Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

**Avaliação soroepidemiológica de animais
sentinelas para a Febre Maculosa Brasileira e
correlação com a fragmentação vegetal na periferia
sul da Região Metropolitana da Cidade de São
Paulo.**

Claudia Araujo Scinachi

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde Pública, para obtenção do
título de Mestre em Ciências.**

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Adriano Pinter dos Santos

São Paulo
2015

**Avaliação soroepidemiológica de animais
sentinelas para a Febre Maculosa Brasileira e
correlação com a fragmentação vegetal na periferia
sul da Região Metropolitana da Cidade de São
Paulo.**

Claudia Araujo Scinachi

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Saúde Pública para obtenção do
título de Mestre em Ciências.**

Área de Concentração: Epidemiologia

Orientador: Prof. Dr. Adriano Pinter dos Santos

**São Paulo
2015**

É expressamente proibida a comercialização deste documento tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

DEDICATÓRIA

A minha mãe Sirlene Araujo Conceição Scinachi
pelo amor que ultrapassa essa vida.
Nossos laços são eternos!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Adriano Pinter dos Santos, agradeço a oportunidade, a confiança e a ajuda em todas as etapas do mestrado.

Aos professores Ricardo Augusto Dias e Franscisco Chiaravalloti Neto, pelas sugestões no período de qualificação deste trabalho.

Ao Dr Luiz Filipe Mucci, por todas as contribuições e auxílio com os dados e análises espaciais.

A Gabriela Takeda, pela amizade e por toda a ajuda nas coletas de campo e nas análises de laboratório.

Ao Antônio Ralph Medeiros de Souza pela ajuda com as análises estatísticas.

A Maria Esther de Carvalho, Izilda Curado, Iole Arumi Sei e aprimorandas do Laboratório de Imunoepidemiologia da SUCEN, por me receberem tão atenciosamente nos dias de leitura de lâminas.

Aos professores da Faculdade de Saúde Pública por todos os ensinamentos compartilhados.

A Superintendência de Controle de Endemias, por subsidiar as coletas e as análises laboratoriais.

A Faculdade de Saúde Pública, por permitir a realização do mestrado no programa de Saúde Pública.

Aos companheiros de mestrado por dividir o dia a dia e as experiências.

Meus amados pais Sirlene Araujo Conceição Scinachi e Claudio Scinachi (in memorian), palavras nunca seriam suficientes para agradecer todo amor, carinho e dedicação.

Ao meu marido e melhor amigo Michael, por estar sempre ao meu lado, por todo companheirismo, apoio e amor.

A minha querida família, por todos os momentos de felicidade.

A FAPESP pelo financiamento da bolsa de estudos (processo nº 2012/25172-6).

Muito obrigada a todos!

Não é a terra que é frágil. Nós é que somos frágeis. A natureza tem resistido a catástrofes muito piores do que as que produzimos. Nada do que fazemos destruirá a natureza. Mas podemos facilmente nos destruir.”

James Lovelock, ambientalista

SCINACHI, C. A. **Avaliação soroepidemiológica de animais sentinelas para a Febre Maculosa Brasileira e correlação com a fragmentação vegetal na periferia sul da Região Metropolitana da Cidade de São Paulo.** São Paulo, 2015. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose que tem como agente patogênico bactérias da espécie *Rickettsia rickettsii*, que são transmitidas por carrapatos da espécie *Amblyomma aureolatum* na Região Metropolitana de São Paulo, onde a letalidade da doença pode chegar a 80%. Carrapatos dessa espécie realizam seu ciclo no interior das matas e cães domésticos - principais hospedeiros do estágio adulto desse carrapato em áreas degradadas - podem auxiliar na manutenção do ciclo da doença, ao transferir carrapatos infectados das matas para o ambiente antrópico. Este estudo teve como objetivo, analisar a relação entre fragmentação florestal, e sua possível influência na distribuição da soroprevalência de *R. rickettsii* em cães domésticos, na zona de contato entre Mata Atlântica e ambiente antrópico. Nove áreas com diferentes perfis ambientais foram selecionadas para o estudo: duas áreas em São Paulo, três áreas em Santo André, duas áreas em São Bernardo do Campo, uma área em Ribeirão Pires e uma área em Diadema. Uma amostra única de sangue foi coletada em trinta cães por área de estudo, num total de 270 cães amostrados. Todas as amostras foram submetidas a teste sorológico de imunofluorescência indireta para determinação do título de anticorpos contra *R. rickettsii* e todos os cães do estudo foram inspecionados em busca de carrapatos, que quando encontrados, foram levados ao laboratório para devida identificação de espécies e posterior pesquisa de riquetsias por PCR. Os dados de parasitismo por carrapatos em cães foi determinado pelo cálculo de abundância e intensidade parasitária média. A soroprevalência encontrada variou de 0 a 37%, e quando comparada aos dados ambientais, resultantes de análise multivariada de componentes principais, demonstrou que áreas mais preservadas, com maior área de mata e borda reduzida tem menores chances de ocorrência de casos de FMB do que áreas com área de mata reduzida e grande quantidade de borda. Somente as espécies *A. aureolatum* e *R. sanguineus* foram encontradas parasitando os cães do estudo, sendo que nenhum espécime foi considerado reagente na PCR. Os resultados sugerem que existe uma relação entre a soroprevalência de infecção por *R. rickettsii* em cães e as características de paisagem de cada região. A análise de estrutura de paisagem - parâmetro que pode favorecer a transmissão da bactéria *R. rickettsii*, uma vez que favorece o contato de cães e carrapatos vetores – é uma ferramenta que pode auxiliar na determinação de áreas de maior ou menor risco para ocorrência de casos humanos de FMB, sendo útil na vigilância da doença.

Palavras-chave: Febre Maculosa Brasileira, *Amblyomma aureolatum*, *Rickettsia rickettsii*, fragmentação, cães.

SCINACHI, C. A. **Serosurvey on sentinel animals for Brazilian Spotted Fever, and correlation with forest fragmentation on the southern Metropolitan area of the City of São Paulo.** São Paulo, 2015. Master thesis – Faculty of Public Health, University of São Paulo.

ABSTRACT

The Brazilian Spotted Fever (BSF) is a zoonotic disease whose pathogen is the bacteria *Rickettsia rickettsii*, transmitted by *Amblyomma aureolatum* ticks in the Metropolitan Region of São Paulo, where the lethality of the disease can reach 80%. The life cycle of those ticks occurs in the forest and domestic dogs - main hosts of the adult stage of this tick in modified areas - can maintain the disease cycle, transferring infected ticks from the forest to the anthropic environment. This study aimed to analyze the relationship between forest fragmentation and its possible influence on the seroprevalence distribution of *R. rickettsii* in domestic dogs living at the contact zone between the Atlantic Forest and anthropic environment. Nine areas with different landscape profiles were selected for the study: two areas in São Paulo, three areas in Santo André, two areas in São Bernardo do Campo, an area in Ribeirão Pires and an area in Diadema. A single blood sample was collected in thirty dogs in each study area, with a total of 270 sampled dogs. All samples were submitted to serological test of indirect immunofluorescence to determine the antibodies titers against *R. rickettsii*, and all study animals were inspected for ticks, that when found, were taken to the laboratory for proper identification of species and further *Rickettsia* research through PCR reaction. Parasitism data of ticks on dogs was determined by the mean abundance and mean intensity. The seroprevalence found ranged from 0 to 37%, and when compared to environmental data, resulted from the principal component analysis, showed that the most preserved areas, with larger amount of forest and less edge has lower chances of BSF occurrence, than areas with less forest and greater amount of edge. Only the species *A. aureolatum* and *R. sanguineus* were found parasitizing the study dogs, and no specimen was considered positive in the PCR reaction. The results suggest a relationship between the seroprevalence of infection with *R. rickettsii* in dogs and the landscape features on each region. The landscape structure analysis - parameter that can facilitate the transmission of the bacteria *R. rickettsii*, since it favors the contact between dogs and ticks - can assist in determining areas of higher or lower risk for the occurrence of human cases of BSF, being useful in monitoring the disease.

Keywords: Brazilian Spotted Fever, *Amblyomma aureolatum*, *Rickettsia rickettsii*, fragmentation, dogs.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACP	Análise de Componentes Principais
°C	Graus Celsius
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EUA	Estados Unidos da América
FMB	Febre Maculosa Brasileira
FMMR	Febre Maculosa das Montanhas Rochosas
GFM	Grupo da Febre Maculosa
GPS	Sistema de Posicionamento Global
GT	Grupo do Tifo
g	Gramas
ha	Hectares
Km	Quilômetros
M	Molar
mM	Milimolar
m²	Metros quadrados
MEM	Minimum Essencial Medium
PBS	Buffer Salino Fosfato
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pb	Pares de base
pH	Potencial hidrogeniônico
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
rpm	Rotações por minuto
SFB	Soro Fetal Bovino
SUCEN	Superintendência de Controle de Endemias
TBE	Tris Borato EDTA
Taq	DNA polimerase termoestável extraída da bactéria <i>Thermus aquaticus</i>
µl	Microlitros
µm	Micrometros
USP	Universidade de São Paulo
Vero	Linhagem celular de rim de macaco verde africano
%	Por cento
®	Marca registrada

LISTA DE FIGURAS

	Pg
FIGURA 1	Localização geográfica da região do estudo no Estado de São Paulo, Brasil. 28
FIGURA 2	Foto de satélite da Região Metropolitana de São Paulo, as regiões marcadas de vermelho, mostradas pelas setas, são as áreas escolhidas para o estudo de soroprevalência em cães. 28
FIGURA 3	Procedimentos para colheita de sangue. A: Tubos para colheita de sangue. B: Separação do soro após centrifugação. C: Cão contido e com focinheira. D: Colheita de sangue. 33
FIGURA 4	A: Células infectadas por <i>R. rickettsii</i> (as bactérias são as estruturas em forma de pequenos bastonetes). B: Lâminas em processo de secagem, em fluxo laminar, após aplicação de antígeno. C: RIFI positiva em diluição de 1/64. D: RIFI negativa em diluição de 1/64. 35
FIGURA 5	A: Contenção de cão para posterior coleta de carrapatos. B: Carrapatos coletados acondicionados em tubo plástico. 36
FIGURA 6	Gráfico boxplot dos títulos sorológicos para <i>Rickettsia</i> do Grupo da Febre Maculosa, em cães, nas áreas de estudo com sorologia positiva, Região Metropolitana de São Paulo. 42
FIGURA 7	Visão geral das áreas de estudo na Região Metropolitana de São Paulo. 43
FIGURA 8	Área 1 (São Paulo). Raio de 2 km. 44
FIGURA 9	Área 1 (São Paulo). Raio de 10 km. 44
FIGURA 10	Área 2 (Santo André). Raio de 2 km. 45
FIGURA 11	Área 2 (Santo André). Raio de 10 km. 45

FIGURA 12	Área 3 (Santo André - Paranabiacaba). Raio de 2 km.	46
FIGURA 13	Área 3 (Santo André - Paranabiacaba). Raio de 10 km.	46
FIGURA 14	Área 4 (São Bernardo do Campo). Raio de 2 km.	47
FIGURA 15	Área 4 (São Bernardo do Campo). Raio de 10 km.	47
FIGURA 16	Área 5 (São Bernardo do Campo). Raio de 2 km.	48
FIGURA 17	Área 5 (São Bernardo do Campo). Raio de 10 km.	48
FIGURA 18	Área 6 (Santo André – Recreio da Borda do Campo). Raio de 2 km com detalhe aproximado da área ocupada.	49
FIGURA 19	Área 6 (Santo André – Recreio da Borda do Campo). Raio de 10 km.	50
FIGURA 20	Área 7 (Diadema). Raio de 2 km.	51
FIGURA 21	Área 7 (Diadema). Raio de 10 km.	51
FIGURA 22	Área 8 (Ribeirão Pires). Raio de 2 km.	52
FIGURA 23	Área 8 (Ribeirão Pires). Raio de 10 km.	52
FIGURA 24	Área 9 (São Paulo). Raio de 2 km.	53
FIGURA 25	Área 9 (São Paulo). Raio de 10 km.	53
FIGURA 26	Gráfico de dispersão dos compontes 1 e 2, segundo áreas de estudo.	58
FIGURA 27	Gradiente de risco para ocorrência de FMB, nas nove áreas de estudo, de acordo com a distribuição da ACP e soroprevalência.	59
FIGURA 28	Proporção de cães segundo sexo, por área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	60

FIGURA 29	Proporção de cães segundo idade, por área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	60
FIGURA 30	Número de cães parasitados, por espécie de parasita, segundo área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	62
FIGURA 31	Quantidade de parasitas por cão nas áreas de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	63

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1	Lista de primers utilizados na PCR para a identificação de riquetsias em carrapatos.	38
TABELA 1	Áreas selecionadas para o estudo, segundo o perfil de fragmentação.	29
TABELA 2	Soroprevalência de <i>R. rickettsii</i> por áreas de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	54
TABELA 3	Variáveis de paisagem e soroprevalência segundo áreas de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	55
TABELA 4	Coeficientes dos componentes principais 1 e 2 para cada variável.	56
TABELA 5	Valores dos componentes principais 1 e 2, por área de estudo.	57
TABELA 6	Número de espécimes de carrapatos coletados segundo espécie, por área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.	61
TABELA 7	Abundância e intensidade parasitárias médias para as nove áreas de estudo, segundo espécies de carrapatos, Região Metropolitana de São Paulo.	64

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
1.1	Febre Maculosa Brasileira	13
1.1.1	Agente	15
1.1.1.1	<i>Rickettsia rickettsii</i>	17
1.1.2	Vetor	18
1.1.2.1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	21
1.1.3	Hospedeiros	22
1.1.4	Dinâmica de paisagem	23
2.	OBJETIVOS	26
2.1	Objetivo Geral	26
2.2	Objetivos Específicos	26
3.	MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1	Seleção e caracterização das áreas de estudo	27
3.2	Métrica e variáveis de paisagem	29
3.3	Amostragem dos animais	31
3.4	Colheita de Sangue	32
3.5	Reação de Imunofluorescência Indireta	33
3.6	Pesquisa de carrapatos em cães	36
3.7	Pesquisa de infecção por riquetsia nos carrapatos	37
3.8	Análise dos dados	38
4.	RESULTADOS	41
4.1	Reação de Imunofluorescência Indireta	41
4.2	Áreas de estudo – Paisagem e Soroprevalência	43
4.3	Pesquisa de carrapatos em cães	61
4.4	Pesquisa de infecção por riquetsia nos carrapatos	64
5	DISCUSSÃO	65
6	CONCLUSÃO	75
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
	APÊNDICE 1	89
	APÊNDICE 2	90
	APÊNDICE 3	91
	CURRÍCULO LATTES	93

1.INTRODUÇÃO

1.1 Febre Maculosa Brasileira

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença infecciosa febril aguda, causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, que é transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma* no Brasil (BRASIL, 2005; HORTA et al, 2010). Nos Estados Unidos da América (EUA) a doença recebe o nome de Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR), no México, de febre manchada e na Colômbia, de febre de Tobia (GUEDES et al, 2005).

A FMMR foi a primeira a ser descrita por Edward E. Maxey, no Estado de Idaho, nos EUA, em 1899, sendo que, no início do século XX, Howard Taylor Ricketts, fez o isolamento do agente etiológico da doença e identificou o carrapato *Dermacentor andersoni* como vetor. Em 1910, ao investigar o tifo epidêmico no México, Ricketts contraiu a doença e faleceu sem conseguir concluir seus estudos, porém Wolback, após descrever o agente etiológico e em reconhecimento as contribuições de Ricketts, nomeia o agente como *Dermacentroxenus rickettsi*, hoje conhecido como *R. rickettsii* (RICKETS, 1909; BURGDORFER, 1977; DEL FIOLE et al, 2010; FORTES et al, 2011).

No Brasil, a FMB foi descrita por José Toledo Piza, na cidade de São Paulo. Em 1929, casos da doença começaram a ser registrados em São Paulo, sendo inicialmente considerados casos de tifo exantemático europeu. Após alguns levantamentos epidemiológicos, verificou-se que a doença que ocorria no Brasil era diferente das demais doenças exantemáticas, sendo esta batizada de "typho exanthematico de São Paulo". Em 1932 Piza verifica a semelhança desta doença com a FMMR, doença que ocorria nos EUA (PIZA, 1932) e estudos realizados posteriormente concluem que o agente da doença que ocorria no Brasil era o mesmo que causava a FMMR. (TRAVASSOS, 1939).

