

**UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO
MESTRADO EM SAÚDE ÚNICA**

TAYNA DUARTE LIMA

Ocorrência sorológica em felinos para bactérias do gênero *Rickettsia* em áreas negligenciadas da região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil

São Paulo

2024

Tayna Duarte Lima

Ocorrência sorológica em felinos para bactérias do gênero *Rickettsia* em áreas negligenciadas da região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade de Santo Amaro — UNISA como requisito parcial para ingresso no Mestrado em Saúde Única.

Orientador: Prof. Dr. Jonas Moraes Filho.

São Paulo

2024

Ocorrência sorológica em felinos para bactérias do gênero *Rickettsia* em áreas negligenciadas da região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação *Stricto Sensu* da Universidade de Santo Amaro — UNISA como requisito parcial para ingresso no Mestrado em Saúde Única.

Orientador: Prof. Dr. Jonas Moraes Filho.

Data: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr.

Instituição:

Prof^a. Dr.

Instituição:

Prof^a. Dr.

Instituição:

L711o

Lima, Tayna Duarte.

Ocorrência em felinos para bactérias do gênero *Rickettsia* na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil / Tayna Duarte Lima. - São Paulo, 2024.

38 p. : il., color.

Orientador: Prof. Jonas Moraes Filho.

Dissertação. (Mestrado em Saúde Única) - Universidade Santo Amaro, 2024.

Bibliografia incluída.

1. Felinos. 2. Imunofluorescência indireta. 3. *Rickettsia rickettsii*. I. Filho, Jonas Moraes, orient. II. Universidade Santo Amaro. III. Título.

CDD 636.089

Elaboradora pela Bibliotecária: Milena Braz Martins CRB-8/9974

RESUMO

A febre maculosa é uma doença grave e letal para o ser humano causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*. Na região metropolitana de São Paulo, onde a população estimada é de 21.000.000 de habitantes, o agente etiológico é transmitido pelo carrapato *Amblyomma aureolatum*, mas no interior deste Estado, o vetor da doença é o *Amblyomma sculptum*. O ciclo epidemiológico de transmissão tem sido intensamente estudado e muitos dados foram gerados na última década, no entanto elos importantes como o papel dos gatos, hospedeiros acidentais destes carrapatos, ainda necessitam ser elucidados. Este projeto objetivou detectar anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia bellii* e *Rickettsia parkeri* através do teste de Imunofluorescência indireta em sangue de gatos atendidos nos Hospitais Veterinários Públicos da região metropolitana de São Paulo, SP. 737 amostras foram testadas em sangue de gatos residentes na região metropolitana de São Paulo para *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri* e *R. bellii*. 73 amostras (9,9%) foram positivas para pelo menos um antígeno testado, com títulos variando entre 64 e 4096. Das amostras positivas, 11 (15,1%) apresentaram reação homóloga à *R. parkeri*, com títulos variando entre 64 e 4096 e; 3 (4,1%) apresentaram reação homóloga à *R. rickettsii*, com títulos variando de 64 e 1024. Conclui-se que a presença de felinos sorologicamente positivos para *R. rickettsii* e *R. parkeri* na região metropolitana de São Paulo, tendo potencial para desempenhar um papel como sentinelas em relação à exposição humana a riquetsias do grupo da Febre Maculosa Brasileira em áreas degradadas e fragmentadas de Mata Atlântica.

Palavras-chaves: felinos, Imunofluorescência indireta, *Rickettsia rickettsii*, Febre Maculosa Brasileira.

ABSTRACT

The spotted fever is a serious and lethal disease for humans caused by the bacterium *Rickettsia rickettsii*. In the metropolitan region of São Paulo, where the estimated population is 21.000.000 inhabitants, the etiological agent is transmitted by the *Amblyomma aureolatum* tick, but in the interior of this state, the vector of the disease is the *Amblyomma sculptum*. The epidemiological cycle of transmission has been intensively studied and much data has been generated in the last decade, however important links such as the role of cats, accidental hosts of these ticks, still need to be elucidated. This project aimed to detect anti-*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri* antibodies through the indirect immunofluorescence test in blood from cats treated at Public Veterinary Hospitals in the metropolitan region of São Paulo, SP. 737 samples were tested in blood from cats living in the metropolitan region of São Paulo for *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri* and *R. bellii*. 74 samples (10%) were positive for at least one tested antigen, with titers ranging between 64 and 4096. Of the positive samples, 11 (14.86%) showed a homologous reaction to *R. parkeri*, with titers ranging between 64 and 4096 and ; 3 (4%) presented a homologous reaction to *R. rickettsii*, with titles ranging from 64 to 1024. It is concluded that the presence of felines serologically positive for *R. rickettsii* and *R. parkeri* in the metropolitan region of São Paulo, having the potential to play a role as sentinels in relation to human exposure to rickettsiae from the Brazilian Spotted Fever group in degraded and fragmented areas of the Atlantic Forest.

Keywords: feline, Indirect Immunofluorescence, *Rickettsia rickettsii*, Brazilian Spotted Fever.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
1.1 Febre Maculosa Brasileira	8
1.2 Agente etiológico	10
1.2.1 <i>Rickettsia rickettsii</i>	10
1.2.2 <i>Rickettsia parkeri</i>	11
1.2.3 <i>Rickettsia bellii</i>	12
1.2.4 <i>Rickettsia felis</i>	12
1.3 Vetores	13
1.3.1 Carrapatos	13
1.3.2 Complexo <i>Amblyomma cajennense</i>	14
1.3.3 <i>Amblyomma aureolatum</i>	16
1.3.4 <i>Amblyomma ovale</i>	17
1.3.5 Sintomatologia clínica em humanos	18
2. OBJETIVOS	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
3.1 População Alvo e Local das coletas	20
3.2 Imunofluorescência indireta para a <i>Rickettsia rickettsii</i> , <i>Rickettsia parkeri</i> e <i>R. bellii</i>	21
3.3 Cálculo Estatístico	21
4. RESULTADOS	22
5. DISCUSSÃO	28
6. CONCLUSÃO	30
5. REFERÊNCIAS	31
ANEXOS	38

1. INTRODUÇÃO

1.1 Febre Maculosa Brasileira

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença infecciosa de notificação obrigatória compulsória, transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma*, tendo como principal agente etiológico a bactéria *Rickettsia rickettsii*. São bactérias Gram- negativas, pleomórficas, cocobacilares com paredes celulares complexas que contêm ácido murâmico e retém fucsina básica, quando coradas pelo Método de Gimenez (1964) (Krawczak, 2016). São intracelulares obrigatórias, membros da ordem Rickettsiales e família Rickettsiaceae (Raoult, Roux, 1997), que se multiplicam por fissão binária em ambos hospedeiros, vertebrados e invertebrados. São bactérias que atacam preferencialmente as células endoteliais, manifestando-se por um quadro febril agudo (Moraes - Filho, 2017; BEPA, 2016).

De acordo com o Boletim Epidemiológico do Ministério da Saúde atualizado em novembro de 2022, foram notificados no Brasil 36.497 casos de febre maculosa entre 2007 a 2021, dos quais 2.545 foram casos confirmados e 2.538 relataram situações de exposição de risco e dentre estes, 68,5% frequentaram ambiente de mata (Ministério da Saúde, 2024).

O gênero *Rickettsia* foi dividido em quatro grupos: Grupo de Febre Maculosa (SFG), Grupo de Tifo (TG), Grupo de Transição (TRG) e Grupo Ancestral (AG) (Fritz. *etal.*, 2009).

As espécies de maior importância na transmissão da doença no território nacional são: *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma ovale* (Moraes - Filho, 2017).

Os primeiros registros da doença foram nos Estados Unidos no início do século XX, recebendo o nome de Febre Maculosa das Montanhas Rochosas. Mais tarde, Howard Taylor Ricketts realizou o primeiro isolamento da *Rickettsia rickettsii*, elucidando importantes dados epidemiológicos desta enfermidade, como a participação de carrapatos em sua transmissão (no caso o *Dermatocentor andersoni*) e a dependência de hospedeiros silvestres para o ciclo de transmissão (Moraes - Filho, 2017).

O primeiro relato de rickettsiose no Brasil foi em 1900, no Instituto Bacteriológico de São Paulo, pelo Dr. Adolpho Lutz, sendo posteriormente descritos casos de infecção em humanos por José Toledo Piza em 1932, no município de São Paulo, na época denominando a afecção de “Tifo Exantemático”. (Ueno *et al.*, 2016; BEPA, 2016).

Pelo menos sete espécies de *Rickettsias* foram descritas no Brasil: grupo da febre maculosa (Spotted. Fever Group — SFG): *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia rhipicephali* e *Rickettsia amblyommatis*, sendo transmitidas por carrapatos; grupo de transição (TGR): *Rickettsia felis*, sendo transmitida por pulgas; grupo tífico (Typhus Group — TG): *Rickettsia typhi*, sendo também transmitida por pulgas e *Rickettsia belli* do grupo ancestral (AG), transmitida através de carrapatos (Labruna, 2009).

