

DETECÇÃO DE BACTÉRIAS DO GRUPO FEBRE MACULOSA EM CAPIVARAS (*Hydrochoerus hydrochaeris*) DE CAMPO GRANDE – MATO GROSSO DO SUL

João Bosco V. Campos^{1*}, William O. de Assis², Wanessa T. G. Barreto³, Andreza C. Rucco², Wesley A. G. Nantes¹, Gabriel C. Macedo¹, Oscar F. Junior¹, Luiz R. Gonçalves⁴, Lina de C. Binder⁵, Maria Carolina de A. Serpa⁵, Darci M. Barros-Battesti⁶, Amália Regina M. Barbieri⁷, Marcelo B. Labruna⁷, Grasiela E. de O. Porfírio⁸, Heitor M. Herrera⁹

1. Doutorando da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB)
2. Mestrando(a) da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB)
3. Doutoranda da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)
 4. Doutorando da Universidade Estadual Paulista (UNESP)
 5. Mestranda da Universidade de São Paulo (USP)
6. Pesquisador(a) da Universidade Estadual Paulista (UNESP)
7. Pesquisador(a) da Universidade de São Paulo (USP)
8. Pesquisador(a) da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB)
9. Professor PPG Casa (UCDB) e Ecologia Conservação (UFMS) / Orientador

Resumo

Febre Maculosa refere-se à doença em humanos causada por bactérias intracelulares do gênero *Rickettsia* transmitidas por carrapatos ixodídeos. Objetivou-se com este trabalho detectar a exposição de capivaras para diferentes espécies de *Rickettsia*, bem como avaliar a infestação por carrapatos. Foram colhidas amostras de soro e carrapatos de 17 capivaras no município de Campo Grande – MS. Encontramos soropositividade de 88,2% para *R. parkeri*, 65,7% para *R. rickettsii*, e 41,2% para *R. amblyommatis*, em infecções simples e coinfeções. Foram identificados *Amblyomma sculptum* e *A. dubitatum* infestando os animais. Nossos resultados sugerem que as capivaras constituem fonte de infecção de diferentes espécies de *Rickettsia* para os carrapatos vetores. Ainda, alertamos para a importância na saúde pública visto que as capivaras se encontram em parques urbanos amplamente frequentados pelas pessoas e as formas imaturas dos carrapatos parasitados podem se alimentar dos seres humanos.

Autorização legal: SISBIO 49802-2, CEUA 41181-1.

Palavras-chave: Carrapatos; *Rickettsia*; reservatórios silvestres.

Apoio financeiro: CPPq – 308768/2017-5

Introdução

O grupo Febre Maculosa (FM) inclui espécies de bactérias intracelulares obrigatórias do gênero *Rickettsia* transmitidas por carrapatos ixodídeos em diferentes regiões do mundo (YU & WALKER, 2003; PAROLA et al., 2005). Pertencentes ao grupo da FM, *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri* e *R. amblyommatis* são registradas ocorrendo nas américas (PADDOCK et al., 2004; LABRUNA, 2009). *Rickettsia rickettsii* é o agente etiológico da febre maculosa brasileira (FMB), a mais letal febre maculosa no mundo. O carrapato *Amblyomma sculptum* é considerado o principal vetor da *R. rickettsii* na América do Sul (NAVA et al., 2014; MARTINS et al., 2016). No Brasil, a capivara *Hydrochoerus hydrochaeris* atua como hospedeiro amplificador de *R. rickettsii* (SOUZA et al., 2009; KRAWCZAK et al., 2014). Como nas áreas endêmicas de FMB as densidades populacionais de capivaras alcançaram números muito superiores aos registrados em ambientes naturais como a Amazônia e o Pantanal (FERRAZ et al., 2007), ambientes que favorecem ao aumento populacional desses roedores podem constituir potencial área para ocorrência de FMB. No sudeste do Brasil, as ocorrências de capivaras e FMB aumentaram significativamente nas últimas três décadas (LABRUNA, 2009). Em 2007, Silveira et al. identificou *R. parkeri* pela primeira vez em carrapatos no Brasil. Os autores concluíram que, apesar da baixa taxa de infecção, diferentes populações de *Amblyomma triste* são capazes de manter *R. parkeri* (SILVEIRA et al., 2007). Ainda, a espécie *A. cajennense* vem sendo reportada infectada por outro agente da FM, *Rickettsia amblyommatis*, na Amazônia brasileira (LABRUNA et al., 2004a; SOARES et al., 2014). Embora *A. cajennense* seja reportado parasitando humanos na região amazônica (MARTINS et al., 2016), *R. amblyommatis* nunca foi confirmada como patógeno humano (KARPATY SANDOR et al., 2016), embora tenha havido evidências sorológicas que *R. amblyommatis* poderia causar doença febril em seres humanos nos Estados Unidos (APPERSON et al., 2008; DELISLE et al., 2016). Diante dessas informações o presente trabalho objetivou investigar a soroprevalência para espécies de *Rickettsia* do grupo FM em capivaras que habitam parques urbanos na cidade de Campo Grande, MS.

