

Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico

Rickettsial diseases in Brazil and Portugal: occurrence, distribution and diagnosis

Márcio Antonio Moreira Galvão^a, Luiz Jacintho da Silva^b, Elvira Maria Mendes Nascimento^c, Simone Berger Calic^d, Rita de Sousa^e e Fátima Bacellar^e

^aDepartamento de Nutrição. Universidade Federal de Ouro Preto. Ouro Preto, MG, Brasil. ^bUniversidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, Brasil. ^cSuperintendência do Controle de Endemias. Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil. ^dFundação Ezequiel Dias. Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais. Belo Horizonte, MG, Brasil. ^eCentro de Estudos de Vectors e Doenças Infecciosas. Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge. Águas de Moura, Portugal

Descritores

Doenças transmitidas por carrapatos, epidemiologia. Doenças transmitidas por carrapatos, diagnóstico. Carrapatos. Febre botonosa, diagnóstico. Febre botonosa, epidemiologia. Rickettsioses, epidemiologia. Rickettsioses, diagnóstico. Incidência. Brasil. Portugal.

Keywords

Tick-borne diseases, epidemiology. Tick-borne diseases, diagnosis. Ticks. Boutonneuse fever, epidemiology. Boutonneuse fever, diagnosis. Rickettsia infections, epidemiology. Rickettsia infections, diagnosis. Incidence. Brazil. Portugal.

Resumo

O presente artigo é uma atualização sobre a ocorrência e diagnóstico das riquetsioses existentes no Brasil e Portugal, com o objetivo de incentivar e incrementar a vigilância epidemiológica dessas doenças nos dois países. Realizou-se levantamento bibliográfico e foram apresentados dados não publicados de laboratórios e serviços de epidemiologia. Os resultados descreveram a ocorrência das riquetsioses no Brasil e Portugal, inclusive aquelas recém-descritas, advindas de riquetsias de potencial patogênico ainda incerto. Os métodos diagnósticos atualmente empregados foram discutidos. Como em outros países, as riquetsioses parecem assumir crescente importância em saúde pública. Relegadas a um plano secundário por muitas décadas, o interesse por essas infecções tem aumentado nos dois países, mas ainda carece de investigação para esclarecer seu real significado em saúde pública.

Abstract

The present study is an update review on the occurrence and diagnosis of rickettsial diseases in Brazil and Portugal, aiming at promoting their epidemiological surveillance in both countries. A literature review was carried out and unpublished data of laboratories and surveillance systems were presented. The results described the occurrence of rickettsial diseases and infections in Brazil and Portugal, including other new and still poorly understood rickettsial infections. Current diagnostic methods were discussed. As in many other countries, rickettsial diseases and infections seem to be an emerging public health problem. Treated as a minor problem for many decades, the interest in these infections has increased in both countries but further studies are needed to establish their role as a public health problem.

INTRODUÇÃO

A idéia de realizar a presente atualização se deu a partir de um trabalho de cooperação iniciado entre instituições que pesquisam riquetsioses no Brasil e em Portugal. O principal objetivo do presente trabalho foi a necessidade do conhecimento das principais

riquetsioses existentes nos dois países, com vistas ao desenvolvimento de novas possibilidades diagnósticas e de controle. Conseqüentemente, pretende-se ampliar o intercâmbio entre os dois países nessa área.

A percepção da importância das doenças causadas por riquetsias em saúde pública vem crescendo, pois

Correspondência/ Correspondence:

Luiz Jacintho da Silva
R. Nanuque 432 Apto 164
05302-030 São Paulo, SP
E-mail: lj SILVA@unicamp.br

Recebido em 5/4/2004. Reapresentado em 2/6/2005. Aprovado em 28/7/2005.

estão associadas a artrópodes vetores (carrapatos, pulgas, piolhos e ácaros) com ampla distribuição mundial e focos endêmicos.⁶

Riquetsioses são doenças causadas por bactérias da família Rickettsiaceae, constituída pelos gêneros *Rickettsia*, *Orientia*, *Coxiella*, *Bartonella* (*Rochalimaea* pela nomenclatura anterior), *Ehrlichia* e *Anaplasma*.⁶ Porém, o presente trabalho se restringiu ao gênero *Rickettsia*.