Muitos estudos, realizados após a descrição da FMB, apresentaram dados importantes sobre os aspectos epidemiológicos da doença, além de trazer informações sobre seu agente patogênico, vetores e hospedeiros (LEMOS MONTEIRO, 1931; LEMOS MONTEIRO, 1932; LEMOS MONTEIRO, 1932a; LEMOS MONTEIRO, 1933; DIAS; MARTINS, 1939; MAGALHÃES, 1957; PESSOA, 1956; VALLEJO-FREIRE, 1964).

Após diversos casos ocorrendo entre 1930 e 1940, poucos relatos ocorreram de 1950 até o ano de 1980, quando a doença reemergiu e novos casos passaram a ser relatados em São Paulo e Minas Gerais. A partir de 2001, quando se tornou de notificação compulsória no país, casos de FMB passaram a ser notificados em outros Estados como Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Distrito Federal, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (GALVÃO et al, 2003; LABRUNA, 2009a; SÃO PAULO, 2011).

Enquanto a letalidade da doença nos EUA está em torno de 5% a 10%, taxas de 20% a 40% tem sido relatadas no Brasil, chegando a 80% em pacientes que não iniciem o tratamento precocemente. Isso porque o diagnóstico da doença pode ser difícil, pois em sua fase inicial os sintomas são inespecíficos como: febre, cefaleia, mialgia, mal-estar, náuseas e vômito, podendo ser confundida com outras doenças febris como dengue, leptospirose, gripe, meningite meningocócica, etc (ANGERAMI et al, 2006; BRASIL, 2008; LABRUNA et al, 2014).

Atualmente, os casos de FMB são frequentemente relatados no sudeste brasileiro, nos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná, sendo a maior incidência de casos relatados no Estado de São Paulo (SZABÓ et al, 2013a) onde foram notificados 555 casos de FMB com 224 óbitos (letalidade de 40%), entre 1985 e 2012 (SÃO PAULO, 2013).

Em São Paulo os casos de FMB ocorrem na região central e leste do Estado. Na região central, os casos estão relacionados ao vetor da espécie *Amblyomma cajennense*. Já na região leste do Estado (Região Metropolitana) os casos tem relação com a espécie *Amblyomma aureolatum*. A Região Metropolitana de São Paulo possui 39 municípios e sua área preservada é composta principalmente por remanescentes de Mata Atlântica. Os casos de FMB nesse local estão restritos a região sul, incluindo os municípios de São Paulo, Diadema, São

Bernardo, Santo André, Mauá, Ribeirão Pires e Mogi das Cruzes, sendo a letalidade média na região de 50% (OGRZEWALSKA et al, 2012).

1.1.1 Agente

As bactérias do gênero *Rickettsia* são Gram-negativas, cocobacilos pleomórficos que ocorrem em forma de bastonetes curtos (0,3 x 1 a 2 µm) ou cocos (0,3 µm de diâmetro). São intracelulares obrigatórias, entrando na célula hospedeira por meio de indução de fagocitose e quando chegam ao citoplasma celular, se dividem por divisão binária no interior das células, levando ao seu rompimento. Uma vez fora das células as riquetsias circulam amplamente pela corrente sanguínea infectando principalmente o endotélio das paredes dos vasos sanguíneos causando vasculite (MCDADE; NEWHOUSE, 1986; LEVINSON, 2010; BROOKS et al; TORTORA; FUNKE; CASE, 2012).

As infecções causadas pelas bactérias do gênero *Rickettsia* são denominadas riquetsioses, e a natureza infecciosa dessas bactérias, foi demonstrada pela primeira vez pelo patologista norte americano H. T. Rickets, ao cultivar em animais as riquetsias presentes no sangue de paciente portador de FMMR, na primeira década de 1900. Apesar de relativamente raras, as riquetsioses podem ser graves e fatais, sendo mantidas na natureza em determinados artrópodes como carrapatos, piolhos e pulgas. Embora primariamente associadas a artrópodes, as riquetsias também são frequentemente capazes de infectar vertebrados, incluindo o homem, que são usualmente, hospedeiros acidentais (LEVINSON, 2010; MARTINEZ; TRABULSI, 2010).

As riquetsias podem ser mantidas nas populações de carrapatos por transmissão transovariana (da fêmea para os ovos) e perpetuação transestadial (mudança para cada novo estágio do ciclo de vida do vetor) do agente, sendo o carrapato considerado o reservatório da bactéria na natureza. Pelo fato da bactéria ser considerada deletéria ao vetor, a transmissão horizontal entre vetor e hospedeiros vertebrados é essencial para a sobrevivência do patógeno (MCDADE; NEWHOUSE, 1986; LABRUNA; MACHADO, 2006; GRASPERGE, 2012).

O gênero *Rickettsia* possui cerca de 25 espécies reconhecidas e pode ser dividido em quatro grupos distintos: O grupo ancestral formado pela *R. bellii* e *R. canadensis*; grupo transicional composto pela *R. akari*, *R. felis* e *R. australis* ; o grupo do tifo (GT) composto pela *R. prowazekii* e *R. typhi*; e o grupo da febre maculosa (GFM) com mais de 15 espécies descritas como causadoras de enfermidades já conhecidas, dentre elas: *R. rickettsii* e *R. conorii*, assim como bactérias agentes de enfermidades emergentes como *R. parkeri* (HORTA et al 2007; VALBUENA, 2010; PACHECO et al, 2012; HIDALGO, 2013 ;PAROLA et al, 2013).

Na América Latina e Caribe um total de treze espécies de *Rickettsia* foram reportados, sendo elas: *R.felis*, *R. prowazekii*, *R. typhi*, *R. rickettsii*, *R. amblyommii*, *R. parkeri*, *R. massiliae*, *R. rhipicephali*, *R.monteiroi*, *R. africae*, *R. bellii*, *R. akari* e *R. andeanae*. Oito espécies estão relacionadas com doenças humanas nessa região, sendo que no Brasil pode-se citar a *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. typhi* e *R. felis*. (LABRUNA et al, 2011b). Recentes estudos realizados em São Paulo relatam uma nova riquetsia do GFM denominada *Rickettsia* sp cepa Mata Atlântica (SPOLIDORIO et al, 2010).

No Brasil, somente as espécies *R. rickettsii*, *R. typhi* e *Rickettsia* sp cepa Mata Atlântica foram detectadas em humanos, enquanto outras espécies já foram isoladas em carrapatos e pulgas em diferentes regiões do país, incluindo *R. parkeri*, *R. bellii*, *R. amblyommii* e *R. rhipicephali*, em carrapatos, e *R. felis* em pulgas. (MELLES; COLOMBO; SILVA, 1992; LABRUNA et al, 2004a; LABRUNA, et al, 2005a; NASCIMENTO et al, 2005; PINTER;LABRUNA, 2006; LABRUNA et al, 2007; SILVEIRA et al , 2007; TAMEKUNI et al, 2011; TOLEDO et al, 2011).

O teste de eleição para o diagnóstico sorológico de riquetsias no homem e nos animais é a imunofluorescência indireta, porém, a reação cruzada de antígenos riquetsiais resultam em respostas imunológicas que são grupo específicas ao invés de espécie específicas. Por exemplo, testes sorológicos para detecção de anticorpos para uma determinada espécie do GFM podem ter resultado positivo para outras espécies do mesmo grupo. Por esse motivo é ideal que estes testes utilizem mais de uma espécie de *Rickettsia*, pois títulos de anticorpos homólogos tendem a ser mais altos do que títulos heterólogos. A resposta ao antígeno pode ser considerada homóloga quando apresenta título quatro vezes maior para uma

espécie de riquetsia do que para outras espécies testadas (HORTA et al, 2007; PINTER et al, 2008; SAITO et al, 2008).

1.1.1.1 *Rickettsia rickettsii*

A bactéria *R. rickettsii*, agente etiológico da FMB pertence ao Filo *Proteobacteria*, Grupo *Alphaproteobacteria*, Ordem *Rickettsiales*, Família *Rickettsiaceae*, gênero *Rickettsia* (BROOKS; TORTORA, 2012). Essa espécie é considerada a riquetsiose mais letal no mundo e, depois do vírus rábico é possivelmente o agente mais letal para humanos, uma vez que casos não tratados de FMB podem chegar a uma letalidade de 80% (LABRUNA; MACHADO 2006; GUEDES et al, 2011).

Essa bactéria já foi detectada, no Brasil, Estados Unidos, Canadá, México, Panamá, Colômbia, Costa Rica e Argentina, de forma que, sua distribuição está restrita as Américas (HORTA, et al, 2010 ; PINTER; LABRUNA, 2006; LABRUNA; MACHADO, 2006; GUEDES et al, 2005; LABRUNA et al, 2011b).

Diferentes espécies de carrapatos tem sido implicadas como vetores da bactéria *R. rickettsii* em diferentes regiões (LABRUNA et al, 2011b). Nos EUA a FMMR é transmitida por carrapatos do gênero *Dermacentor* e *Rhipicephalus* (DENISON et al, 2014; DEMMA et al, 2005), no México, carrapatos do gênero *Rhipicephalus* são considerados os principais vetores, junto com carrapatos do gênero *Amblyomma*, que possui o principal complexo de espécies vetoras na América Central e do Sul (MCDADE; NEWHOUSE, 1986; PIRANDA et al, 2011; SARAIVA, et al, 2014).

No Brasil, casos letais da doença em humanos, causados pela bactéria *R. rickettsii*, tem sido descritos desde a primeira metade do século XX, demonstrando a transmissão da bactéria principalmente por carrapatos das espécies *A. cajennense* e *A. aureolatum* (HORTA et al, 2010; PINTER; LABRUNA, 2006; GOMES, 1933).

1.1.2 Vetor

Carrapatos são artrópodes ectoparasitas, hematófagos, de distribuição mundial, sendo encontrados parasitando uma grande diversidade de hospedeiros como: anfíbios, répteis, aves e mamíferos. Estão compreendidos na Subclasse Acari da Classe *Arachnida*, Ordem *Parasitiformes*, Subordem *Ixodida* (KLONPEN et al, 1996; BARROS-BATTESTI, 1998; SÃO PAULO, 2004a).

Atualmente existem cerca de 880 espécies de carrapatos descritas no mundo, sendo divididas em três famílias: família *Ixodidae* (denominados carrapatos duros) com aproximadamente 692 espécies descritas; família *Argasidae* (denominados carrapatos moles) com 186 espécies; e a família *Nuttalliellidae* representada por apenas uma espécie. Enquanto representantes das famílias *Argasidae* e *Ixodidae* distribuem-se amplamente em todos os continentes, a última família é restrita ao continente Africano (BARROS-BATTESTI, 2006; NAVA et al, 2009).

Todos os carrapatos da família *Ixodidae* passam por quatro estágios em seu ciclo de vida: ovo, larva, ninfa e adulto, com apenas um estágio ninfal. Todos os estágios, exceto os ovos, necessitam parasitar um hospedeiro para dar sequência ao seu ciclo. Alguns carrapatos parasitam um único hospedeiro, sendo denominados carrapatos monoxenos, outros parasitam diferentes hospedeiros em cada estágio, sendo denominados carrapatos trioxenos, sendo que o comportamento dos carrapatos trioxenos facilita a transmissão dos patógenos na natureza, permitindo o contato do agente com diferentes hospedeiros (SÃO PAULO, 2004b).

A família *Ixodidae* pode ser dividida em dois grupos, Prostriata e Metastriata. O primeiro representado por um único gênero, *Ixodes* (subfamília *Ixodinae*) e o segundo grupo com quatro subfamílias: *Amblyomminae*, *Haemaphysalinae*, *Hyalomminae* e *Rhipicephalinae* (BLACK;PIESMAN, 1994).

Existem cerca de 126 espécies válidas do gênero *Amblyomma*, distribuídas nas Américas, Ásia, África e Oceania, sendo que, metade dessas espécies são endêmicas do continente americano. Das 126 espécies pertencentes ao gênero *Amblyomma*, 57 são restritas a região Neotropical e são encontradas parasitando uma grande diversidade de hospedeiros como anfíbios, répteis, pássaros e mamíferos, além de atuarem como reservatórios e vetores de diversos agentes patogênicos (BALASHOV, 1993; MARRELLI et al, 2007).

Na América do Sul, os gêneros *Amblyomma* e *Ixodes* possuem significativa quantidade de representantes, com 50 e 40 espécies respectivamente. Nessa região, o gênero *Amblyomma* tem destaque, com cerca de 21 espécies do gênero já coletadas em humanos e somente 1 espécie do gênero *Ixodes*, fato que demonstra a maior importância em saúde pública do primeiro gênero em relação ao segundo, que apresenta uma grande importância na América do Norte, Europa e Ásia (GUGLIELMONE et al, 2006).

O Brasil possui 61 espécies de carrapatos, divididos entre as famílias *Ixodidae* e *Argasidae*. A primeira família é a maior e possui as espécies de maior importância médico-veterinária, composta pelos gêneros *Amblyomma* (30 espécies), *Ixodes* (8), *Haemaphysalis* (3), *Rhipicephalus* (2), e *Dermacentor* (1) (SÃO PAULO, 2004a; SABATINI et al, 2010).

Carrapatos são importantes como vetores de agentes que causam doenças nos animais e no homem, perdendo em importância somente para mosquitos. As espécies consideradas de importância médica e veterinária, envolvidas na epidemiologia de doenças entre humanos e animais representa cerca de 10% das espécies descritas. (BARROS-BATTESTI 1998; NAVA et al, 2009).

As espécies incriminadas como vetoras de *R. rickettsii* para humanos são: *A. cajennense* e *A. aureolatum* no Brasil; *A. cajennense* e *R. sanguineus* no México; *A. cajennense* no Panamá, Colômbia e Argentina; *R. sanguineus*, *D. andersoni* e *D. variabilis* nos Estados Unidos. (DEMMA et al, 2005; GUEDES et al, 2005; LABRUNA;MACHADO, 2006; PADDOCK et al, 2008; OLIVEIRA et al, 2010).

Atualmente sabe-se que o táxon *A. cajennense* é na realidade um complexo de pelo menos seis espécies sendo elas: *A. cajennense* sensu stricto, *A.*

interandinum, *A. mixtum*, *A. patinoi*, *A. sculptum*, e *A. tonelliae*. No Brasil a espécie *A. cajennense* s.s é encontrada na região Amazônica incluindo estados do Pará, Roraima, Rondônia e Tocantins e a espécie *A. sculptum* se distribui pelos estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, e Paraná, no Sul; Pernambuco e Piauí, no Norte; e Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, e Goiás, no Centro-oeste (NAVA et al, 2014).

A espécie *A. sculptum* que ocorre em São Paulo se estabelece em áreas degradadas pelo homem, desmatadas e em regeneração, com vegetação arbustiva (como capoeiras), próxima ou não de corpos d'água, áreas de mata ciliar e pastos não roçados com arbustos e gramíneos excedendo 10 cm de altura, mesmo que compreendam áreas pequenas e em paisagem urbana. (SÃO PAULO, 2004a).

Pelo fato do carrapato da espécie *A. aureolatum* ser o vetor da bactéria *R. rickettsii* nas áreas de estudo selecionadas para o presente trabalho, as características dessa espécie serão abordadas separadamente.

Além dos vetores citados anteriormente, outras espécies de carrapatos tem sido levantadas como potenciais vetores secundários da FMB no Brasil. Carrapatos da espécie *R. sanguineus* estão distribuídos por todo país, são comumente encontrados no interior das casas parasitando cães domésticos, principalmente em áreas urbanas. Apesar de sua proximidade com o homem, o parasitismo humano é raro, porém, pelo fato desse carrapato ser considerado vetor de *R. rickettsii* no México e EUA, e já ter sido encontrado naturalmente infectado no Brasil (DANTAS-TORRES, 2006; CUNHA et al, 2009; MORAES-FILHO et al, 2009; OGRZEWALSKA et al, 2012; GRAY et al, 2013), estudos vem sendo realizados para determinar o papel dessa espécie na transmissão da FMB (PIRANDA et al, 2011)

Outro carrapato, da espécie *A. ovale*, tem sido relacionado com a ocorrência de casos de FMB. Essa espécie, cujo estágio adulto parasita o homem (SZABÓ et al, 2006), é considerada potencial vetor da riquetsiose descrita recentemente no Brasil, causada pela *Rickettsia* sp cepa Mata Atlântica (SABATINI et al, 2010; SPOLIDORIO et al, 2010; MEDEIROS et al, 2011; SILVA et al, 2011; SZABÓ et al, 2013b).

