

INVESTIGAÇÃO DE INFECÇÃO POR *Rickettsia* spp. EM CARRAPATOS COLHIDOS EM FRAGMENTOS DE MATA URBANA COM PRESENÇA DE CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) NO MUNICÍPIO DE DOURADOS - MS

Amanda Emilia Moraes de Freitas¹
Cidiane Flexa Meira¹
Namor Pinheiro Zimmermann²
Natália da Silva Sunada³
Gisele Aparecida Felix³

RESUMO

A febre maculosa é uma doença que vem se destacando dentro das patologias que acometem seres humanos, sendo esta causada pela bactéria do gênero *Rickettsia* cujo principal vetor são os carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. As capivaras têm sido associadas ao ciclo dessa riquetsiose por serem hospedeiras naturais destes parasitas e desta forma constituem os vetores da doença. As capivaras são amplamente encontradas no território urbano da cidade de Dourados – MS. Diante disso, o presente estudo foi realizado com o objetivo de detectar o DNA de bactérias do gênero *Rickettsia rickettsii* em carrapatos presentes no ambiente. Os carrapatos foram coletados por meio de armadilhas de CO₂ e pano de arraste no parque urbano Arnulpho Fioravanti, em Dourados - MS, local de elevado fluxo de pessoas e morada de capivaras. Nesse estudo realizou-se a identificação da espécie e estágio de vida bem como a detecção do DNA de bactérias do gênero *Rickettsia* por meio do teste de hemolinfa e da reação em cadeia da polimerase (PCR). Nos carrapatos coletados, independentemente da espécie, *Amblyomma sculptum* (58) e *Amblyomma dubitatum* (25), não foi detectado o DNA das bactérias do gênero *Rickettsia*. Esses resultados indicam que os carrapatos coletados não são vetores para a febre maculosa brasileira e que as capivaras ali presentes provavelmente estariam sadias para conviver em ambiente urbano.

Palavras-chave: zoonoses; febre maculosa; *Amblyomma*.

***Rickettsia* spp. INFECTION RESEARCH IN TICKS HARVESTED IN URBAN FOREST FRAGMENTS WITH THE PRESENCE OF CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) IN THE MUNICIPALITY OF DOURADOS – MS**

ABSTRACT

Spotted fever is a disease that has been standing out among the pathologies that affect human beings, which is caused by bacteria of the genus *Rickettsia* whose main vector are ticks of the genus *Amblyomma* spp. Capybaras have been associated with the cycle of this rickettsiosis as they are natural hosts of these parasites and thus constitute the disease vectors. Capybaras are widely found in the urban territory of the city of Dourados – MS. Therefore, the present study was carried out with the aim of detecting the DNA of bacteria of the genus *Rickettsia rickettsii* in ticks present in the environment. The ticks were collected using CO₂ traps and a drag cloth in the urban park Arnulpho Fioravanti, in Dourados - MS, a place with a high flow of people and home to capybaras. In this study, the identification of the species and life stage

¹ Médica Veterinária. amandaemiliamf@hotmail.com

² Professor de Clínica e Cirurgia de Animais Silvestres do Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná - Câmpus Palotina. namorvet@gmail.com

³ Professora no curso de medicina veterinária do Centro Universitário da Grande Dourados – UNIGRAN. *Correspondência: natysunada@gmail.com

was carried out, as well as the detection of the DNA of bacteria of the genus *Rickettsia* through the hemolymph test and the polymerase chain reaction (PCR). In the ticks collected, regardless of the species, *Amblyomma sculptum* (58) and *Amblyomma dubitatum* (25), the DNA of bacteria of the genus *Rickettsia* was not detected. These results indicate that the ticks collected are not vectors for Brazilian spotted fever and that the capybaras present there would probably be healthy to live in an urban environment.

Key words: zoonoses; spotted fever; *Amblyomma*.

INVESTIGACIÓN DE INFECCIÓN POR *Rickettsia* spp. EN GARRAPATAS COSECHADAS EN FRAGMENTOS FORESTALES URBANOS CON PRESENCIA DE CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) EN EL MUNICIPIO DE DOURADOS - MS