O interesse mundial pelas infecções humanas causadas pelo gênero *Rickettsia* é crescente. Novas espécies têm sido identificadas em diversos países em anos recentes, em grande parte graças ao maior poder discriminatório dos métodos de biologia molecular. As manifestações clínicas dessas infecções são muito semelhantes e superpostas, dificultando com isto o diagnóstico etiológico. Até recentemente, os recursos laboratoriais disponíveis não permitiam discriminar com precisão as diferentes espécies. Mesmo o cultivo *in vitro* das riquetsias, não acessível à maioria dos laboratórios, não permite essa discriminação, uma vez que as características morfológicas e bioquímicas das diferentes espécies são virtualmente idênticas.^{6,17,40}

A crescente importância em Saúde Pública não é só pela identificação de várias espécies novas, com seus respectivos quadros clínicos, mas também pelo reconhecimento de que sua incidência e distribuição são maiores do que se imaginava anteriormente.^{6,17,40}

ETIOLOGIA

As riquetsias são microorganismos Gram-negativos de vida intracelular obrigatória. Até um passado não muito remoto, eram considerados “grandes vírus” por não terem vida extracelular, não poderem ser isoladas em meio artificial e pela ausência de sistemas enzimáticos completos. Humanos são hospedeiros acidentais, constituindo elo terminal no ciclo dessas bactérias, exceto pelo tifo exantemático, em que humanos constituem o reservatório.^{6,17,40}

O gênero *Rickettsia* é dividido em dois grupos. O grupo tifo inclui três espécies, *R. prowazekii*, o agente do tifo exantemático epidêmico, a *R. typhi* agente etiológico do tifo murino, e a *R. canadensis*, isolada de carrapatos e sem significado conhecido quanto à patologia humana.^{5,6}

O outro grupo, das febres maculosas, inclui atualmente um grande número de sorotipos. Novas riquetsias desse último grupo têm sido isoladas de artrópodes no mundo inteiro, como também de humanos (*R. africae* e *R. japonica*). As espécies que tradicionalmente fa-

zem parte desse grupo são a *R. rickettsii*, agente da febre das Montanhas Rochosas e da febre maculosa brasileira, a *R. conorii*, agente da febre maculosa do Mediterrâneo ou febre botonosa. *R. sibirica*, *R. australis* e *R. slovaca* estão entre as riquetsias ainda não associadas a quadros clínicos específicos.^{4,6,19,28,32}

No grupo do tifo exantemático, foi proposta a retirada da *R. canadensis* a fim de compor um novo grupo ancestral, que inclui a *R. bellii*.³⁴

OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO DAS RIQUETSIOSES NO BRASIL E PORTUGAL

As riquetsioses humanas já descritas no Brasil e Portugal podem ser classificadas didaticamente em três grupos: as “clássicas”, as “atípicas” e as “novas” ou “recém-descritas”.

As riquetsioses “clássicas” têm como sintomatologia comum a febre de início súbito e elevada e, frequentemente, exantema. Dentre essas, algumas são consideradas cosmopolitas como o tifo exantemático epidêmico e o tifo endêmico ou murino, tendo como vetores o piolho do corpo e a pulga, respectivamente. O tifo exantemático epidêmico mantém-se em áreas elevadas da América Latina (do México à América do Sul) e África. De fácil reconhecimento em surtos, vem sendo referido na literatura médica também sob a forma de casos isolados de viajantes a zonas endêmicas, que só são reconhecidos quando da ocorrência de casos graves. O tifo murino é endêmico em várias ilhas e zonas portuárias do mundo; sua presença na América do Sul está relacionada à presença do rato como reservatório, o homem é atingido esporadicamente ao ser picado pela pulga do rato, *Xenopsylla cheopis*.^{5,6}

O tifo exantemático epidêmico, a primeira das riquetsioses humanas a ser reconhecida, nunca foi descrita no Brasil. A doença de Brill-Zinsser, forma recorrente do tifo exantemático epidêmico, foi identificada em refugiados de guerra do leste europeu no início da década de 1950. Relatos do final do século XIX e início do século XX sugerem que quadros clínicos identificados em imigrantes originários do leste europeu pudessem ser tifo recorrente, porém não há confirmação laboratorial.^{11,24}

