



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

IARA GIORDANO ROSA XAVIER

**ASPECTOS ECOEPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA
NA REGIÃO DO MÉDIO PARANAPANEMA, ESTADO DE SÃO PAULO**



**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DOUTORADO EM FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL**

IARA GIORDANO ROSA XAVIER

**ASPECTOS ECOEPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA
NA REGIÃO DO MÉDIO PARANAPANEMA, ESTADO DE SÃO PAULO**

Tese apresentada à Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como requisito para obtenção do título de Doutor. Área de concentração: Fisiopatologia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Vamilton Alvares Santarém

636.089
R788a

Rosa Xavier, Iara Giordano.

Aspectos ecoepidemiológicos da febre maculosa brasileira na região do médio Paranapanema, Estado de São Paulo / Iara Giordano Rosa Xavier – Presidente Prudente, 2025.

49f.: il.

Tese (Doutorado em Fisiopatologia e Saúde Animal)
- Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2025.

Bibliografia.

Orientador: Vamilton Alvares Santarém.

1. Ecoepidemiologia. 2. Infecção. 3. Carrapato. I.
Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: "ASPECTOS ECOEPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA NA REGIÃO DO MÉDIO PARANAPANEMA, ESTADO DE SÃO PAULO"

AUTOR(A): IARA GIORDANO ROSA XAVIER

ORIENTADOR(A): Prof. Dr. VAMILTON ALVARES SANTARÉM

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR(A) em FISIOPATOLOGIA E SAÚDE ANIMAL

Área de Concentração FISIOPATOLOGIA ANIMAL, pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. VAMILTON ALVARES SANTARÉM

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Prof. Dr. RODRIGO COSTA DA SILVA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Prof. Dr. ROGÉRIO GIUFFRIDA

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista / Presidente Prudente (SP)

Profa. Dra. CRISTINA SABBO DA COSTA

Instituto Pasteur - Secretaria Estadual de Saúde do Estado de São Paulo (SP)

Profa. Dra. LOUISE NICOLLE BACH KMETIUK

Secretaria Municipal de Saúde / Curitiba (PR)

Data da realização: Presidente Prudente, 27 de março de 2025.

Central de Assinaturas Eletrônicas

Sobre o documento

Assunto: Documento eletrônico
Status do documento: Concluído
Data de criação do documento: 31/03/2025 15:33
Fuso horário: (UTC-03:00) Brasília
Número de assinaturas: 5
Solicitante: KEID RIBEIRO KRUGER (#6078662)

Signatários do documento

ROGERIO GIUFFRIDA (PROFESSOR)

rgiuffrida@unoeste.br
Recebido em 31/03/2025 15:33
Assinado em 31/03/2025 21:56
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 201.74.172.50
ID da assinatura: 4615904

VAMILTON ALVARES SANTAREM (PROFESSOR)

vamilton@unoeste.br
Recebido em 31/03/2025 15:33
Assinado em 31/03/2025 16:14
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.131.39.1
ID da assinatura: 4615903

RODRIGO COSTA DA SILVA (PROFESSOR)

rodrigossilva@unoeste.br
Recebido em 31/03/2025 15:33
Assinado em 31/03/2025 21:19
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 187.2.155.79
ID da assinatura: 4615905

CRISTINA SABBO DA COSTA (SIGNATÁRIO EXTERNO)

csabbo@pasteur.saude.sp.gov.br
Recebido em 31/03/2025 15:33
Assinado em 31/03/2025 15:35
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 177.95.137.195
ID da assinatura: 4615907

LOUISE NICOLLE BACH KMETIUK (SIGNATÁRIO EXTERNO)

louisebachk@gmail.com
Recebido em 31/03/2025 15:33
Assinado em 31/03/2025 16:23
Assinatura Interna UNOESTE
Usando endereço IP: 2804:214:91fd:12ea:f426:d799:b455:9a2b
ID da assinatura: 4615906

URL do documento: <https://www.unoeste.br/ca/cf106908>

Assinatura digital do documento: 411ca3a59b9b9eeefceb78027f315c7108fc6326bb16bb9892c374d656d5e7cb6

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

Mantida pela Associação Prudentina de Educação e Cultura - APEC

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo ao meu amado filho Arthur, para que se sinta estimulado, inspirado e não deixe de acreditar no poder do aprendizado constante, da disciplina, esforço, busca e construção do conhecimento.

À minha querida mãe Clarice, exemplo de vida, força, perseverança, fé e resiliência permanentes.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e capacitação diária, permitindo-me seguir sempre adiante, sem esmorecer.

À Nossa Senhora Aparecida, Santo Expedito e São Miguel Arcanjo, por fortalecer minha fé, proteger e interceder junto a Deus ao longo de toda a trajetória.

Aos amados pais José e Clarice, pelos exemplos de sabedoria, retidão, simplicidade e, mesmo sem compreender a dimensão da importância dessa etapa em minha vida, não deixaram de oferecer apoio.

Ao filho Arthur, pela incansável confiança, compreensão e apoio às minhas ausências e renúncias, sempre reafirmando que a mamãe seria capaz de concluir esta importante etapa.

Ao esposo Murilo pelo permanente incentivo, amparo, auxílio e apoio em todos momentos, ao longo deste percurso.

À Vilma, querida irmã, pelas inúmeras vezes que fez lembretes do quanto somos capazes de realizar belos feitos.

Ao orientador e amigo, Professor Dr. Vamilton Alvares Santarém, que sempre, com serenidade, generosidade, empatia, bondade e sabedoria, soube conduzir e apoiar cada passo desse processo.

Ao Professor Dr. Rogério Giuffrida, pelo apoio, atenção e comprometimento na análise estatística do estudo.

À Keid Kruger, secretária do PPG, pela prontidão, gentileza e compromisso permanentes.

A todos docentes do Programa de Pós Graduação em Ciência Animal, que ao longo do curso, compartilharam saberes e abriram novos horizontes, com atuações e influências imensuráveis.

Aos colegas do curso, pelo companheirismo, trocas, apoio e parcerias tão valiosas.

Aos colegas da Sucen, que ao desenvolver seu trabalho, geraram dados tão vitais para este estudo, em especial ao Valrides, que realizou o mapeamento geográfico dos casos e muito auxiliou nas questões dos LPI.

Às equipes de vigilância epidemiológica municipais da área de estudo, enfermagem e de endemias, que muito contribuíram e fortaleceram este trabalho.

Ao Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo – CVE/SES e Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN/SES, pela cessão dos dados para execução deste estudo.

Ao Grupo de Vigilância Epidemiológica Estadual (GVE XIII Assis).

À Universidade do Oeste Paulista – UNOESTE, Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação.

A todos que, de alguma maneira, contribuíram, apoiaram e encorajaram a realização deste estudo, rumo a conclusão desta importante etapa acadêmica e de vida.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (Brasil) CAPES, pelo incentivo financeiro, enquanto taxista – Código de Financiamento 001.

A todos, gratidão e carinho!

“Andá com fé eu vou, que a fé não costuma faiá...”
(Gilberto Gil)

RESUMO

Aspectos ecoepidemiológicos da febre maculosa brasileira na região do médio Paranapanema, estado de São Paulo

A Febre Maculosa Brasileira (FMB), enfermidade causada por *Rickettsia* spp. e transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. tem causado ao longo dos anos, diversos casos humanos e elevada letalidade em várias regiões do Brasil, especialmente no estado de São Paulo. O presente estudo teve como objetivo avaliar os aspectos epidemiológicos da doença e investigações acarológicas na região do Médio Paranapanema, oeste do Estado de São Paulo, entre os anos de 2007 a 2021. Informações para consecução dos objetivos foram obtidas junto aos relatórios dos sistemas de informação SINAN e Febre Maculosa, relatórios de investigação acarológica e secretarias municipais e estadual de saúde. Os dados foram plotados, com geração de mapas e estudo de fatores de risco. Verificou-se a ocorrência de 1138 notificações em 16 municípios, sendo 74 casos positivos. Pesquisas acarológicas nos locais prováveis de infecção dos casos, detectaram o *Amblyomma sculptum*. A regressão logística multivariada revelou que viver em área rural aumenta o risco para a doença em pessoas que vivem em área rural como preditor para FMB. Foi observada elevada letalidade para a doença na região (68,9%). Os mapas gerados mostraram a existência de dois clusters para a FMB com uma área intermediária sem notificação de casos. Os dados obtidos ressaltam a importância da adoção de programas educativos, relacionadas ao acesso de pessoas em locais infestados por carrapatos, capacitação dos profissionais da rede de assistência em saúde, nas ações de detecção, notificação, tratamento precoce e adequado dos casos, evitando o agravamento do quadro clínico e consequentemente, os óbitos por FMB.

Palavras chave: Ecoepidemiologia, Infecção, *Rickettsia*, Carrapato.

ABSTRACT

Ecoepidemiological aspects of brazilian spotted fever in the middle Paranapanema region, state of São Paulo

Brazilian spotted fever (BSF), caused by *Rickettsia* spp. bacteria is a tick-borne transmitted disease, mainly *Amblyomma* spp. Over the years, BSF has led to a severe and highly lethal infection in Brazil, more frequently in the State of São Paulo. The current study aimed to evaluate the epidemiological aspects of BSF and the acarological investigation in the Middle Paranapanema River region, western São Paulo state, based on BSF cases reported to the Disease Notification Information System (SINAN) between 2007 and 2021. The gathered informations were plotted and case distribution were mapped. Uni and multivariate (logistic regression) analysis were performed to evaluate the risk factor for BSF. A total of 74 positive cases out of 1138 notifications, in 16 municipalities. A high level of lethality was observed in the studied region (68.9%). *Amblyomma sculptum* was the most frequently tick observed in the acarological investigation. Logistic regression revealed a higher risk to BSF in people who lived in rural areas. According to the plotted maps, two BSF clusters were observed in the region. In addition, an area with no case notification was verified among the two cluster. Our results reinforce the importance of educative programs to reduce the access of people to local infested by ticks, beyond the retraining of healthcare professionals in campaigns to anticipate the distribution and mortality of BSF across the region.