Diversas espécies das *Rickettsia* foram isoladas em cultivo celular a partir de carrapatos no nosso país. O agente da FMB, a bactéria *Rickettsia rickettsii*, foi isolados carrapatos: *Amblyomma aureolatum* (Pinter, Labruna, 2006), *Rhipicephalus sanguineus* (Pacheco *et al.*, 2011) e de *Amblyomma sculptum* (Krawczak *et al.*, 2014). O presente estudo tem a importância de alertar sobre a presença das rickettsioses nas áreas territoriais de São Paulo, SP, já que a febre maculosa é uma zoonose e de acordo com o Ministério da Saúde, pode apresentar-se desde as formas clínicas brandas até formas graves com elevada taxa de letalidade em humanos. Os animais domésticos também podem ser hospedeiros dos carrapatos e a falta de pesquisas abrangendo gatos em relação à febre maculosa, faz esse projeto ser de grande valia.

Os principais sintomas e sinais clínicos em humanos, incluem: cefaleia intensa, náuseas, manchas vermelhas pela pele, vômito, diarreia, mialgia, edema de membros que podem evoluir para paralisia dos membros, insuficiência renal, hepática e pulmonar, evoluindo ao óbito (Ministério da Saúde, 2023).

1.2 Agente Etiológico

1.2.1 *Rickettsia rickettsii*

A bactéria *Rickettsia rickettsii* são Gram-negativas, intracelulares obrigatórias, membros da ordem Rickettsiales e família Rickettsiaceae (Raoult, Roux, 1997), que ataca preferencialmente as células endoteliais, manifestando-se por um quadro febril agudo (Moraes - Filho, 2017).

Vários experimentos demonstraram a competência do vetor *Amblyomma sculptum* para esta bactéria, que sobrevive no carrapato por perpetuação transestadial e transmissão transovariana (Brumpt 1933, Travassos e Vallejo 1942). No entanto, estudos de campo mostraram que as taxas de infecção por *Rickettsia rickettsii* são muito baixas entre as populações de *Amblyomma sculptum* em áreas endêmicas de Febre Maculosa Brasileira (Guedes *et al.*, 2005, Sangioni *et al.*, 2005).

A explicação para baixas taxas, a despeito da transmissão transovariana e transestadial ser eficiente, é que os carrapatos infectados têm menor sobrevivência e desvantagens reprodutivas quando comparados a carrapatos não-infectados (Burgdorfer 1988, Niebylski *et al.*, 1999). Essa condição causaria a eliminação completa da bactéria na população de carrapatos, durante as gerações subsequentes; por esta razão, os hospedeiros vertebrados são essenciais para a manutenção de *Rickettsia rickettsii* na natureza, atuando como hospedeiros amplificadores para novas linhagens de carrapatos infectados ou não-infectados (Horta, 2009).

No Brasil, as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e gambás (*Didelphis aurita*) foram confirmados como hospedeiros amplificadores para carrapatos *Amblyomma sculptum* (publicado como *Amblyomma cajennense*) (Ueno *et al.*, 2016; Labruna, 2009) pois desenvolvem uma rickettsemia longa (Ueno *et al.*, 2016, Horta, 2009).

Souza (2009), em seus estudos comprovou que as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) possuem a capacidade de se manterem por um longo intervalo em rickettsemia, infectando em torno de 20 a 35% dos carrapatos *Amblyomma sculptum* que se alimentaram durante este período.

As capivaras são susceptíveis a bactéria, porém estas não demonstram a doença clínica, somente alguns valores hematológicos abaixo do esperado para a espécie que podem estar relacionados ao stress do ambiente cativo. Estes roedores são hospedeiros primários de todos os estádios parasitários de *Amblyomma sculptum* (Vieira *et al.*, 2004),

sendo sugerido por pesquisadores que o aumento da população de capivara durante as últimas décadas pode estar relacionado com o ressurgimento da FMB em muitas áreas do estado de São Paulo (Souza *et al.*, 2009).

Os cavalos são um dos principais hospedeiros de todos os estágios parasitários do *Amblyomma sculptum*, sendo assintomáticos a doença, porém apresentam altos títulos de IgG detectáveis e persistência de longa duração, qualificando-os como sentinela em áreas endêmicas. O cavalo não tem a capacidade vetorial de transmitir a *Rickettsia rickettsii* a carrapatos *Amblyomma sculptum*, pois apresentam um curto período de bacteremia, não sendo considerados amplificadores da bactéria (Ueno, 2016).

Outro fato que reduz o envolvimento de cavalos no ciclo de transmissão de *Rickettsia rickettsii* é a baixa prolificidade desta espécie, que tem longo período de gestação e geralmente produz um potro por gestação (Ueno, 2016).

1.2.2 *Rickettsia parkeri*

Um estudo retrospectivo nos Estados Unidos, onde a *Rickettsia parkeri* foi isolada pela primeira vez do carrapato *Amblyomma maculatum* (Labruna, 2009), forneceu evidências sorológicas para esta bactéria em diversos casos de Febre Maculosa das Montanhas Rochosas, sugerindo que a rickettsiose causada por *Rickettsia rickettsii* foi provavelmente diagnosticada sorologicamente de maneira errônea como o agente etiológico em alguns relatos naquele país e também na América do Sul, causando uma doença mais leve não letal (Labruna, 2009).

Esta nova Rickettsiose brasileira, causada pela *Rickettsia parkeri* (Cepa Mata Atlântica) tem como vetor o *Amblyomma ovale* no bioma da Mata Atlântica e também é prevalente nos biomas do Cerrado e Amazônia e são apontados por sua importância no estágio adulto, como vetor desta rickettsiose humana (Labruna *et al.*, 2005, Szabó *et al.*, 2007).

Spolidorio *et al.* (2010) e Brustolin (2014) observaram sinais de febre mediana, dores articulares e musculares e escaras cutâneas, em um caso clínico ocorrido em humano no estado de São Paulo. O agente etiológico isolado apresentou similaridade gênica a *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia africae* e *Rickettsia sibirica* sendo denominado *Rickettsia parkeri* (Cepa Mata Atlântica).

Poucos estudos publicados em gatos no Brasil, mas em um estudo no Estado do Rio Grande do Sul (Sul do Brasil), relataram uma soroprevalência de 42,4% em cães para

Rickettsia do grupo SFG, com a maioria dos animais exibindo títulos finais mais elevados para *Rickettsia parkeri* do que para outras espécies de *Rickettsia*. O resultado encontrado foi associado estatisticamente aos animais utilizados para pastoreio ou caça (Lado *et al.*, 2015).

1.2.3 *Rickettsia bellii*

A *Rickettsia bellii* um exemplar do grupo Ancestral, é a *Rickettsia* mais comumente encontrada em carrapatos na América (PHILIP *et al.*, 1983) e no Brasil estando associada a carrapatos do gênero *Amblyomma* (*Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum*) (Labruna *et al.*, 2004, Pinter, Labruna *et al.*, 2006; Amorim *et al.*, 2013) infectando espécies de quase todos os gêneros de carrapatos do Novo Mundo (Philip *et al.*, 1983, Labruna *et al.*, 2011) bem como uma ampla gama de insetos e organismos diversos incluindo a ameba (Weinert *et al.*, 2009; Spolidorio *et al.*, 2013).

Há evidência sorológica de infecção por *Rickettsia bellii* em capivaras do estado de São Paulo, possivelmente transmitidos por *Amblyomma dubitatum* (Pacheco *et al.*, 2007), além de cães no Paraná (Fortes *et al.*, 2010), Mato Grosso (Melo *et al.*, 2011) e Pará (Spolidorio *et al.*, 2013; Amorim *et al.* 2013).

O *Ixodes loricatus* é uma espécie de carrapato comum em marsupiais do Novo Mundo, mas também encontrado em roedores *Sigmodontinae*. Esta espécie de carrapato frequentemente abriga a *Rickettsia belli*, e ambos, carrapatos e gambás (*Didelphis spp.*) são comuns em áreas endêmicas para BSF (Coelho, *et al.*, 2016).

1.2.4 *Rickettsia felis*

Rickettsia felis é um agente riquetsial descoberto em 1990, que infecta pulgas de gatos em taxas variadas, mais especificamente a espécie *Ctenocephalides felis*, porém sua transmissão foi demonstrada em outros animais, incluindo os cães, que podem servir como hospedeiros reservatórios (Minahan, *et al.*, 2023).

A afecção por *R. felis* é autolimitada, podendo ser caracterizada por doença febril indiferenciada e tratada com antibioticoterapia porém alguns estudos identificaram a *R. felis* em diferentes hospedeiros artrópodes, porém essas cepas parecem servir como

endossimbiontes não patogênicos (Minahan, *et al.*, 2023).

Os sinais e sintomas clínicos de pacientes humanos infectados por *R. felis* incluíram febre, erupção cutânea e insuficiência hepática e renal, podendo desenvolver pneumonia ou lesões pulmonares (Teng, *et al.*, 2022).

1.3 Vetores

1.3.1 Carrapatos

No Brasil, atualmente a fauna de carrapatos é composta de 69 espécies, divididas em duas famílias: Ixodidae (46 espécies) e Argasidae (23 espécies) (Barros-Battesti *et al.*, 2015; Krawczak *et al.*, 2015; Wolf *et al.*, 2016). Dessas 69 espécies, 21 são descritas parasitando o humano, sendo estas: *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma brasiliense*, *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma coelebs*, *Amblyomma dissimile*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma fuscum*, *Amblyomma incisum*, *Amblyomma longirostre*, *Amblyomma japonense*, *Amblyomma oblongoguttatum*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma parvum*, *Amblyomma romitii*, *Amblyomma scalpturatum*, *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma tigrinum*, *Dermatocentor nitens*, *Haermaphysalis juxtakochi*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* (Guglielmone *et al.*, 2006, Krawczak, 2016).