No Brasil, há apenas o tifo murino do grupo do tifo exantemático e foi descrito nos Estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro.^{2,15,25,30,36,38,39}

Entre as riquetsioses do grupo das febres maculosas, a febre maculosa brasileira destaca-se como a mais comum e a mais letal. Os agentes etiológicos são riquetsias do grupo das febres maculosas, e o vetor é o

carrapato antropofílico *Amblyomma cajennense*. A doença é conhecida desde 1929 no Estado de São Paulo,³¹ além do relato da ocorrência de casos em Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo e Bahia.^{11,13-15,20-22,35,38,*,**} Apenas os Estados de Minas Gerais e São Paulo mantêm vigilância da doença.

O Estado de Minas Gerais apresentou incidência da ordem de 0,35 casos por 100.000 habitantes no período de 1990 a 1994. De 1981 a 1994, a incidência foi maior no sexo masculino, na faixa etária de cinco a 14 anos, no mês de outubro e letalidade de 10%. De 1995 a 2003, 106 casos foram confirmados com letalidade de 18%.^{13,14,*}

Descrita inicialmente na década de 1920, em São Paulo, o primeiro foco reconhecido foi numa área de expansão urbana, onde hoje são os bairros paulistanos de Sumaré e Perdizes. Mais tarde, focos na periferia da região metropolitana da grande São Paulo foram sendo descritos, como os de Mogi das Cruzes e Santo Amaro, porém, com a expansão urbana esses focos foram desaparecendo, ou pelo menos se tornando inativos. Atualmente há apenas um foco bem conhecido no Estado de São Paulo, na região de Campinas (municípios de Campinas, Pedreira, Jaguariúna e Santo Antonio de Posse), nas bacias dos rios Atibaia e Jaguari, mas que vem se expandindo recentemente, abrangendo também a bacia do Rio Piracicaba.^{31,38,**}

Até época recente, havia apenas dois casos descritos fora do foco de Campinas: em Botucatu e em Mogi das Cruzes. Nos últimos anos, casos têm sido descritos no sul da região da Grande São Paulo, em áreas onde já haviam sido notificados casos na década de 1950.^{11,13-15,20-22,35,38,*,**}

Em São Paulo, a notificação compulsória da doença foi instituída em 1996 na região de Campinas e no ano de 2002 em nível nacional. De 1985 a 2002, 76 casos da doença foram confirmados, com o registro de 36 óbitos e letalidade de 47,6%.^{*} Em Portugal, das riquetsioses “clássicas” foram descritas o tifo murino ou endêmico^{3,*,**} e no grupo das febres maculosas, a febre botonosa também conhecida por febre escaro-nodular de Ricardo Jorge.^{10,*,**} O tifo murino é endêmico no arquipélago da Madeira, ilha de Porto Santo, e diagnosticado esporadicamente no continente.^{1,3,5,8-10,12,37}

A febre escaro-nodular, a única riquetsiose com significado em saúde pública, é de notificação compulsória

desde 1950. A *R. conorii* é o agente etiológico conhecido e isolado da febre escaro-nodular, e o vetor é o carrapato do cão *Rhipicephalus sanguineus*.^{1,3,5,8-10,12,37}

A taxa de incidência de febre escaro-nodular em Portugal, de 1989 a 2000, foi de 9,8 casos por 100.000 habitantes, uma das mais altas dos países da bacia do Mediterrâneo. Essa doença tem distribuição homogênea em relação a gênero, acometendo tanto homens quanto mulheres. A taxa de incidência mais elevada ocorreu no grupo etário de um a quatro anos de idade, com taxa de incidência de 60 casos por 100.000 habitantes. Apesar da maioria dos casos, ser de evolução benigna, nos últimos anos verificou-se em alguns distritos o aumento do número de casos graves e do número de óbitos. Em 1999, a taxa de letalidade foi de 2,8%.^{7,10}