1.1.2.1 *Amblyomma aureolatum*

O carrapato da espécie *A. aureolatum* foi primeiramente descrito por Pallas em 1772, em um estudo realizado no Rio de Janeiro, no Brasil. Alguns anos depois, em 1844, Koch descreve a mesma espécie, na época denominada *Amblyomma striatum*. A descrição feita por Kock prevaleceu por muitos anos, quando em 1961, Aragão e Fonseca concluíram que as duas descrições se referiam a mesma espécie. Desde então a terminologia utilizada é a mais antiga, proposta por Pallas (ARAGÃO;FONSECA, 1961; RODRIGUES et al, 2002; GUGLIELMONE et al, 2003).

Esta espécie ocorre na Argentina, Brasil, Guiana Francesa, Paraguai, Suriname e Uruguai. (LAVINA et al, 2011). Em 1936, Aragão menciona a espécie como tendo capacidade transmissora do agente causador da FMB em São Paulo e traz dados sobre sua distribuição geográfica e sobre seus hospedeiros, citando o cão como hospedeiro comum desse carrapato.

Casos humanos de FMB associadas ao *A. aureolatum* ocorrem quando adultos do carrapato parasitam cães domésticos que tem acesso a áreas de mata, trazendo carrapatos para as residências humanas adjacentes a fragmentos de Mata Atlântica (SÃO PAULO, 2011; ANGERAMI et al, 2012). Por serem considerados sentinelas para FMB, onde esta é transmitida por carrapatos da espécie *A. aureolataum*, estudos de soroprevalência de *R. rickettsii* em cães podem ser úteis na determinação de áreas endêmicas para a doença (PINTER et al, 2008; OGRZEWALSKA et al, 2012)

Estudo experimental realizado por Labruna e colaboradores (2011a), mostrou que essa espécie é capaz de manter a bactéria *R. rickettsii* por perpetuação transtadial e transmissão transovariana a uma taxa de 100%, o que demonstra a competência vetorial dessa espécie. A infecção por *R. rickettsii* mostrou ter um efeito deletério nesses carrapatos, o que pode contribuir para a manutenção de baixas taxas de infecção dessas populações na natureza (<12%), como demonstrado por Pinter e Labruna (2006) e Ogrzewalska (2012).

Esta espécie de carrapato era muito comum em toda grande São Paulo mas, devido à urbanização e consequente destruição das matas, hoje o *A. aureolatum* está restrito aos retalhos de Mata Atlântica na Região Metropolitana de São Paulo. A principal característica de um retalho de mata com capacidade para sustentar uma população de *A. aureolatum* é a de uma mata arbórea com cobertura vegetal suficiente para impedir que os raios de luz solar alcancem o chão, alta umidade e temperaturas amenas. As comunidades sob risco de parasitismo por esta espécie são aquelas localizadas próximas às bordas destes retalhos (PINTER et al, 2004; SÃO PAULO, 2004a).

1.1.3 Hospedeiros

A especificidade de hospedeiros pode ser definida como a associação entre uma espécie de carrapato e uma espécie de vertebrado, ou grupo de vertebrados, que sejam críticos para a reprodução e sobrevivência da população de carrapatos (HOOGSTRAAL; AESHLIMANN, 1982). A especificidade de hospedeiros é mais comum na fase adulta dos carrapatos, sendo a fase de larva e ninfa menos específica (ARAGÃO, 1936).

Carrapatos da espécie *A. cajennense*, tem como hospedeiros primários e comuns aos três estágios parasitários antas, capivaras e cavalos. As fases imaturas podem utilizar como hospedeiro secundário praticamente qualquer espécie de ave ou mamífero. As capivaras são consideradas hospedeiros amplificadores da bactéria *R. rickettsii*, ou seja, são capazes de se infectar com o patógeno e desenvolver uma bacteremia (presença de bactérias no sistema circulatório) por alguns dias, originando novas populações de carrapatos infectados (SÃO PAULO, 2004b; SOUZA et al, 2009; LABRUNA; MACHADO, 2006; BRITES-NETO et al, 2013). No caso da espécie *A. aureolatum*, ainda não se sabe qual hospedeiro vertebrado pode atuar como amplificador da bactéria (OGRZEWALSKA et al, 2012).

Os estágios imaturos do carrapato da espécie *A. aureolatum* utilizam aves Passeriformes e algumas espécies de roedores como hospedeiros primários, enquanto o estágio adulto tem como hospedeiros primários carnívoros silvestres em

áreas mais preservadas, e o cão doméstico como principal hospedeiro em áreas de maior alteração antrópica. Os hospedeiros secundários para os estágios imaturos são desconhecidos e os demais carnívoros, como os felinos, são os hospedeiros secundários para o estágio adulto. O homem só é parasitado pela forma adulta do carrapato, geralmente por um único carrapato (ARZUA et al, 2003; SÃO PAULO, 2004a; LABRUNA et al, 2009b; OGRZEWALSKA et al, 2012), sendo que, estudo recente realizado por Saraiva e colaboradores (2014) foi capaz de demonstrar que adultos dessa espécie, quando já alimentados em algum hospedeiro, necessitam de apenas dez minutos de fixação, para que haja transmissão da bactéria *R. rickettsii*.

Assim como o homem, cães também são susceptíveis a infecção pela bactéria *R. rickettsii*, (PIRANDA et al, 2008) porém, nesses animais a infecção é menos fatal do que para humanos. Além disso, cães desenvolvem uma resposta imunológica contra a bactéria, que pode ser detectada por meio de testes sorológicos. Estudo realizado por Pinter e colaboradores (2008), mostrou que o monitoramento sorológico de cães é uma ferramenta importante para determinar a circulação da bactéria *R. rickettsii* em regiões onde os casos humanos estão relacionados ao vetor *A. aureolatum*, que tem o cão como hospedeiro primário do estágio adulto.

1.1.4 Dinâmica de paisagem

O homem, por meio de suas ações no ambiente, tem modificado significativamente a estrutura e função das mais diversas paisagens, resultando em mudanças das mais variadas. Uma dessas mudanças, resultante da ação antrópica, é o processo de fragmentação, que pode ser definido como a progressiva divisão de uma área grande e homogênea de floresta, em pequenos fragmentos. As consequências da fragmentação incluem a perda de habitat para algumas espécies de plantas e animais, o favorecimento de espécies mais resilientes, diminuição no tamanho dos fragmentos, aumento na distância entre os fragmentos e aumento de borda em detrimento do interior do fragmento (REED, 1996).

A emergência de doenças infecciosas, também é um resultado potencial do processo de fragmentação, uma vez que, a alteração no ambiente pode favorecer o contato de agentes patogênicos, seu vetores e hospedeiros. Um ambiente alterado pode favorecer a proliferação e dispersão de vetores e/ou espécies competentes como reservatórios de agentes patogênicos ao homem e aos animais, e além disso, pela perda de biodiversidade nesses locais, pode aumentar a prevalência de patógenos por conta da perda do efeito diluição (MCCALLUM, 2008; OGRZEWALSKA et al, 2011).

A hipótese do efeito de diluição sugere que a biodiversidade é capaz de reduzir o risco de certas doenças infecciosas, incluindo doenças transmitidas por vetores. Quando ocorre um aumento na biodiversidade, a probabilidade de um vetor encontrar um hospedeiro altamente competente, com capacidade de transmitir um patógeno é reduzida, levando a uma diluição desse patógeno na natureza, quando o contrário levaria a uma amplificação (JOHNSON;THIELTGES, 2010; OSTFELD; KEESING, 2012; MILLER;RUPPERT, 2013).

Atualmente as florestas tropicais suportam a maior biodiversidade do mundo e o bioma Mata Atlântica brasileiro possui um dos maiores graus de riqueza de espécies e de espécies endêmicas do planeta. Apesar dessa importância, esse bioma passou por grandes alterações na sua estrutura e tem sido degradado pelos processos de uso do solo, exploração de recursos naturais em conjunto com a ocupação humana, que influenciam os processos de desmatamento, fragmentação e reflorestamento (FREITAS, 2009; HILL et al, 2011; LIRA et al, 2012).

Segundo dados da Fundação SOS Mata Atlântica, hoje existem por volta de 12, 5% de remanescentes florestais do bioma Mata Atlântica, sendo que, na área pertencente a esse ecossistema, hoje vivem cerca de 131 milhões de habitantes, 20 mil espécies de plantas e 2181 espécies de animais.

Altos níveis de desmatamento permanecem em algumas regiões, com taxas anuais de 0,5% em toda Mata Atlântica (que engloba Brasil, Paraguai e Argentina) e mais de 2,9% na Região Metropolitana de São Paulo. Apesar de ter havido um recuo nas taxas de perda florestal e fragmentação, os níveis que ainda persistem, tem efeito prejudicial para muitas espécies da fauna, particularmente

algumas espécies de pássaros, insetos e carnívoros de médio e grande porte (TABARELLI et al, 2010).

Pelo fato da estrutura de paisagem ter grande influência na dispersão de doenças, a epidemiologia de paisagem é um campo de estudo que vem sendo crescentemente utilizado na saúde pública, e que consiste no uso de ferramentas espaciais (Sistema de Informação Geográfico, sensoriamento remoto e georreferenciamento) para um melhor entendimento da dinâmica das doenças. Assim, a epidemiologia de paisagem é capaz de descrever como a dinâmica de hospedeiros, vetores e patógenos interage espacialmente em um ambiente permissivo para que ocorra transmissão, sendo esse ambiente, caracterizado espacialmente por particularidades como vegetação, clima, latitude, elevação e geologia (MCCALLUM, 2008; REISEN, 2010).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Testar a hipótese de que a circulação da bactéria *R. rickettsii* em carrapatos da espécie *A. aureolatum* tem relação com a fragmentação da Mata Atlântica na Região Metropolitana de São Paulo, utilizando o cão doméstico como sentinela para a presença da bactéria em diferentes localidades.

2.2 Objetivos específicos

Realizar inquérito sorológico de cães para avaliar a soroprevalência de *R. rickettsii* nesses animais, em áreas de comunidades adjacentes à fragmentos de Mata Atlântica, na Região Metropolitana de São Paulo.

Comparar a soroprevalência com o perfil paisagístico das áreas de estudo.

Realizar levantamento das espécies de carrapato nos cães, e pesquisa de *R. rickettsii* nos carrapatos, para detectar a circulação da bactéria nessa população.

Verificar a abundância e intensidade parasitária nos cães para conhecer a distribuição do parasitismo por carrapatos nesses animais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Este tópico descreve a conduta e procedimentos utilizados durante o estudo. Todas as análises laboratoriais foram realizadas em Laboratório da Divisão de Programas Especiais da Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN), localizado em São Paulo.

3.1 Seleção e caracterização das áreas de estudo

A Região Metropolitana de São Paulo é composta por 39 municípios, possui uma população de cerca de 20 milhões habitantes e um território de 7.946,96 km² segundo dados do Sistema Estadual de Análises de Dados (SEADE, 2014) (Figura 1). O Estudo foi conduzido em áreas ao sul da Região Metropolitana de São Paulo, selecionadas a partir de ocorrência de casos de febre maculosa e/ou potenciais áreas para ocorrência do carrapato *A. aureolatum*, segundo dados ecológicos e epidemiológicos.

Foram estudadas nove localidades (Figura 2), todas com presença de fragmentos de Mata Atlântica, sendo que três das áreas com um perfil de vegetação menos impactada pelo homem, três com perfil de vegetação intermediário e outras três áreas com alta fragmentação e degradação ambiental, sendo o perfil de cada área definido a partir de análises visuais de paisagem. Cada área recebeu um código numérico para facilitar sua identificação (Tabela 1).

Figura 1. Localização geográfica da região do estudo no Estado de São Paulo, Brasil.

Figura 2. Foto de satélite da Região Metropolitana de São Paulo, as regiões marcadas de vermelho, mostradas pelas setas, são as áreas escolhidas para o estudo de soroprevalência em cães.

Tabela 1. Áreas selecionadas para o estudo, segundo o perfil de fragmentação.

Área	Município	Perfil de Vegetação
1	São Paulo	Baixa Fragmentação
2	Santo André	Baixa Fragmentação
3	Santo André (Paranapiacaba)	Baixa Fragmentação
4	São Bernardo do Campo	Média Fragmentação
5	São Bernardo do Campo	Média Fragmentação
6	Santo André (Recreio da Borda do Campo)	Média Fragmentação
7	Diadema	Alta Fragmentação
8	Ribeirão Pires	Alta Fragmentação
9	São Paulo	Alta Fragmentação

3.2 Métrica e variáveis de paisagem

Em cada uma das nove áreas selecionadas para o estudo, imagens de satélite foram geradas por meio do aplicativo Google Earth e Google Earth Pro (Satélite Landsat, data de passagem em outubro de 2012, Sistema de Projeção UTM, Datum – WGS84), sendo esse mesmo aplicativo utilizado para o cálculo das métricas.

Para cada localidade, um raio de 2 km foi delimitado a partir da borda da área ocupada, levando em conta o local de coleta de amostras dos cães selecionados para o estudo. O raio calculado, baseia-se em estudo que indica que em locais com matriz florestal fragmentada, cães semidomiciliados percorrem uma distância máxima de até 2 km entre o local onde vivem, e o interior dos fragmentos de mata que visitam (FRIGERI, 2013).

A fragmentação florestal foi o parâmetro central que norteou a seleção de seis variáveis de paisagem utilizadas no estudo, dado que o processo de fragmentação depende de uma série de fatores para sua ocorrência. As variáveis selecionadas estão descritas a seguir:

Área de floresta 2 km: Quantidade total de floresta conectada, em hectares, passível de uso pelos cães da área estudada, situados dentro do raio delimitado de 2 km a partir da borda da mancha de ocupação urbana. Fragmentos dentro do raio de 2 km, e com pequenas distâncias entre si (máximo de área deflorestada de 100 m) também foram incluídos no cálculo, pois apesar de não haver uma conexão estrutural (física) entre os fragmentos, há uma conexão funcional entre eles, ou seja, os cães são capazes de acessar esses fragmentos.

Perímetro de borda: Soma dos perímetros das bordas dos fragmentos de floresta demarcados no raio de 2 km, em quilômetros.

Borda funcional: Soma dos perímetros das bordas de floresta demarcados no raio de 2 km, exceto áreas de borda florestal em contato com coleções hídricas, rodovias e grandes avenidas.

Borda de contato entre floresta e domicílios: Soma dos perímetros das bordas de floresta demarcados no raio de 2 km com contato direto entre floresta e domicílios (domicílios isolados ou matriz urbana), pois esse contato facilita o acesso dos cães à mata. A área de contato direto entre borda de floresta e domicílios é parte da variável borda funcional (contato com residências e pequenas estradas ou ruas) que por sua vez, é parte da variável de perímetro de borda (borda de floresta total).

Número total de domicílios: Foi calculado o número de domicílios, no local de coleta de amostras de sangue e o número de domicílios sob influência da área de mata selecionada no raio de 2 km. As residências localizadas a uma distância máxima de 500 m a partir da borda da mata foram incluídas no cálculo. A distância de 500 m foi baseada em análises epidemiológicas dos casos de FMB que sugerem que o local provável de infecção se encontra a uma distância máxima de 300 m da borda da mata, sendo os 200 m restantes considerados margem de segurança. O cálculo do número de domicílios foi feito de forma manual (casa por casa), por meio das imagens de satélite, em locais com baixa concentração de

residências. Em locais de alta concentração de residências, foi calculado o número de domicílios em 300 m², sendo o número de domicílios nessa área, extrapolado para a área total ocupada por residências, respeitando-se a distância de 500 m da borda.

Área de floresta 10 km: Quantidade total de floresta conectada, em hectares, situadas dentro do raio delimitado de 10 km a partir da borda da mancha de ocupação urbana. O raio de 10 km foi delimitado com o objetivo de determinar se a quantidade de floresta presente em cada área de estudo aumentaria ou permaneceria a mesma em relação a área de floresta no raio de 2 km. Somente áreas com conexão funcional em relação ao raio de 2 km foram incluídas no cálculo. Esta variável mostra a conectividade total da área de estudo.

3.3 Amostragem dos Animais

Para o estudo transversal de soroprevalência, trinta cães foram selecionados para a coleta de amostras em cada localidade (270 cães no total), baseando-se em estudo anterior realizado na Região Metropolitana de São Paulo (OGZEWALSKA et al, 2012) Os critérios para a seleção dos cães foi o seguinte, como sugerido na literatura (PINTER et al, 2008): os cães deviam ter nascido e crescido na área (no caso de apresentarem resultado positivo no teste sorológico, não haveria dúvida do local de infecção), deviam ter pelo menos um ano de idade (a idade dos cães foi determinada pelo relato do proprietário em conjunto com uma avaliação da dentição), sem quaisquer sinais clínicos de doença e todos os cães deveriam ter acesso irrestrito e em abundância ao interior das áreas de mata.