Apesar de 69 metastigmatas comporem a ixodofauna brasileira, apenas 3 espécies são capazes de veicular riquetsias para humanos no Brasil: *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma ovale* (Pinter; Labruna, 2006; Barbieri *et al.*, 2014; Krawczak *et al.*, 2014, 2016, Saraiva *et al.*, 2014; Krawczak, 2016), espécies que compõem o presente trabalho.

Considerando a longevidade excepcional desses artrópodes, eles se tornam não apenas vetores, mas também reservatórios de agentes infecciosos (Labuda; Nuttall, 2004; Krawczak, 2016).

O interesse nesse artrópode tem crescido devido a doenças emergentes e reemergentes transmitidas por eles, incluindo as causadas por *Rickettsias*. Nas últimas décadas desde 1988, na região Sudeste do país, houve reemergência das infecções riquettsiais (Labruna, 2009), devido a modificações ecológicas como alteração da diversidade e distribuição ecológicas de animais e plantas, medidas de conservação em

geral acompanhadas por favoritismo de determinadas espécies em detrimento de outras, incremento do contato de seres humanos com nichos naturais devido ao ecoturismo (Ogrzewalska *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014; Krawczak, 2016).

1.3.2 Complexo *Amblyomma cajennense*

O ciclo biológico dos carrapatos *Amblyomma* exige a participação de três hospedeiros para completar-se: a fêmea adulta ingurgitada realiza a oviposição no ambiente e após o período de incubação variável e dependente da temperatura ambiente, originam as larvas que permanecem no solo até ao achado do hospedeiro para se alimentar. Após se alimentar, a larva retorna ao solo onde sofre o processo de ecdise e torna-se ninfa, que permanece no ambiente à espera de um hospedeiro. A ninfa tendo se alimentado, cai novamente no solo e muda para o estágio adulto, diferenciando-se em machos e fêmeas, que ficam no aguardo do hospedeiro (Nava *et al.*, 2014, Martins *et al.*, 2016).

Os adultos realizam o repasto sanguíneo e a cópula sobre o hospedeiro e a fêmea ingurgitada desprende-se e retorna ao ambiente para oviposição e o macho permanece sobre o hospedeiro por todo período de sua vida (Nava *et al.*, 2014, Martins *et al.*, 2016).

O táxon *Amblyomma cajennense* vinha sendo considerado uma única espécie distribuída desde o Sul dos Estados Unidos até o Norte da Argentina. Trabalhos baseados numa avaliação morfológica e genética de diferentes populações de *Amblyomma cajennense* no continente americano, indicaram que *Amblyomma cajennense* é de fato um complexo de pelo menos seis espécies: 1) *Amblyomma cajennense* sensu strito, 2) *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, revalidado, anteriormente conhecido como sinonímia *Amblyomma cajennense*, 3) *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888, revalidado, anteriormente conhecido como sinonímia de *Amblyomma cajennense*, 4) *Amblyomma interandinum* n.sp, 5) *Amblyomma patinoi* n.sp. e 6) *Amblyomma tonelliae* n. sp (Nava *et al.*, 2014, Martins *et al.*, 2016).

Segundo Martins *et al.*, (2016), *Amblyomma cajennense* (s.l.) está atualmente representada no Brasil por apenas duas espécies: *Amblyomma cajennense* (s.s.) e *Amblyomma sculptum* (Martins *et al.*, 2016).

O *Amblyomma cajennense* (s.s.) é encontrado na borda do bioma Amazônia, na chamada floresta tropical sazonalmente seca (SDTF), não sendo encontrado na parte interna da floresta tropical, pelo fato de não ser bem adaptado as florestas extremamente úmidas. Este carrapato está ausente no bioma do cerrado (Savana brasileira) (Martins *et*

al., 2016).

A distribuição do *Amblyomma sculptum* engloba os biomas de todo o Cerrado e Pantanal; e grande parte do bioma da Mata Atlântica (clima tropical), em áreas onde a cobertura natural foi degradada espécie ausente no Sul do Brasil, devido ao clima subtropical (Martins *et al.*, 2016). Presente nos Estados da região Sudeste e Centro-oeste, mas também Bahia, Paraná e Santa Catarina (Martins *et al.*, 2016).

Segundo estudo de modelagem ambiental o *Amblyomma cajennense* (s.s.) e o *Amblyomma sculptum* podem sobrepor-se num território devido a algumas semelhanças em variáveis abióticas, chamada aos limites entre o bioma Amazônia e Cerrado, entre o clima Equatorial e Tropical (Martins *et al.*, 2016).

O progresso da degradação da floresta amazônica e da mata atlântica, com substituição da cobertura florestal original pela vegetação do cerrado pode favorecer a expansão do *Amblyomma sculptum* nessas áreas. Um exemplo potencial desta condição é o estado de Rondônia, onde Labruna *et al.* (2005) não encontrou nenhum *Amblyomma sculptum* durante uma pesquisa de carrapatos por todo o estado entre os anos de 2000 a 2005, mas numa segunda expedição em 2012 havia uma população estabelecida de *Amblyomma sculptum* no município de Pimenta Bueno (Martins *et al.*, 2016).

Este cenário de degradação é de extrema importância médica, já que no Brasil o *Amblyomma sculptum* é o vetor mais importante da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da FMB. A expansão do *Amblyomma sculptum* ao norte do Brasil poderia envolver expansão de outras doenças transmitidas por carrapatos (Martins *et al.*, 2016).

A ocorrência de *Amblyomma sculptum* está confirmada nos seguintes estados brasileiros do Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Rondônia (Martins, 2014, 2016).

O carrapato *Amblyomma cajennense* parasita um grande número de espécies entre mamíferos e aves, incluindo o Homem (Aragão, 1936; Vieira *et al.*, 2004; Onofrio *et al.*, 2006; Guglielmone *et al.*, 2014). Se caracteriza por parasitar humanos em maior intensidade que qualquer outra espécie de carrapato no Neotrópico (Aragão, 1936; Guglielmone *et al.*, 2003; Guglielmone *et al.*, 2006; Martins, 2014).

Os adultos têm preferência em parasitar grandes mamíferos como equinos, bovinos, antas e capivaras. Outros animais domésticos como búfalo, cão, porco, ovelha, cabra, coelho, assim como mamíferos silvestres de tamanho médio a grande, são também infestados por esta espécie. Existem registros de infestação de aves domésticas como perus e galinhas, além de aves silvestres e alguns répteis, porém o parasitismo nestes

hospedeiros não é comum. (Guglielmone *et al.*, 2004; Guglielmone *et al.*, 2014; Martins, 2014).

Esta espécie comumente ataca o Homem em qualquer fase de seu desenvolvimento. Dada a menor especificidade parasitária das larvas e ninfas, estes são os principais estágios que parasitam os seres humanos. Geralmente, o estágio adulto é mais específico de grandes mamíferos. Quando as populações deste carrapato se apresentam muito numerosas, o estágio adulto é encontrado com mais frequência em outros mamíferos, inclusive humanos (Guimarães; Tucci; Barros- Battesti; 2001; Martins, 2014).

Nas áreas rurais da região sudeste do Brasil, os equinos são os principais hospedeiros domésticos para todos os estágios do *Amblyomma cajennense* e as capivaras têm desempenhado o papel de principal hospedeiro silvestre para este carrapato em ambientes antropizados (Labruna *et al.*, 2004, Vieira *et al.*, 2004; Labruna *et al.*, 2013; Martins, 2014).

1.3.3 *Amblyomma aureolatum*

O *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) é um dos carrapatos mais encontrados parasitando cães domésticos nas áreas rurais do sul e sudeste do Brasil (Guimarães *et al.*, 2001, Labruna e Pereira, 2001).

Na região metropolitana da cidade de São Paulo, este carrapato é o principal vetor da *Rickettsia rickettsii*, o agente etiológico da Febre Maculosa brasileira (BSF) (Gomes 1933, Dias e Martins, 1939, Vallejo-Freire 1947, Pinter, 2003, Pinter *et al.*, 2004).

A literatura sugere que mamíferos carnívoros especialmente cães (*Canis familiaris*) e a raposa comedora de caranguejo (*Cerdocyon thous*) são os principais hospedeiros primários para o estágio adulto de *Amblyomma aureolatum* (Guimarães 1945, Evans *et al.*, 2000; Labruna *et al.*, 2001; Rodrigues *et al.*, 2002; Guglielmone *et al.*, 2003; Pinter *et al.*, 2004). O estágio adulto deste carrapato parasita os seres humanos, sendo provavelmente este estágio de desenvolvimento que transmite o agente etiológico da FMB (Aragão e Fonseca, 1961; Guglielmone *et al.*, 2003; Pinter *et al.*, 2004).