Sua incidência aumentou nos últimos três anos e tem sido identificada em alguns serviços hospitalares de Portugal. Foram feitos vários isolamentos, tendo sido possível identificar uma cepa do complexo *R. conorii* assinalada previamente apenas em Israel. A doença ocorre inicialmente como uma síndrome gripal arrastado, não se detecta a presença da escara de inoculação, o exantema cutâneo não é tão típico como é o causado por *R. conorii* e a falência multi-órgão ocorre com frequência.^{1,7,37}

O Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge em Portugal é o laboratório de referência nacional para as riquetsioses. Nos últimos oito anos (1995-2002) foram realizados cerca de 4.868 testes para *R. conorii* pela técnica de imunofluorescência indireta com cerca de 10% de positivos. No mesmo período, foram recebidas 453 amostras de sangue total, das quais foram isoladas 31 cepas do complexo *R. conorii*.^{7,9,10}

As riquetsioses “atípicas” apresentam quadro clínico pouco definido. As riquetsias ditas apatogênicas poderiam induzir quadros atípicos e passar despercebidas, sem diagnóstico clínico ou laboratorial. No grupo das febres maculosas, a maior parte das riquetsias é considerada apatogênica, por ainda não terem sido isoladas de humanos.^{4,6}

Dessas, foram detectadas as *R. bellii* e *R. amblyommii* no Brasil por técnicas de biologia molecular e isolamento em carrapatos. Outros estudos moleculares realizados com carrapatos e espécimes biológicos humanos, provenientes de áreas endêmicas, per-

*Galvão MAM. A Febre Maculosa Brasileira em Minas Gerais e seus determinantes [dissertação de mestrado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública; 1988.

**Nascimento EMM. Isolamento e detecção molecular de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, a partir de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e espécimes biológicos humanos, procedentes de áreas endêmicas do Estado de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2003.

***Centro de Vigilância Epidemiológica “Alexandre Vranjac” da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Dados não publicados.

****Bacellar F. Rickettsias isoladas em Portugal. Contribuição para a identificação e classificação de cepas [tese de doutorado]. Évora: Universidade de Évora; 1996.

mitiram a detecção e caracterização de riquetsias do grupo da febre maculosa.^{14,18,27.*}

A terceira categoria é a das “novas riquetsioses” como a riquetsiose vesicular (*rickettsialpox*), a “Debonel/Tibola” (*Dermacentor-borne necrosis erythema lymphadenopathy/Tick-borne lymphadenopathy*), a peri-miocardite e a riquetsiose felis. A riquetsiose vesicular não foi descrita até o momento no Brasil e nem Portugal. É uma doença benigna que se manifesta cerca de uma semana após a picada do ácaro parasita do camundongo *Mus musculus*. No local da inoculação forma-se uma pápula avermelhada e indolor, que se torna vesicular. Descreve-se a presença de adenopatia regional e febre súbita com tremores, acompanhadas ou não do exantema vesicular, semelhante à varicela.

A riquetsiose felis foi descrita recentemente em humanos, no Estado de Minas Gerais, confirmados por métodos sorológicos e de biologia molecular, com detecção por biologia molecular no vetor. Seu agente é a *R. felis* e o vetor é a pulga do gênero *Ctenocephalides*. Essa riquetsiose está incluída no grupo das febres maculosas pela análise filogenética, e ainda não foi isolada de humanos.^{4,9,14,19,27}

A “Debonel/Tibola” ou linfadenopatia é causada pela picada de carrapato do gênero *Dermacentor*, e foi descrita recentemente por Raoult et al³² na França, Lakos¹⁹ na Hungria e Oteo et al²⁸ na Espanha. Seu agente etiológico é *R. slovaca*, transmitida pelo vetor *Dermacentor marginatus*. Em Portugal, esse carrapato é freqüentemente parasitado pela riquetsia e é encontrado com maior freqüência como parasita de bovinos e javalis. O quadro clínico humano é descrito como uma reação no local da picada, em geral no couro cabeludo, acompanhada de adenopatias cervicais e submaxilares. A reação inicia-se como uma pápula ou vesícula e desenvolve-se como lesão exsudativa, necrótica, evoluindo para a crosta e alopecia. Um dos sintomas, febre baixa, pode persistir por meses e a alopecia por anos.