3.4 Colheita de sangue

O procedimento de colheita de sangue dos 270 cães do presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Protocolo de Pesquisa nº 103/14 - Apêndice 3).

Os cães selecionados para o estudo, que atendiam os critérios citados no item anterior, tiveram sangue venoso (veia cefálica) colhido por médicos veterinários (Figura 3), após autorização dos proprietários com assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido. Cada área foi visitada uma única vez para coleta de amostras.

Para a colheita de sangue os veterinários utilizaram luvas de procedimento e a antissepsia do local da colheita foi realizada por meio de uso de álcool 70%. Os cães foram contidos e foi feita colocação de focinheira ou mordança para garantir a segurança dos profissionais e proprietários durante o procedimento (Figura 3).

Aproximadamente 2ml de sangue foram colhidos por animal, utilizando-se seringa e agulha descartáveis. O sangue coletado foi transferido para tubos vacutainer® (Figura 3) sem anticoagulante, que foram numerados (cada cão recebeu um código para sua identificação), acondicionados em isopor e deixados em repouso, a temperatura ambiente, para permitir a coagulação do sangue. No laboratório, os tubos foram centrifugados por 5 minutos a 3.000 rpm levando ao processo de separação do soro (Figura 3). O soro obtido após a centrifugação foi separado e transferido para microtubos plásticos (1,5ml), os quais foram etiquetados e estocados em congelador a -20° C até o momento da execução do teste sorológico.

Durante as coletas, uma ficha de coleta de dados foi preenchida, com a finalidade de obter informações complementares sobre os cães (Apêndice 1), como sexo, idade, endereço, presença de carrapatos, etc. O ponto de coleta de cada cão foi determinado por GPS.

Figura 3: Procedimentos para colheita de sangue. **A:** Tubos para colheita de sangue. **B:** Separação do soro após centrifugação. **C:** Cão contido e com focinheira. **D:** Colheita de sangue.

3.5 Reação de Imunofluorescência Indireta

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é o método sorológico mais utilizado para o diagnóstico das rickettsioses, sendo considerado padrão-ouro e o mais disponível na rotina laboratorial (BRASIL, 2005).

Os soros dos 270 cães foram descongelados e testados para determinação individual do título de anticorpos anti-Rickettsia, conforme protocolo adaptado e recomendado pelo National Center for Infectious Diseases /EUA.

Células infectadas por *R. rickettsii* ou *R. parkeri* foram cultivadas em laboratório (Figura 4) em garrafas de cultivo com células Vero, e meio MEM (Minimum Essential Medium) enriquecido com Soro Fetal Bovino (SFB) a 5%. Após

cerca de 3 dias encubadas em estufa, a temperatura de 30°C, as células foram fixadas em lâminas de vidro e coradas (GIMENEZ, 1964) para visualização das riquetsias no interior das células. O meio líquido das garrafas foi centrifugado (3000 rpm por 5 minutos), sendo o sedimento resultante desse processo suspenso em salina tamponada com fosfato 0,1 M (PBS) contendo 0,2% de azida sódica. Dez microlitros dessa suspensão foram aplicadas a cada orifício das lâminas para antígenos, os quais foram secos ao ar em fluxo laminar (Figura 4), fixados em acetona por 10 minutos e estocadas a -20° C até o momento do uso.

Os soros foram analisados inicialmente numa diluição de 1/64 com PBS pH 7,4. Quando apresentado resultado positivo para a diluição de 1/64 os soros foram novamente analisados para determinação do título máximo de anticorpos. Dez microlitros de soro diluído foram adicionados a cada orifício da lâmina com o antígeno específico (*R. rickettsii* ou *R. parkeri*), que foi incubada por 30 minutos à 37° C em câmara úmida. As lâminas foram então submergidas para lavagem em PBS pH 7,4 por 15 minutos. O passo seguinte foi a aplicação do conjugado anti-anticorpo IgG de cão, que foi deixado para incubação em estufa a 37° C por mais 30 minutos, quando as lâminas foram lavadas sendo submergidas em PBS pH 7,4 + Azul de evans por mais 15 minutos. Após secagem a temperatura ambiente as lâminas foram estocadas a -20° C até sua utilização.

As lâminas foram montadas com duas gotas de glicerina tamponada e cobertas por lamínula, para serem lidas em microscópio de fluorescência sob luz ultravioleta com objetiva para aumento de 40 vezes. Nesta reação, títulos iguais ou superiores a 1/64 foram considerados positivos (Figura 4).

Figura 4. **A:** Células infectadas por *R. rickettsii* (as bactérias são as estruturas em forma de pequenos bastonetes). **B:** Lâminas em processo de secagem, em fluxo laminar, após aplicação de antígeno. **C:** RIFI positiva em diluição de 1/64. **D:** RIFI negativa em diluição de 1/64.

3.6 Pesquisa de carrapatos em cães.

Durante as visitas a cada localidade, todos os cães selecionados para a colheita de sangue foram contidos fisicamente (Figura 5) e examinados ativamente em busca de carrapatos. Todo carrapato encontrado foi retirado, numerado (os carrapatos receberam um código de modo a associá-lo ao respectivo cão parasitado), acondicionado em tubo plástico (Figura 5) e levado ao laboratório para identificação, utilizando chaves taxonômicas de Onofrio e colaboradores (2006).

Figura 5. **A:** Contenção de cão para posterior coleta de carrapatos. **B:** Carrapatos coletados acondicionados em tubo plástico.

3.7 Pesquisa de infecção por riquetsias nos carrapatos.

Cada espécime de carrapato encontrado foi individualmente processado para extração de DNA. O DNA genômico foi extraído utilizando-se o kit Tissue Kit® (Quiagen – Maryland, EUA), segundo o protocolo para isolamento de DNA de insetos, seguindo as recomendações do fabricante.

O DNA extraído foi inicialmente submetido à PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) usando-se primers que amplificam um fragmento de 147 pares de base do gene citrato sintase *gltA*, descrito por Labruna e colaboradores (2004c), presente em todas as espécies do gênero *Rickettsia*. Uma vez reagentes para esta PCR, amostras de DNA do mesmo carrapato foram submetidas à PCR utilizando-se os primers que amplificam um fragmento de 512 pares de bases do gene *ompA*, presentes apenas nas espécies de riquetsias do grupo da febre maculosa (Quadro 1). Em cada reação também foi utilizado um controle positivo e um controle negativo (com água em vez de DNA) para validar a amplificação do material gênico.

Para a reação de PCR os reagentes utilizados foram: Água Nuclease free (9,5 µl), Green Taq® (12,5 µl), Primer forward a 10mM (0,5 µl), Primer reverse a 10mM (0,5 µl) e DNA (2 µl), totalizando 25 µl para cada amostra. Após a realização da PCR, os produtos armazenados em microtubos plásticos foram colocados em geladeira, até sua utilização no processo de eletroforese em gel de agarose.

Para realização da eletroforese, o gel foi preparado com 0,6g de agarose (em pó) diluído em 40 ml de TBE 0,5X(Tris-Borato-EDTA). Para cada amostra, incluindo controle positivo e negativo, utilizou-se: 2 µl de GelRed e 8 µl de amostra. Para o marcador de massa molecular foi utilizado: 2 µl de 100pb DNA Ladder, 2 µl de GelRed e 2 µl de GelBlue. O gel foi coberto por TBE 0,5X e realizou-se a eletroforese.

A leitura do gel foi realizada em luz ultravioleta e somente os carrapatos reagentes para o gene *ompA* foram considerados verdadeiramente positivos para riquetsias do grupo da febre maculosa. Os carrapatos que se mostrassem reagentes para o gene *ompA* teriam o fragmento amplificado submetido à reação de sequenciamento genômico pelo serviço do Centro do Genoma Humano da USP e as

sequências obtidas seriam submetidas ao programa “BLAST analysis” (ALTSCHUL et al. 1990) para determinar similaridades com outras espécies de riquétsias.

Quadro 1. Lista de primers utilizados na PCR para a identificação de riquétsias em carrapatos.

Gene	Primers	Especificidade	Sequência dos primers (5' – 3')	Referência
<i>GltA</i>	CS-5	Gênero <i>Rickettsia</i>	GAGAGAAAATTATATCCAAATGTCGAT	Labruna et al 2004c
	CS-6		AGGGTCTTCGTGCATTTCTT	
<i>ompA</i>	Rr190.70p	Grupo da Febre Maculosa	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA	Regnery et al, 1991
	Rr190.602n		AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT	

3.8. Análise dos dados

Partindo do princípio que as variáveis de paisagem apresentam características particulares em cada área de estudo (áreas de mata de tamanhos diferentes, perímetros de borda variados e número de domicílios distintos), cada uma dessas variáveis pode ter uma maior ou menor importância na variação da soroprevalência entre os locais do estudo.

As variáveis de paisagem, descritas no item 3.2 foram padronizadas (subtraindo-se da média o valor observado e dividindo o resultado pelo desvio padrão) e posteriormente utilizadas na Análise de Componentes Principais (ACP). A ACP é uma análise multivariada que possibilita a identificação das variáveis responsáveis pelas maiores variações entre os resultados, através da transformação de um conjunto original de variáveis, em um outro conjunto, denominado “componentes principais”. Essa análise permite que os dados iniciais sejam

reduzidos, com a menor perda de informação possível eliminando algumas variáveis originais que possuam pouca informação.

Cada variável de paisagem recebeu um código demonstrado a seguir:

Número de domicílios (A)

Área de floresta 2 km(B)

Perímetro de borda (C)

Borda funcional (D)

Contato floresta-domicílio (E)

Área de floresta 10 km (F)

Após a extração dos componentes principais, o resultado foi comparado com a soroprevalência encontrada em cada área, procurando determinar um padrão entre a distribuição dos componentes e da soroprevalência.

A variação nos títulos de anticorpos dos cães, em cada área de estudo, foi apresentada por meio de gráfico boxplot, permitindo uma melhor visualização dos títulos máximos, mínimos e da similaridade entre as áreas.

Em relação as informações complementares sobre os cães, obtidas na ficha de coleta de dados, foram feitas análises descritivas da distribuição por sexo e idade desses animais, nas diferentes áreas de estudo.

Com base no parasitismo por carrapatos, foi feito o cálculo de abundância e intensidade parasitária média dos cães, segundo Bush et al (1997). A abundância parasitária média é determinada pelo número total de parasitas de determinada espécie, dividido pelo número total de hospedeiros (parasitados e não parasitados) em determinada amostra. A intensidade parasitária média é determinada pelo número total de parasitas de determinada espécie, dividido pelo número de hospedeiros parasitados em determinada amostra. A abundância e intensidade média foram calculadas separadamente para cada área de estudo, segundo as espécies de carrapatos identificadas em cada local.

A análise de componentes principais e o gráfico boxplot foram gerados por meio do software gratuito Paleontological Statistics (PAST), versão 2.1. Os dados descritivos foram apresentados em gráficos gerados no software Excel (Microsoft Office 2013).

Baseado nos dados de análise de componentes principais foi gerado um gradiente de cor ajustado que representa o risco de circulação da bactéria *R. rickettsii*, a cor verde representa menor risco e a cor vermelha representa maior risco. O gradiente foi gerado no software Pixelmator (3.3.1 – Pixelmator Team Ltda. 2014).

4. RESULTADOS

4.1 Reação de Imunofluorescência Indireta

As 270 amostras coletadas foram testadas para antígeno de *R. rickettsii* e *R. parkeri*. Destas, 23 reagiram positivamente na RIFI para *R. rickettsii* sendo que onze amostras apresentaram resultados positivos na área 6, seis na área 7, duas na área 8 e quatro na área 9.

Dezoito amostras, dentre as 23, também reagiram positivamente para *R. parkeri*. Todas as amostras com resultados positivos para ambos os antígenos apresentaram título maior para *R. rickettsii*, ou o mesmo título para ambas as espécies e 13 amostras apresentaram título quatro vezes maior para *R. rickettsii* (Apêndice 2).

Somente uma amostra apresentou resultado positivo para ambos os antígenos, com um título maior para *R. parkeri*. Essa amostra, proveniente de Paranapiacaba, foi considerada negativa nas análises estatísticas e não faz parte das 23 amostras citadas acima pois, embora não tenha apresentado título quatro vezes maior para *R. parkeri*, esse é possivelmente o antígeno homólogo, baseando-se nos dados colhidos durante a coleta de campo, pois o proprietário deste cão relata que o animal o acompanha em trilhas para a região litorânea da Baixada Santista, local de ocorrência do carrapato da espécie *A. ovale*, já encontrado infectado por *R. parkeri*. (SABATINI et al, 2010). Todas as outras foram consideradas positivas para *R. rickettsii*.

De modo geral os títulos variaram de 64 a 8192. Em cada localidade a variação nos títulos foi a seguinte: 64 à 8192 na Área 6, 64 à 256 na Área 7, 128 na Área 8 e 128 à 1024 na Área 9 (Figura 6).

Figura 6. Gráfico boxplot dos títulos sorológicos para *Rickettsia* do Grupo da Febre Maculosa, em cães, nas áreas de estudo com sorologia positiva, Região Metropolitana de São Paulo.

4.2 Áreas de estudo - Paisagem e Soroprevalência

As imagens das nove áreas de estudo geradas por satélite (Landsat - Google Earth), estão apresentadas a seguir juntamente com suas métricas (Figuras 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25). Cada área possui duas imagens, a primeira correspondente a área de floresta no raio delimitado de 2 km, com os marcadores em azul representando os pontos de GPS de cada cão selecionado pra o estudo. A segunda imagem possui um círculo em vermelho que corresponde ao raio de 10 km. A área em amarelo demonstra a conexão funcional de mata entre o raio de 2 km e 10 km (algumas áreas não possuem floresta continua num raio de 10 km).

Figura 7. Visão geral das áreas de estudo na Região Metropolitana de São Paulo.

Figura 8. Área 1 (São Paulo). Raio de 2 km.

Figura 9. Área 1 (São Paulo). Raio de 10 km.

Figura 10. Área 2 (Santo André). Raio de 2 km.

Figura 11. Área 2 (Santo André). Raio de 10 km.

Figura 12. Área 3 (Santo André - Paranabiabaca). Raio de 2 km.

Figura 13. Área 3 (Santo André - Paranapiacaba). Raio de 10 km.

Figura 14. Área 4 (São Bernardo do Campo). Raio de 2 km.

Figura 15. Área 4 (São Bernardo do Campo). Raio de 10 km.

Figura 16. Área 5 (São Bernardo do Campo). Raio de 2 km.

Figura 17. Área 5 (São Bernardo do Campo). Raio de 10 km.

Figura 18. Área 6 (Santo André – Recreio da Borda do Campo). Raio de 2 km com detalhe aproximado da área ocupada.

Figura 19. Área 6 (Santo André – Recreio da Borda do Campo). Raio de 10 km.

Figura 20. Área 7 (Diadema). Raio de 2 km.

Figura 21. Área 7 (Diadema). Raio de 10 km.

Figura 22. Área 8 (Ribeirão Pires). Raio de 2 km.

Figura 23. Área 8 (Ribeirão Pires). Raio de 10 km.

Figura 24. Área 9 (São Paulo). Raio de 2 km.

Figura 25. Área 9 (São Paulo). Raio de 10 km.

Com relação a soroprevalência pôde-se observar que, nas áreas mais preservadas (1, 2, 3) nenhum cão apresentou resultados positivos nos testes sorológicos. Nas áreas 4, 5 e 6, de média fragmentação, as duas primeiras também apresentaram soroprevalência igual a zero, enquanto a área 6 apresentou uma soroprevalência de 37%, sendo essa, a maior soroprevalência encontrada entre as diferentes áreas de estudo. As áreas com perfil de maior fragmentação (7, 8, 9) apresentaram uma soroprevalência de 20%, 7% e 13% respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Soroprevalência de *R. rickettsii* por áreas de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

Área	Soroprevalência de <i>R. rickettsii</i>					
	Positivos		Negativos		Total	
	N	%	N	%	N	%
1	0	0	30	100	30	100
2	0	0	30	100	30	100
3	0	0	30	100	30	100
4	0	0	30	100	30	100
5	0	0	30	100	30	100
6	11	37	19	63	30	100
7	6	20	24	80	30	100
8	2	7	28	93	30	100
9	4	13	26	87	30	100

*N: número absoluto de animais positivos e negativos no teste sorológico.

A Tabela 3 apresenta os dados relativos às variáveis de paisagem, resultantes do cálculo das métricas. De modo geral, as áreas mais preservadas apresentaram uma maior área de floresta nos raios de 2 km e 10 km. As áreas com maior fragmentação apresentaram um maior número de domicílios. A área 6, com a maior soroprevalência, também se destacou com os valores mais elevados para área de contato entre floresta e domicílios, borda funcional e perímetro de borda.