Key-words: Ecoepidemiology, Infection, Rickettsia, Tick.

LISTA DE SIGLAS

BSF	– <i>Brazilian Spotted Fever</i>
CAPES	– Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CCD	– Coordenadoria de Controle de Doenças do Estado de São Paulo
<i>Cluster</i>	– Conglomerado de evento
CETESB	– Companhia Ambiental do Estado de São Paulo
CVE	– Centro de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo
DATAGEO	– Infraestrutura de Dados Espaciais Ambientais do Estado de São Paulo
DBSCAN	– Algoritmo <i>Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise</i>
FMB	– Febre Maculosa Brasileira
<i>Getis-ord</i>	– Índice calculado para análise de padrões de auto correlação espacial
GVE	– Grupo de Vigilância Epidemiológica do Estado de São Paulo
<i>Hot spot</i>	– Área com maior concentração de evento
IBGE	– Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LPI	– Local Provável de Infecção
SES	– Secretaria Estadual de Saúde
SINAN	– Sistema Nacional de Notificação de Agravos
SFG	– <i>Spotted Fever Group</i>
SUCEN	– Superintendência de Controle de Endemias
UGRHI	– Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos
UNOESTE	– Universidade do Oeste Paulista

SUMÁRIO

1	ARTIGO CIENTÍFICO 1.....	12
2	ARTIGO CIENTÍFICO 2.....	22
	ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	37
	APÊNDICE 1- ARTIGO 1: NORMAS DA REVISTA TROPICAL MEDICINE AND INFECTIOUS DISEASE.....	38
	APÊNDICE 2 - ARTIGO 2: NORMAS DA REVISTA PLOSONE.....	45

1 ARTIGO CIENTÍFICO 1

Capivaras, cavalos e áreas rurais como preditores da Febre Maculosa Brasileira em Região do Sudeste Brasileiro

Iara Giordano Rosa-Xavier; Adriano Pinter; Rogério Giuffrida; Alexander Welker Biondo; Louise Bach Kmetiuk; Vamilton Alvares Santarém

Resumo: (1) Contexto: A febre maculosa brasileira (FMB), causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, sendo principalmente transmitida no Brasil pelo carrapato *Amblyomma sculptum*. Apesar da elevada letalidade da FMB em várias áreas endêmicas do Brasil, os preditores e fatores de risco associados ainda não foram estabelecidos. Portanto, o estudo retrospectivo aqui apresentado teve como objetivo avaliar casos de FMB e os fatores de risco associados em uma área endêmica do oeste do Estado de São Paulo. (2) Métodos: Casos suspeitos identificados pelo Centro de Vigilância Epidemiológica de São Paulo (CVE) no período de janeiro de 2007 a dezembro de 2021 foram coletados e analisados por meio de Regressão Logística Multivariada (RLM) para revelar possíveis preditores para a FMB. (3) Resultados: No total, 74 de 1.121 (6,6%; IC 95%: 5,29-8,21) indivíduos foram considerados positivos para FMB. A análise univariada mostrou que o contato prévio com capivaras (OR: 1,89; IC 95%: 1,0-3,55; $p < 0,001$) e a criação de cavalos (OR= 1,4; IC 95%: 0,66-2,67; $p = 0,45$) foram identificados como fatores de risco associados à FMB. A RLM revelou que viver em áreas rurais (OR=2,0; IC 95%: 1,02-3,73; $p = 0,037$) é um preditor para a FMB. (4) Conclusões: Os resultados deste estudo confirmaram estudos anteriores e reforçaram a importância de considerar programas educativos para mitigar a exposição a carrapatos e a transmissão da FMB em áreas endêmicas, principalmente em regiões habitadas ou frequentadas por indivíduos em áreas que se sobrepõem a localidades de capivaras de vida livre.

Palavras-chave: epidemiologia; *Rickettsia* spp; fatores de risco; carrapato; doenças transmitidas por vetores; zoonoses.

1. Introdução

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é a principal doença riquetsial transmitida por carrapatos no Brasil, causada por bactérias do gênero *Rickettsia* spp., e transmitida por carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. (1,2), com notificação compulsória estabelecida pelo Ministério da Saúde (3).

As características clínicas humanas da FMB variam de leve a grave, dependendo da espécie de riquétsia envolvida, e podem inicialmente incluir febre, dor de cabeça, mialgia e erupção cutânea (4). Sem o manejo clínico correto, a apresentação grave pode incluir sinais neurológicos, convulsões, icterícia, insuficiência renal aguda, sufusão hemorrágica e necrose (4).

As áreas endêmicas da FMB estão principalmente localizadas no sudeste do Brasil, principalmente no estado de São Paulo, que responde por 44,2% dos casos nacionais, e são caracterizadas por uma maior carga de *Amblyomma* spp. em reservatórios amplificadores e no ambiente (3,5). A expansão das áreas endêmicas de FMB no estado de São Paulo tem sido associada ao aumento das áreas de cultivo de cana-de-açúcar e ao crescimento das populações de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), um roedor que desempenha um papel importante como amplificador de *Rickettsia rickettsii* juntamente com a manutenção de *A. sculptum* (6).

Em tal cenário, a região do Médio Rio Paranapanema, no estado de São Paulo, tem apresentado uma das maiores incidências de FMB (7,29/10.000 habitantes), principalmente associada à ocorrência de populações residentes de capivaras, disponibilidade de recursos hídricos, fontes de alimento, principalmente de cana-de-açúcar e extinção de predadores naturais (7).

Apesar da importância para a Saúde Pública das áreas endêmicas de FMB no estado de São Paulo, até o momento, nenhum estudo caracterizou os fatores de risco para FMB nessa região específica, considerando o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), do Ministério da Saúde. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar variáveis socioepidemiológicas e ambientais associadas aos casos de FMB em uma área endêmica (região do Médio Rio Paranapanema - Assis e Ourinhos) do estado de São Paulo.

2. Material e Métodos

2.1. Declaração de Ética

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Saúde Humana do Conselho Nacional de Saúde do Brasil (Protocolo Número 62310322.8.0000.5515).

2.2. Desenho do Estudo

Este é um estudo epidemiológico retrospectivo de casos notificados de Febre Maculosa Brasileira (FMB) na região do Médio Rio Paranapanema, Brasil, entre janeiro de 2007 e dezembro de 2021, com base no sistema brasileiro de vigilância epidemiológica em saúde (SINAN) - Ministério da Saúde. O estudo teve como objetivo descrever os fatores de risco associados aos casos humanos de FMB em uma área endêmica de FMB no Brasil.

2.3. Área de Estudo

O presente estudo foi conduzido na região do Médio Rio Paranapanema, que abrange 16.749 km² e 25 dos 645 municípios do estado de São Paulo, com uma população de 465.170 habitantes (8). Esta região é majoritariamente coberta por pastagens e cultivo de cana-de-açúcar, sendo considerada a principal região produtora de cana-de-açúcar do mundo (9), com uma expansão superior a 100% (2 milhões de hectares) nos últimos 15 anos (10).

2.4. Fonte de Dados

O estudo foi baseado nas informações dos questionários de investigação de casos notificados de FMB no sistema de vigilância epidemiológica em saúde do Brasil (SINAN) - Ministério da Saúde, na região do Rio Paranapanema, São Paulo, entre janeiro de 2007 e dezembro de 2021.

As seguintes informações foram avaliadas: idade, etnia, localização da residência, infestação anterior por carrapatos, histórico de contato com capivaras, posse de cães ou gatos, criação de gado, criação de cavalos, visita a mata (anterior ao início de sinais e sintomas da enfermidade). Os registros foram organizados e categorizados em planilhas eletrônicas, com exclusão das duplicidades.

2.5. Análise Estatística

O conjunto de dados foi categorizado e submetido à análise univariada pelo Teste de Qui-Quadrado de Pearson. Variáveis que apresentaram significância estatística inferior a 0,20 na análise univariada foram submetidas a análise multivariada (regressão logística). A regressão logística foi utilizada para avaliar fatores de risco/proteção para FMB. Para melhorar o modelo final, as variáveis preditoras foram testadas quanto à multicolinearidade e exclusão do fator de inflação da variância maior que 4,0 (IFV > 4,0). A partir dos coeficientes de regressão para cada variável preditora, os valores de odds ratio foram estimados por ponto e com um intervalo de confiança de 95% (IC de 5%). O modelo de melhor ajuste foi considerado aquele que incluiu variáveis associadas significativamente (valor de $p < 0,05$).

Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R v.4.2.2. O nível de significância de 5% foi adotado para todos os testes estatísticos (11).

3. Resultados

Um total de 1.138 casos notificados de Febre Maculosa Brasileira (FMB) foram avaliados entre 2007 e 2021, com confirmação em 74/1.121 (6,6%; IC 95%: 5,29-8,21) indivíduos. A maioria dos indivíduos era do sexo masculino (801/1.121; 71,5%), autodeclarados como brancos (921/1.121; 82,2%) e viviam em área urbana (917/1.121; 81,8%), com idades variando de 1 a 85 anos (mediana: 35) nos suspeitos e de 3 a 75 anos (mediana: 33) nas pessoas positivas para FMB.