Metodologia

Foram coletadas 17 capivaras em parques urbanos no município de Campo Grande – MS: Parque das Nações Indígenas (20°27'8"S 54°34'26"W), Lago do Amor UFMS (20°30'12"S 54°37'1"W), Complexo Multiuso UFMS (20°30'06.99"S 54°36'45.52"W) e Parque Ecológico Sóter (-20.429446, -54.576664). Os animais foram

contidos por meio de Dardo anestésico contendo Telazol® 100. As doses aplicadas foram ajustadas de acordo com a estimativa do peso de cada animal. Foi realizado o ensaio de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para a determinação das soroprevalências, segundo Philip et al. (1976), utilizando-se lâminas contendo antígenos brutos derivados de três isolados de *Rickettsia* do Brasil: *R. rickettsii* amostra Taiaçu, *R. parkeri* amostra At24 e *R. amblyommatis* amostra Ac37 (LABRUNA et al., 2004a; HORTA et al., 2006, PINTER & LABRUNA, 2006; SILVEIRA et al., 2007). Como anticorpo secundário, foi utilizado conjugado anti-IgG capivara, (Centro de Controle de Zoonoses, São Paulo, SP). Os soros foram testados inicialmente na diluição 1:64 e, se quando apresentassem positividade, eram diluídos sucessivamente e testados novamente para a determinação do título final. Os controles, positivo e negativo, foram adicionados em cada lâmina. A leitura foi realizada em microscópio equipado com fluorescência (Olympus BX53, Tóquio, Japão) com aumento de 400x.

Resultados e Discussão

Nossos resultados mostram uma soroprevalência de 88,2% (15/17) para *R. parkeri*, 64,7% (11/17) para *R. rickettsii*, e 41,1% (7/17) para *R. amblyommatis*. Encontramos ainda diferentes co-reatividade para diferentes espécies de *Rickettsia* nos animais amostrados (Tabela 1). O presente trabalho observou que *R. rickettsii*, embora não tenha sido a mais prevalente, apresentou o maior número de co-reatividade com as demais espécies de *Rickettsia* testadas no estudo (Tabela 1).

Tabela 1. Co-reatividade por diferentes espécies de *Rickettsia* em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) amostradas em Campo Grande – Mato Grosso do Sul.

Espécies de <i>Rickettsia</i>	Animais positivos
<i>Rickettsia rickettsii</i> + <i>R. parkeri</i>	6 (35,2%)
<i>R. rickettsii</i> + <i>R. amblyommatis</i>	5 (29,4%)
<i>R. parkeri</i> + <i>R. amblyommatis</i>	2 (11,7%)
<i>R. rickettsii</i> + <i>R. parkeri</i> + <i>R. amblyommatis</i>	5 (29,4%)

Rickettsia parkeri vem sendo reportada em áreas consideradas não endêmicas (LABRUNA et al., 2004b), no entanto nossos resultados mostraram que essa bactéria foi a mais sororeagente com os animais amostrados. Horta et al. (2007), relata que desde que *R. rickettsii* é utilizado como o único antígeno regularmente empregado para o diagnóstico sorológico de FMB, alguns casos da doença em seres humanos podem ocorrer devido a presença de *R. parkeri* ou outra espécie do grupo da FM.

Rickettsia amblyommatis ocorre em várias espécies de carrapatos do gênero *Amblyomma* em todo o hemisfério ocidental, e embora venha sendo relatado mais comumente em *A. americanum*, outras espécies foram descritas parasitadas, como *Amblyomma longirostre* no Brasil (LABRUNA et al., 2004a), *Amblyomma neumannii* e *Amblyomma hadanii* na Argentina (LABRUNA et al., 2007; MASTROPAOLO et al., 2016), *Amblyomma cajennense* sensu lato no México, Costa Rica e Colômbia (FACCINI-MARTÍNEZ et al., 2016; HUN et al., 2011; MEDINA et al., 2007), *Amblyomma mixtum* no Panamá (CASTRO et al., 2015), e *Amblyomma coelebs* na Guiana Francesa (PAROLA et al., 2007). Neste contexto, *R. amblyommatis* provavelmente representa a espécie de *Rickettsia* mais prevalente e amplamente distribuída nas Américas.