A peri-miocardite causada por *Rickettsia spp.* foi descrita na Suécia como causa de morte de jovens adultos.²⁶ O agente etiológico seria *R. helvetica* e o vetor é *Ixodes ricinus*, ambos existentes em Portugal.**

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Desde a descoberta por Weil & Felix em 1921, o

diagnóstico laboratorial das riquetsioses baseia-se em provas sorológicas relativamente inespecíficas. Consiste na reação de aglutinação dos soros de pacientes com tifo exantemático epidêmico com cepas de *Proteus sp.* e segundo recomendação da OMS em 1987, na utilização da reação de imunofluorescência indireta, com antígenos específicos.^{40.***}

Podem ser utilizados métodos diretos de detecção do agente em biópsias de tecidos ou autópsias de órgãos, por isolamento em cultura de células, por métodos histoquímicos e pela detecção genotípica por métodos de biologia molecular.

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

O método de *Weil-Félix* é de fácil execução e de baixo custo. A reação detecta os anticorpos aglutinantes no soro de pacientes, que reagem com diferentes cepas ou espécies de *Proteus*. Cada espécie tem epitopos antigênicos semelhantes aos lipopolissacarídeos das membranas das riquetsias dos diferentes grupos. As aglutininas, que são detectáveis de cinco a 10 dias após o início dos sintomas, são as imunoglobulinas M (IgM). As riquetsias do grupo do tifo exantemático reagem preferencialmente com *Proteus vulgaris* OX19, enquanto que as riquetsias do grupo das febres maculosas, com exceção de *R. akari*, reagem preferencialmente com a *Proteus* OX2. Como os pacientes com doença de Brill-Zinsser, tifo epidêmico recrudescente, não produzem IgM, não podem ser diagnosticados pelo método. Além disso, estão descritas muitas reações cruzadas, devido a não-especificidade do antígeno. Isso pode ocorrer em soros de pacientes que já tiveram algumas infecções por *Proteus* e por outras α -proteobactérias com epitopos antigênicos semelhantes, como a *Legionella spp.* e *Brucella spp.*⁴⁰

Recomendada pela OMS como padrão-ouro para o diagnóstico das riquetsioses, a *imunofluorescência indireta* (RIFI) utiliza antígenos espécie-específicos de *Rickettsia*. A detecção de IgM é forte evidência de uma riquetsiose ativa, embora o diagnóstico possa ser obscurecido pelo fenômeno de prozona, sendo afetada pelo fator reumatóide e pela existência de autoanticorpos. Além disso, existem reações cruzadas entre as riquetsioses dos grupos do tifo exantemático e das febres maculosas. Os anticorpos IgG, detectados cerca de uma semana após o início da doença, são específicos dentro do biogrupo e podem perdurar por até quatro anos.⁴⁰

*Labruna MB, Bouyer DH, McBride JW, Luis Marcelo A, Camargo EP, Walker DH. Rickettsia species infecting *Amblyomma* ticks in Rondonia, Western Amazon, Brazil. In: 18th Meeting American Society for Rickettsiology: 2003; Cumberland, MD, Maryland: 2003.

**Bacellar F. Riquetsias isoladas em Portugal. Contribuição para a identificação e classificação de cepas [tese de doutorado]. Évora: Universidade de Évora; 1996.

***Nascimento EMM. Isolamento e detecção molecular de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, a partir de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e espécimes biológicos humanos, procedentes de áreas endêmicas do Estado de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2003.