RESUMEN

La fiebre maculosa es una enfermedad que se viene destacando entre las patologías que afectan al ser humano, la cual es causada por bacterias del género *Rickettsia* cuyo principal vector son las garrapatas del género *Amblyomma* spp. Los capibaras se han asociado con el ciclo de esta rickettsiosis, ya que son huéspedes naturales de estos parásitos y, por lo tanto, constituyen los vectores de la enfermedad. Los capibaras se encuentran ampliamente en el territorio urbano de la ciudad de Dourados - MS. Por tanto, el presente estudio se realizó con el objetivo de detectar el ADN de bacterias del género *Rickettsia rickettsii* en garrapatas presentes en el entorno del Parque Arnulpho Fioravanti. Las garrapatas se recolectaron mediante trampas de CO₂ y un paño de arrastre en el parque urbano Arnulpho Fioravanti, en Dourados - MS, un lugar con un alto flujo de personas y hogar de capibaras. En este estudio se llevó a cabo la identificación de la especie y etapa de vida, así como la detección del ADN de bacterias del género *Rickettsia* mediante a la prueba de hemolinfa e reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En las garrapatas recolectadas, independientemente de la especie, *Amblyomma sculptum* (58) y *Amblyomma dubitatum* (25), no se detectó ADN de bacterias del género *Rickettsia*. Estos resultados indican que las garrapatas recolectadas no son vectores de la fiebre maculosa brasileña y que los capibaras presentes allí probablemente serían saludables para vivir en un entorno urbano.

Palabras clave: zoonosis; fiebre maculosa; *Amblyomma*.

INTRODUÇÃO

Os carrapatos são ectoparasitas presentes em todo o mundo sendo a principal característica a hematofagia, parasitando todos os tipos de animais vertebrados (1). A maior importância destes artrópodes está relacionada ao grande número e variedade de doenças microbianas que eles podem transmitir aos animais domésticos e aos seres humanos (2).

Neste contexto o parque Arnulpho Fioravanti, em Dourados, Mato Grosso do Sul, causa preocupação para a saúde pública, já que abriga uma grande população de capivaras que vive tranquilamente sem predadores naturais. A referida apreensão diz respeito ao fato de que estes animais são potenciais hospedeiros de carrapatos do gênero *Amblyomma* comumente relacionado a doenças que são transmitidas aos seres humanos (3,4).

Os carrapatos do gênero *Amblyomma* (3,5,6) e mais especificamente da espécie *A. sculptum* (3), popularmente conhecido como carrapato-estrela, têm sido descritos em literatura parasitando capivaras, sendo essas definidas como hospedeiros amplificadores

naturais destes parasitas. A espécie *A. sculptum* ainda é designada como o vetor mais importante de bactérias como as riquetsias (3,4).

Uma riquetsiose de merecida preocupação é Febre Maculosa Brasileira (FMB) caracterizada por ser uma doença causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* transmitida aos seres humanos pela picada do carrapato infectado (1). A doença é caracterizada por febre, dor de cabeça, dores musculares, náuseas e vômitos. A partir do terceiro dia evolui para manifestações cutâneas com surgimento de manchas avermelhadas na pele, conhecidas como máculas (7), e que se não tratada pode levar a morte apresentando taxa de letalidade de 85% (8).

Diante disso o presente estudo foi realizado com o objetivo de detectar o DNA de bactérias do gênero *Rickettsia*, por meio da PCR, em carrapatos colhidos em parque urbano, Parque Florestal Arnulpho Fioravanti em Dourados, Mato Grosso do Sul, que possui número considerável de rebanhos de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) consideradas hospedeiros de predileção do parasita bem como por este ambiente ter elevado fluxo de pessoas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizadas colheitas de carrapatos no Parque Florestal Arnulpho Fioravanti, Dourados-MS, já que neste habitam um número representativo de capivaras que podem ser normalmente parasitadas por carrapatos e por este estar inserido em uma região do município estratégica por possibilitar acesso à rodoviária e centro comercial bem como por receber elevado número de visitantes.

O parque dispõe de uma área de 73 ha, estando localizado na região central da cidade, entre as coordenadas S 22° 14' 03,10" e W 54° 47' 47,52" e S 22° 13' 34,52" e W 54° 47' 11,12". A precipitação média anual varia de 1400 a 1700 mm, sendo novembro, dezembro e janeiro o trimestre mais chuvoso; a distribuição anual das chuvas tem comportamento similar ao da temperatura, com os meses mais frios (junho, julho e agosto) apresentando também os menores índices de precipitação. O clima da região é considerado de transição entre o tropical e o subtropical e segundo a classificação de Köppen é do tipo ar úmido com inverno seco, verão chuvoso.

No referido trabalho não houve captura, transporte ou manipulação dos animais silvestres, apenas a coleta dos carrapatos presentes no ambiente, sendo este experimento respaldado com a aprovação da Comissão de ética no uso de animais da UNIGRAN protocolo nº 014-17.