O total de 1.121 casos foi considerado para análise estatística devido à consistência das informações epidemiológicas e incluído na análise univariada. Finalmente, devido à falta de informações em parte dos registros, apenas 885 indivíduos foram submetidos à regressão logística. O valor máximo de perda de informação observado aqui foi o histórico de infestação por carrapatos (1,43%). Os resultados das análises univariada e multivariada foram compilados e apresentados (Tabela 1).

A análise univariada mostrou que o histórico de contato prévio com capivaras (OR: 2,59; IC 95%: 1,48-4,44; $p=0,001$) e a criação de cavalos (OR= 1,94; IC 95%: 1,03-3,47; $p=0,045$) foram estatisticamente associados como fatores de risco para FMB. As variáveis: 1) histórico de infestação por carrapatos, 2) visita a mata e 3) residência em área rural, foram ajustadas para serem incluídas na análise multivariada. As cinco variáveis foram mantidas no modelo final de regressão logística. Além disso, morar em área rural (OR=2,0; IC 95%: 1,02-3,72; $p= 0,037$) foi revelado como o único preditor para FMB. As demais variáveis, incluindo idade, gênero, etnia, posse de cães ou gatos, e convivência com gado, não foram consideradas adequadas para inclusão nas análises multivariadas ($p>0,2$).

Tabela 1. Fatores de risco associados para casos de Febre Maculosa Brasileira (FMB) em 1.121 indivíduos na Bacia do Médio Rio Paranapanema, Estado de São Paulo, Sudeste do Brasil, no período de 2007 a 2021.

	Casos suspeitos		Análise Univariada		Análise Multivariada	
	Positivos (%)	Negativos (%)	Razão de chance (IC 95%)	p-valor	Razão de chance (IC 95%)	p
Idade	74 (6,6)	1047 (93,4)				
1 a 18	17 (23,0)	256 (24,5)	Referência [1,0]			
19 a 35	24 (32,4)	291 (27,8)	1,24 (0,65-2,40)			
36 a 51	14 (18,9)	265 (25,3)	0,80 (0,38-1,66)			
52 a 85	19 (25,7)	235 (22,4)	1,22 (0,61-2,43)			
Gênero				1,0		
Feminino	21 (28,4)	299 (28,6)	Referência [1,0]			
Masculino	53 (71,6)	748 (71,4)	1,00 (0,60-1,73)			
Etnia				0,824		
Branca	59 (81,9)	862 (83,7)	Referência [1,0]			
Não-branca	13 (18,1)	168 (16,3)	1,14 (0,59-2,07)			
Localização domicílio				0,033		
Urbano	55 (74,3)	882 (84,5)	Referência [1,0]		Referência [1,0]	
Rural	19 (25,7)	162 (15,5)	1,89 (1,06-3,22)		2,0 (1,02-3,72)	0,037
Infestação prévia por carrapatos				0,073		
Não	21 (33,3)	418 (45,8)	Referência [1,0]		Referência[1,0]	
Sim	42 (66,7)	495 (54,2)	1,68 (0,99-2,94)		1,15 (0,62-2,16)	0,665
Contato prévio com capivara				0,001		
Não	35 (59,3)	731 (79,0)	Referência [1,0]		Referência [1,0]	
Sim	24 (40,7)	194 (21,0)	2,59 (1,48-4,44)		1,9 (1,0-3,57)	0,051
Tutor de				0,731		

cão/gato					
Não	30 (48,4)	481 (51,5)	Referência [1,0]		
Sim	32 (51,6)	453 (48,5)	1,13 (0,67-1,90)		
Cria gado				0,671	
Não	48 (81,4)	781 (84,3)	Referência [1,0]		
Sim	11 (18,6)	145 (15,7)	1,25 (0,60-2,38)		
Visitas a áreas florestais				0,064	
Não	10 (15,4)	244 (26,6)	Referência [1,0]	Referência [1,0]	
Sim	55 (84,6)	673 (73,4)	1,97 (1,03-4,18)	1,18 (0,55-2,78)	0,683
Cria cavalos				0,045	
Não	44 (73,3)	779 (84,1)	Referência [1,0]	Referência [1,0]	
Sim	16 (26,7)	147 (15,9)	1,94 (1,03-3,47)	1,37 (0,66-2,67)	0,375

4. Discussão

O presente estudo avaliou os fatores de risco/proteção para a Febre Maculosa Brasileira (FMB) em uma área endêmica do Brasil, no período de 2007 a 2021. No geral, 74/1.121 (6,6%) casos suspeitos foram confirmados para FMB, reforçando a endemidade na região do Médio Rio Paranapanema, como previamente observado por análise espacial (casos confirmados de FMB entre 2009 e 2019) que demonstrou alta taxa de incidência (7,29/10.000 habitantes), particularmente na região de Florínea-Assis (7). O resultado aqui encontrado foi superior a 4,2% (22/525) no município de Pedreira, estado de São Paulo (12), e inferior a 12,2% (40/328) na área costeira do estado do Paraná, sul do Brasil (13). Segundo os últimos autores, diferenças nas taxas de infecção por *Rickettsia* spp. em carrapatos podem explicar a variação na positividade em áreas endêmicas para FMB no Brasil (13).

A regressão logística mostrou que "viver em áreas rurais" representou o único fator de risco para FMB, corroborando com a maior incidência de FMB no Brasil, que tem sido observada tanto em indivíduos que vivem em áreas rurais e visitam espaços florestais, rios e cachoeiras (3), quanto em habitantes urbanos ou periurbanos devido ao lazer ou trabalho nestas localidades (14). Apesar de o presente estudo não ter detectado que a atividade profissional fosse um fator de risco associado à FMB, a exposição ocupacional e as atividades de lazer devem ser sempre cuidadosamente consideradas em áreas endêmicas da doença.

Outras variáveis importantes foram associadas à FMB, com base na análise univariada,

incluindo "visita anterior a local frequentado por capivaras", corroborando achados anteriores na bacia do Rio Piracicaba, estado de São Paulo (14). A presença de capivaras tem sido mais frequentemente observada em áreas rurais e pode ser considerada na transmissão de FMB para a população aqui estudada. Além disso, fragmentos florestais situados em áreas rurais têm sido geralmente associados a uma maior diversidade de pequenos mamíferos e maiores taxas de densidade de carrapatos, aumentando a probabilidade de transmissão de *Rickettsia* spp., como observado no bioma da Mata Atlântica brasileira (15).

Outra variável associada à FMB neste estudo foi "criação de cavalos", corroborando achados anteriores que mostraram que a alta soroprevalência de *Rickettsia rickettsii* em cavalos foi um risco para a transmissão em áreas silenciosas de FMB (14). Espera-se que capivaras e outras espécies de vida selvagem envolvidas no ciclo natural da FMB possam impactar na alta soroprevalência equina e indicar um forte potencial para a transmissão humana. Os resultados aqui apresentados sugerem que a sobreposição de áreas de cavalos e capivaras pode representar um risco importante para a infecção humana por FMB.

Apesar de a "infestação por carrapatos anterior ao início de sinais e sintomas" não ter sido associada à FMB, esse resultado deve ser analisado com cautela devido à perda de 13% (145/1.121) das informações sobre essa variável. A perda de informações e a qualidade da investigação no banco de dados ou mesmo a falta de percepção dos pacientes em relação ao parasitismo por carrapatos, foram previamente indicadas para justificar a dificuldade em analisar a associação da FMB com a infestação pelos ixodídeos (5). Assim, o monitoramento permanente do parasitismo humano pode proporcionar uma melhor compreensão da ecoepidemiologia dos carrapatos e das doenças transmitidas por eles, além da identificação precoce de potenciais casos de doenças, particularmente em regiões endêmicas de febre maculosa (16). Como o Brasil possui uma ampla diversidade de carrapatos associados à infestação humana e aos casos de FMB, a distribuição destes seres, pode indicar áreas endêmicas da doença. Na Região Sul, por exemplo, os casos de parasitismo humano foram mais predominantes causados por *A. sculptum* no estado do Paraná (17), enquanto por *A. parkeri* no estado vizinho do Rio Grande do Sul (16). Outras espécies menos frequentes, como *A. oblongoguttatum*, também têm sido consideradas potenciais vetores do grupo da febre maculosa (SFG) na Região Amazônica, estado de Rondônia, noroeste do Brasil (18).

Embora os casos de FMB tenham sido associados à idade (19) e ao gênero (5), não foi encontrada significância estatística para idade, gênero e etnia neste estudo. Como já mencionado, o reduzido número de casos positivos pode não ter sido suficiente para detectar estatisticamente diferenças na exposição e nos fatores preditivos para FMB (13).

O Médio Rio Paranapanema é uma divisa entre o oeste do estado de São Paulo e o norte

do estado do Paraná, sul do Brasil, apresentando diversos casos de FMB seguidos de morte. Enquanto casos leves da enfermidade foram identificados na região costeira do estado do Paraná, com base em um estudo epidemiológico anterior, de janeiro de 2006 a dezembro de 2017 (20), ocorreram casos graves e óbitos na região do Norte Pioneiro paranaense (17), área limítrofe ao território deste estudo.

Portanto, a influência do estado do Paraná na ocorrência de FMB no Médio Rio Paranapanema deve ser melhor investigada, particularmente devido às migrações de capivaras entre estados e às atividades humanas de lazer e trabalho.