O uso da antibioticoterapia nas riquetsioses, específica ou não, pode também influenciar os resultados, embora em menor grau que nas reações de aglutinação. Baixos títulos de anticorpos ou mesmo não detectáveis nas diluições utilizadas como limiar de positividade podem originar falsos negativos. Entretanto, a RIFI pode apresentar reações cruzadas entre espécies de um mesmo grupo, não permitindo com segurança a identificação da espécie envolvida, seja do grupo do tifo exantemático ou das febres maculosas. Nesse caso, o diagnóstico de confirmação continua a depender de fatores clínicos e epidemiológicos.⁴⁰

Outros métodos sorológicos foram utilizados para o diagnóstico de riquetsioses, mas não são de fácil reprodução, a exemplo dos métodos de ELISA e *Western-blotting*. Eles necessitam da purificação dos antígenos a serem utilizados, e com isso, dificultam sua utilização por muitos laboratórios de saúde pública. O *Western-Blotting* é considerado mais sensível do que a RIFI, pois detecta anticorpos IgM precocemente. Teoricamente é mais específico, sendo aconselhado em inquéritos epidemiológicos no esclarecimento da real prevalência da infecção. Entretanto, a quantidade e pureza de antígeno impedem sua utilização rotineira.*

MÉTODOS DIRETOS

O isolamento do agente permite a sua identificação recorrendo a várias metodologias, podendo ser realizado nos laboratórios que trabalham com sistemas de isolamento de vírus em cultura de células “*in vitro*”. As condições de segurança necessárias para as riquetsias são as mesmas que as utilizadas para os vírus (*Biohazard-II*). Devido a pouca viabilidade das riquetsias para isolamento, as amostras devem ser colhidas antes do início da antibioticoterapia, mantidas em refrigeração e submetidas ao procedimento no menor intervalo de tempo possível. Essas amostras incluem sangue com anticoagulante, plasma, biópsias ou autópsias. O método mais utilizado é o denominado “*shell vial*”, adaptado ao estudo das riquetsias pelo grupo da “*Unité des Rickettsies de Marseille*”. O inconveniente para o paciente é a demora que decorre entre a coleta da amostra e o diagnóstico. O diagnóstico definitivo demora cerca de 15 dias, em virtude do tempo de execução da técnica.^{23,*}

A detecção e identificação das riquetsias por métodos de biologia molecular necessitam de amostras colhidas adequadamente. Esses métodos podem também ser utilizados para identificação de cepas isoladas. O método baseia-se na amplificação de um segmento do

genoma comum a todas as riquetsias, que codificam o gene de antígeno 17 Kda, e/ou o gene da enzima citrato sintase (*gltA*), responsável pela condensação do acetil-CoA com o oxalacetato para a formação do citrato no ciclo do ácido cítrico. Também podem ser amplificados segmentos de genes que codificam proteínas de superfície da membrana *Omp*, existentes nas riquetsias do grupo das febres maculosas, como rOmp A, rOmp B. Após a amplificação, os segmentos são digeridos por enzimas de restrição e são obtidos mapas de fragmentos que são específicos para cada espécie.²³ A evolução da tecnologia praticamente automatizou esses procedimentos e permitiu a seqüenciação direta das bases nucleotídicas de cada segmento, identificando-se rapidamente e com precisão cada espécie de riquetsias. Tal identificação é feita por comparação com as bases de dados genômicos, como o *GeneBank*.^{33,*} Porém, existem muitos fatores deletérios associados à coleta e preservação das amostras, como por exemplo, a ação de DNases, RNases, a inibição da reação pelo íon Fe⁺² ou pela heparina, que originam falsos negativos.

Os métodos de biologia molecular provavelmente serão a escolha para rotina num futuro próximo, quando os custos dos aparelhos e reagentes forem mais acessíveis, e as condições de coleta e conservação das amostras estiverem devidamente otimizadas.

A técnica *imunohistoquímica* tem sido aplicada experimentalmente em vários laboratórios de referência. Porém qualquer laboratório de patologia clínica pode implementá-la, caso seja necessário. Os cortes histológicos de pele ou de outros tecidos são submetidos à ação de anticorpos anti-riquetsias (monoclonais ou policlonais) produzidos em animais de laboratório. A ligação do anticorpo ao antígeno pode ser visualizada por coloração com peroxidase ou por fluorescência.^{16,29,*}