Tabela 3. Variáveis de paisagem e soroprevalência segundo áreas de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

Área	Variáveis de paisagem						Soroprevalência
	A (n)	B (ha)	C(km)	D(km)	E(km)	F(ha)	
1	531	2709	96,1	78,4	45,02	14370	0% (0/30)
2	3158	1708	75	68,01	44,58	14800	0% (0/30)
3	217	1540	26,5	12,78	6,25	26243	0% (0/30)
4	1022	290	41,27	28,67	16,13	299	0% (0/30)
5	1046	202	43,2	30,68	18,04	202	0% (0/30)
6	1815	848	124,91	101,25	88,3	1086	37% (11/30)
7	10773	449	63,9	58,27	40,6	633,5	20% (6/30)
8	6980	54	15,2	15,01	9,86	54	7% (2/30)
9	2970	193	35,86	33,83	25,97	196,27	13% (4/30)

*A- número de domicílios, B- área de floresta 2 km, C- perímetro de borda, D- borda funcional, E- contato floresta-domicílio, F- área de floresta 10 km

Após a padronização dos dados de paisagem descritos na Tabela 3, foi realizada a análise de componentes principais. Essa análise apresentou seis componentes no total, sendo que dois deles (Componente 1 e Componente 2) foram considerados os de maior relevância, por juntos explicarem 86,28% da variância entre as áreas. O Componente 1, que explica 53,61% da variância, ofereceu maior peso para as variáveis de perímetro de borda, borda funcional e borda de contato de floresta com domicílios enquanto o Componente 2, que explica 32,67% da variância, ofereceu maior peso as variáveis de área de floresta no raio de 2 km e 10 km (Tabela 4 e 5).

Tabela 4. Coeficientes dos componentes principais 1 e 2 para cada variável.

Variáveis ambientais	Componente 1	Componente 2
Número de domicílios	-0,1223	-0,4686
Área de floresta 2 km	0,360	0,4884
Perímetro de borda	0,546	-0,123
Borda funcional	0,537	-0,184
Contato floresta-domicílio	0,5066	-0,2698
Área de floresta 10 km	0,108	0,6478

Tabela 5. Valores dos componentes principais 1 e 2, por área de estudo.

Área	Componente 1	Componente 2
1	2,2776	1,4129
2	1,2778	0,69519
3	-1,0375	2,673
4	-1,1488	-0,0999
5	-1,0826	-0,19597
6	3,0512	-1,3468
7	-0,066092	-1,8076
8	-2,2184	-0,79694
9	-1,0532	-0,5348

A distribuição dos coeficientes dos componentes principais 1 e 2, para cada área de estudo pode ser observado na Figura 26. Ao comparar os valores resultantes da ACP com a soroprevalência, pode-se observar que as áreas 1, 2 e 3, que apresentam os maiores valores para o Componente 2, obtiveram resultado de soroprevalência nulos, apesar dos coeficientes maiores para o Componente 1. A área 3 aparece em destaque com o maior valor para o Componente 2, e valor menor para o Componente 1 quando comparada as áreas 1 e 2. A área 6, apresenta o maior valor para o Componente 1 e é o local com a maior soroprevalência encontrada. As áreas 4, 5, 7, 8 e 9, apresentam valores baixos para ambos os componentes, sendo que as áreas 7, 8, 9 apresentaram resultados positivos de soroprevalência, enquanto as áreas 4 e 5 apresentaram valores de soroprevalência igual a zero.

A Figura 27 mostra a distribuição do componentes de acordo com um gradiente de risco. A área 3 mostra-se como a de menor risco para ocorrência de casos de FMB em humanos, enquanto a área 6 mostra-se como a de maior risco. As demais áreas podem ser consideradas intermediárias.

Figura 26. Gráfico de dispersão dos compontes 1 e 2, segundo áreas de estudo.

Figura 27. Gradiente de risco para ocorrência de FMB, nas nove áreas de estudo, de acordo com a distribuição da ACP e soroprevalência.

Do total de 270 cães, 156 (58%) eram machos e 114(42%) fêmeas. Analisando cada área separadamente (30 cães por área), verificou-se uma maior proporção de machos que de fêmeas, exceto para as áreas 4 e 5 (Figura 28). Com relação a idade, dentre os 270 cães, 203(75%) apresentaram idade entre um e sete anos e 67 (25%) idade superior a sete anos. Em todas as áreas de estudo, houve uma maior proporção de cães com idade entre um e sete anos (Figura 29).

Figura 28: Proporção de cães segundo sexo, por área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

Figura 29: Proporção de cães segundo idade, por área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

4.3 Pesquisa de carrapatos em cães

Os carrapatos encontrados parasitando os cães das áreas de estudo estão divididos entre duas espécies de gêneros distintos: *A. aureolatum* e *R. sanguineus*. Um total de 67 carrapatos foi coletado parasitando cães, 38 (57%) da espécie *A. aureolatum* sendo 20 (30%) machos e 18 (27%) fêmeas e 29 (43%) da espécie *R. sanguineus* sendo 16 (24%) machos e 13 (19%) fêmeas. Os carrapatos coletados foram encontrados no estágio adulto, com exceção de uma ninfa coletada na área 3. Essa ninfa foi levada ao laboratório e mantida em recipiente úmido para a realização de muda para estágio adulto. Após a muda para o novo estágio a ninfa pôde ser identificada como macho de *A. aureolatum*.

A Tabela 6 mostra a distribuição das duas espécies nas nove áreas de estudo. Pode-se observar que somente nas áreas mais alteradas (7, 8, 9), foram encontrados espécimes de *R. sanguineus*. Carrapatos da espécie *A. aureolatum* foram encontrados em todas as áreas de estudo, exceto a área 2, onde não foram coletados espécimes de carrapatos e área 7, com somente um espécime de *R. sanguineus* coletado. Somente nas áreas 8 e 9 foram coletados carrapatos de ambas as espécies.

Tabela 6. Número de espécimes de carrapatos coletados segundo espécie, por área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

Área	Espécies coletadas					
	<i>A. aureolatum</i>		<i>R. sanguineus</i>		Total	
	N	%	N	%	N	%
1	23	34	0	0	23	34
2	0	0	0	0	0	0
3	1	1	0	0	1	1
4	3	4	0	0	3	4
5	4	6	0	0	4	6
6	4	6	0	0	4	6
7	0	0	1	1	1	1
8	1	1	8	12	9	13
9	2	3	20	30	22	33
Total	38	57	29	43	67	100

Com relação ao parasitismo de cães, dos 270 animais, 24 (9%) foram encontrados parasitados, 17 (71%) por carrapatos da espécie *A. aureolatum* e 7 (29%) por carrapatos da espécie *R. sanguineus*. Nenhum cão foi encontrado com parasitismo misto (parasitado por ambas as espécies). A quantidade de cães parasitados, por área de estudo, está representada na Figura 30. A quantidade de parasitas, por cão, está representada na Figura 31. Nas áreas 8 e 9, onde ambas as espécies foram coletadas, a distribuição de carrapatos nos cães foi a seguinte: área 8 com um cão parasitado por um único espécime de *A. aureolatum*, e 3 cães parasitados por *R. sanguineus* com 1, 1 e 6 espécimes respectivamente; área 9 com um cão parasitado por 2 espécimes de *A. aureolatum*, e três cães parasitados por *R. sanguineus* com 1, 2 e 18 espécimes respectivamente. Na Figura 31, as diferentes cores representam cada cão parasitado com o respectivo número de espécimes de carrapatos coletados em cada animal.

Figura 30. Número de cães parasitados, por espécie de parasita, segundo área de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

Figura 31. Quantidade de parasitas por cão nas áreas de estudo, Região Metropolitana de São Paulo.

A Tabela 7 mostra o cálculo de abundância e intensidade média de infestação, de acordo com as espécies de carrapatos coletadas. A abundância e intensidade média de parasitismo para *A. aureolatum* foi mais intensa na área 1, pois essa área apresentou uma maior quantidade de carrapatos dessa espécie coletados, distribuídos em apenas 6 cães parasitados. Para *R. sanguineus*, a área 9 apresentou uma maior abundância e intensidade parasitária, pois nela foram coletados 20 carrapatos da espécie, distribuídos em 3 cães.

Tabela 7. Abundância e intensidade parasitárias médias para as nove áreas de estudo, segundo espécies de carrapatos, Região Metropolitana de São Paulo.

Área	Abundância média		Intensidade média	
	<i>A. aureolatum</i>	<i>R. sanguineus</i>	<i>A. aureolatum</i>	<i>R. sanguineus</i>
1	0,77	-	3,83	-
2	-	-	-	-
3	0,03	-	1	-
4	0,1	-	1	-
5	0,13	-	1,33	-
6	0,13	-	2	-
7	-	0,03	-	1
8	0,03	0,27	1	2,67
9	0,07	0,67	2	6,67

4.4 Pesquisa de infecção por riquetsia nos carrapatos

Todos os 67 carrapatos encontrados foram testados para detecção de riquetsias. Destes, 24 foram considerados positivos no primeiro teste (gene *gltA*, presente em todas as espécies do gênero *Rickettsia*). Os 24 carrapatos foram então submetidos a segunda PCR, sendo que nenhum carrapato foi considerado positivo para as riquetsias do grupo da febre maculosa. Dessa forma, seguindo os critérios descritos anteriormente, não foi realizado o processo de sequenciamento genômico.

5. DISCUSSÃO

Cães domésticos são considerados animais sentinelas para FMB, principalmente onde a bactéria *R. rickettsii* é transmitida por carrapatos da espécie *A. aureolatum*. Isso ocorre, pois esses animais são susceptíveis à infecção por *R. rickettsii*, que por sua vez, estimula a produção de anticorpos, que podem ser detectados por meio de testes sorológicos (Pinter et al, 2008).

A sorologia em cães, hospedeiros primários e secundários de carrapatos, com o objetivo de detectar a circulação de riquetsias, tem sido uma ferramenta comumente utilizada no Brasil, pois os cães são animais constantemente parasitados por carrapatos de diferentes espécies, vivem em estreito contato com o homem e são facilmente encontrados tanto no ambiente urbano quanto no rural (LEMOS et al, 1996; SANGIONI et al, 2005; LABRUNA et al, 2007b; OTOMURA et al, 2010; MILAGRES et al, 2010; SILVA et al, 2010; TAMEKUNI et al, 2011; TOLEDO et al, 2011; COSTA, 2014).

Na região Metropolitana de São Paulo, onde cães são considerados hospedeiros primários de carrapatos da espécie *A. aureolatum*, vetor da FMB nesse local, levantamentos sorológicos em cães encontraram uma soroprevalência de *R. rickettsii* de 20%, 27,3%, 50%, 64%, 69,2% e 69,6% nesses animais, distribuídas em diferentes localidades como São Bernardo do Campo, São Paulo, Diadema, Mogi das Cruzes e Santo André (HORTA et al, 2007; PINTER et al, 2008; MORAES-FILHO et al, 2009; OGRZEWALKA et al, 2012).

No presente estudo, realizado em nove áreas da Região Metropolitana de São Paulo a soroprevalência variou de 0 a 37% nas diferentes áreas de estudo, sendo 37% em Santo André, 20% em Diadema, 13% em São Paulo, 7% em Ribeirão Pires e 0 nas demais áreas. A área endêmica do Recreio da Borda do Campo, em Santo André, apresentou a maior soroprevalência (37%) sendo que estudo realizado por Moraes-Filho e colaboradores (2009), nessa mesma região, encontrou uma soroprevalência de 69,6% em 23 cães que viviam próximos ao local onde carrapatos infectados por *R. rickettsii* já haviam sido encontrados anteriormente em cães.

A fragmentação vegetal, é um processo complexo que pode influenciar a soroprevalência de *R. rickettsii* na Região Metropolitana de São Paulo, pois, as alterações no ambiente decorrentes desse processo facilitam a interação do agente patogênico, do vetor e seus hospedeiros.

Ribeiro et al (2009) analisaram a distribuição espacial de todos os fragmentos remanescentes de Mata Atlântica no Brasil (245000 fragmentos), usando alguns parâmetros como tamanho do fragmento, área de borda, isolamento, conexão estrutural e distância até áreas de conservação. Na sub-área Serra do Mar, local onde todas as áreas do presente estudo estão inseridas, encontrou-se um grande número de fragmentos pequenos (cerca de 79% dos fragmentos com menos de 50 ha), fragmentos com maiores distâncias até a borda, ou seja, com maior área interna, mais áreas com conexão funcional para espécies capazes de atravessar uma distância de 100m e uma maior quantidade de remanescentes sob proteção (25,2%).

A comparação de dados paisagísticos entre áreas endêmicas e não endêmicas para FMB ao sul e norte da Região Metropolitana de São Paulo, feita por Ogrzewalska et al (2012), mostrou áreas endêmicas com fragmentos significativamente menores, maior distância entre fragmentos e menor abundância e riqueza de espécies. Somente ao sul da Região Metropolitana foram encontradas áreas endêmicas para FMB, enquanto áreas não endêmicas foram encontradas tanto ao norte quanto ao sul dessa região.

Nesse estudo, as variáveis de paisagem foram comparadas a soroprevalência para determinar a possível existência de relação entre elas. Uma das variáveis que mostrou ter influência na distribuição da soroprevalência foi a área de floresta. As áreas menos fragmentadas (1, 2, 3) apresentaram as maiores áreas de floresta no raio de 2 km e 10 km. Para essas áreas, se houvesse um aumento do raio, haveriam mais áreas de floresta com conexão, ao passo que nas demais áreas, a conexão vegetal se esgotou no raio de 2 km ou 10 km. Nenhuma dessas áreas apresentou cães com resultados positivos de soroprevalência o que pode ser explicado pelo fato de, por serem mais preservadas e com grandes áreas de floresta, nelas existem animais silvestres que podem atuar como hospedeiros do

carrapato no lugar do cão doméstico, fazendo com que a circulação da bactéria se mantenha em níveis enzoóticos.

Carnívoros silvestres são considerados hospedeiros do carrapato *A. aureolatum* em áreas mais preservadas. Labruna et al (2005b), num levantamento de carrapatos em animais silvestres no Brasil, encontraram esta espécie parasitando carnívoros como *Puma concolor* (onça-parda), *Herpailurus yagouaroundi* (gato-mourisco), *Cerdocyon thous* (cachorro-do-mato), *Chrysocyon brachyurus* (lobo-guará) e *Procyon cancrivorus* (guaxinim). Guglielmone et al (2003), analisando dados relativos a hospedeiros de carrapatos dessa espécie, encontraram canídeos como hospedeiros mais comuns de *A. aureolatum*, com destaque, dentre os silvestres, para a espécie *Cerdocyon thous*.

O cachorro-do-mato é um canídeo de médio porte que ocorre em florestas tropicais, subtropicais e campos abertos, é um animal onívoro que apresenta uma dieta generalista, se alimentando principalmente de frutas, artrópodes e pequenos vertebrados (GATTI et al, 2006). Estudo realizado por Juarez e Marinho-Filho (2002), mostrou que o alcance dessa espécie em termos de movimentação e habitat foi de 1280 ha, no cerrado, enquanto Michalski et al (2006), ao estudar o habitat dessa mesma espécie, na Mata Atlântica, encontraram valores de 1110 ha para um exemplar macho e 30 ha para um exemplar fêmea.

A fragmentação de ecossistemas naturais oferece uma ameaça para carnívoros silvestres, principalmente os de maior porte, pois estes necessitam de grandes áreas para sobreviver. A diminuição e destruição de habitats, decorrentes do processo de alteração paisagística, resulta em uma redução e possível extinção das principais fontes de alimento desses animais.

Somente as áreas 1, 2 e 3 mostraram-se capazes de suportar populações de cachorro do mato, baseando-se nos estudos anteriormente citados, sendo que a área 3 se destaca com a maior área de mata. É muito provável que a alteração no ambiente, nas demais áreas de estudo (4, 5, 6, 7, 8, e 9), culminou em uma condição ambiental desfavorável para a manutenção de populações de cachorro-do-mato e outros animais silvestres de médio e grande porte, tornando o cão doméstico o único hospedeiro do estágio adulto vetor.