As limitações do presente estudo incluíram a subnotificação de casos nos sistemas de vigilância epidemiológica e a baixa completude dos questionários nos registros do banco de dados. Essas limitações já foram indicadas em um estudo ecoepidemiológico de FMB no Brasil (3), indicando que o sistema nacional de notificação deve passar por um esforço para melhorar a notificação de casos de FMB. Além disso, as informações fornecidas pelos pacientes, incluindo visitas à mata, contato com capivaras, cavalos e infestação por carrapatos, podem ter sido enviesadas devido à subjetividade das respostas.

5. Conclusão

Em conclusão, os resultados aqui apresentados confirmaram estudos anteriores e reforçaram a importância de considerar programas educativos para mitigar a exposição a carrapatos e a transmissão da Febre Maculosa Brasileira (FMB) em áreas endêmicas, principalmente em indivíduos que vivem ou visitam áreas onde há ocorrência de capivaras livres.

Contribuições dos Autores: Concepção do estudo: VAS, AP e IGRX; Metodologia: VAS, IGRX e RG; Análise formal: VAS, IGRX, AWB e RG; Curadoria de dados: VAS, IGRX, AP e RG; Preparação do rascunho original: VAS e IGRX; Revisão e edição: VAS, AP, IGRX, AWB e LBK; Supervisão: VAS e AWB.

Declaração do Comitê de Ética Institucional: Não aplicável.

Declaração de Consentimento Informado: Não aplicável.

Declaração de Disponibilidade de Dados: Todos os dados utilizados no presente estudo foram incluídos no manuscrito, sem menção à origem de dados sensíveis.

Agradecimentos: Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), Código de Financiamento 001, concedido a IGRX. Os autores agradecem ao Centro de Vigilância Epidemiológica de São

Paulo e a SUCEN, pela permissão para acessar os bancos de dados.

Conflitos de Interesse: Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Referências

1. Polo G, Labruna MB, Ferreira F. Basic reproduction number for the Brazilian Spotted Fever. *J Theor Biol.* 2018 Dec;458:119–24.
2. Szabó MPJ, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:27.
3. de Oliveira SV, Guimarães JN, Reckziegel GC, Neves BM da C, Araújo-Vilges KM de, Fonseca LX, et al. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2016;
4. Sekeyová Z, Danchenko M, Filipčík P, Fournier PE. Rickettsial infections of the central nervous system. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Aug;13(8):e0007469.
5. de Oliveira S V, Willemann MCA, Gazeta GS, Angerami RN, Gurgel-Gonçalves R. Predictive Factors for Fatal Tick-Borne Spotted Fever in Brazil. *Zoonoses Public Health.* 2017 Nov;64(7):e44–50.
6. Polo G, Labruna MB, Ferreira F. Satellite Hyperspectral Imagery to Support Tick-Borne Infectious Diseases Surveillance. *PLoS One.* 2015;10(11):e0143736.
7. Ribeiro CM, da Costa VM, de Carvalho JLB, Mendes RG, Bastos PA de S, Katagiri S, et al. Brazilian spotted fever: A spatial analysis of human cases and vectors in the state of São Paulo, Brazil. *Zoonoses Public Health.* 2020 Sep;67(6):629–36.
8. IBGE | Portal do IBGE | IBGE [Internet]. [cited 2025 Feb 9]. Available from: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/>.
9. Monteiro GG, Peronti ALBG, Martinelli NM. Distribution, abundance and seasonality of scale insects in sugarcane crops in the state of São Paulo. *Braz J Biol.* 2021;83:e250879.
10. Molijn RA, Iannini L, Rocha JV, Hanssen RF. Author Correction: Ground reference data for sugarcane biomass estimation in São Paulo state, Brazil. *Sci data.* 2020 Jun;7(1):193.
11. R: The R Project for Statistical Computing [Internet]. [cited 2024 Jun 5]. Available from: <https://www.r-project.org/>
12. de Lemos ER, Alvarenga FB, Cintra ML, Ramos MC, Paddock CD, Ferebee TL, et al. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of São Paulo. *Am J Trop Med Hyg.* 2001 Oct;65(4):329–34.
13. Kmetiuk LB, Paula WV de F, Pádua GT, Delai RR, Freitas AR, Farinhas JH, et al. Epidemiology of *Rickettsia* spp. in Atlantic rainforest areas of island and seashore mainland,

southern Brazil. *Transbound Emerg Dis*. 2022 Oct; 10.1111/tbed.14723.

14. Souza CE, Camargo LB, Pinter A, Donalisio MR. High Seroprevalence for *Rickettsia rickettsii* in Equines Suggests Risk of Human Infection in Silent Areas for the Brazilian Spotted Fever. *PLoS One*. 2016;11(4):e0153303.

15. Dantas-Torres F, Aléssio FM, Siqueira DB, Mauffrey J-F, Marvulo MF V, Martins TF, et al. Exposure of small mammals to ticks and rickettsiae in Atlantic Forest patches in the metropolitan area of Recife, North-eastern Brazil. *Parasitology*. 2012 Jan;139(1):83–91.

16. Reck J, Souza U, Souza G, Kieling E, Dall’Agnol B, Webster A, et al. Records of ticks on humans in Rio Grande do Sul state, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018 Jul;9(5):1296–301.

17. Valente JDM, Silva PW, Arzua M, Barros-Battesti DM, Martins TF, Silva AM, et al. Records of ticks (Acari: Ixodidae) on humans and distribution of spotted-fever cases and its tick vectors in Paraná State, southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2020 Nov;11(6):101510.

18. Aguirre AAR, Garcia MV, Costa IN da, Cordas BG, Rodrigues V da S, Medeiros JF, et al. New records of tick-associated spotted fever group *Rickettsia* in an Amazon-Savannah ecotone, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis*. 2018 May;9(4):1038–44.

19. Souza CE de, Pinter A, Donalisio MR. Risk factors associated with the transmission of Brazilian spotted fever in the Piracicaba river basin, State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(1):11–7.

20. Durães LS, Bitencourth K, Ramalho FR, Nogueira MC, Nunes E de C, Gazêta GS. Biodiversity of Potential Vectors of *Rickettsiae* and Epidemiological Mosaic of Spotted Fever in the State of Paraná, Brazil. *Front public Heal*. 2021;9:577789.

2 ARTIGO CIENTÍFICO 2

Características ecoepidemiológicas de uma área de alta letalidade para Febre Maculosa Brasileira, na Região do Médio Paranapanema, Sudeste de São Paulo, Brasil

Resumo

Contextualização (Background)

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose de caráter reemergente, com elevada letalidade e relacionada a ambientes antropizados, principalmente no Estado de São Paulo, onde a expansão agrícola, desmatamento e modificações de áreas naturais são apontadas como agravantes da enfermidade. No presente estudo foram avaliadas as características ecoepidemiológicas da FMB, na região do Médio Paranapanema, Oeste do Estado de São Paulo, Brasil.

Metodologia

Registro de casos notificados de FMB (janeiro 2007 a dezembro 2021) foram obtidos de sistemas de informação oficiais de instituições de Saúde Pública do Brasil, para avaliação da distribuição de casos da doença na região do Médio Paranapanema no Estado de São Paulo. A partir dos dados foram construídos mapas para avaliação de clusters e *hot spots* na região estudadas. Dados sobre pesquisa acarológica e letalidade da doença foram também avaliados.

Resultados

A letalidade na região (68,9%) para FMB foi considerada alta. Foram identificados dois clusters para FMB, com observação de uma região sem notificação de casos entre estes clusters. *Amblyomma sculptum* foi o ixodídeo predominante na área de estudo. Os locais prováveis de infecção estavam relacionados à proximidade com cursos hídricos, áreas agrícolas e ambientes transitados por capivaras.

Conclusão

Há alta taxa de letalidade para FMB na região, com verificação de área sem registro de casos entre os clusters para a zoonose. Esses resultados reforçam a necessidade de adequada capacitação de profissionais de saúde e desenvolvimento de programas educativos voltados à população para mitigação da infecção por FMB.

Palavras-chave: zoonose, epidemiologia, infecção, rickettsia, carrapato.

1. Introdução

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* (Labruna et al., 2014), reconhecida como problema reemergente de saúde pública no Brasil desde o final dos anos 1980 (Nogueira Angerami et al., 2009). A doença é responsável por uma série histórica de óbitos humanos e hospitalizações, gerando ônus tanto para as famílias quanto para o sistema de saúde brasileiro (Rodrigues et al., 2022).

No Brasil, existem áreas endêmicas na Região Sudeste, especialmente no Estado de São Paulo, com importante envolvimento do carrapato *Amblyomma spp.* (de Oliveira et al., 2016). Nessa região, a doença tem sido associada à expansão da cultura canavieira e crescimento das populações de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), que são capazes de manter a amplificação de *R. rickettsii* e de *Amblyomma sculptum* (Ferraz et al., 2007; Polo et al., 2015; Polo et al., 2017). A letalidade da doença na região é em média de 60% (CVE, 2023).

Nos estudos realizados no Brasil, houve mapeamento de áreas de risco para FMB no Norte do Estado do Paraná, região Sul (Otomura et al., 2016), da distribuição potencial de espécies de carrapatos envolvidas nos ciclos enzoótico e epizootico da doença da Costa Atlântica do Brasil (Donalisio et al., 2020) e de “clusters” no estado de São Paulo, quanto a epidemiologia da doença, ambiente, animais e carrapatos possivelmente envolvidos na transmissão (Angerami et al., 2012).