A infestação por *Amblyomma aureolatum* em cães no Brasil geralmente caracteriza-se por cargas parasitárias baixas, possivelmente porque fatores naturais controlam a população de carrapatos no meio ambiente (Labruna *et al.*, 2000, 2001; Labruna e Pereira, 2001; Pinter *et al.*, 2004) e, pela baixa densidade do hospedeiro, para o estágio adulto do carrapato (cães e outros carnívoros) e para os estágios imaturos (animais selvagens)

(Pinter *et al.*, 2004). As temperaturas que variam de 23 a 27°C não são um fator limitante para os estágios de desenvolvimento livre do carrapato, desde que a HR (umidade relativa) seja de 95% (Pinter *et al.*, 2004).

A distribuição geográfica de *Amblyomma aureolatum* é muito mais estreita na América do Sul (Guglielmone *et al.*, 2003), sendo a grande maioria encontrada em áreas dentro da Floresta Atlântica (Pinter *et al.* 2004).

Os resultados do estudo de Pinter *et al.* 2004 fornecem evidências biológicas para discriminar como hospedeiros de estágios imaturos de *Amblyomma aureolatum* nas aves, sugerindo que estes animais e cães podem ser os hospedeiros primários para o carrapato em condições naturais. O mesmo estudo sugere um papel potencial de cobaias selvagens (*Cavia aperea*) também como hospedeiros para os estágios imaturos. Essas cobaias são roedores selvagens endêmicos prevalentes em muitos países da América do Sul e sudeste do Brasil (Cimardi, 1996; Pinter *et al.*, 2004).

1.3.4 *Amblyomma ovale*

A espécie *Calomys callosus* da família Cricetidae foi o hospedeiro mais adequado para larvas de *Amblyomma ovale*, enquanto que outras espécies de Cricetidae *Nectomys squamipes* (rato d'água) foram hospedeiros mais adequados para ninfas de *Amblyomma ovale* (Martins *et al.*, 2012a). Estudos de James *et al.*, 1972 e, Guglielmone e Nava 2011, sugeriram que pequenos roedores podem ser os principais hospedeiros de larvas e ninfas de *Amblyomma ovale* em condições naturais, corroborando o estudo de Martins *et al.*, 2012 (Martins *et al.*, 2012a).

As aves passeriformes foram encontradas sendo parasitadas por larvas e ninfas de *Amblyomma ovale* no sudeste do Brasil, tendo um papel significativo na dispersão de carrapatos entre diferentes áreas geográficas (Martins *et al.*, 2012a).

Os cães domésticos mostraram ser altamente adequados para a fase adulta de *Amblyomma ovale*. Em geral, as fêmeas ingurgitadas recuperadas de cães pesaram cerca de 1000mg e convertidas a mais de 60% do seu peso em ovos, que eram férteis e esses resultados reforçaram que estes animais são atualmente um dos hospedeiros mais importantes de carrapatos adultos *Amblyomma ovale* na América Latina (Guglielmone *et al.*, 2003; Martins *et al.* 2012b).

O *Amblyomma ovale* é o principal vetor de uma rickettsiose da Febre maculosa humana

emergente no Brasil, causada pela *Rickettsia parkeri*, cepa Mata Atlântica (Spolidorio *et al* 2010; Silva *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2012b). Segundo Sabatini *et al.*(2010) e Medeiros *et al.* (2011), cerca de 10% dos carrapatos *Amblyomma ovale* estavam infectados pela *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica em pelo menos dois estados brasileiros onde a doença foi confirmada: Santa Catarina e Litoral de São Paulo.

1.3.5 Sintomatologia clínica em humanos

Em humanos, a doença caracteriza-se por edema de membros, cefaleia, exantema, mialgia e febre aguda, podendo causar quadros respiratórios, renais, neurológicos (como meningite e encefalite) e hepáticos, levando à icterícia. Devido aodiagnóstico e tratamento tardios, os pacientes podem evoluir para o óbito entre o quinto e décimo quinto dias após o início dos sintomas (Moraes - Filho, 2017).

2. OBJETIVOS

O presente estudo tem por objetivo detectar anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia bellii* e *Rickettsia parkeri* através do teste de Imunofluorescência indireta em sangue de gatos atendidos nos Hospitais Veterinários Públicos da região metropolitana de São Paulo, SP.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 População Alvo e Local das coletas

As amostras eram provenientes dos Hospitais públicos veterinários da região metropolitana de São Paulo, SP, e após serem utilizadas para outros fins pelo Laboratório Clínico Veterinário destes estabelecimentos entre fevereiro a dezembro de 2022, foram doadas para o presente estudo; no qual foram levadas ao Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP) e à Universidade Santo Amaro, para a realização das análises.

O delineamento amostral foi por conveniência, independentemente do sexo, idade, sintomatologia clínica, conforme a rotina dos hospitais veterinários. Os pacientes foram oriundos de diferentes áreas territoriais da região metropolitana de São Paulo, SP; incluindo a região da Serra da Cantareira e extremo sul da cidade de São Paulo, áreas de vegetação típica de Mata Atlântica.

A região metropolitana de São Paulo apresenta clima classificado como Tropical de Altitude, com índices pluviométricos elevados nos meses de verão e estiagem no inverno, sendo sua temperatura média do mês mais quente superior a 22º; apresentando diversas áreas de fragmentação de Mata Atlântica (São Paulo, 2017).

Devido ao fato das amostras serem excedentes de um Laboratório clínico veterinário e terem sido doadas (Anexo 1), a Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) da Universidade Santo Amaro dispensou a necessidade de análise, estando ciente do andamento do presente projeto.

3.2 Imunofluorescência indireta para a *R. rickettsii*, *R. parkeri* e *R. bellii*

A técnica baseia-se em impregnar o antígeno em áreas circulantes delimitadas em lâminas. Coloca-se sobre esse antígeno, o soro diluído do paciente e incuba-se com um marcador fluorescente caso haja a formação do antígeno-anticorpo. São realizadas lavagens para a retirada dos anticorpos que não formaram a ligação na reação. Caso haja a ligação antígeno-anticorpo, o marcador fluorescente reage com o anticorpo específico para o antígeno, observando-se a reação ao microscópio, do qual o anticorpo pesquisado é visualizado na leitura das lâminas (Oliveira, *et al.*, 2006). Os soros sanguíneos dos animais foram testados pela técnica de imunofluorescência Indireta frente aos antígenos de *Rickettsia rickettsii* (cepa Taiaçu), *Rickettsia parkeri* (cepa At24) e *Rickettsia bellii* (cepa Mogi) conforme previamente descrito (Horta *et al.*, 2004). Quando constatada reação positiva na diluição de triagem (1/64), os soros foram testados para determinação do título final e a possibilidade da existência de uma reação homóloga para um dos antígenos testados (Horta *et al.* 2004).

As amostras que apresentaram em um primeiro momento reação homóloga, foram submetidas a uma nova reação para o antígeno *R. felis*, conforme descrito por Horta *et al.*, 2004.

3.3 Cálculo Estatístico

Todos os testes realizados levaram em consideração um α bidirecional (p -valor) de 0,05 e intervalo de confiança (IC) de 95% e foram realizados com apoio computacional dos softwares R. Os dados foram descritos com frequência e intervalo de confiança para variáveis qualitativas e com medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio padrão, intervalo interquartil, mínimo e máximo) para dados quantitativos.

A existência de associação entre as variáveis qualitativas foi testada com qui-quadrado e a associação entre variáveis quantitativas e qualitativas foi avaliada com teste U de Mann-Whitney.

O endereço do tutor dos gatos positivos foi geocodificado para coordenadas de latitude e longitude no formato decimal utilizando o serviço Google Maps e transferidos para o software QGIS 3.14.0 para visualização da distribuição espacial das espécies identificadas.

4. RESULTADOS

Por meio da reação de Imunofluorescência indireta, 737 amostras foram testadas em sangue de gatos residentes na região metropolitana de São Paulo para *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri* e *R. bellii*. 73 amostras (9,9%) foram positivas para pelo menos um antígeno testado, com títulos variando entre 64 e 4096. Das amostras positivas, 11 (15,1%) apresentaram reação homóloga à *R. parkeri*, com títulos variando entre 64 e 4096 e; 3 (4,1%) apresentaram reação homóloga à *R. rickettsii*, com títulos variando de 64 e 1024 (Tabela 1 e Tabela 2).

Em relação à *R. parkeri*, 1 amostra (9%) era da região leste, 3 (27,27%) da região norte, 2 (18,18%) da região sul da cidade de São Paulo, SP e; 5 (45,45%) animais de Osasco, SP. Sobre a *R. rickettsii*, 1 amostra (33,33%) residia na região leste e 2 (66,66%) da região norte da cidade de São Paulo, SP (Tabela 1 e Figura 1).

Tabela 1: Resultados encontrados sobre idade, sexo, imunofluorescência indireta, localização das amostras coletadas de gatos, entre fevereiro de 2022 a dezembro de 2022, na região metropolitana de São Paulo, SP.