Cães domésticos são animais que vivem em contato direto com o homem, de modo que quanto maior o número de domicílios em determinada área, maior é o número esperado de cães, que tendo acesso a mata, podem ser parasitados por carrapatos e carregá-los para as residências, aumentando o risco de parasitismo humano. Torres e Prado (2010), em estudo sobre cães presentes em paisagens fragmentadas na Mata Atlântica, verificaram que a densidade de cães estava diretamente ligada a densidade de casas, enquanto que para animais silvestres a densidade estava relacionada a área e disponibilidade de alimento. Neste estudo pôde-se observar que as áreas mais alteradas apresentaram um maior número de domicílios e valores positivos de soroprevalência, apesar dessa variável não ter apresentado peso significativo na ACP.

Piza (1932), relatou que os primeiros casos de FMB em São Paulo ocorreram nos bairros que hoje correspondem a Sumaré, Perdizes e Pinheiros que estavam passando por uma expansão urbana. Hoje essas áreas já não são consideradas de risco para ocorrência de casos da doença pois, conforme o aumento na degradação de áreas florestais, a manutenção de populações do carrapato vetor no ambiente tornou-se inviável, resultando em uma gradativa diminuição do número de casos.

Com base nos dados observados, a soroprevalência parece depender não somente da presença de domicílios, mas principalmente do contato entre a área de floresta e a matriz urbana em contato com a mata. As variáveis perímetro de borda, borda funcional e borda de contato entre domicílios e floresta mostraram-se importantes na variação entre as diferentes áreas de estudo. Se tomarmos como exemplo a área 6, esta apresentou a maior soroprevalência e também o maior valor para o Componente 1, que deu maior peso para essas variáveis.

O efeito de borda tem sido constantemente citado como um dos fatores decorrentes da perda de habitat e fragmentação, que afeta diretamente o microclima das florestas, levando a alterações de luz, umidade, vento e temperatura, altera a estrutura da vegetação e leva a alterações biológicas relacionadas as mudanças na abundancia e distribuição de espécies, e mudanças na interação de comunidades animais (STEVENSON; HUSBAND, 1998; PARDINI et al 2005; LACERDA et al, 2009; PARDINI et al, 2009).

Espécies tropicais, especialmente aquelas que dependem da floresta são extremamente susceptíveis a alterações de borda (RIBEIRO et al, 2009), porém, a resposta as mudanças no ambiente, como a diminuição de áreas de mata e aumento do perímetro de borda, dependem da espécie animal em estudo. Pardini et al (2009), estudando diversas taxas, na Mata Atlântica, encontraram espécies generalistas com uma resposta positiva às modificações no ambiente, sendo encontradas em maior número nas bordas dos fragmentos, enquanto as especialistas foram encontradas em maior número no interior dos fragmentos. Stevens e Husband (1998) ao estudar pequenos mamíferos, na Mata Atlântica, verificaram que a diversidade de espécies era crescente conforme o aumento da distância em relação a borda, assim como Pardini et al (2005) constataram que em fragmentos pequenos e isolados havia uma menor abundância e riqueza de espécies. Michalski e Peres (2007), ao estudar a resposta de mamíferos aos distúrbios no ambiente, mostraram uma menor diversidade de espécies em fragmentos de mata pequenos, uma vez que populações de animais de médio e grande porte, são mais facilmente extintas em áreas pequenas e isoladas.

Segundo Medina e Vieira (2007) o efeito de borda pode afetar a interação entre espécies animais levando a um aumento da atividade de predadores nas bordas, maior probabilidade de interação entre indivíduos que vivem no fragmento e indivíduos que vivem na matriz de contato com o fragmento, além de uma maior probabilidade de invasão de espécies exóticas.

Cães domésticos tem atuado como espécie exótica invasora e interagem com animais silvestres como predadores, presas, competidores, reservatórios e/ou transmissores de doenças e parasitas, que podem levar a reduções drásticas nas populações de mamíferos silvestres. A intensidade de invasão por cães domésticos, na Mata Atlântica, é muito alta e é favorecida pelo tipo de manejo dos cães, que são criados soltos e com livre acesso ao interior da mata. Essa invasão parece ser mais negativa para a sobrevivência das espécies de fauna nativa, do que a perda de áreas de floresta (Frigeri, 2013).

Por esse motivo, apesar de algumas espécies silvestres, como o próprio cachorro-do-mato, serem consideradas generalistas na seleção de habitats, sendo capazes de sobreviver em áreas mais degradadas, a influência de cães domésticos na matriz dos fragmentos, é altamente prejudicial a sobrevivência desses animais. Lacerda et al (2009), em estudo realizado no Parque Nacional de Brasília, verificaram que cães domésticos que viviam na bordas do parque, atuavam como predadores da fauna silvestre e que os animais nativos evitavam circular em locais normalmente ocupados por cães, o que dificultava a efetividade das reservas na conservação de espécies.

Outros estudos além de levantar o papel dos cães como predadores da fauna silvestre também reconhecem o seu papel como competidores por recursos e transmissores de doenças, destacando a importância da educação em saúde e posse responsável desses animais, com o objetivo de garantir-lhes uma melhor qualidade de vida por meio de cuidados veterinários constantes e manejo adequado (SRBEK-ARAUJO; CHIARELLO, 2008; TORRES; PRADO, 2010).

Ao analisarmos em conjunto os dados resultantes da ACP e de soroprevalência pode-se concluir que quanto maior a área de mata e menor a quantidade de borda, menores são as chances de ocorrência de casos de FMB, sendo a área 3 a de menor risco, dentre todas as áreas. Locais com áreas de mata reduzida -mas ainda capazes de manter uma população de carrapatos - e com grande quantidade de borda de contato entre domicílios e floresta, parecem ser os de maior risco para ocorrência de casos, como observado na área 6. As áreas 1 e 2, apesar de ainda apresentarem uma grande quantidade de mata, podem se tornar áreas de risco, dependendo da intensificação dos processos de desmatamento, uma vez que são áreas que já possuem uma grande quantidade de borda, podendo então, ser classificadas como áreas de atenção. As áreas 7, 8 e 9 que já possuem casos de FMB, podem manter essa característica endêmica e até mesmo, no futuro, não apresentarem mais casos da doença, uma vez que a diminuição crescente das áreas de mata podem levar a uma situação insustentável para manutenção de populações de carrapatos. As áreas 4 e 5 podem ter apresentado valores nulos de soroprevalência por tamanho amostral insuficiente, uma vez que na ACP, apresentaram valores semelhantes as áreas 7, 8 e 9.

Os parâmetros de estrutura de paisagem tem sido constantemente utilizados para um melhor entendimento da epidemiologia das doenças, que é normalmente complexa e depende de um conjunto de fatores, principalmente no caso de agentes transmitidos por vetores, que dependem da interação entre vetor, hospedeiros, patógeno e o ambiente no qual todos estão inseridos. Neste estudo, a utilização de alguns parâmetros ambientais em conjunto com dados sobre a soroprevalência de *R. rickettsii*, indicam que essa ferramenta pode auxiliar a identificação de locais de maior ou menor risco para ocorrência de casos de FMB na Região Metropolitana de São Paulo, levando em conta as características paisagísticas das áreas que se pretende estudar.

Em relação às características da população canina do presente estudo, de modo geral, foi encontrada uma maior proporção de machos. Costa (2014), ao analisar a distribuição e soroprevalência de cães no Maranhão, também obteve maior proporção de machos que de fêmeas. Em relação a idade, este estudo encontrou uma maior proporção de animais jovens, o que pode ser explicado pelas condições econômicas desfavoráveis na maior parte das áreas amostradas, resultando na falta de recursos para devida assistência médica e sanitária dos animais, reduzindo sua longevidade.

Através de levantamento sobre o manejo de cães, Frigeri (2013) verificou que grande parte desses animais não são esterilizados, o que favorece o aumento das taxas de reprodução, uma vez que as condições ambientais como disponibilidade de alimento, abrigo e ausência de predadores beneficia o crescimento populacional.

A infecção por *R. rickettsii* em carrapatos é muito baixa em condições naturais, pelo fato da bactéria possuir efeitos deletérios ao vetor (LABRUNA et al, 2011). Assim, é improvável que populações de carrapatos possam se manter infectadas por sucessivas gerações somente por transmissão vertical (transmissão transovariana e perpetuação transestadial), pois o número de carrapatos infectados diminuiria gradualmente a cada geração (RANDOLPH, 1998). Por esse motivo o papel de hospedeiros amplificadores na epidemiologia da FMB é muito importante (SOUZA et al, 2009)

Labruna (2009a) lista cinco requisitos que uma espécie de hospedeiro vertebrado deve apresentar para que seja considerado um amplificador eficiente para *R. rickettsii*: deve ser abundante na área endêmica de ocorrência da doença, deve ser hospedeiro principal do carrapato vetor, ser susceptível a infecção pelo agente etiológico, desenvolver riquetsemia capaz de infectar outros carrapatos que se alimentem nesse hospedeiro e ter alta taxa de proliferação, com constante inserção de animais susceptíveis na população.

Com base nesses dados e, pelo fato de cães serem os principais hospedeiros do estágio adulto do carrapato *A. aureolatum*, é possível que esse animal atue como amplificador da bactéria *R. rickettsii* na Região Metropolitana de São Paulo, porém, estudos mais aprofundados são necessários para confirmar essa hipótese, pois aves e pequenos roedores também atuam com principais hospedeiros dos estágios imaturos do carrapato (LABRUNA, 2009b; PIRANDA et al, 2011; OGRZEWALSKA et al, 2012).

Segundo Cooksey et al (1990), animais que são hospedeiros somente de adultos do carrapato, podem não ser amplificadores eficientes da bactéria, já que a transmissão transovariana do agente patogênico é normalmente baixa ou ausente quando a infecção primária do carrapato ocorre na fase adulta. Isso porque, talvez não haja tempo suficiente para que a bactéria consiga colonizar os ovários de forma a permitir um alto nível de transmissão para sua progênie, o contrário do que ocorre quando o carrapato se infecta nas fases de larva ou ninfa.

Estudo realizado por Labruna et al (2011), analisou a infecção por *R. rickettsii* em carrapatos da espécie *A. aureolatum*, e verificou que essa espécie apresentou uma baixa performance reprodutiva com massa de ovos reduzida e maior taxa de mortalidade das fêmeas ingurgitadas previamente infectadas, ao passo que as fêmeas não infectadas por *R. rickettsii* tiveram uma melhor resposta a esses parâmetros. A maior mortalidade de fêmeas ingurgitadas interfere negativamente na população de carrapatos, reduzindo a quantidade de novos indivíduos no ambiente, o que torna a transmissão horizontal do agente, por meio de hospedeiros amplificadores, extremamente importante na formação de novas linhagens de carrapatos infectados.

Piranda et al (2011), em estudo sobre infecção experimental de *R. sanguineus* com a bactéria *R. rickettsii*, utilizando cães como hospedeiros, demonstraram que essa espécie possui competência vetorial e é capaz de realizar transmissão transovariana e perpetuação transestadial do agente. Para *R. sanguineus*, a bactéria parece não ter o mesmo efeito deletério que tem para *A. aureolatum*, porém na ausência de uma transmissão horizontal, essa espécie provavelmente não mantém a bactéria circulante por sucessivas gerações. Assim, cães foram considerados possíveis hospedeiros amplificadores do agente para essa espécie de carrapato, pois todos os estágios se alimentam nesse animal, facilitando a transmissão do agente.

Neste estudo, somente duas espécies foram encontradas parasitando cães: *A. aureolatum* em 7 áreas (1, 3, 4, 5, 6, 8 e 9) e *R. sanguineus* em 3 áreas (7, 8 e 9). Ogrzewalska et al (2012), em estudo realizado na Região Metropolitana de São Paulo também encontraram essas mesmas espécies parasitando cães na região sul, enquanto Moraes-Filho et al (2009) encontraram 4 espécies parasitando cães no Recreio da Borda do Campo (Santo André), sendo que *R. sanguineus* e *A. aureolatum*, foram as mais prevalentes. Neste estudo não foi encontrado parasitismo misto por *A. aureolatum* e *R. sanguineus* fato que poderia facilitar a transmissão da bactéria *R. rickettsii* de uma espécie para outra.

A abundância e intensidade parasitaria média encontrada, demonstra que a quantidade de carrapatos parasitando cães não tem relação direta com a prevalência de *R. rickettsii*, pois nas áreas com valores positivos de soroprevalência, foram coletados poucos espécimes de *A. aureolatum*. Estes dados estão de acordo com Ogrzewalska et al (2012) que encontraram uma maior abundância e intensidade parasitária de *A. aureolatum*, em áreas não endêmicas para FMB.

Todos os 67 carrapatos testados na PCR (38 *A. aureolatum* e 29 *R. sanguineus*) foram considerados como não reagentes para *R. rickettsii*. Os dados encontram-se dentro do esperado quando comparados com alguns estudos como o de Horta et al (2007) que não encontraram carrapatos da espécie *A. aureolatum* infectados, na Região Metropolitana de São Paulo (Mogi das Cruzes e São Paulo). Pinter e Labruna, (2006), analisaram 669 carrapato da espécie *A. aureolatum* e encontraram uma positividade de 0,89% (6 positivos) para *R. rickettsii*. Moraes-Filho

et al (2009), encontraram 2 espécimes de *R. sanguineus* positivos na PCR, dentre 157 testados em Santo André. Por outro lado, Ogrzewalska et al (2012) encontraram uma positividade muito maior em carrapatos em seu estudo na região Metropolitana de São Paulo, com 3 *A. aureolatum* infectados dentre 27 (11,1%) e 12 *R. sanguineus* infectados dentre 106 coletados (11,2%).

Este estudo conclui que o manejo inadequado dos cães, associado ao tamanho das áreas de floresta e ao perímetro de borda de contato entre floresta e domicílios, tem influência nos processos ecológicos e epidemiológicos que ocorrem no ambiente e consequentemente influenciam a distribuição da soroprevalência de FMB nas áreas de estudo. Áreas de mata reduzidas a pequenos fragmentos, apresentam um maior perímetro de borda, o que facilita o acesso de cães a mata e favorece o contato com o vetor. Por outro lado, áreas de floresta conectada e preservada, dificultam o acesso dos cães.

Estudos com o objetivo de elucidar a hipótese de que cães sejam possíveis amplificadores da bactéria *R. rickettsii* poderão auxiliar no melhor entendimento da dinâmica da doença. A comprovação dessa hipótese poderá potencializar o papel dos cães na epidemiologia da FMB, na Região Metropolitana de São Paulo.

6. CONCLUSÃO

- A soroprevalência de infecção por *R. rickettsii* em cães está associada a fragmentação vegetal nas áreas estudadas, influenciada negativamente pelo tamanho das áreas de mata e positivamente pelo perímetro de borda de contato entre floresta e casas.
- A abundância e intensidade parasitária não apresentou relação com a soroprevalência de infecção por *R. rickettsii*.
- Nenhum carrapato foi considerado reagente na pesquisa por *R. rickettsii*.
- Somente carrapatos das espécies *A. aureolatum* e *R. sanguineus* foram encontrados parasitando cães.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **J. Mol. Biol.** v. 215, p 403-410, 1990.

ANGERAMI, R. N.; RESENDE, M. R.; FELTRIN, A. F. C.; KATZ, G.; NASCIMENTO, E. M.; STUCCHI, R. S. B.; SILVA, L. J. Brazilian Spotted Fever: A Case Series from an Endemic Area in Southeastern Brazil, clinical aspects. **Ann. N. Y. Acad. Sci.** v.1078, 252-254, 2006.

ANGERAMI, R. N.; CÂMARA, M.; PACOLA, M. R.; REZENDE, R. C. M.; DUARTE, R. M. R.; NASCIMENTO, E. M. M.; COLOMBO, S.; SANTOS, F. C. P.; LEITE, R. M.; KATZ, G.; SILVA, L. J. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.3, 345-347, 2012.

ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.31, n.4, 759-845, 1936.

ARAGÃO, H. B.; FONSECA, F. Notas de Ixodologia IX: O complexo ovale do gênero *Amblyomma*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.59, n. 2, 1961.

ARZUA, M.; SILVA, M. A. N.; FAMADAS, K. M.; BEATI, L; BARROS-BATTESTI, D. M. *Amblyomma aureolatum* and *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) on birds in southern Brazil, with notes on their ecology. **Experimental and Applied Acarology**, v.31, 283-296, 2003.

BALASHOV, Y. Importance of Continental Drift in the Distribution and Evolution of Ixodid Ticks. **Entomological Review**, v.73, 42-50, 1993.

BARROS-BATTESTI, D. M. **Estudos de Carrapatos e Pequenos Mamíferos Silvestres naturalmente infectados com Espiroquetas semelhantes a Borrelia, no Município de Itapevi, Estado de São Paulo**. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

BARROS-BATTESTI, D. M. Introdução. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, A.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical – Um Guia Ilustrado para Identificação de espécies**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p.1, 2006.