Os fatores abióticos (uso e cobertura do solo e características geoambientais) e fatores bióticos (vetores e hospedeiros) projetados num plano espacial ou geográfico, associados aos ciclos ecológicos, são capazes de manter ativa a transmissão da FMB para humanos (Rodrigues et al., 2022). A distribuição global e regional, e os riscos associados à ocorrência da FMB têm sido pouco compreendidos (Zhang et al., 2023) e, estudos bioecológicos e ecoepidemiológicos podem fundamentar a melhor compreensão da epidemiologia da doença (Santos et al., 2023), visto a sua complexidade, implicações ambientais, ecológicas e antropológicas (Angerami et al.,

2012), entre eles, os de mapeamento da distribuição espacial da doença, seus vetores, hospedeiros e agentes etiológicos (Donalisio et al., 2020).

O Estado de São Paulo é considerada a principal região produtora de cana-de-açúcar do mundo (Monteiro et al., 2021), com expansão superior a 100% (2 milhões de hectares) nos últimos 15 anos (Molijn et al., 2018). Na Região do Oeste Paulista, a expansão canavieira tornou-se vigorosa, ocorrendo um movimento de expulsão de culturas alimentares e pecuária, refletindo na agricultura familiar, impactando na redução da produção de alimentos (Lourenzani e Caldas, 2014; Camara e Caldareli, 2016) e na expansão de doenças (Pesenato et al., 2023).

Devido a importância em saúde pública da FMB no Sudeste do Brasil, em especial no Estado de São Paulo, estudos sobre mapeamento da doença são fundamentais para delimitar áreas de risco e favorecer a compreensão dos aspectos ecoepidemiológicos envolvidos na ocorrência da zoonose (Brasil, 2023), para propor o desenvolvimento de medidas preventivas.

O presente estudo propôs-se a mapear a área de ocorrência de FMB no Médio Paranapanema, região oeste do estado de São Paulo, Brasil, quanto a geolocalização de casos em humanos, carrapatos presentes nos locais prováveis de infecção (LPI) e aspectos paisagísticos e ambientais das localidades estudadas.

2. Material e Métodos

2.1. Princípios Éticos

O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Oeste Paulista - Plataforma Brasil #62310322.8.0000.5515).

2.2. Desenho do Estudo

O estudo foi uma análise descritiva, quantitativa, retrospectiva, com avaliação de dados referentes ao período de janeiro de 2007 a dezembro de 2021.

2.3. Área de Estudo

A área de estudo possui 25 dos 645 municípios do estado de São Paulo (Figura 1), e população estimada em 465.170 habitantes (Datusus, 2021), pertence a região administrativa de saúde do Grupo de Vigilância Epidemiológica XIII Assis – Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo e abrange a Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Médio Paranapanema (UGRHI-17) com uma área de 16.749 km² (Figura 1).

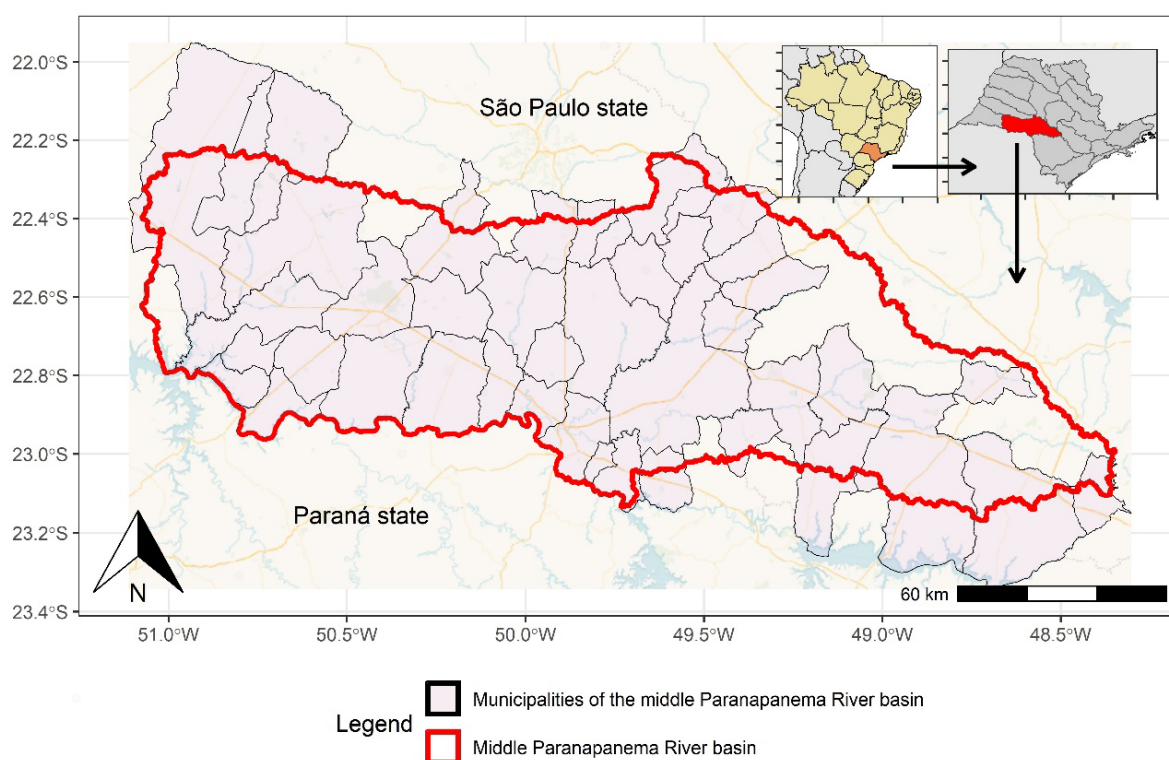


Figura 1 – Localização da Unidade de Gerenciamento de Recursos Hídricos do Médio Paranapanema (UGRHI-17), Estado de São Paulo, Brasil.

2.4. Coleta de Dados

Os dados utilizados no presente estudo foram extraídos de sistemas de informação oficiais do governo do Brasil (SINAN – Sistema Nacional de Agravos de Notificação – Ministério da Saúde e Febre Maculosa – Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo - SUCEN) e Secretarias Municipais de Saúde de 25 municípios pertencentes à

região do Médio Paranapanema, do Grupo de Vigilância Epidemiológica – GVE XIII Assis, São Paulo.

2.5. Identificação de hot spots e mapas temáticos

Foram registradas 74 ocorrências. Destes pontos, oito foram removidos como registros duplicados, totalizando 66 registros de FMB independentes para a análise espacial. As coordenadas referentes aos 66 registros foram utilizadas para a construção de mapas temáticos utilizando-se como base os dados vetoriais disponíveis nas bases do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Companhia Estadual de Saneamento Básico e banco de dados do DATAGEO (CETESB, 2016; DATAGEO, 2024; IBGE, 2022).

Para identificação dos potenciais *hot spots*, foram calculados índices de Getis-Ord para análise de padrões de autocorrelação espacial (áreas com alta concentração do fenômeno). Inicialmente, foi utilizada uma função para definir coordenadas que correspondessem aos quatro pontos mais próximos de cada local, com a finalidade de criar uma matriz de vizinhança para análises espaciais, utilizando-se o pacote “Sedep” do Programa R (Bivand e Wong, 2018). A seguir aplicou-se a seguinte fórmula na qual o numerador representou a soma os valores dos vizinhos ponderados pelo peso, enquanto o denominador a soma total dos valores:

$$G^* = \frac{\sum_i \sum_j w_{ij} x_j}{\sum_j x_j}$$

Onde:

x_j é o valor associado ao ponto j (contagem de eventos);

w_{ij} é a matriz de pesos que indica a relação de vizinhança entre os pontos i e j .

Após os cálculos, procedeu-se a normalização dos índices para facilitar a interpretação. Valores próximos a zero foram indicativos de que não houve autocorrelação espacial significativa.

Os resultados foram inseridos em mapa temático para observação dos *hot spots*.

2.6. Identificação de clusters espaciais

Para identificação de clusters espaciais, foi empregado o algoritmo DBSCAN (*Density-Based Spatial Clustering of Applications with Noise*). No algoritmo, a distância máxima entre dois pontos para que fossem considerados vizinhos foi definida como sendo de 1 km. Para definição de "ponto central" de um cluster, foi considerado o número mínimo de pontos que deviam estar dentro da vizinhança igual a 3.

A partir destes parâmetros, cada ponto foi classificado:

I- "ponto central": pelo menos 3 pontos em sua vizinhança;

II- "ponto de borda": se dentro da vizinhança de um ponto central, mas sem pontos suficientes em sua vizinhança para ser um ponto central; ou,

III- "ruído": nem ponto central, nem de borda.

O algoritmo começou com um ponto aleatório e verificou sua vizinhança. Se o ponto foi considerado central, um novo cluster foi iniciado.

Todos os pontos que foram diretamente conectados a ele (pontos na vizinhança) foram adicionados ao cluster. O algoritmo foi expandido até que não houvesse mais pontos que pudessem ser adicionados.

O processo foi repetido para todos os pontos no conjunto de dados até que a totalidade deles fosse classificada.

3. Resultados

Na figura 2 estão representados os municípios que apresentaram casos de FMB em seu território, no período de 2007 a 2021.

Observou-se que dos 25 municípios incluídos no estudo, casos de FMB ocorreram em 16, com variação de 2,5 a 10 ocorrências, levando-se em conta o LPI. O maior número de casos ocorreu nos municípios de Maracaí, seguido por Cândido Mota e Assis.