Amostra	Espécie	Idade	Sexo	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	<i>R. bellii</i>	<i>R. felis</i>	Localização	Reação homóloga (PAIHR)
3	felina	15	M	256	64	128		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
11	felina	5	F	256	64	negativo	64	Zona leste de São Paulo, SP	<i>R. rickettsii</i>
28	felina	3	M	512	1028	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
39	felina	11	F	256	512	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
53	felina	16	M	512	256	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
54	felina	6	M	64	negativo	negativo		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
57	felina	1	F	128	128	128		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
61	felina	7	M	64	negativo	negativo		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
69	felina	16	F	256	64	512		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
83	felina	7	M	128	64	64		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
84	felina	3	M	128	256	256		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
132	felina	16	M	64	64	128		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
142	felina	11m	F	negativo	64	128		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
143	felina			64	64	negativo		S/I	<i>Rickettsia</i> spp.
145	felina	11m	M	negativo	64	64		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
173	felina	10	M	negativo	64	negativo		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
186	felina	3	F	256	256	128		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
189	felina	6	F	negativo	64	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
195	felina	6	F	64	256	negativo	64	Zona leste de São Paulo, SP	<i>R. parkeri</i>
197	felina	3	M	512	64	64	64	Zona norte de São Paulo, SP	<i>R. rickettsii</i>
246	felina	3	F	64	negativo	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
326	felina	3	M	256	512	64		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.

357	felina	1	F	128	64	64		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
362	felina			64	128	128		S/I	<i>Rickettsia</i> spp.
366	felina	5	F	128	128	64		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
369	felina	10	F	128	128	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
370	felina	19	F	negativo	128	64		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
392	felina	4	F	64	512	64	negativo	Osasco, SP	<i>R. parkeri</i>
452	felina	5	M	64	512	64	64	Zona sul de São Paulo, SP	<i>R. parkeri</i>
453	felina	3	M	256	128	negativo		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
457	felina	6m	M	256	64	64	256	Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
459	felina	3	F	512	128	64	64	Zona norte de São Paulo, SP	<i>R. rickettsii</i>
475	felina	3	M	256	512	128		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
484	felina	6m	M	128	256	64		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
485	felina	1	M	64	64	negativo		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
488	felina	5	M	negativo	64	64		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
490	felina	2	M	64	1024	128	512	Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
492	felina	1	F	128	256	64		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
494	felina	3	F	2048	4096	64		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
495	felina	2	M	512	1024	128		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
541	felina	2	M	128	512	128	128	Osasco, SP	<i>R. parkeri</i>
715	felina	2	M	2048	4096	256		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
724	felina	6	M	negativo	64	negativo		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
725	felina	2	F	negativo	64	negativo		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
726	felina	2	F	64	512	64	64	Zona sul de São Paulo, SP	<i>R. parkeri</i>
755	felina	16	M	128	64	negativo		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
773	felina	10	M	128	256	negativo		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
775	felina	6	M	64	512	negativo	128	Zona norte de São Paulo, SP	<i>R. parkeri</i>
776	felina	5	F	64	1024	128	256	Zona norte de São Paulo, SP	<i>R. parkeri</i>
777	felina	9	F	128	512	256		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
778	felina	13	F	1024	2048	64		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
781	felina	6	M	256	2048	64	negativo	Zona norte de São Paulo, SP	<i>R. parkeri</i>
782	felina	8m	F	64	128	negativo		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
797	felina	2	F	64	256	negativo	64	Osasco, SP	<i>R. parkeri</i>
826	felina	1	F	128	1024	64	128	Osasco, SP	<i>R. parkeri</i>
827	felina	19	F	negativo	128	negativo	128	Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
828	felina	3	M	negativo	128	negativo	64	Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
832	felina	9	M	negativo	128	negativo	64	Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
833	felina	12	M	64	64	negativo		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
834	felina	2	F	256	128	64		Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
836	felina	9	M	128	64	64		Zona norte	<i>Rickettsia</i> spp.
838	felina	13	F	1024	2048	128		Zona leste	<i>Rickettsia</i> spp.
839	felina	12	M	negativo	64	64		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
841	felina	11	M	64	128	negativo		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
843	felina	4	M	256	512	128		Zona leste de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
846	felina	10	F	64	256	64	negativo	Osasco, SP	<i>R. parkeri</i>
847	felina	6	M	128	64	negativo		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
850	felina	14	M	128	negativo	negativo	128	Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
859	felina	1	F	64	negativo	negativo		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
860	felina	16	F	1024	2048	128		Zona norte de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.

861	felina	2	F	64	128	64		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
912	felina	5	M	64	256	64	128	Osasco, SP	<i>Rickettsia</i> spp.
766	felina	13	M	64	128	negativo		Zona sul de São Paulo, SP	<i>Rickettsia</i> spp.

Legenda: S/I: sem informações sobre dados de localização da residência do animal.

Tabela 2. Estatística descritiva das características e resultados dos testes com o número de pacientes por categoria (N) e a porcentagem com o intervalo de confiança (IC) de 95%.

	N	% (IC95%)
Sexo		
F	344	46,8 (43,2-50,4)
M	391	53,2 (49,6-56,8)
Total	735	100,0%
Localização		
Osasco, SP	17	23,9 (15,2-34,8)
Zona Leste de São Paulo, SP	21	29,6 (19,9-40,8)
Zona Norte de São Paulo, SP	15	21,1 (12,9-31,7)
Zona Sul de São Paulo, SP	18	25,4 (16,4-36,3)
Total	71	100,0%
Positivo em ao menos um teste RIFI		
Negativo	663	90 (87,6-92)
Positivo	74	10 (8-12,4)
Total	737	100,0%
<i>R. rickettsii</i>		
Negativo	675	91,6 (89,4-93,4)
Positivo	62	8,4 (6,6-10,6)
Total	737	100,0%
<i>R. parkeri</i>		
Negativo	668	90,6 (88,4-92,6)
Positivo	69	9,4 (7,4-11,6)
Total	737	100,0%
<i>R. bellii</i>		
Negativo	693	94 (92,1-95,6)
Positivo	44	6 (4,4-7,9)
Total	737	100,0%
<i>R. felis</i>		
Negativo	3	13,6 (4-32,1)
Positivo	19	86,4 (67,9-96)
Total	22	100,0%
Reação Homóloga (PAIHR)		
<i>R. parkeri</i>	11	15,1 (8,3-24,6)
<i>R. rickettsii</i>	3	4,1 (1,2-10,6)
<i>Rickettsia</i> spp.	59	80,8 (70,7-88,6)
Total	73	100,0%

A idade dos animais testados variou entre 3 meses e 22 anos, sendo que apenas 25% dos animais tinham mais de 9 anos (Tabela 3). Das amostras testadas, 344 eram fêmeas e 391 machos. As variáveis idade e sexo não apresentaram diferença estatística com relação a positividade para nenhum dos antígenos testados (Tabela 4 e 5).

Tabela 3. Estatística descritiva da idade dos gatos testados incluindo a média com desvio padrão (DP), mediana com intervalo interquartil (IIQ) e valores mínimo e máximo da variável.

	Média (\pmDP)	Mediana (IIQ)	Mín-Máx
Idade (anos)	5,9 (\pm 4,9)	5 (2-9)	0,25-22

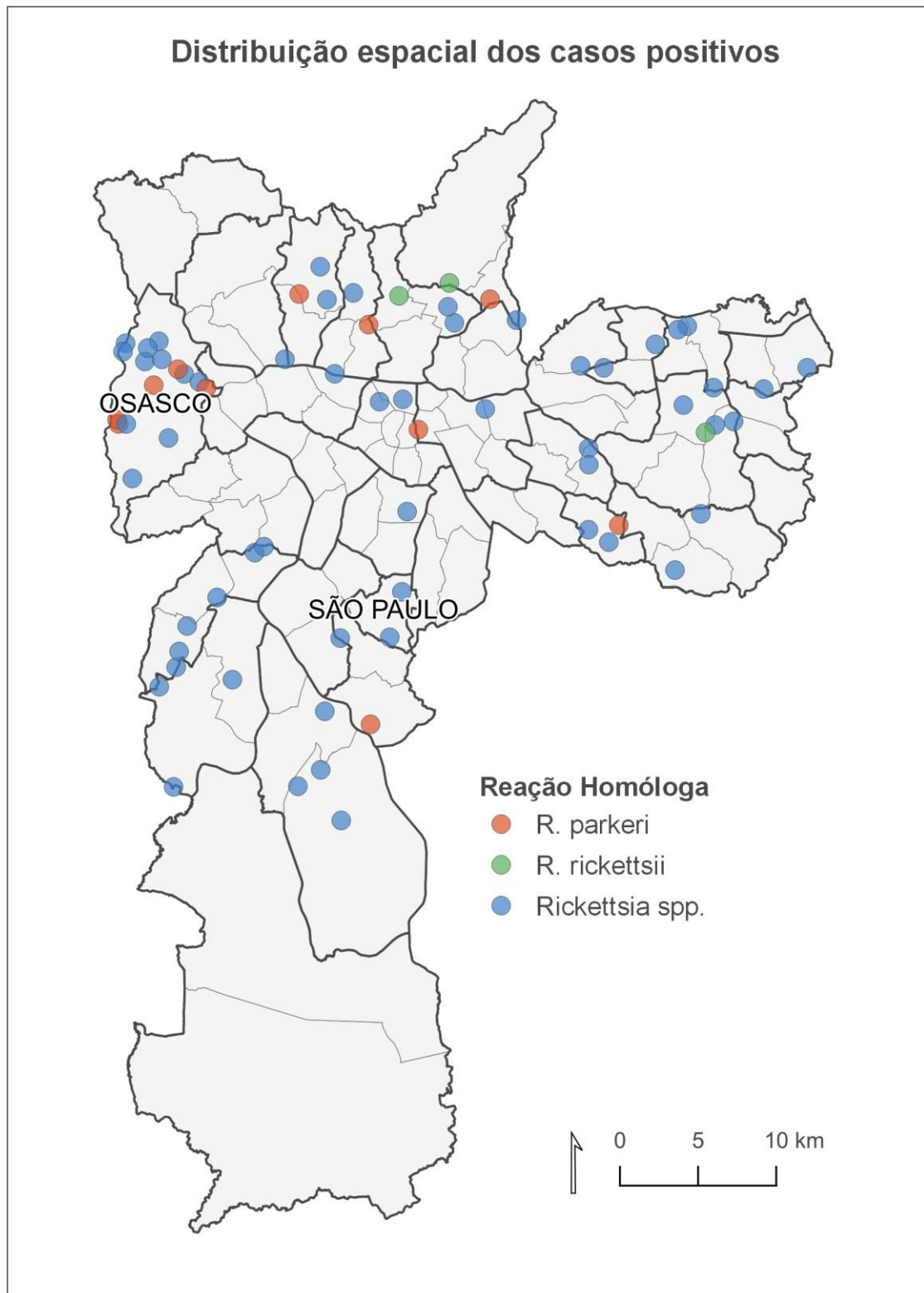
Tabela 4. Estatística descritiva do sexo de acordo com as características dos gatos o número de pacientes por categoria (N) e a porcentagem com o intervalo de confiança (IC) de 95% com teste de associação qui-quadrado.