BLACK, W.; PIESMAN, J. Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. **Proc. Natl. Acad. Sci USA**. v.91, 10034-10038, 1994.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6ª ed Brasília, p330 e 332, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 7ª ed Brasília, p 143, 2008.

Brites-Neto, J.; Nieri-Bastos, F. A.; Brasil, J.; Duarte, K. M. R.; Martins, T. F.; Veríssimo, C. J.; Barbieri, A. R. M.; Labruna, M. B. Environmental infestation and rickettsial infection in ticks in an area endemic for Brazilian spotted fever. **Rev. Bras. Parasitol. Vet**, Jaboticabal, v.22, n.3, 367-372, jul-set, 2013.

Brooks, G. F.; Carroll, K. C. Riquetsioses e Ehrlichioses. In: Brooks et al. **Microbiologia Médica**. 25ª ed. Porto Alegre: AMGH, 2012, cap 26, pg 320 E 322.

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

Bush, A. O.; Lafferty, K. D.; Lotz, J. M.; Shostak, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **J. Parasitol.** v.83, n. 4, p 575-83, 1997.

Cooksey, L. M.; Haile, D. G.; Mount, G. A. Computer Simulation of Rocky Mountain Spotted Fever Transmission by the American dog tick (Acari:Ixodidae). **J. Med. Entomol**, v. 27, 671-680, 1990.

Costa, F. **Soroepidemiologia e epidemiologia molecular das infecções por Rickettsia spp em cães e carrapatos de ambientes urbano e rural do Estado do Maranhão**. Tese (Doutorado em ciências). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

Cunha, N. C.; Fonseca, A. H.; Rezende, J.; Rozental, T.; Favacho, A. R. M.; Barreira, J. D.; Massard, C. L. Lemos, E. R. S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. **Pesq. Vet. Bras**, v.29, n.2, 105-108, fevereiro, 2009.

Dantas-Torres, F.; Figueredo, L. A.; Brandão-Filho, S. P.; *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.1, 64-67, 2006.

Del Fiol, F. S.; Junqueira, F. M.; Rocha, M. C. P. Toledo, M. I.; Barberato Filho, S. A febre maculosa no Brasil. **Rev. Panam. Salud Publica**, v.27, n.6, 461-466, 2010.

Denison, A. M.; Amin, B. D.; Nicholson, W. L.; Paddock, C. D. Detection of *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri* and *Rickettsia akari* in Skin Biopsy Specimens Using a Multiplex Real-time Polymerase Chain Reaction Assay. **Clinical Infectious Diseases**, v.59, setembro, 2014.

DEMMA, L. J.; TRAEGER, M. S.; NICHOLSON, W. L.; PADDOCK, C. D.; BLAU, D. M.; EREMEEVA, M. A.; DASCH, G. A.; LEVIN, M. L.; SINGLETON, J.; ZAKI, S. R.; CHEEK, J. E.; SWERDLOW, D. L.; MCQUISTON, J. H. Rocky Mountain Spotted Fever from an Unexpected Tick Vector in Arizona. **N. Eng. J. Med**, v. 353, n.6, 587-594, Agosto, 2005.

DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted fever in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.19, 103-108, 1939.

FORTES, F. S.; BIONDO, A. W. MOLENTO, M. B. Febre maculosa brasileira em cães. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n.1, 339-354, jan-mar, 2011.

FREITAS, S. R.; HAWBAKER, T. J.; METZGER, J. P. Effects of roads, topography, and land use on forest cover dynamics in the Brazilian Atlantic Forest. **Forest Ecology and Management**, v.259, 410-417, 2009.

FRIGERI, E. **Invasion by domestic dogs (*Canis lupus familiaris*) in the Atlantic Forest: effects of habitat lost and agriculture intensification**. Dissertação (Mestrado em ciências)- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA. Disponível em <<http://www.sosma.org.br>> Acesso em: 15 dez 2014.

GALVÃO, M. A. M.; DUMLER, J. S.; MAFRA, C. L.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; CESARINO-FILHO, G.; OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Fatal Spotted Fever Rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.9, n.11, 1402-1405, novembro, 2003.

GATTI, A.; BIANCHI, R.; ROSA, C. R. X.; MENDES, S. L. Diet of two sympatric carnivores, *Cerdocyon thous* and *Procyon cancrivorus*, in a restinga area of Espírito Santo State, Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, v.22, 227-230, 2006.

GIMÉNEZ, D. F. Staining *Rickettsiae* in yolk-sac cultures. **Stain Technology**, v.39, n.3, 135-140, 1964.

GOMES, L. S. Thyfo exanthematico de São Paulo. **Brasil Médico**, v. 17, n. 52, 919-921, 1933.

GRAY, J.; DANTAS-TORRES, F.; ESTRADA-PEÑA, A.; LEVIN, M. Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. **Tick and Tick-borne Diseases**, v.4, 171-180, 2013.

GRASPERGE, B. J.; WOLFSON, W.; MACALUSO, K. R. *Rickettsia parkeri* Infection in Domestic Dogs, Southern Louisiana, USA, 2011. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n.6, junho, 2012.

GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M. C. A.; PACHECO, R. C.; WALKER, D. H.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia Rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Mem. Int. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, 841-845, dezembro, 2005.

GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PACHECO, R. C.; SILVEIRA, I.; LABRUNA, M. B. Rickettsia species infecting *Amblyomma* ticks from an área endemic for Brazilian spotted fever in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet**, Jaboticabal, v. 20, n. 4, p 308-311, out-dez, 2011.

GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A. J.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; MAARTINS, J. R.; VENZAL, J. M.; ARZUA, M. KEIRANS, J. E. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**, v.113, 273-288, 2003.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, J. R.; GONZÁLES-ACUÑA, D. ; ESTRADA-PEÑA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Exp. Appl. Acarol.** V.40, 83-100, 2006.

HIDALGO, M.; FACCINI-MARTINEZ, A. A.; VALBUENA, G. Rickettsiosis transmitidas por garrapatas em las Américas: avances clínicos y epidemiológicos, y retos en el diagnóstico. **Biomédica** v. 33 (supl. 1), 161-78, 2013.

HILL, J. K.; GRAY, M. A.; KHEN, C. V.; BENEDICK, S.; TAWATAO, N.; HAMER, K. C. Ecological impacts of tropical forest fragmentation: how consistent are patterns in species richness and nestedness?. **Phil. Trans. R. Soc. B.** v.366, 3265-3276, 2011.

HOOGTRAAL, H E AESHLIMANN, A. Tick-host Specificity. **Bulletin de la Société Entomologique Suisse**, v. 55, 5-32, 1982.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 7, 793-801, 2007.

HORTA, M. C.; MORAES-FILHO, J.; CASAGRANDE, R. A.; SAITO, T. B.; ROSA, S. C.; OGRZWALSKA, M.; MATUSHIMA, E. R.; LABRUNA, M. B. Experimental Infection of the Opossum *Didelphis aurita* by *Rickettsia felis*, *Rickettsia belli* and *Rickettsia parkeri* and Evaluation of the Transmission of the Infection to Ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.10, n.10, p 959-967, 2010.

JOHNSON, P. T. J.; THIELTGES, D. W. Diversity, decoys and the dilution effect: how ecological communities affect disease risk. **The Journal of Experimental Biology**, v. 213, 961-970, 2010.

JUAREZ, K. M.; MARINHO-FILHO, J. Diet, Habitat use, and Home ranges of Sympatric Canids in Central Brazil. **Journal of Mammalogy**, v.83, n.4, 925-933, 2002.

KLONPEN, J. S. H.; BLACK, W. C.; KEIRANS, J. E.; OLIVER, J. H. Evolution of ticks. **Annu. Rev. Entomol**, v.41, 141-161, 1996.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J.; CAMARGO, L.M.; CAMARGO E. P.; POPOV, V. WALKER, D. H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **J. Med. Entomol**, v. 41, n. 6, 1073-1081, novembro, 2004a.

LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; BOUYER, D. H.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Molecular Evidence for a Spotted Fever Group *Rickettsia* Species in the Tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.41, n.3, 533-537, 2004b.

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

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brasil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, 169-174, 2005.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A.; JACOMO, A. H. T. A.; KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; FERRO, C.; PEREZ, S. A.; SILVEIRA, L.; SANTOS JR, T. S.; MARQUES, S. R.; MORATO, R. G.; NAVA, A.; ADANIA, C. H.; TEIXEIRA, R. H. F.; GOMES, A. A. B.; CONFORTI, V. A.; AZEVEDO, F. C. C.; PRADA, C. S.; SILVA, J. C. R. BATISTA, A. F.; MARVULO, M. F. V.; MORATO, R. L. G.; ALHO, C. J. R.; PINTER, A.; PATRICIA, M. F.; FERREIRA, F.; BARROS-BATTESTI, D. M. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, 149-163, 2005b.

LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z. Agentes transmitidos por carrapatos na região Neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, A.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical – Um Guia Ilustrado para Identificação de espécies**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p.155. cp 10, 2006.

LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; RICHTZENHAIN, L. J.; SZABÓ, M. P. J. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* Ticks in the State of São Paulo, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v.73, n.3, 869-873, fevereiro, 2007.

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

LABRUNA, M. B. Ecology of Rickettsia in South America. **Ann. N.Y. Acad. Sci**, 1166, 156-166, 2009a.

LABRUNA, M. B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M. C.; PACHECO, R. C. Rocky Mountain Spotted Fever in Dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, CDC, v.15, n.3, mar, 2009b.

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

LABRUNA, M. B.; MATTAR, S.; NAVA, S.; BERMUDEZ, S.; VENZAL, J. M.; DOLTZ, G.; ABARCA, K.; ROMERO, L.; SOUSA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO, J. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, v.16, n.2, mai-ago, 2011.

LABRUNA, M. B.; SANTOS, F. C. P.; OGRZEWALSKA, M.; NASCIMENTO, E. M. M.; COLOMBO, S.; MARCILI, A.; ANGERAMI, R. N. Genetic Identification of Rickettsial Isolates from Fatal Cases of Brazilian Spotted Fever and Comparison with *Rickettsia rickettsii* Isolates from the American Continents. **Journal of Clinical Microbiology**, v.52, n.10, 3788-3791, out, 2014.

LACERDA, A. C. R.; TOMAS, W. M.; MARINHO-FILHO, J. Domestic dogs as an edge effect in the Brasília National Park, Brazil: interactions with native mammals. **Animal Conservation**, v.12, 477-487, 2009

LAVINA, M. S.; SOUZA, A. P.; SOUZA, J. C.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; MOURA, A. B. Ocorrência de *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) e *A. ovale* (Kock, 1844) (Acari: Ixodidae) parasitando *Alouatta clamitans* Cabrera, 1940 (Primates: Atelidae) na região norte do estado de Santa Catarina. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.63, n.1, 266-269, 2011.

LEMOs MONTEIRO, J. Typho Endemico de S. Paulo: Comportamento experimental do vírus. **Brasil Medico**, novembro, 1109-1113, 1931.

LEMOs MONTEIRO, J.; FONSECA, F.; PRADO, A. Typho Endemico de São Paulo: Pesquisa sobre a possibilidade da transmissão experimental do vírus por *Ixodidae*. **Brasil Medico**, Rio de Janeiro, v.16, n.3, 49-52, 1932.

LEMOs MONTEIRO, J.; FONSECA, F.; PRADO, A. Typho Exanthematico de S. Paulo: Pesquisa do vírus em alguns arthropodos sob condições naturais. **Brasil Medico**, v.16, n.8, 169-172, fevereiro, 1932a.

LEMOS MONTEIRO, J. Vaccina contra o “typho exanthemático” de S. Paulo: Novas correlações entre esta infecção e a febre maculosa das Montanhas Rochosas. **Brasil Medico**, 11-20, 1933.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A. M; CHAGAS, N. Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: Serological survey of dogs and horses in an endemic area in the State of São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop**, v.38, n.6, 1996.

LEVINSON, W. Riquetsias. In: LEVINSON, W. **Microbiologia Médica e Imunologia**. 10ª ed. Porto Alegre, 2010, cap 26.

LIRA, P. K. ;TAMBOSI, L.; EWERS, R. M.; METZGER, J. P. Land-use and land-cover change in Atlantic Forest landscapes. **Forest Ecology and Management**, v.278, 80-89, 2012.

MAGALHÃES, O. Contribuição para o conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.54, n.1, 279-308, maio, 1957.

MARRELLI, M. T.; SOUZA, L. F.; MARQUES, R. C.; LABRUNA, M. B.; MATIOLI, R. S.; TONON, A. P.; RIBOLLA, P. E. M.; SCHUMAKER, T. T. S. Taxonomic and Phylogenetic Relationships Between Neotropical Species of Ticks from Genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) Inferred from Second Internal Transcribed Spacer Sequences of Rdna. **Journal of Medical Entomology**, v.44, n.2, 222-228, 2007.

MARTINEZ, M. B; TRABULSI, L. R. Bactérias Patogênicas. In: TRABULSI, L. R; ALTERTHUM. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, cp 59, 445-446, 2010.

MCCALLUM, H. Landscape Structure, Disturbance, and Disease Dynamics. In: OSTFELD, R. S.; KESSING, F.; EVINER, V. T. Infectious Disease Ecology: Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems. **Princeton University Press**, cap 5, 2008.

MCDADE, J. E.; NEWHOUSE, V. F. Natural History of *Rickettsia rickettsii*. **Ann. Rev. Microbiol**, v.40, 287-309, 1986.

MEDEIROS, A. P.; SOUZA, A. P.; MOURA, A. B.; LAVINA, M. S.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; NIERI-BASTOS, F. A.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n.8, 926-930, dezembro, 2011.

MEDINA, G. F.; VIEIRA, M. V. Conectividade funcional e a importância da interação organismo-paisagem. **Oecol. Bras**. V.11, n.4, 493-502, 2007.

MELLES, H. H. B.; COLOMBO, S.; SILVA, M. V. Febre Maculosa: Isolamento de *Rickettsia* em amostra de biópsia de pele. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v. 34, n.1, 37-41, jan-fev, 1992.

MICHALSKI, F.; CRAWSHAW, P. G.; OLIVEIRA, T. G.; FABIÁN, M. E. Notes on home range and habitat use of three small carnivore species in a disturbed vegetation mosaic of southeastern Brazil. **Mammalia**, 52-57, 2006.

MICHALSKI, F.; PERES, C. A. Disturbance-Mediated Mammal Persistence and Abundance-Area Relationships in Amazonian Forest Fragments. **Conservation Biology**, v.21, n.6, 1626-1640, 2007.

MILAGRES, B. S.; PADILHA, A. F.; BARCELOS, R. M.; GOMES, G. G.; MONTANDON, C. E.; PENA, D. C. H.; NIERI-BASTOS, F. A.; SILVEIRA, I.; PACHECO, R.; LABRUNA, M. B.; BOUYER, D. H.; FREITAS, R. N.; WALKER, D. H.; MAFRA, C. L.; GALVÃO, M. A. M. *Rickettsia* in Synanthropic and Domestic Animals and Their Hosts from Two Areas of Low Endemicity for Brazilian Spotted Fever in the Eastern Region of Minas Gerais, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v. 83, n.6, 1305-1307, 2010.

MILLER, E.; RUPPERT, A.; The effects of host diversity on vector-borne disease: The conditions under which diversity will amplify or dilute the disease risk. **PlosOne**, v. 8, 2013.

MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; GUTMANN, T. B. BARBOSA, S. O.; GONZÁLES, 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-Bourne and Zoonotic Diseases**, v. 9, n.1, 2009.

NASCIMENTO, E. M. M.; GEHRKE, F. S.; MALDONADO, R. A.; COLOMBO, S.; SILVA, L. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Detection of Brazilian spotted fever infection by polymerase chain reaction in a patient from the state of São Paulo. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n.3, 277-279, maio, 2005.

NAVA, S; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. An overview of systematics and evolution of ticks. **Frontiers on Bioscience**, v.14, 2857-2877, janeiro, 2009.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, A. G.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. And *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Tick and Tick-borne Diseases**, v.5, 252-276, 2014.

OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; JENKINS, C. N.; LABRUNA, M. B. Effect of Forest Fragmentation on Tick Infestations of Birds and Tick Infection Rates by *Rickettsia* in the Atlantic Forest of Brazil. **EcoHealth**, v.8, 320-331, 2011.

OGRZEWALSKA, M.; SARAIVA, D. G.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T. F.; COSTA, F. B.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, 1283-1300, 2012.