As coletas dos carrapatos de vida livre foram realizadas por meio de armadilhas de CO₂ e arraste de flanela. Para a execução da primeira forma de captura foram utilizadas dez armadilhas de CO₂, distribuídas ao longo da área de estudo, com campanhas mensais durante quatro meses (Fevereiro /2018 – Maio /2018) e um esforço amostral de 10 armadilhas durante o período de avaliação. Estas armadilhas consistiram de um tecido branco de aproximadamente 40x40cm com uma fita dupla face aderida em todo seu perímetro, distando 1 cm das bordas, e no centro foram colocados, aproximadamente, 400 gramas de gelo seco, que permitiu a emissão de CO₂ e assim a atração dos carrapatos presentes que ficaram aderidos à fita adesiva. A execução da técnica de arraste de flanela ocorreu em proximidade às áreas de montagem das armadilhas de CO₂, mas apenas em locais onde o tipo de vegetação permitiu um bom deslocamento para o arraste. Nesta efetuou-se o deslocamento, de aproximadamente 100 passos, de um tecido de algodão de cor clara medindo 1m de largura por 1,5m de comprimento sobre a vegetação, o que permitiu que os carrapatos presentes ficassem aderidos à flanela e posteriormente fossem recolhidos com auxílio de pinça.

Após cada campanha de captura dos carrapatos, estes foram armazenados em recipientes identificados para posterior análise em laboratório. Para tanto os carrapatos adultos capturados foram transferidos para frascos de vidro devidamente identificados contendo álcool 70° GL e em laboratório utilizando-se chave taxonômica apropriada procedeu-se a identificação (9). Já as larvas e ninfas foram colocadas vivas em frascos de acrílico e com tampa plástica perfurada para permitir aeração, e consecutivo acondicionamento em recipiente maior contendo umidade elevada estabelecida pela presença de algodão úmido para posterior identificação (10).

Uma porção das amostras foi depositada na Coleção de Carrapatos da Faculdade de Medicina Veterinária da Unigran, no laboratório de Doenças Infecciosas Parasitárias (DIP). Outra parte foi utilizada no pool de carrapatos empregados na extração dos DNAs por meio da técnica de isotocionato de guanidina. As amostras de DNA foram submetidas à técnica da reação em cadeia pela polimerase (PCR) utilizando-se os *primers CS78 e CS323*, que amplificam um fragmento de 401 pares de base (pb) do gene *citrato sintase (gltA)*, comum em todas as espécies de riquetsias. Quando positiva, a amostra de DNA foi testada para os *primers Rr190.70p e Rr190.602n*, com amplicon de 530pb do gene *ompA*, presente apenas em riquetsias do grupo febre maculosa (11).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Casos de infestações de carrapatos em seres humanos que visitam ambientes com presença de mata e mamíferos hospedeiros de carrapatos são amplamente relatados em literatura. Estes casos são comumente associados à presença de capivaras descritas como hospedeiros de predileção de carrapatos do gênero *Amblyomma* (3-6) que são vetores de bactérias como a *Rickettsia rickettsii* (3,4) causadora da FMB (1) endêmica no Brasil, principalmente na região Sudeste (1,5,6,8), mas já relatada também no Centro-Oeste (4,11,12).

Corroborando com a informação estão descritos na tabela 1 os resultados referentes à identificação taxonômica e espécies de carrapatos colhidos no Parque Florestal Arnulpho Fioravanti, Dourados - MS. Neste identificou-se a presença de duas espécies de carrapatos (*Amblyomma sculptum* e *Amblyomma dubitatum*) bem como duas fases de vida destes.

Tabela 1. Espécie, estágio de vida e quantidade de carrapatos recolhidos no Parque Florestal Arnulpho Fioravanti, Dourados – MS.

Larvas	Ninfas	<i>Amblyomma sculptum</i>		<i>Amblyomma dubitatum</i>	
		Fêmeas	Machos	Fêmeas	Machos
120	48	30	28	14	11

As duas espécies de carrapatos identificadas já foram descritas como vetores da doença da FMB quando infectados (3,4,11) mas apesar de estes estarem presentes no ambiente não foi possível a detecção de bactérias do gênero *Rickettsia spp*, no presente estudo.

Diferente deste resultado, em trabalho realizado no município de Campinas – SP, observou-se que 36% dos exemplares colhidos e analisados por teste de hemolinfa apresentavam resultado positivo para a bactéria enquanto que por PCR apenas 5,3% (5). Analisando este resultado, apresentado pelos autores do trabalho realizado em município paulista, para o teste de hemolinfa, esperava-se que houvesse um número representativo de resultados positivos pois já foi relatado o encontro de resultado falso positivo no referido teste; e quando submeteu-se a análise de PCR o mesmo não foi confirmado (12). Sabe-se que a PCR apresenta maior sensibilidade e especificidade quando comparada ao teste da hemolinfa (5,12).

Atribui-se uma possível causa da não detecção de bactérias do gênero *Rickettsia spp.* no presente trabalho devido a pequena quantidade de exemplares colhidos, 83, número este 95% inferior ao obtido em trabalho já conduzido em parque urbano em outra região brasileira, considerada como endêmica (5). É importante desta maneira salientar que possivelmente a amostragem da região não foi representativa frente a patologia no ambiente estudado já que a área não é definida como endêmica para a doença (4) e conseqüentemente haveria a necessidade de um maior número amostral.