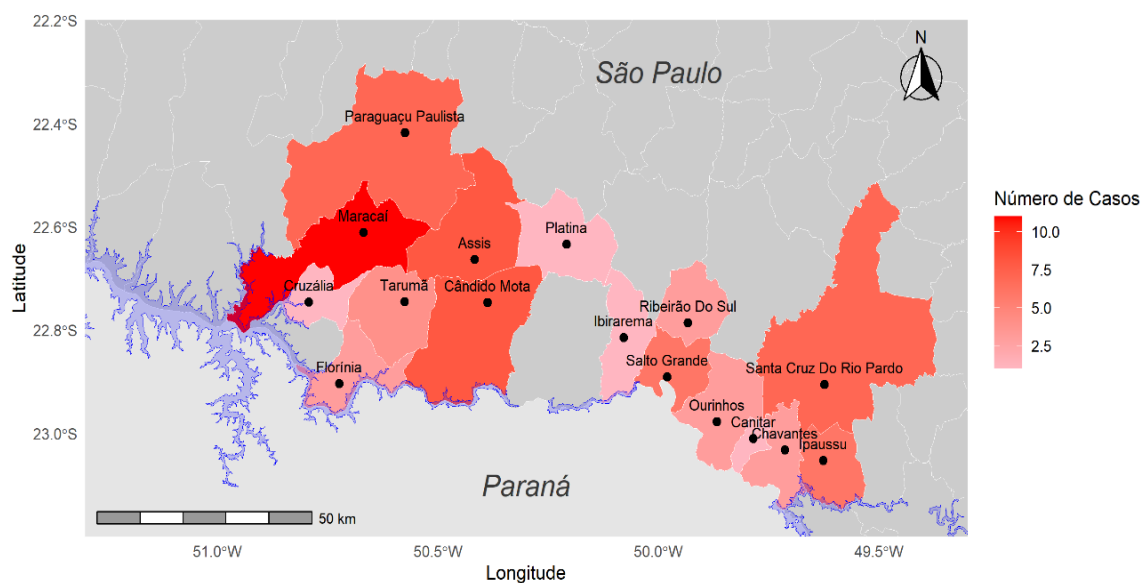


Figura 2 – Municípios com registros confirmados de FMB, no período de 2007 a 2021, na região do Médio Paranapanema (UGRHI-17), São Paulo, Brasil.

Na figura 3 estão representados os pontos correspondentes aos registros de FMB na região de abrangência da UGRHI-17 e as sedes dos municípios que registraram casos na região.

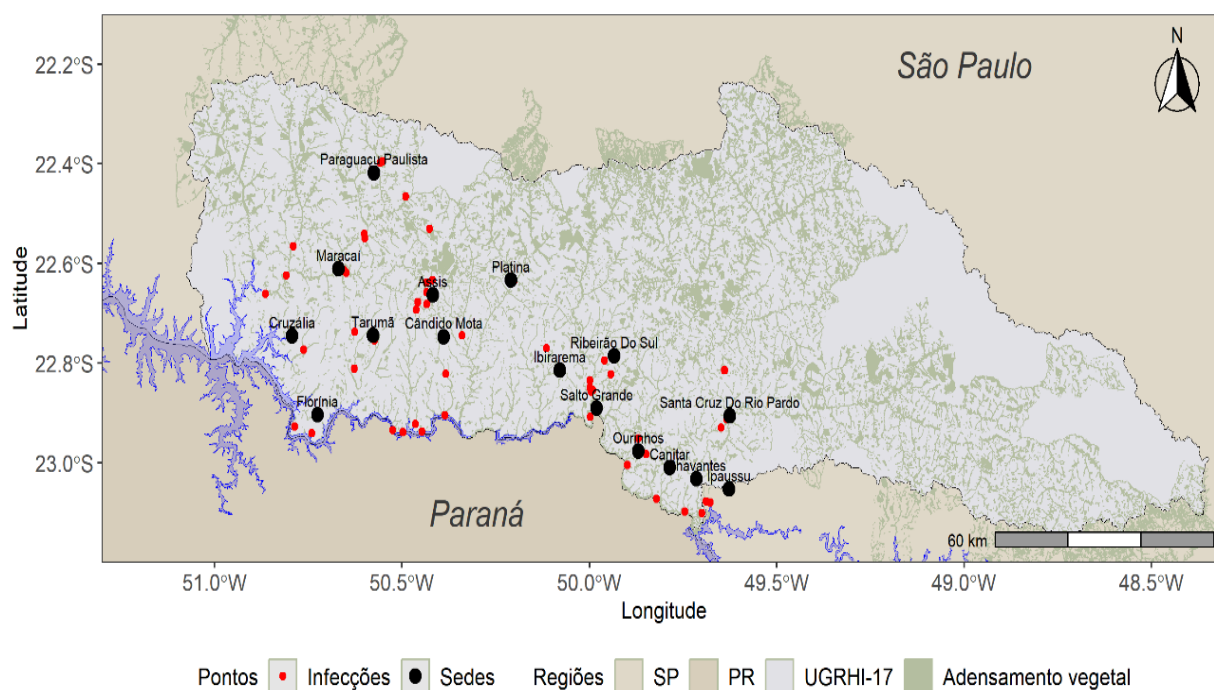


Figura 3 - Pontos correspondentes aos registros confirmados de FMB, no período de 2007 a 2021, na região do Médio Paranapanema (UGRHI-17), São Paulo, Brasil e as sedes dos municípios com registro de casos.

De acordo com a figura 3, as infecções ocorreram fora da sede administrativa do município (área rural), exceto nos municípios de Assis, Ipaussu, Maracaí, Ourinhos, Platina, Santa Cruz do Rio Pardo, Salto Grande e Tarumã, que apresentaram locais prováveis de infecção em área rural, urbana ou periurbana.

Os *hot spots* no presente estudo mostraram adensamento de pontos na Região Sul, com identificação de dois clusters para FMB na região estudada (Figura 4).

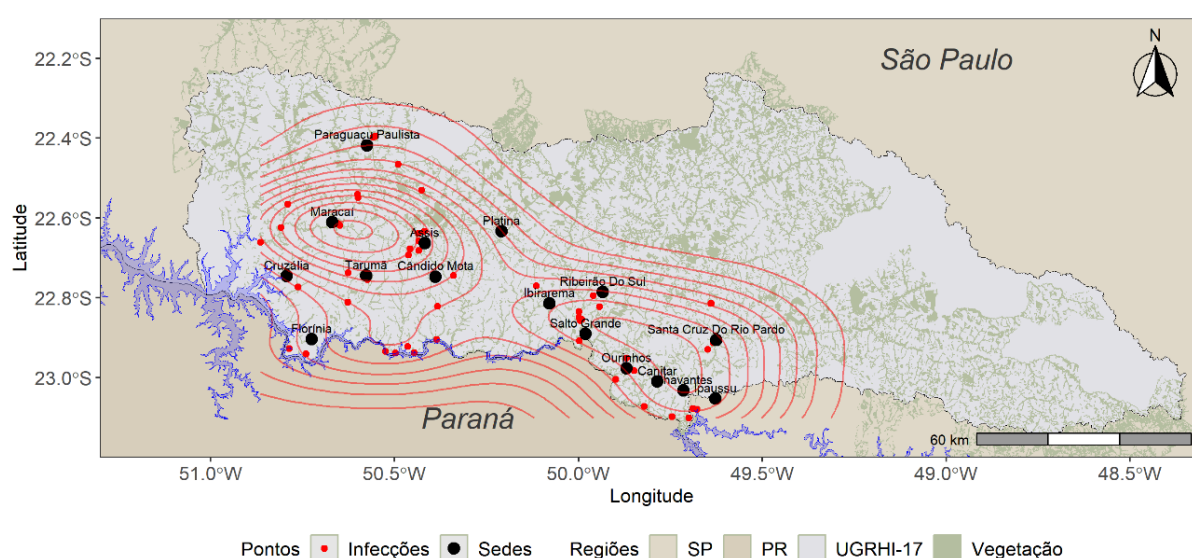


Figura 4 – Clusters de casos de FMB confirmados no período de 2007 a 2021, na região do Médio Paranapanema (UGRHI-17), São Paulo, Brasil.

De acordo com a figura 4, houve dois clusters de FMB, um na região de Maracaí e outro em Ourinhos. Em contrapartida, é possível observar que não houve registro de casos em alguns dos municípios que delimitavam as sedes regionais de Ourinhos e Assis. Além disso, houve maior número de casos próximo a corpos hídricos (Rio Paranapanema ou afluentes).

Das 74 ocorrências, 38 áreas foram pesquisadas para captura de carrapatos, sendo: 31 com encontro de *Amblyomma sculptum*; 5 pesquisas negativas; 1 com *Rhipicephalus* sp.; 1 com encontro de *A. sculptum*, *Rhipicephalus* sp. e *Anocentor* sp.

O estudo demonstrou a predominância do encontro de *A. sculptum* nos locais prováveis

de infecção humanos (LPI), todos apresentando características antropizadas: mata remanescente, corpo d'água (rio, represa, açude, córrego, lagoa, “brejo”), plantações de cana, milho, soja, mandioca, pastagens, vestígios de capivaras (pegadas, fezes), locais específicos para pesca (“estaleiros”), lazer e caça.

A letalidade da FMB calculada foi de 68,9%, considerando-se o período do estudo.