Variáveis/ Categorias	N	Sexo		p-valor	
		Fêmea % (IC95%)	Macho % (IC95%)		
Positivo em ao menos um teste RIFI					
Negativo	311	90,4 (87-93,2)	351	89,8 (86,5-92,5)	0,773
Positivo	33	9,6 (6,8-13)	40	10,2 (7,5-13,5)	
<i>R. rickettsii</i>					
Negativo	319	92,7 (89,6-95,1)	355	90,8 (87,6-93,4)	0,342
Positivo	25	7,3 (4,9-10,4)	36	9,2 (6,6-12,4)	
<i>R. parkeri</i>					
Negativo	315	91,6 (88,3-94,2)	352	90 (86,8-92,7)	0,471
Positivo	29	8,4 (5,8-11,7)	39	10 (7,3-13,2)	
<i>R. bellii</i>					
Negativo	327	95,1 (92,4-97)	365	93,4 (90,6-95,5)	0,325
Positivo	17	4,9 (3-7,6)	26	6,6 (4,5-9,4)	
<i>R. felis</i>					
Negativo	2	16,7 (3,6-43,6)	1	11,1 (1,2-41,4)	0,719
Positivo	10	83,3 (56,4-96,4)	8	88,9 (58,6-98,8)	
Reação Homóloga (PAIHR)					
R. parkeri	5	15,2 (6-30,1)	6	15 (6,5-28,3)	0,745
R. rickettsii	2	6,1 (1,3-18,1)	1	2,5 (0,3-11,1)	
Rickettsia spp.	26	78,8 (62,8-90)	33	82,5 (68,7-91,8)	

Tabela 5. Estatística descritiva da idade de acordo com os resultados obtidos incluindo a média com desvio padrão (DP), mediana com intervalo interquartil (IIQ) e valores mínimo e máximo da variável com teste de associação (Teste U Mann-Whitney ou *Kruskal-Wallis).

	Média (\pm DP)	Mediana (IIQ)	Mín-Máx	p-valor
Positivo em ao menos um teste RIFI				
Negativo	5,9 (\pm 4,9)	5 (2-9)	0,25-22	0,991
Positivo	5,7 (\pm 4,6)	4 (2-9)	0,5-19	
<i>R. rickettsii</i>				
Negativo	5,9 (\pm 4,9)	5 (2-9)	0,25-22	0,817
Positivo	5,8 (\pm 4,5)	4 (2-9)	0,5-16	
<i>R. parkeri</i>				
Negativo	5,9 (\pm 4,9)	5 (2-9)	0,25-22	0,741
Positivo	5,8 (\pm 4,6)	4,5 (2-9)	0,5-19	
<i>R. bellii</i>				
Negativo	5,9 (\pm 4,9)	5 (2-9)	0,25-22	0,848
Positivo	5,7 (\pm 4,5)	4 (2-9)	0,5-16	
<i>R. felis</i>				
Negativo	9 (\pm 2,6)	10 (6-11)	6-11	0,062
Positivo	5,4 (\pm 4,7)	4 (2-6)	1-19	
Reação Homóloga (PAIHR)				
<i>R. parkeri</i>	4,8 (\pm 3,3)	5 (2-6)	1-11	0,877*
<i>R. rickettsii</i>	5,7 (\pm 3,1)	5 (3-9)	3-9	
<i>Rickettsia</i> spp.	5,9 (\pm 4,9)	4 (2-9)	0,5-19	

Figura 1. Mapa dos municípios de São Paulo e Osasco com a distribuição espacial dos casos positivos detectados no presente estudo.



5. DISCUSSÃO

Embora os anticorpos para *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia parkeri* já foram relatados em gatos em áreas do estado de São Paulo (HORTA et al., 2007); o presente estudo foi o primeiro relato nesta espécie sorologicamente positivos para estes patógenos na região metropolitana de São Paulo. *R. rickettsii* é o mais importante agente zoonótico transmitido por carrapatos, e é principalmente transmitido a humanos e outros vertebrados por *A. sculptum* e *Amblyomma aureolatum* (LABRUNA et al., 2017).

A soroconversão de *Rickettsia bellii* foi relatada em diversos animais no Brasil, como em capivaras no sul do Brasil (FORTES et al., 2011). Apesar disso, no presente estudo nenhuma amostra apresentou reação homóloga para esta espécie de *Rickettsia*, provavelmente devido à baixa frequência de *Amblyomma dubitatum* em áreas de fragmentação de Mata Atlântica, principalmente em regiões com baixa presença de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) (PINTER et al., 2008).

15,1% dos gatos apresentaram reação homóloga para *R. parkeri* e apenas 4,1% para *R. rickettsii*. Estudos anteriores demonstram considerável possibilidade de reação cruzada entre esses dois patógenos, dificultando o conhecimento de qual realmente o patógeno que estimulou a resposta imunológica do animal analisado (BEATI et al., 1994).

Os resultados no presente estudos mostraram que os animais que apresentaram reação homóloga para *R. parkeri* e *R. rickettsii* residiam em áreas periféricas da região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil; provavelmente em regiões de Mata Atlântica degradada e fragmentada no qual os animais possivelmente tinham contato, aumentando o risco destes animais serem parasitados pelos carrapatos vetores destas bactérias; algo também que foi demonstrado por Horta et al., 2007 e Mendes et al., 2019.

No presente estudo, a idade e o sexo dos animais não apresentaram diferenças estatísticas quando a possibilidade de positividade para a reação de imunofluorescência indireta para os antígenos testados. Porém, Mendes et al., 2019, relata que gatos com menos de 12 meses tiveram chance 4,3 vezes maior de soropositividade do que os gatos mais velhos. Mas outros estudos não encontraram associação entre idade e soropositividade para riquetsias (SOLANO-GALLEGO et al., 2006; SEGURA et al., 2014).

Hinkle et al. 1998, mostra que em gatos mais jovens à uma maior possibilidade de parasitismo por carrapatos ixodídeos, possivelmente devido a hábitos de autolimpeza menos eficientes, em comparação com gatos adultos. Essa maior suscetibilidade aos artrópodes pode levar a um maior potencial de surtos de doenças em situações de

infestação por carrapatos infectados.

Mesmo com frequências relativamente baixas em gatos por infestação por carrapatos ixodídeos; a soropositividade encontrada nestes animais no presente estudo na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil; demonstra a importância de conscientização dos tutores em manter esses animais domiciliados e praticar guarda responsável, como o objetivo de evitar a possibilidade destes felinos tornarem carreadores de vetores de *R. parkeri* e *R. rickettsii* para o domicílio das pessoas, principalmente aqueles que tem acesso a áreas degradadas e fragmentadas de Mata Atlântica.

No Chile, um único trabalho de 2006 com 21 gatos, mostrou positividade na imunofluorescência indireta em 16 (72,7%) gatos. Destes, 4 (18,2%) foram homólogos para *R. bellii*, 3 (13,6%) para *R. parkeri* e 2 (9,1%) para *R. rickettsii* (LABRUNA et al. 2007). Porém, no presente estudo 15,1% dos gatos apresentaram reação homóloga para *R. parkeri* e 4,1% para *R. rickettsii*.

R. rickettsii e *R. parkeri* apresentaram maiores titulações comparado a *R. bellii* no presente estudo, provavelmente pode estar relacionado às áreas de fragmentação de Mata Atlântica onde esses gatos residem, pois no bioma de Mata Atlântica, estes animais têm um maior risco de serem parasitados por *A. aureolatum* e o *A. ovale* (PINTER et al., 2008).

São necessários mais estudos em gatos doentes e saudáveis quanto a possibilidade de associações entre espécies de Rickettsias e doenças clínicas nestes animais, para evitar que as enfermidades causadas por estes patógenos não sejam negligenciadas, proporcionando a eles uma melhor qualidade de vida.