Resultado oposto ao obtido no presente trabalho, e em região também considerada não endêmica para a doença, foi o observado em fragmento de mata nativa pertencente à Embrapa Gado de Corte de Campo Grande – MS. No trabalho efetuado pelos autores (12) houve a colheita de um número cerca de 37 vezes superior ao realizado na presente pesquisa. Este maior número de exemplares permitiu que os autores obtivessem maior representatividade da região e pudessem dessa maneira identificar na PCR resultado positivo para *Rickettsia spp.* gene *gltA* e *ompA* (12).

A não detecção do DNA de bactérias do gênero *Rickettsia spp.* não exclui a presença da doença da FMB, sendo de grande importância o monitoramento e controle dos parasitas carrapatos do gênero *Amblyomma*, por ter havido a captura destes no ambiente e se tratarem de vetores da doença. Deve-se ainda considerar que a região de coleta consistiu em parque habitado por capivaras, animal reconhecido como reservatório de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa (5), ser um ponto estratégico para a cidade pela proximidade à rodoviária municipal e comércio determinando desta maneira, elevada movimentação de pessoas e risco de disseminação da doença.

Portanto deve-se manter o monitoramento dos agentes da FMB pela presença de animais reservatórios e a de vetores no ambiente, aliado ao fluxo de pessoas no local a fim de evitar futuros casos de Febre Maculosa Brasileira no município de Dourados - MS.

CONCLUSÃO

Neste estudo não foi detectado o DNA de bactérias do gênero *Rickettsia*, por meio da PCR nos carrapatos de vida livre colhidos no Parque Florestal Arnulpho Fioravanti, Dourados – MS, onde há um grande número de capivaras.

REFERÊNCIAS

1. Pacheco RC, Horta MC, Pinter A, Moraes Filho J, Martins TF, Nardi MS, et al. Pesquisa de *Rickettsia spp.* em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42:351-3. doi: 10.1590/S0037-86822009000300023.
2. Bowman DD. GEORGIS parasitologia veterinária. 9a ed. Rio de Janeiro: Saunders Elsevier; 2010.
3. Fortes FS, Santos LC, Cubas ZS, Barros Filho IR, Biondo AW, Silveira I, et al. Anti-*Rickettsia spp.* antibodies in free-ranging and captive capybaras from southern Brazil. Pesqui Vet Bras. 2011;31(11):1014-8. doi: 10.1590/S0100-736X2011001100013.
4. Quadros APN, Rêgo GMS, Silva TF, Carvalho AM, Martins TF, Binder LC, et al. Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) exposure to *Rickettsia* in the Federal District of Brazil, a non-endemic area for Brazilian spotted fever. Braz J Vet Parasitol. 2021;30(2):1-11. doi: 10.1590/S1984-29612021035.

5. Estrada DA, Schumaker TTS, Souza CE, Rodrigues Neto EJ, Linhares AX. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39(1):68-71.
6. Souza SSAL, Souza CE, Rodrigues Neto EJ, Prado AP. Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para febre maculosa na região de Campinas, São Paulo, Brasil. Cienc Rural. 2006;36(3):887-91.
7. Barci LAG, Nogueira AHC. Febre maculosa brasileira [Internet]. Araçatuba: Instituto Biológico; 2006 [citado 10 Fev 2020]. Disponível em: <http://www.infobibos.com/artigos/febremaculosa/febremaculosa.htm>
8. De Araujo RP, De Navarro MBM, Cardoso TAO. Febre maculosa no Brasil: estudo da mortalidade para a vigilância epidemiológica. Cad Saude Colet. 2016;24(3):339-46.
9. Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de species [Internet]. São Paulo: Butantan; 2006 [citado 10 Fev 2020]. Disponível em: <https://repositorio.butantan.gov.br/handle/butantan/3153>
10. Martins TF, Onofrio VC, Barros-Basttesti DM, Labruna MB. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: descriptions, redescrptions, and identification key. Ticks Tick Borne Dis. 2010;1:75-99. doi: 10.1016/j.ttbdis.2010.03.002.
11. Blecha IMZ, Rodrigues VS, Duarte PO, Zimmermann NP, Barbosa CS, Matias J, et al. Investigação de infecção por *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma* spp. por meio de teste de hemolinfa e reação em cadeia da polimerase (PCR). In: Anais do Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária; 2016; Campo Grande. Campo Grande: Embrapa; 2016. p. 306.
12. Almeida RFC. Epidemiologia de *Rickettsias* do grupo da Febre Maculosa no estado de Mato Grosso do Sul [tese] [Internet]. Campo Grande: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS; 2013 [citado 10 Fev 2020]. Disponível em: <https://repositorio.ufms.br/handle/123456789/1884>

Recebido em: 24/09/2021

Aceito em: 01/04/2022