto, SRD.

ANEXO III

Localização das propriedades com cães sororeativos contra *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali* e *R. bellii* no município de Uberlândia, Minas Gerais, 2011. Propriedades com animais soropositivos com marcação em vermelho e com animais soronegativos com marcação em amarelo.



ANEXO IV

Localização da região onde foi encontrado título para *Rickettsia rhipicephali* em equinos, na região de Uberlândia, Minas Gerais, 2011.



ANEXO V

Localização da região onde foi encontrado título para *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia bellii* e *Rickettsia parkeri* em equínos, na região de Uberlândia, Minas Gerais, 2011.