Vale ressaltar que, a soropositividade entre gatos errantes e semidomiciliados em áreas fragmentadas de Mata Atlântica podem ter um papel como sentinelas em relação à exposição humana a riquétsias do grupo da Febre Maculosa Brasileira, como observado anteriormente por Horta et al., 2007 e Matthewman et al., 1997.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a presença de felinos sorologicamente positivos para *R. rickettsii* e *R. parkeri* na região metropolitana de São Paulo, tendo potencial para desempenhar um papel como sentinelas em relação à exposição humana a riquetsias do grupo da Febre Maculosa Brasileira em áreas degradadas e fragmentadas de Mata Atlântica.

7. REFERÊNCIAS

- Aguiar, D.M.; Ribeiro, M.G.; Silva, W.B. *et al.* Hepatozoonose canina: achados clínico-epidemiológicos em três casos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.56, p.411-413, 2004.
- Beati, L. *et al.* Species-specific BALB/c mouse antibodies to rickettsiae studied by western blotting. **FEMS Microbiol Lett**, v. 119, n. 3, p. 339-344, 1994.
- Boozer, A.L.; Macintire, D.K. Canine babesiosis. **Vet Clin North Am Small Anim Pract** 2003;33:885–904.
- Borin, S.; Crivelenti, L.Z; Ferreira, F.A. Aspectos epidemiológicos clínicos e hematológicos de 251 cães portadores de mórula de *Ehrlichia* spp. naturalmente infectados. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.3, p.566-571, 2009.
- Braga, A. Contribuição ao estudo experimental das piroplasmoses dos cães. **Bol Veter Exército** 1935; 3:1-16.
- Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica/Ministério da Saúde**. 6a ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005. 12.
- Constantino C. *et al.* Survey of spatial distribution of vector-borne disease in neighborhood dogs in southern Brazil. **Open Vet J**. 2017; 7(1): 50–56
- Carini, A., Maciel, J. Sobre a moléstia dos cães, chamada nambi-uvú, e o seu parasita (*Rangellia vitalli*). **An. Paul. Med. Cir.** 1914; 3(2):65-71.
- Carret, C. *et al.* Babesia canis canis, Babesia canis vogeli, Babesia canis rossi: differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. **Journal of Eukaryotical Microbiology**, v. 46, n. 3, p. 298-303, 1999.
- Dagnone, A.S.; Morais, H.S.A.; Vidoto, M.C. Eriquiiose nos animais e no homem. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, p. 191-201, 2001.
- Dagnone, A.S.; Morais, H.S.A.; Vidotto, M.C.; *et al.* Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in south Brazil. **Vet. Parasit.**, v. 117, p. 285- 290, 2003.
- Dagnone, A.S.; Souza, A.I.; André, M.R.; Machado, R.Z. Molecular diagnosis of Anaplasmataceae organisms in dogs with clinical and microscopical signs of ehrlichiosis. **Rev Bras Parasitol Vet** 2009; 18(4): 20-25.
- Dantas-Torres, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806) (Acari: Ixodidae): from taxonomy to control. **Vet Parasitol** 2008,152:173-185.

Dos Santos, A.P.; Dos Santos, R.P.; Biondo, A.W. *et al.* Hemoplasma infection in HIVpositive patient, Brazil. **Emerg Infect Dis** 2008;14:1922-4. 36.

Dumler, J.S.; Barret, A.F.; Bekker, C.P.; *et al.* Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species os *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and HE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocitophila*. **Int. J. Sys. Evol. Microbiol.**, v. 51, p. 2145-2165, 2001.

Dumler, J.S. e D.H. Walker. 2005. Rocky Mountain spotted fever-changing ecology and per sisting virulence. **N. Engl. J. Med.** 353: 551– 553. 3.

Eiras, D.F.; Craviotto, M.B.; Baneth, G.; Moré, G. First report of Rangelia vitalii infection (canine rangelirosis) in Argentina. **Parasitol Int**, v.63, p.729-734, 2014.

Evans, D. E.; Martins, J. R.; Guglielmone, A. A. A review of the ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution. 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 453-470, 2000.

Ezeokoli C.D.; Ogunkoya A.B.; Abdullahi R. 1983. Clinical and epidemiological studies on canine hepatozoonosis in Zaria, Nigeria. **Journal Small Animal Practice**. 24:455-460.

Ferreira, R.F.; Cerqueira, A.M.F.; Pereira, A.M.; *et al.* Avaliação da ocorrência de reação cruzada em cães PCR-positivos para *Anaplasma platys* testados em ELISA comercial para detecção de anticorpos de *Anaplasma phagocytophilum*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, n.17, n.1, p. 5-8, 2008.

Fortes, F.S. *et al.* Anti-Rickettsia spp. antibodies in free-ranging and captive capybaras from southern Brazil. **Pesq Vet Bras**, v. 31, n. 11, p. 1014-1018, 2011.

Greene, C. E.; Harvey, J. W. Canine Ehrlichiosis. In Greene, C.E. (ed):**Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat**, Philadelphia, W.B. Saunders, p.545-561, 1984.

Greene, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3. ed. St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier; 2006. 1387 p.

Guglielmone, A.A.; Estrada-Pena, A.; Keirans, J.E.; Robbins, R.G. 2003. *Ticks (Acari: Ixodidae) of the Neotropical zoogeographical region*. **Houten, Holanda, ICTTD-2**, 173pp.

Guglielmone, A. A.; Szó, M. P. J.; Martins, J. R.; Estrada-Peña, A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. p. 115-138. In Barrosbattesti, D. M.; Arzua, M.; Bechara, G. H. (eds.), Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: **Vox/ICTTD-3/Butantan**, 2006. 223p.

Harrus, S.; Aroch, I.; Lavy, E. *et al.* Clinical manifestations of infectious canine cyclic thrombocytopenia. **Vet Rec** 1997b;141:247–250.

Harrus, S.; Kass, P.H.; Klement, E.; Waner, T. Canine monocytic ehrlichiosis: a retrospective study of 100 cases, and an epidemiological investigation of prognostic indicators for the disease. **Veterinary Record**, v.141, p. 360-363, 1997a.

Harrus, S.; Waner, T.; Bark, H. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n. 4, p. 431-444, 1997c.

Harrus, S.; Waner, T. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): An overview. **The Veterinary Journal**, v.187, p. 292–296, 2011.

Harvey, J.W.; Simpson, C.F.; Gaskin, J.M. Cyclic thrombocytopenia induced by a rickettsia-like agent in dogs. **J. Infect. Dis.**, v. 137, p. 182-188, 1978.

Hasegawa, H.Y. **Dinâmica da infecção experimental de cães por *Ehrlichia canis*: aspectos clínicos, laboratoriais e resposta imune humoral e celular**. 2005. 134 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Hinkle NC, Koehler PG, Patterson RS. Host grooming efficiency for regulation of Cat Flea (Siphonaptera: Pulicidae) populations. **J Med Entomol**, 1998; v. 35, n. 3, p. 266-269, 1998.

Horta, M.C. *et al.* Rickettsia infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793-801, 2007.

Huxsoll, D. L.; Hildebrandt, P. K.; Nims, R. M.; Walker, J. S. Tropical canine pancytopenia. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 157, n. 11, p. 1627-1632, 1970.

Labruna, *et al.* Ecology of Rickettsia in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**. V. 1166, p156-166, May.2009.

Labruna, M. B. 2004. Bioecologia de *Rhipicephalus sanguineus*. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 13(suppl.): 123-124.

Labruna, M. B. *et al.* Rickettsia felis in Chile. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 11, 2007.

Labruna, M.B.; Kamakura, O.; Moraes-Filho, J.; Horta, M.C.; Pacheco, R.C. Rocky Mountain spotted fever in dogs, Brazil. **Emerg Infect.** Mar. 2009b.

Labruna, M.B. *et al.* Rickettsioses in Latin American, Caribbean, Spain and Portugal. **Ver. MVZ Cordoba**. V.16, p.2435-2457, May/Aug. 2011.

Labruna, M.B. *et al.* Isolation of *Rickettsia rickettsii* from the tick *Amblyomma sculptum* from a Brazilian Spotted Fever-endemic area in the Pampulha Lake region, southeastern Brazil. **Vet Parasitol Reg Stud Rep**, v. 8, p. 82-85, 2017.

Lasta, C.S., Dos Santos, A.P., Messick, J.B., Oliveira, S.T., Biondo, A.W., Vieira, R.F.C., Dalmolin, M.L., González, F.H.D. 2013. Molecular detection of *Ehrlichia canis* and *Anaplasma platys* in dogs in southern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** 22, 360-366.

Leisewitz, A.L.; Jacobson, L.S.; De Moraes, H.S.; Reyers, F. 2001. The mixed acid-base disturbances of severe canine babesiosis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 15:445–452.

Lemos, T. D. *et al.* Detection and molecular characterization of piroplasms species from naturally infected dogs in southeast Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.2, p.137-142, 2012.

Lemos, T.D.; Toma, H.K.; Assad, R.Q.; Silva, A.V.D.; Corrêa, R.G.B.; Almonsy, N.R.P. Clinical and hematological evaluation of *Rangelia vitalii*-naturally infected dogs in southeastern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 26, p.307–313, 2017.