No presente trabalho foi observado que 64,7% (11/17) de animais estavam infestados por *Amblyomma sculptum* e *A. dubitatum*, em infestações simples ou múltiplas (Tabela 2). Embora a espécie de carrapato *A. dubitatum* (espécie associada à capivara) não ser muito prevalente na região de estudo, em outras regiões como o estado de São Paulo sua distribuição é ampla e pode ser eventualmente encontrada infectada por organismos próximos de *R. parkeri* (VIEIRA et al., 2004). *A. sculptum* foi a espécie de carrapato mais observada infestando as capivaras nas áreas de estudo (Tabela 2). É reconhecido que *A. sculptum* são incapazes de manter a infecção por *R. rickettsii* em gerações sucessivas por transmissões transovariana e transtestadial. Assim, a manutenção da *R. rickettsii* nas áreas endêmicas depende de infecção constante de novos animais, que atuam como hospedeiros amplificadores, garantindo a constante infecção de novos carrapatos (SOARES et al., 2012). Deste modo, as capivaras representam grande importância epidemiológica devido ao seu crescimento populacional em determinadas áreas, podendo favorecer um aumento de casos de FM (SOUZA et al., 2009). Ainda, o presente estudo mostrou a presença de formas imaturas de carrapatos do gênero *Amblyomma* infestando as capivaras. Importante ressaltar que as formas imaturas dos carrapatos se alimentam indiscriminadamente de espécies de mamíferos silvestres e domésticos, incluindo seres humanos (RAMOS et al., 2014).

Tabela 2. Infestações simples e mistas por espécies de *Amblyomma* coletados em capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) amostradas em Campo Grande – Mato Grosso do Sul.

Espécie	Número de capivaras infestadas
<i>Amblyomma sculptum</i>	2 (11,7%)
<i>A. dubitatum</i>	1 (5,8%)
<i>Amblyomma</i> spp.	1 (5,8%)
<i>A. sculptum</i> + <i>A. dubitatum</i>	1 (5,8%)

<i>A. sculptum</i> + <i>Amblyomma</i> spp.	2 (11,7%)
<i>A. dubitatum</i> + <i>Amblyomma</i> spp.	1 (5,8%)
<i>A. sculptum</i> + <i>A. dubitatum</i> + <i>Amblyomma</i> spp.	3 (17,6%)
TOTAL	11 (64,7%)

Conclusões

Nossos resultados claramente mostram que as capivaras amostradas nos parques urbanos de Campo Grande, MS apresentam elevadas soroprevalências para diferentes espécies de *Rickettsia*, sugerindo que esses animais possam estar constituindo fonte de infecção para os carrapatos vetores. Ainda, alertamos para a importância na saúde pública visto que as capivaras se encontram em áreas amplamente frequentadas pelas pessoas e as formas imaturas dos carrapatos parasitados por diferentes espécies de *Rickettsia* podem se alimentar nos seres humanos.

Referências bibliográficas

- APPERSON, C. S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W. L.; MEAD, D. G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M. J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D. W. Tick-Borne Diseases in North Carolina: Is "*Rickettsia amblyommii*" a Possible Cause of Rickettsiosis Reported as Rocky Mountain Spotted Fever? *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2008; 8: 597–606.
- CASTRO, A. M.; GARCÍA, G. G.; DZUL-ROSADO, K.; AGUILAR, A.; CASTILLO, J.; GABSTER, A.; TREJOS, D.; ZAVALA-CASTRO, J.; BERMÚDEZ, S. E. Questing *Amblyomma mixtum* and *Haemaphysalis juxtakochi* (Acari: Ixodidae) infected with *Candidatus 'Rickettsia amblyommii'* from the natural environment in Panama Canal Basin, Panama. *Trop Med Health.* 2015; 43:217–222
- DELISLE, J.; MENDELL, N. L.; STULL-LANE, A.; BLOCH, K. C.; BOUYER, D. H.; MONCAYO, A. C. Human Infections by Multiple Spotted Fever Group Rickettsiae in Tennessee. *Am J Trop Med Hyg.* 2016; 94: 1212–1217.
- FACCINI-MARTINEZ, Á.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, A.; FORERO-BECCERRA, E.; CORTÉS-VECINO, J. A.; ESCANDÓN, P.; RODAS, J. D.; PALOMAR, A. M.; PORTILLO, A.; OTEO, J. A.; HIDALGO, M. Molecular evidence of different *Rickettsia* species in Villeta, Colombia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16:85–87.
- FERRAZ, K.; De BARROS FERRAZ, S.; MOREIRA, J.; COUTO, H.; VERDADE, L. *Capybara (Hydrochoerus hydrochaeris)* distribution in agroecosystems: a cross-scale habitat analysis. *Journal of Biogeography.* 2007; 34(2): 223–230.
- HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; DURIGON, E. L.; SCHUMAKER, T. T. Isolation of *Rickettsia felis* in the mosquito cell line C6/36. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72:1705–1707.
- HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T. T. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007. Nov;102(7):793-801.
- HUN, L.; TROYO, A.; TAYLOR, L.; BARBIERI, A. M.; LABRUNA, M. B. First report of the isolation and molecular characterization of *Rickettsia amblyommii* and *Rickettsia felis* in Central America. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11:1395–1397.
- KARPATY SANDOR, E.; SLATER KIMETHA, S.; GOLDSMITH, C. S.; NICHOLSON, W. L.; PADDOCK, C. D. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group rickettsia associated with multiple species of *Amblyomma* ticks in North and South America. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016; 66: 5236–5243
- KRAWCZAK, F. S.; NIERI-BASTOS, F. A.; NUNES, F. P.; SOARES, J.; MORAES-FILHO, J. Rickettsial infection in *Amblyomma cajennense* ticks and capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in a Brazilian spotted fever-endemic area. *Parasites and Vectors.* 2014; 7:1–7.
- LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. W.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; VSEVOLOD POPOV.; WALKER, D. H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondonia, Western Amazon, Brazil. *J Med Entomol* 2004a; 41:1073– 1081.
- LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an área in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol* 42: 90-98. 2004b.
- LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; ATALIBA, A. C.; SZABÓ, M. P. J. Source: human parasitism by the capybara tick, *Amblyomma dubitatum* (Acari: ixodidae). *Entomol. News* 118 (1), 77–80. 2007.