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em conclusão, muitas técnicas podem e devem ser utilizadas no diagnóstico laboratorial das riquetsioses e complementadas com eficiente vigilância epidemiológica de casos. Em regiões geográficas, onde ainda se desconhece a presença de determinada riquetsias, teoricamente, a aproximação a este tipo de trabalho passa pela procura do agente nos artrópodes vetores. Nos casos de “riquetsioses atípicas” com forte suspeita epidemiológica, todos os métodos conhecidos devem ser aplicados, mesmo sem evidência clínica. No entanto, a utilização de antígenos oriundos de cepas isoladas localmente aumenta a especificidade do diagnóstico sorológico. Para países como Brasil e Portu-

*Nascimento EMM. Isolamento e detecção molecular de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, a partir de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e espécimes biológicos humanos, procedentes de áreas endêmicas do Estado de São Paulo [dissertação de mestrado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2003

gal, onde todos os anos são relatados casos clínicos com suspeita de participação de riquetsias, o diagnóstico rápido e eficaz de uma riquetsiose é fundamental

e decisiva, para que não ocorra atraso na terapia. Entretanto ressalta-se que a avaliação clínica ainda é o mais rápido e precioso dos métodos de diagnóstico.

REFERÊNCIAS

1. Amaro M, Bacellar F, França A. Report of eight cases of fatal and severe Mediterranean spotted fever in Portugal. *Ann N Y Acad Sci* 2003;990:341-3.
2. Anadão A. A alta incidência do tifo murino no município de São Sebastião da Gramma (São Paulo). *Rev Paul Med* 1954;45:493-506.
3. André E, Correia R, Castro P, Neto M, Rola J, Bacelar F et al. Tifo murino em Portugal. *Acta Me Port* 1998;11:81-5.
4. Angeloni V, Keller R, Walker D. Rickettsialpox-like illness in a traveller. *Mil Med* 1997;162:636-9.
5. Azad AF. Epidemiology of murine typhus. *Ann Rev Entomol* 1990;35:553-69.
6. Azad AF, Beard CB. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. *Emerg Inf Dis* 1998;4:179-86.
7. Bacellar F, Beati L, França A, Poças J, Regnery R, Filipe A. Israeli tick typhus Rickettsiae (*Rickettsia conorii* complex) causing disease in Portugal. *Emerg Inf Dis* 1999;5:835-6.
8. Bacellar F, Lencastre I, Filipe A. Is murine typhus re-emerging in Portugal? *Euro Surveill* 1998;3:18-20.
9. Bacellar F, Regnery RL, Nuncio MS, Filipe AR. Genotypic evaluation of Rickettsial isolates recovered from various species of ticks in Portugal. *Epidemiol Inf* 1995;114:169-78.
10. Bacellar F, Sousa R, Santos A, Santos Silva M, Parola P. Boutonneuse fever in Portugal: 1995-2000. Data of a state laboratory. *Eur J Epidemiol* 2003;18:275-7.
11. Dias E, Martins AV. Spotted fever in Brazil: a summary. *Am J Trop Med Hyg* 1939;19:103-8.
12. David Morais J, Bacellar F, Franca S, Filipe A, Azevedo F. Isolamento e caracterização de *Rickettsia conorii* num caso clínico fulminante, sem escara de inoculação nem exantema. *Rev Port Doenças Infecc* 1996; 19:110-6.
13. Galvão MAM, Dumler JS, Mafra CL, Calic SB, Cesarino Filho G, Olano JP et al. Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. *Emerg Inf Dis* 2003;9:1402-5.
14. Galvão MAM, Lamounier JA, Bonomo E, Tropa MS, Rezende EG, Calic SB et al. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do estado de Minas Gerais, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2002;18:1593-7.
15. Gomes LS. Sobre a presença do tifo exantemático do tipo murino ou endêmico em São Paulo. Estudo de quatro casos. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1941;1(1):21-39.
16. Herrero-Herrero I, Walker DH, Ruiz-Beltran R. Immunohistochemical evaluation of cellular immune response to *R. conorii* in taches noires. *J Infect Dis* 1987;155:802-5.
17. La Scola B, Raoult R. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new Rickettsial diseases. *J Clin Microbiol* 1997;35:2715-27.
18. Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A et al. Rickettsia species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an endemic area for Brazilian spotted fever in the state of São Paulo, Brazil. *J Clin Microbiol* 2004;42:90-8.
19. Lakos A, Raoult D. Tick-borne lymphadenopathy (TIBOLA) a *Rickettsia slovacica* infection? In: Rickettsiae and Rickettsial diseases at the turn of the third millenium. Paris: Elsevier; 1999. p. 258-61.
20. Magalhães O, Moreira JA. Typho exanthematico em Minas Gerais. *Bras Med* 1939;53:882-91.
21. Magalhães O, Rocha A. Tifo exanthematico do Brasil (em Minas Gerais). *Bras Med* 1941;55:773-7.
22. Mancini DAP. A ocorrência de riquetsioses do grupo *Rickettsia rickettsii*. *Rev Saúde Pública* 1983;17:493-9.
23. Marrero M, Raoult D. Centrifugation-shell vial technique for rapid detection of Mediterranean spotted fever Rickettsia in blood culture. *Am J Trop Med Hyg* 1989;40:197-9.
24. Meira JA, Jamra M, Lodovici J. Moléstia de Brill (recrudescência do tifo epidêmico). *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 1955;10:237-46.
25. Monteiro JL, Fonseca F. Typho exanthematico de S. Paulo. XII. Sobre um "virus" isolado de ratos da zona urbana da cidade de e suas relações com o do typho exanthematico de S. Paulo. *Bras Med* 1932;46:1029-33.
26. Nilsson K, Lindquist O, Pahlson C. Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden death. *Lancet* 1999;354:1169-72.
27. Oliveira RP, Galvão MAM, Mafra CL, Chamone CB, Calic SB, Silva SU et al. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides spp.* fleas, Brazil. *Emerg Inf Dis* 2002;8:317-9.