Matthewman, L. *et al.* Domestic cats as indicators of the presence of spotted fever and typhus group *Rickettsiae*. **Eur J Epidemiol**, v. 13, n. 1, p. 109-111, 1997.

Mendes, J. C. R. *et al.* Serosurvey of *Rickettsia* spp. in cats from a Brazilian spotted fever-endemic area. **Braz. J. Vet. Parasitol**, v. 28, n. 4, p. 713-721, 2019.

Minahan NT; Wu WJ; Tsai KH. *Rickettsia felis* is an emerging human pathogen associated with cat fleas: A review of findings in Taiwan. In: **J Microbiol Immunol Infect.** 2023 Fev., p. 10.

Ministério da Saúde; 23/06/2022; Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/junho/ministerio-da-saude-apresenta-numeros-da-febre-maculosa-no-brasil>; acesso em 04 de janeiro de 2024.

Ministério da Saúde; 03/11/2022; Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/outubro/febre-maculosa-saiba-como-evitar-e-tratar-a-doenca-transmitida-por-carrapato>; acesso em 12 de dezembro de 2023.

Miranda, M.G.N. **Variação do status sorológico contra *Anaplasma phagocytophilum* e *Ehrlichia canis* em *Canis familiaris* Linnaeus, 1758 após tratamento com hclato de doxiciclina.** 104p. Mestrado (Dissertação). Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Clínica e Reprodução Animal. Universidade Federal Fluminense. 2010.

Moraes-Filho, J.; **Competência vetorial de carrapatos do grupo *Rhipicephalus sanguineus* do Brasil, Argentina e Uruguai para transmissão da bactéria *Ehrlichia canis*, agente etiológico da erliquiose monocítica canina.** [Vector competence of the group *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil, Argentina and Uruguay for transmission of the bacterium *Ehrlichia canis*, causative agent of canine

monocytic ehrlichiosis]. 2013. 59f. Tese (Doutorado em Ciências) — Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

Moraes-Filho, J.; Febre maculosa brasileira / Brazilian spotted fever / **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP**. Sao Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinaria, v. 15, n. 1, p. 38-45, 2017.

Moraes-Filho, J.; Marcili, A.; Nieri-Bastos, F. A.; Richtzenhain, L. J.; Labruna, M. B. 2011. Genetic analysis of ticks belonging to the Rhipicephalus sanguineus group in Latin America. **Acta Tropica** 117 (2011) 51-55.

Moraes-Filho, J.; Pinter, A.; Pacheco, R. C.; Guttman, T. B; Barbosa S. O; González, M. A. R. M.; Muraro, M. A.; Cecílio, S. R. M.; Labruna M. B. New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of São Paulo, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Disease**, v. 9, p. 73-78, 2009.

Oliveira, L. S. de; Julião, F. da S.; Souza, V. M. M. de; Freitas, D. S.; Souza, B. M. P. da S.; Paula, B. J. A.; Aguiar, P. H. P.; Melo, S. M. B.; Franke, C. R. A utilização da imunofluorescência indireta no diagnóstico de rotina da leishmaniose visceral canina e suas implicações no controle da doença; **Ciência Animal Brasileira / Brazilian Animal Science**, Goiânia, v. 6, n. 1, p. 41–47, 2006; v6i1.345. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/vet/article/view/345>; acesso em: 23 de dezembro de 2023.

Parola, P.; C.D. Paddock & D. Raoult. 2005. Tick borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clin. Microbiol. Rev.** 18: 719–756.

Passos, L.M.F.; Geiger, S.M.; Ribeiro, M.F.B.; Pfister, K.; Zahler-Rinder, M. First molecular detection of Babesia vogeli in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.127, p. 81-85, 2005.

Pestana, B. R. O nambyuvú (nota preliminar). **Rev. Soc. Sci. São Paulo**, v. 5, p. 14-17, 1910.

Piana, G.P.; Galli-Valerio, B. Su di un infezione del cane com parasiti endoglobulari. **II Moderno Zoiatro.**, v. 6, p. 163-169, 1895.

Pinter, A. Aspectos epidemiológicos da Febre maculosa em uma área endêmica no município de Mogi das Cruzes (SP) e estudo em laboratório do Ciclo de vida do vetor Amblyomma aureolatum (Acari: Ixodidae). 2003. **Tese de Doutorado**. University of São Paulo.

Pinter, A. *et al.* Study of the Seasonal Dynamics, Life cycle, and Host Specificity of Amblyomma aureolatum (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, V.41, p.324-332, May.2004.

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

PINTER, A. et al. Serosurvey of Rickettsia spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, p. 247-252, 2008.

Segura, F. et al. The role of cats in the eco-epidemiology of spotted fever group diseases. **Parasit Vectors**, v. 7, n. 353, p. 1-13, 2014.

Silva, B. R. et al. . Detection molecular of *Rangelia vitalii* in dogs from Parana State, Southern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, 2018.

Silva, V. C. L. et al. Parasitological and molecular detection of *Babesia canis vogeli* in dogs of Recife, Pernambuco and evaluation of risk factors associated. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 37, n. 1, p. 163-172, jan./fev. 2016.

Soares, J. F., Costa, F.B., Giroto-Soares, A., Da Silva, A.S., França, R.T., Taniwaki, S.A., Dall'Agnol, B., Reckb, J., Hagiwara, M.K., Labruna, M.B. Evaluation of the vector competence of six ixodid tick species for *Rangelia vitalii* (Apicomplexa, Piroplasmorida), the agent of canine rangellosis. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.9, p. 1221-1234, 2018.

Soares, J. F.; Giroto, A.; Brandão, P.E.; Silva, A.S.; França, R.T.; Lopes, S.T.A.; Labruna, M.B. Detection and molecular characterization of a canine piroplasm from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 3, p. 153-167, 2011.

Soares, J. F.; Soares, H.S.; Barbieri, A.M.; Labruna, M.B. Experimental infection of *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsia* the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Med. vet. entomol.** 2012; 26(2):139-51.

Soares, R. et al. Molecular survey of *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs from Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **An. Acad. Bras. Ciênc.** [online]. 2017, vol.89, n.1, pp.301-306.

Soares, R. L. et al. Occurrence of *Mycoplasma haemocanis* in dogs infested by ticks in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.** [online]. 2016, vol.25, n.3, pp.360-363.

Solano-Gallego, L. et al. Serological and molecular evidence of exposure to arthropod-borne organisms in cats from northeastern Spain. **Vet Microbiol**, v. 118, n. 3-4, p. 274-277, 2006.

Sousa, K.C.M.; Andre, M.R.; Herrera, H.M.; Andrade, G.B., Jusi, M.M.G; Santos, L.L., et al. Molecular and serological detection of tick-borne pathogens in dogs from an area endemic for *Leishmania infantum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Rev Bras Parasitol Vet** 2013; 22(4): 525-531.

Sousa, V. R. F.; Bomfim, T. C. B.; Almeida, A. B. P. F.; Barros, L. A.; Sales, K. G.; Justino; C. H. S.; Dalcin, L. Coinfecção por *Anaplasma platys* and *Ehrlichia canis* in dogs diagnosed by PCR. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 37, n. 3, p. 281-283, 2009.

Spagnol, C.; Loretto, A.; Correa, A.; Pescador, C.; Rozza, D.; Conceição, E. *et al.* **Parasitismo de cães por *Rangelia vitalli* no Estado do Rio Grande do Sul** [resumo 211]. In: XV Salão de Iniciação Científica e XII Feira de Iniciação Científica; 2003; Porto Alegre. Livro de resumos. Porto Alegre: PROPESQ; 2003. p.232-3.

Teng Z; Zhao N; Ren R; Zhang X; Du Z; Wang P; Qin T. **Human *Rickettsia felis* infections in Mainland China.** In: Cell Infect Microbiol. 2022, Set., v. 12.

Yu, X.J.; Walker, D.H. The Order Rickettsiales. In: DWORKIN, M. (Ed). ***The Prokaryotes: an evolving electronic resource for the microbiology community.*** 3.ed. New York: Springer-Verlag, 2003.

ANEXOS

ANEXO 1

São Paulo, 20 de maio de 2022

**Prezada Profa. Dra. Valéria Castilho Onofrio
Coordenadora da CEUA**

Eu, Prof. Dr. Luciano Henrique Giovaninni, proprietário do laboratório Lead – auxílio ao diagnóstico veterinário, localizado na Av. Gel. Ataliba Leonel, 3080, São Paulo-SP, sob CNPJ 16.941.481.0001/70, estou ciente de que as amostras de soro e plasma colhidas neste estabelecimento serão doadas para os projetos: "Pesquisa sorológica em felinos para bactérias do gênero *Rickettsia* em áreas negligenciadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil" e "Soroprevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em Hospitais Públicos Veterinários da região metropolitana de São Paulo", no qual serão utilizados para sorodiagnóstico, sob orientação dos docentes Dr. Jonas Moraes Filho e Dr. Herbert Sousa Soares, respectivamente. Declaro que estou ciente das propostas das pesquisas apresentadas.

Sem mais,



Prof. Dr. Luciano Henrique Giovaninni

Prof. Dr. Luciano H. Giovaninni
Médico Veterinário
CRMV-SP 7329