- LABRUNA, M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1166, p. 156-166, May 2009.
- MARTINS, T. F.; BARBIERI, A. R. M.; COSTA, F. B.; TERASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M. A.; PETERKA, C. R. L.; De C PACHECO, R.; DIAS, R. A.; NUNES, P. H.; MARCILI, A.; SCOFIELD, A.; CAMPOS, A. K.; HORTA, M. C.; GUILLOUX, A. G.; BENATTI, H. R.; RAMIREZ, D. G.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). *Parasites and Vectors*. 2016; 9(1):186.
- MASTROPAOLO, M.; TARRAGONA, E. L.; SILAGHI, C.; PFISTER, K.; THIEL, C.; NAVA, S. High prevalence of 'Candidatus *Rickettsia amblyommii*' in *Amblyomma* ticks from a spotted fever endemic region in north Argentina. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2016; 46:73–76.
- MEDINA, A.; GUEVARA, E.; ALCANTARA, V.; GARZA, C.; HUNT, F.; DAVIS, J.; GONZALEZ, R.; BOUYER, D.; WALKER, D. Isolation of *Rickettsia amblyommii* and seroprevalence of rickettsia in the state of Veracruz, Mexico. 21st Meeting of the American Society for Rickettsiology; Colorado Springs, CO. 2007.
- 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). *Ticks Tick Borne Dis*. Apr; 5(3):252-76. 2014.
- PADDOCK, C. D.; SUMNER, J. W.; COMER, J. A.; ZAKI, S. R.; GOLDSMITH, C. S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S. L.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A. *Rickettsia parkeri*: A newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. *Clin Infect Dis* 38: 805-811. 2004.
- PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clin Microbiol Rev* 2005; 18: 719–756.
- PAROLA, P.; MATSUMOTO, K.; SOCOLOVSCHI, C.; PARZY, D.; RAOULT, D. A tick-borne *Rickettsia* of the spotted-fever group, similar to *Rickettsia amblyommii*, in French Guyana. *Ann Trop Med Parasitol*. 2007; 101:185–188.
- PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1078:523–529.
- RAMOS, V.do N.; OSAVA, C. F.; PIOVEZAN, U.; SZABÓ, M. P. Complementary data on four methods for sampling free-living ticks in the Brazilian Pantanal. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2014 Oct-Dec;23(4):516-21.
- SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; SZABÓ, M. P.; RAMOS, H. G.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2007 Jul;13(7):1111-3.
- SOARES, J. F.; SOARES, H. S.; BARBIERI, A. M.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever. *Medical and Veterinary Entomology*. 2012; 26(2):139–151.
- SOARES, H. S.; BARBIERI, A. R. M.; MARTINS, T. F.; MINERVINO, A. H. H.; De LIMA, J. T. R.; MARCILI, A.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. *Exp Appl Acarol*. 2014; 65: 125–140.
- SOUZA, C. E.; MORAES-FILHO, J.; OGRZEWALSKA, M.; UCHOA, F. C.; HORTA, M. C.; SOUZA, S. S.; BORBA, R. C.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vet Parasitol*. 2009 Apr 6;161(1-2):116-21.
- VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABRUNA, M. B.; MAYO, R. C.; SOUZA, S. S. L.; CAMARGO-NEVES, V. L. F. Manual de Vigilância Acarológica Estado de São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo, p. 62. 2004.
- YU, X. J.; WALKER, D. H. The Order Rickettsiales. Dworkin M, ed. *The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiology Community*. Third edition. New York: Springer- Verlag. 2003.