28. Oteo JA, Ibarra, V, Blanco JR, Metola L, Vallejo M, De Artola VM. Epidemiological and clinical differences among *Rickettsia slovaca* rickettsiosis and other tick-borne diseases in Spain. *Ann N Y Acad Sci* 2003;990:355-6.
29. Paddock CD, Greer PW, Ferebee TL, Singleton Jr J, McKechnie DB, Treadwell TA et al. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: immunohistochemical detection of fatal, serologically unconfirmed disease. *J Infect Dis* 1999;179:1469-76.
30. Pereira HG, Travassos J, Vasconcelos JV. Tifo murino no Rio de Janeiro. I. Ocorrência de ratos naturalmente infectados. *Hospital* 1949;35:679-87.
31. Piza JT, Meyer JR, Gomes LS. Typho Exanthematico de São Paulo. São Paulo: Sociedade Impressora Paulista; 1932. p. 11-119.
32. Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to *Rickettsia slovaca*. *Lancet* 1997;350:112-3.
33. Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genomic identification of Rickettsiae and estimation of intraspecies divergence for portions of two Rickettsial genes. *J Bacteriol* 1991;173:1576-89.
34. Roux V, Fournier PE, Rydkina E, Raoult D. Phylogenetic study of the Rickettsiaceae. In: Roux V, Fournier PE, Rydkina E, Raoult D. Rickettsia and rickettsial diseases. Bratislava: Veda; 1996. p. 34-42.
35. Sexton DJ. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. *Am J Trop Med Hyg* 1993;49:222-6.
36. Silveira JCB, Maestrini AA. Tifo murino: a propósito de um caso. *An Fac Med Univ Fed Minas Gerais* 1985;34:103-6.
37. Sousa R, Dória S, Bacellar F, Torgal J. Mediterranean spotted fever in Portugal: risk factors for fatal outcome in 105 hospitalized patients. *Ann N Y Acad Sci* 2003;990:285-94.
38. Tiriba AC. Geografia médica das riquetsioses. In: Lacaz CS, Baruzzi RG, Siqueira Jr W, editores. Introdução à geografia médica do Brasil. São Paulo: Edgard Blücher/Edusp; 1972. p. 388-97.
39. Travassos J, Rodrigues PM, Carrijo LN. Tifo murino em São Paulo. Identificação da *Rickettsia mooseri* isolada de um caso humano. *Mem Inst Butantã* 1949;77-106.
40. World Health Organisation. Laboratory diagnosis of Rickettsial diseases. *Bull World Health Organ* 1988;66:283-420.