4. Discussão

O presente estudo compilou os registros de FMB em uma região na qual existe uma das mais importantes bacias hidrográficas da região Sudeste/Sul do Brasil.

De 2007 a 2021, foram registrados 74 casos, com incidência média de 1,06 casos/ano para cada 100.000 pessoas, superior ao observado previamente em estudos que avaliaram a incidência da doença no Estado de São Paulo (Polo et al., 2015; Santos et al., 2023). A letalidade neste estudo (68,9%) superou aquela estimada (60%) para todo o Estado de São Paulo (CVE, 2023), no qual é observado o maior número de casos de FMB no Brasil.

Uma das possibilidades para o elevado registro de FMB no Estado de São Paulo seria a ampla vigilância e notificação de casos. Entretanto, no presente estudo, dos 25 municípios incluídos, a FMB foi registrada em 16 deles, o que sugere a subnotificação de casos prováveis ou identificação imprecisa/ausente de LPIs. Um dos principais achados foi a presença de dois clusters para FMB e inexistência de casos em uma área situada entre as duas cidades mais populosas da região estudada (Assis e Ourinhos), que apresentam características ambientais semelhantes. Esses dados apontam a necessidade da utilização de um sistema consistente de vigilância de casos humanos (Zhang et al., 2023) e ambiental, e também, a implementação de programas de vigilância epidemiológica em áreas de *hot spots* (Polo et al., 2015).

Outra hipótese para o maior registro de FMB no Estado de São Paulo esteja associada à expansão agrícola. A ampliação das áreas cultivadas de cana-de-açúcar na região se traduziria em um aumento da densidade populacional de capivaras (Polo et al., 2015). As atividades

humanas podem ser responsabilizadas pela amplificação das infecções por FMB e, com o aumento dos grupos de capivaras, inclusive em áreas urbanas e periurbanas, as possibilidades de controle da doença, enfrentam uma situação complexa que envolve aspectos técnicos, éticos, sociais e políticos (Szabó et al., 2013).

No nosso estudo foram observados dois *clusters*, apontando para um adensamento de casos em locais próximos a cursos hídricos. Estudos têm mostrado que locais onde há presença de corpos d'água, estes representam fator de risco para infecção por FMB no estado de São Paulo (Labruna, 2009) e outras regiões do Brasil (Carvalho Júnior, 2024). Esses ambientes são favoráveis ao trânsito de populações de capivaras (Campos-Krauer e Wisely, 2011) que se constituem em hospedeiros de carrapatos vetores e amplificadores de FMB (Ramírez-Hernández, 2020). Ademais, a prática de atividades laborais e de lazer, podem facilitar o ciclo de transmissão da FMB, reforçando assim a necessidade da adoção de medidas educativas e preventivas (Pinter et al., 2021; Brasil, 2024).

As áreas preservadas apresentam menor circulação de rickettsias quando comparadas a áreas antropizadas, estando a doença intimamente relacionada ao desmatamento e modificação de ambientes naturais (Pesenato et al., 2023). Neste estudo, a FMB foi registrada em áreas rurais, urbanas e periurbanas, caracterizadas como áreas antropizadas (Bovo et al., 2016). Esse achado mostra a importância de vigilância de FMB tanto no ambiente rural como em ambientes urbanos e periurbanos, reforçando a necessidade de controle de trânsito de capivaras e da adoção de medidas para minimizar o contato humano-carrapato, intencionando mitigar a transmissão de *Rickettsia* spp.

Neste estudo, *A. sculptum* foi a espécie de carrapato predominante nas áreas de ocorrências dos casos de FMB, em concordância com trabalho realizado em outras regiões do Estado de São Paulo, no qual *A. sculptum* foi a espécie mais abundante em áreas antropizadas, com condições apropriadas para a manutenção do ciclo do carrapato e transmissão da doença (Luz et al., 2019), uma vez que a febre maculosa é um problema de saúde global, emergente e

reemergente, influenciada pela distribuição de carrapatos e configuração dos ambientes (Zhang et al., 2023).

No presente estudo, foi observada a presença de *hot spots* com adensamento de pontos na Região Sul da área estudada e ocorrência de casos de FMB na margem direita do Rio Paranapanema e de seus afluentes. Essa área fornece os recursos necessários para proliferação de capivaras, como corpos d'água e alimentação em abundância, principalmente proveniente do cultivo de cana-de-açúcar. Embora este roedor utilize os ambientes aquáticos para termorregulação corpórea, proteção, abrigo e reprodução, a dispersão das mesmas é facilitada pela existência de água, permitindo a conexão e expansão de habitats. Nesse sentido, a região estudada apresenta condições ideais para trânsito e manutenção de populações de capivaras (Rocha et al., 2017).

O nosso estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, os dados foram obtidos a partir dos sistemas de notificação e vigilância, representando apenas os indivíduos notificados pelo sistema de saúde, desconsiderando-se possíveis ocorrências não notificadas, e também, apenas o período de quinze anos de série histórica analisado. Além disso, os locais prováveis de infecção foram obtidos a partir de relatos das investigações epidemiológicas, podendo ser considerados não totalmente precisos, apesar dos esforços de profissionais do serviço de vigilância epidemiológica para melhor defini-los. Outra limitação foi o algoritmo utilizado para avaliação dos clusters, que depende da escolha dos parâmetros para determinação dos pontos, o que poderia levar a resultados inconsistentes. Contudo, nossos resultados concordam com uma análise preliminar baseada em gráfico de densidade de pontos em um espaço de duas dimensões utilizando um método de estimativa de densidade de Kernel.

Há perspectiva de estudos futuros, no sentido de aprofundar as causas da ausência de notificações em municípios na área estudada, maior detalhamento dos ambientes com ocorrência de casos e desenvolvimento de práticas de intervenção social e processos educativos, com vistas a minimizar a ocorrência e letalidade da FMB.

5. Conclusão

Os resultados do presente estudo mostram a ocorrência de FMB com alta taxa de letalidade em ambiente com condições para manutenção de capivaras e carrapatos. A presença de área sem registro de casos entre os clusters de FMB na região, reforçam a necessidade do desenvolvimento de programas educativos voltados à capacitação das equipes de saúde para notificação, tratamento adequado e em período oportuno do agravo, e também dirigidos à população, com o intuito de reduzir o contato carrapato-humano, para a mitigação da infecção por FMB.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Ao Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE) do Estado de São Paulo, Brasil, pela cessão dos dados epidemiológicos de FMB. À SUCEN, pela cessão dos dados acarológicos e ambientais dos locais prováveis de infecção dos casos de FMB.

Referências Bibliográficas

- Angerami RN, Câmara M, Pacola MR, Rezende RC, Duarte RM, Nascimento EM, Colombo S, Santos FC, Leite RM, Katz G, Silva LJ. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3: 346-8. doi: 10.1016/j.ttbdis.2012.10.010.
- Bivand RS, Wong DWS. Comparing implementations of global and local indicators of spatial association. *TEST.* 2018; 27: 716–48. doi: 10.1007/s11749-018-0599-x.
- Bovo AAA, Ferraz KMPMB, Verdade LM, Moreira JR. Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in Anthropogenic Environments: Challenges and Conflicts. In: Gheler-Costa C, Lyra-Jorge MC, Verdade LM. *Biodiversity in Agricultural Landscapes of Southeastern Brazil.* Publisher: De Gruyter Open; 2016. p. 178–89. doi: 10.1515/9783110480849-013.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Febre maculosa. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-maculosa>. Acesso em: 23 nov 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Nota Técnica Nº 75/2023-CGZV/DEDT/SVSA/MS SEI/MS - Orientações da Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde as Secretarias Estaduais de Saúde para o período de sazonalidade da febre maculosa no Brasil e dá outros encaminhamentos. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-maculosa/notas-tecnicas/nota-tecnica-no-752023-cgzv-dedt-svsa-ms/view>. Acesso em: 20 nov 2024.

Camara MRG, Caldarelli, CE. Expansão canavieira e o uso da terra no estado de São Paulo. Dilemas ambientais e fronteiras do conhecimento I. Estud av. 2016; 30. doi: 10.1590/S0103-40142016.30880008.

Campos-Krauer JM, Wisely SM. Deforestation and cattle ranching drive rapid range expansion of capybara in the Gran Chaco ecosystem. Glob Change Biol. 2011; 17: 206-18. doi: 10.1111/j.1365-2486.2010.02193.x.

Carvalho Júnior CG, Belo VS, Teixeira Neto RG, Melo SN, Gazeta GS, Silva ES da. Análise de fatores predisponentes e ações de intervenção na febre maculosa brasileira em município endêmico. OLEL. 2024; 22: e4880. doi: 10.55905/oelv22n5-172

CETESB. Enquadramento dos Corpos Hídricos – Arquivos digitais. Águas Interiores. 2016. Disponível em: <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/enquadramento-dos-corpos-hidricos-arquivos-digitais/>. Acesso em: 8 out 2024.

CVE. Centro de Vigilância Epidemiológica. Orientações técnicas: Febre maculosa. 2023. Disponível em: <https://portal.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/agrivos/febre-maculosa/documentos-tecnicos>. Acesso em: 23 nov 2024.

DATAGEO. Painel verde. 2024. Disponível em: <https://datageo.ambiente.sp.gov.br/app/?ctx=PAINELVERDE#>. Acesso em: 8 out 2024.