OLIVEIRA, K. A.; PINTER, A.; SANCHEZ, A. M.; BOPPANA, V. D.; WIKWL, S. K.; SAITO, T. B.; SHELITE, T.; BLANTON, L.; POPOV, V.; TEEL, P. D.; WALKER, D. H.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C.; BOUYER, D. H. *Amblyomma imitator* Ticks as Vectors of *Rickettsia Richettsii*, Mexico. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n. 8, Agosto, 2010.

ONOFRIO, V. C.; VENZAL, J. M.; PINTER, A.; SZABÓ, M. P. J. Família Ixodidae: características gerais, comentários e chaves para gêneros. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. D. **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical – Um Guia Ilustrado para Identificação de espécies**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p.35, 2006.

ONOFRIO, V. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; GIACOMIN, F. G.; BARROS-BATTESTI, G. M. Comentários e chaves para espécies do gênero *Amblyomma*. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. D. **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical – Um Guia Ilustrado para Identificação de espécies**. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, p.60-71, 2006.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. Effects of Host Diversity on Infectious Disease. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 43, 157-182, 2012.

OTOMURA, F. H.; SANGIONI, L. A.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; GALHARDO, J. A.; RIBEIRO, M. G.; TEODORO, U. Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Estado do Paraná, Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v. 62, n.3, 761-764, 2010.

PACHECO, R. C.; ARZUA, M.; NIERI-BASTOS, F.A.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A.; RICHTZENHAIN, L. J.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M.B. Rickettsial Infection in Ticks (Acari: Ixodidae) Collected on Birds in Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**. v.49, n.3, 710-716, 2012.

PADDOCK, C. D.; FERNANDEZ, S.; ECHENIQUE, G. A.; SUMNER, J. W.; REEVES, W. K.; ZAKI, S. R.; REMONDEGUI, C. E. Rocky Mountain Spotted Fever in Argentina. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 78, n.4, 687-692, 2008.

PARDINI, R.; SOUZA, S. M.; BRAGA-NETO, R.; METZGER, J. P. The role of forest structure, fragment size and corridors in maintaining small mammal abundance and diversity in an Atlantic forest landscape. **Biological Conservation**, v.124, 253-266, 2005.

PARDINI, R.; FARIA, D.; ACCACIO, G. M.; LAPS, R. R.; MARIANO-NETO, E.; PACIENCIA, M. L. B.; DIXO, M.; BAUMGARTEM, J. The challenge of maintaining Atlantic forest biodiversity: A multi-taxa conservation assessment of specialist and

generalist species in an agro-forestry mosaic in southern Bahia. **Biological Conservation**, v.142, 1178-1190, 2009.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D; SOCOLOVSKI, C.; LABRUNA, M. B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M. Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P. E.; RAOULT, D. Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a Geographic Approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, n.4, outubro, 2013.

PESSOA, S. B. Febre maculosa. **Ann. Paulistas de Medicina e Cirurgia**, v.71, n.5, maio, 1956.

PINTER, A.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B.; Study of the Seasonal Dynamics, Life Cycle, and Host Specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.41, n.3, maio, 2004.

PINTER, A; LABRUNA, M. B.; Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in Cell Culture from the Tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Ann. N. Y. Acad. Sci**, v.1078, 523-529, 2006.

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

PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L. H.; PINTER, A; SAITO, T. B; PACHECO, R. C.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 103, n.7, 696-701, 2008.

PIRANDA, E. M. Experimental Infection of *Rhipicephalus sanguineus* Ticks with the Bacterium *Rickettsia rickettsia* Using Experimentally Infected Dogs. **Vector-borne and Zoonotic Diseases**. v.11, n.1, 2011.

PIZA, J. T.; MEYER, J. R.; GOMES, L. S. **Typho Exanthematico de São Paulo**. São Paulo, 1932.

RANDOLPH, S. E. Ticks are not insects: Consequences of contrasting vector biology for transmission potential. **Parasitology today**, v. 14, 186-192, 1998.

REED, R. A.; JOHNSON-BARNARS, J., BAKER, W. L. Fragmentation of a forested Rocky Mountain landscape, 1950-1993. **Biological Conservation**, v.75, 267-277, 1996.

REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v.173, n. 5, 1576-1589, 1991.

REISEN, W.K. Landscape Epidemiology of Vector-Borne Diseases. **Annu. Rev. Entomol**, v.55, 461-483, 2010.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v.142, 1141-1153, 2009.

RICKETTS, H. T. Some Aspects of Rocky Mountain Spotted Fever as Shown by Recent Investigations. **Medical Record**, v.76, 843-855, 1909.

RODRIGUES, D. S; CARVALHO, H. A.; FERNADES, A. A.; FREITAS, C. M. V.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Biology of *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: Ixodidae) on Some Laboratory Hosts in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n.6, 853-856, setembro, 2002.

SAITO, T. B.; CUNHA-FILHO, N. A.; PACHECO, R. C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F. G.; FARIAS, N. A. R.; LARSSON, C. E.; LABRUNA, M. B. Canine Infection by *Rickettsiae* and *Ehrlichiae* in Southern Brazil . **Am. J. Trop. Med. Hyg**, v.79, n.1, 102-108, 2008.

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

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. H.; 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. **Emerging Infectious Diseases**, v.11, n.2, 2005.

SÃO PAULO. Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof Alexandre Vranjac”. **Febre Maculosa – Informe Técnico II**, p 2, 9, 2004.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Controle de Endemias. **Manual de Vigilância Acarológica**. São Paulo, 2004a.

SÃO PAULO. Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Centro de Vigilância Epidemiológica “Prof Alexandre Vranjac”. **Dados estatísticos- Febre Maculosa**. Disponível em < http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/fmaculosa_dados.html> Acesso em: 04 dez 2014.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado da Saúde. Febre Maculosa Brasileira. **Boletim Epidemiológico Paulista**. v. 8, n.1, outubro, 2011.

SARAIVA, D. G.; SOARES, H. S.; SOARES, J. F.; LABRUNA, M. B. Feeding period required by *Amblyomma aureolatum* ticks for transmission of *Rickettsia rickettsii* to vertebrate hosts. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 9, 2014.

SEADE. Sistema Estadual de Análise de Dados. **Perfil da Região Metropolitana de São Paulo**. São Paulo, 2014. Disponível em http://produtos.seade.gov.br/produtos/perfil_regional/index.php. Acesso em : 18 abr 2015.

SILVA, M. E.; RIBEIRO, R. R.; COSTA, J. O.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B. Prevalência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. em cães da cidade de Belo Horizonte, MG. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.62, n.4, 1007-1010, 2010.

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

SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; SZABÓ, M. P. J.; RAMOS, H. G. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, n.7, 1111-1113, julho, 2007.

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

SRBEK-ARAUJO, A. C.; CHIARELLO, A.G. Domestic dogs in Atlantic forest preserves of south-eastern Brazil: a camera-trapping study on patterns of entrance and site occupancy rates. **Braz. J. Biol.**, v.68, n.4, 2008.

STEVENS, S. M.; HUSBAND, T. P. The influence of edge on small mammals: evidence from Brazilian Atlantic forest fragments. **Biological Conservation**, v.85, 1-8, 1998.

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

SZABÓ, M. P. J.; LABRUNA, M. B.; CASTAGNOLLI, K. C.; GARCIA, M. V.; PINTER, A.; VERONEZ, V. A.; MAGALHÃES, G. M.; CASTRO, M. B.; VOGLIOTTI, A. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in an Atlantic rainforest reserve of Southeastern Brazil with notes on host suitability. **Exp. Appl. Acarol.** v.39, 339-346, 2006.

SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.3, julho, 2013a.

SZABÓ, M. P. J.; NIERI-BASTOS, F. A.; SPOLIDORIO, M. G.; MARTINS, T. F.; BARBIERI, A. M.; LABRUNA, M. B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v.140, 719- 728, 2013b.

TABARELLI, M.; AGUIAR, A. V.; RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; PERES, C. A. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: Lessons from aging human-modified landscapes. **Biological Conservation**, v. 143, 2328-2340, 2010.

TAMEKUNI, K.; TOLEDO, R. S.; SILVA FILHO, M. F.; HAYDU, V. B.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; DUMLER, J. S.; VIDOTTO, O. Survey of rickettsiae, in humans, dogs, horses and ticks in Northern Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.32, n.4, 1527-1538, out-dez, 2011.

TOLEDO, R. S.; TAMEKUNI, K.; SILVA-FILHO, M. F.; HAYDU, V. B.; BARBIERI, A. R. M.; HILTEL, A. C.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; DUMLER, J. S.; VIDOTTO, O. Infection by Spotted Fever *Rickettsiae* in People, Dogs, Horses and Ticks in Londrina, Parana State, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 58, 416-423, 2011.

TORRES, P. C.; PRADO, P. I. Domestic dogs in a fragmented landscape in the Brazilian Atlantic Forest: abundance, habitat use and caring by owners. **Braz. J. Biol**, v.70, n.4, 987-994, 2010.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE C. L. The Prokaryotes: Domains Bacteria and Archaea. In: **Microbiology: an introduction**. 11^a ed. Glenview: Pearson, 2012, cap 11, pg 300 e 304.

TRAVASSOS, J.; DIAS, E. Identidade imunológica do vírus de Minas Gerais, São Paulo e das Montanhas Rochosas. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, 1939.

VALBUENA, G. Patogénesis de las infecciones producidas por rickettsias em las Americas. **Rev. MVZ**, Córdoba, v.15, n. 1: 2004-2006, 2010.

VALLEJO-FREIRE, A.; BRUNNER JR, A. Rickettsemia Experimental da Febre Maculosa do Brasil. **Mem. Inst. Butantan**, v.31, 201-206, 1964.

APÊNDICES

Apêndice 1. Questionário para coleta de dados dos cães selecionados para o presente estudo.

FICHA DE COLETA DE DADOS					
DATA			CÓDIGO DO ANIMAL		
			ÁREA		Nº de coleta
Nome do animal:		Idade		sexo	
Tempo na área					
Nome do proprietário					
Endereço					
Telefone de contato					
Dados GPS					
Dados adicionais					

Apêndice 2. Cães positivos na reação de imunofluorescência indireta para os antígenos de *Rickettsia* testados e seu provável antígeno homólogo.

Títulos de cães reagentes para antígenos de <i>Rickettsia</i>				
Soro	Área	<i>R. rickettsii</i>	<i>R. parkeri</i>	PAH (Provável antígeno homólogo)
0601	Santo André	512	256	-
0609	Santo André	256	256	-
0611	Santo André	4096	1024	<i>R. rickettsii</i>
0612	Santo André	1024	256	<i>R. rickettsii</i>
0615	Santo André	512	128	<i>R. rickettsii</i>
0616	Santo André	64	64	-
0619	Santo André	256	256	-
0623	Santo André	8192	2048	<i>R. rickettsii</i>
0624	Santo André	128	128	-
0627	Santo André	1024	256	<i>R. rickettsii</i>
0628	Santo André	512	512	-
0320	Paranapiacaba	128	256	-
0703	Diadema	256	256	-
0704	Diadema	256	128	-
0710	Diadema	128	-	<i>R. rickettsii</i>
0711	Diadema	256	-	<i>R. rickettsii</i>
0714	Diadema	128	-	<i>R. rickettsii</i>
0721	Diadema	64	-	-
0803	Ribeirão Pires	128	128	-
0806	Ribeirão Pires	128	64	-
0901	São Paulo	128	-	<i>R. rickettsii</i>
0911	São Paulo	256	-	<i>R. rickettsii</i>
0915	São Paulo	1024	128	<i>R. rickettsii</i>
0929	São Paulo	256	64	<i>R. rickettsii</i>

Apêndice 3. Documento de aprovação do Comitê de Ética Animal.

A **CEUA** da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 17/07/2014, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **103/14** intitulado: “Avaliação soroepidemiológica de animais sentinelas para Febre Maculosa Brasileira e correlação com a fragmentação vegetal na periferia sul da região Metropolitana da cidade de São Paulo” que utilizará **270** animais da espécie **cães domiciliados**, apresentado pela Faculdade de Saúde Pública – USP e SUCEN

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, o relatório final sobre a pesquisa, (Lei Procedimentos para o Uso Científico de Animais - Lei Nº 11.794 -8 de outubro de 2008) **e cópia de todos os TCLE assinados pelos proprietários dos cães.**

Pesquisador (a) Responsável: Adriano Pinter dos Santos

Pesquisador (a) Executante: Claudia Araujo Scinachi

CEUA-FMUSP, 17 de Julho de 2014.

Dr. Eduardo Pompeu
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais

Comissão de Ética no Uso de Animais da FMUSP

e-mail: ceua.fm@usp.br

Amblyomma aureolatum (Aragão e Fonseca, 1961)

CURRÍCULO LATTES

Claudia Araujo Scinachi

- Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/7280074272873900>
- Última atualização do currículo em 04/03/2015

Possui graduação em Medicina Veterinária pelo Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas (2010). Realizou estágio em bioecologia de *Lutzomyia Longipalpis*, vetor da Leishmaniose Visceral Americana, na Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN). Participou de pesquisa de campo com uso de feromônio sintético para controle de *Lutzomyia Longipalpis*. Concluiu o Programa de Aprimoramento Profissional FUNDAP/SES/PAP, na área de Entomologia Médica e Soroepidemiologia pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, onde realizou estudos em biologia, ecologia e comportamento de insetos vetores de agentes infecciosos e epidemiologia das doenças transmitidas por vetores. Atualmente é mestranda do programa de pós-graduação em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública/USP. Tem interesse pela área de Saúde Pública com ênfase em antropozoonoses e doenças transmitidas por vetores. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome

Claudia Araujo Scinachi

Nome em citações bibliográficas

SCINACHI, C. A

Formação acadêmica/titulação

2013

Mestrado em andamento em Saúde Pública.

Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Orientador: Adriano Pinter.

Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

2012 - 2013

Aperfeiçoamento em Entomologia Médica e Soroepidemiologia. (Carga Horária: 2000h).

Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Título: Espécies de formas imaturas (Diptera: Culicidae) capturadas em 32 parques municipais da cidade de São Paulo.

Ano de finalização: 2013.

Orientador: Mauro Toledo Marrelli.

Bolsista do(a): Fundação de Desenvolvimento Administrativo.

2006 - 2010

Graduação em Medicina Veterinária.

Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, FMU, Brasil.

Título: Aspectos Técnicos Operacionais da Vigilância Epidemiológica na Investigação de Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos.

Orientador: Paula Andrea de Santis Bastos.

Adriano Pinter dos Santos

- Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/8887336916442663>
- Última atualização do currículo em 23/02/2015

Possui graduação em Medicina Veterinária e Zootecnia pela Universidade de São Paulo (2000), mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada Às Zoonoses pela Universidade de São Paulo (2003) e doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada Às Zoonoses pela Universidade de São Paulo (2007). Atualmente é pesquisador científico V da Superintendência de Controle de Endemias. Tem experiência na área de Parasitologia, com ênfase em ixodideologia e epidemiologia da febre maculosa brasileira, atuando principalmente nos seguintes temas: amblyomma cajennense, amblyomma aureolatum, rickettsia rickettsii, biologia molecular e ecologia de doenças transmitidas por carrapatos (**Texto informado pelo autor**)

Identificação

Nome: Adriano Pinter dos Santos

Nome em citações bibliográficas: PINTER, ADRIANO;PINTER, A.

Endereço

Endereço Profissional

Superintendência de Controle de Endemias, Superintendência, Departamento de Laboratórios Especializados.
Av Paula Souza, 166
Centro
01027-000 - Sao Paulo, SP - Brasil
Telefone: (11) 33111177
Fax: (11) 33111194
URL da Homepage: <http://www.sucen.sp.gov.br>

Formação acadêmica/titulação

2003 - 2007

Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada Às Zoonoses (Conceito CAPES 6).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Aspectos Ecológicos da Febre Maculosa em uma área endêmica do Estado de São Paulo., Ano de obtenção: 2007.
Orientador: Marcelo Bahia Labruna.
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
Palavras-chave: Amblyomma aureolatum; cão; Febre Maculosa; rickettsia rickettsii; Mogi das Cruzes; Pyriglena.
Grande área: Ciências Biológicas / Área: Parasitologia / Subárea: Entomologia e Malacologia de Parasitos e Vetores.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Epidemiologia.
Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Saúde Coletiva / Subárea: Saúde Pública.
Setores de atividade: Cuidado À Saúde das Populações Humanas.

2001 - 2003

Mestrado em Epidemiologia Experimental Aplicada Às Zoonoses (Conceito CAPES 6).
Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
Título: Aspectos epidemiológicos da febre maculosa em um área endêmica do município de Mogi das Cruzes (SP) e estudo em laboratório do ciclo de vida do vetor Amblyomma aureolatum (Acari:Ixodidae), Ano de Obtenção: 2003.
Orientador: Marcelo Bahia Labruna.