DATASUS. Ministério da Saúde. Tecnologia da informação a serviço do SUS. População Residente - Estudo de Estimativas Populacionais por Município, Idade e Sexo 2000-2021 – Brasil. 2021. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/defthtohtm.exe?ibge/cnv/popsvsbr.def>. Acesso em: 05 jun 2024.

de Oliveira SV, Guimarães JN, Reckziegel GC, Neves BM, Araújo-Vilges KM, Fonseca LX, Pinna FV, Pereira SV, de Caldas EP, Gazeta GS, Gurgel-Gonçalves R. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2016; 22: 22. doi: 10.1186/s40409-016-0077-4.

Donalisio MR, Souza CE, Angerami RN, Samy AM. Mapping Brazilian spotted fever: Linking etiological agent, vectors, and hosts. Acta Trop. 2020; 207: 105496. doi: 10.1016/j.actatropica.2020.105496.

Ferraz KMPMB, Ferraz SFB, Moreira JR, Couto HTZ, Verdade LM. Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) distribution in agroecosystems: a cross-scale habitat analysis. J Biogeogr. 2007; 34, 223–230. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01568.x.

IBGE. Malha municipal. 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/organizacao-do-territorio/malhas-territoriais/15774-malhas.html>. Acesso em: 1 fev 2024.

Labruna MB. Ecology of *Rickettsia* in South America. Ann N Y Acad Sci. 2009; 1166: 156-166. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.04516.x.

Labruna MB, Santos FC, Ogrzewalska M, Nascimento EM, Colombo S, Marcili A, Angerami RN. Genetic identification of rickettsial isolates from fatal cases of Brazilian spotted fever and comparison with *Rickettsia rickettsii* isolates from the American continents. J Clin Microbiol. 2014; 52: 3788-91. doi: 10.1128/JCM.01914-14.

Lourenzani WL, Caldas MM. Land use change from the sugar cane expansion in the western region of São Paulo state, Brazil. Ciência Rural. 2014; 44: 1980-7. doi: 10.1590/0103-8478cr20140186.

Luz HR, Costa FB, Benatti HR, Ramos VN, Serpa MCA, Martins TF, et al. Epidemiologia da febre maculosa brasileira associada à capivara. Plos Negl TropDis. 2019; 13: e0007734. doi: 10.1371/journal.pntd.0007734.

Molijn RA, Iannini L, Rocha JV, Hanssen RF. Ground reference data for sugarcane biomass estimation in São Paulo State, Brazil. Sci Data. 2018; 5:180150. doi: 10.1038/sdata.2018.150.

Monteiro GG, Peronti ALBG, Martinelli NM. Distribution, abundance and seasonality of scale insects in sugarcane crops in the state of São Paulo. Braz J Biol. 2021; 83: e250879. doi: 10.1590/1519-6984.250879.

Nogueira Angerami R, Nunes EM, Mendes Nascimento EM, Ribas Freitas A, Kemp B, Feltrin AF, Pacola MR, Perecin GE, Sinkoc V, Ribeiro Resende M, Katz G, Jacintho da Silva L. Clusters of Brazilian spotted fever in São Paulo State, southeastern Brazil. A review of official reports and the scientific literature. Clin Microbiol Infect. 2009; 15 Suppl 2: 202-4. doi: 10.1111/j.1469-0691.2008.02637.x.

Otomura FH, Truppel JH, Moraes J Filho, Labruna MB, Rossoni DF, Massafra R, Soccol VT, Teodoro U. Probability of occurrence of the Brazilian spotted fever in northeast of Paraná state, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2016; 25: 394-400. doi: 10.1590/S1984-29612016060.

Pesenato IP, Costa JOJ, Serpa MCA, Soares HS, Fakelmann T, Castelli GSN, Martins TF, Labruna MB, Bastos FAN, Marcili A. Diversidade de carrapatos e infecção natural por rickettsia em remanescente primário de Mata Atlântica no Estado de São Paulo, Brasil, Braz J Infect Dis. 2023; 27: 103526. doi: 10.1016/j.bjid.2023.103526.

Pinter A, Sabbo C, Leite R, Spinola R, Angerami R. Informe técnico sobre Febre Maculosa Brasileira. In: BEPA - Boletim Epidemiológico Paulista. 2021; 18 (213): 54-78. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/BEPA182/issue/archive>. Acesso em 19 nov 2024.

Polo G, Labruna MB, Ferreira F. Satellite hyperspectral imagery to support tick-borne infectious diseases surveillance. PLoS One. 2015; 10: e0143736. doi: 10.1371/journal.pone.0143736.

Polo G, Mera Acosta C, Labruna MB, Ferreira F. Transmission dynamics and control of *Rickettsia rickettsii* in populations of *Hydrochoerus hydrochaeris* and *Amblyomma sculptum*. PLoS Negl Trop Dis. 2017; 11: e0005613. doi: 10.1371/journal.pntd.0005613.

Ramírez-Hernández A, Uchoa F, Serpa MCA, Binder LC, Souza CE, Labruna MB. Capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) as amplifying hosts of *Rickettsia rickettsii* to *Amblyomma sculptum* ticks: Evaluation during primary and subsequent exposures to *R. rickettsii* infection.

Ticks Tick Borne Dis. 2020; 11:101463. doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101463.

Rocha VJ, Sekiama ML, Gonçalves DD, Sampieri BR, Barbosa GP, Dias TC, Rossi HR, Souza PFP. Capivaras (*Hydrochoerus Hydrochaeris*) e a presença do carrapato *Amblyomma Sculptum* no câmpus de UFSCAR- Araras, São Paulo. *Ciênc Anim Bras*. 2017; 18. doi: 10.1590/1089-6891v18e-44671.

Rodrigues CM, Dourado F, Marinho DS, Gazêta GS, Geise L. Mapping potential risks for the transmission of spotted fever rickettsiosis: The case study from the Rio de Janeiro state, Brazil. *PLoS One*. 2022; 17: e0270837. doi: 10.1371/journal.pone.0270837.

Santos VS, Siqueira TS, Silva JRS. Temporal trends and spatial distribution of Brazilian spotted fever in Brazil. *J Travel Med*. 2023; 30: taad116. doi: 10.1093/jtm/taad116.

Spernovasilis N, Markaki I, Papadakis M, Mazonakis N, Ierodiakonou D. Mediterranean Spotted Fever: Current Knowledge and Recent Advances. *Trop Med Infect Dis*. 2021 Sep 24;6(4):172. doi: 10.3390/tropicalmed6040172. PMID: 34698275; PMCID: PMC8544691.

Szabó MP, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol*. 2013; 3: 27. doi: 10.3389/fcimb.2013.00027.

Xavier DR, Albuquerque MP, Sousa-Carmo SVT, Pinter A. Evaluation of completeness and timeliness of data in the National Information System for Notifiable Diseases for spotted fever in the state of São Paulo, Brazil, 2007-2017. *Epidemiol Serv Saude*. 2023; 32: e2022416. doi: 10.1590/S2237-96222023000200011.

Zhang YY, Sun YQ, Chen JJ, Teng AY, Wang T, Li H, Hay SI, Fang LQ, Yang Y, Liu W. Mapping the global distribution of spotted fever group rickettsiae: a systematic review with modelling analysis. *Lancet Digit Health*. 2023; 5: e5-15. doi: 10.1016/S2589-7500(22)00212-6.

ANEXO 1 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

04/12/2024, 10:42

unoeste.br/sgp2/Certificado/Ver/53f5318eb5437a0e2a1492cc55c78349

UNOESTE - Universidade do Oeste Paulista

PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PPG - Programa de Pesquisa de Pós-Graduação

Parecer Final

Declaramos para os devidos fins que o Projeto de Pesquisa intitulado "ASPECTOS ECOEPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA NA REGIÃO DO MÉDIO PARANAPANEMA, ESTADO DE SÃO PAULO", cadastrado na Coordenadoria de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação (CPDI) sob o número n° 7647 e tendo como participante(s) LARA GIORDANO ROSA XAVIER (discente), ADRIANO PENTER DOS SANTOS (participante externo/voluntário), ROGERIO GIUFFRIDA (docente), VAMILTON ALVARES SANTAREM (orientador responsável), foi avaliado e APROVADO pelo COMITÊ ASSESSOR DE PESQUISA INSTITUCIONAL (CAPI) e COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP) da Universidade do Oeste Paulista - UNOESTE de Presidente Prudente/SP.

Presidente Prudente, 16 de Setembro de 2022.



Prof. Dr. Jair Rodrigues Garcia Jr.
Docente Responsável pela CPDI



Profa. Dra. Fátima de Maria Serra
Coordenadora do CEP - UNOESTE

APÊNDICE 1 - ARTIGO 1: NORMAS DA REVISTA TROPICAL MEDICINE AND INFECTIOUS DISEASE

(<https://www.mdpi.com/journal/tropicalmed/instructions>).

Manuscript Preparation

General Considerations

- **Research manuscripts** should comprise:
 - **Front matter:** Title, Author list, Affiliations, Abstract, Keywords.
 - **Research manuscript sections:** Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions (optional).
 - **Back matter:** Supplementary Materials, Acknowledgments, Author Contributions, Conflicts of Interest, References.
- **Review manuscripts** should comprise:
 - **Front matter:** Title, Author list, Affiliations, Abstract, Keywords.
 - Review sections: a literature review organized logically within specific sections and subsections (optional).
 - **Back matter:** Acknowledgments, Author Contributions, Conflicts of Interest, References.

The **template file** can be also used to prepare the front and back matter of your review manuscript. It is not necessary to follow the remaining structure.

Structured reviews and meta-analyses should use the same structure as research articles and should ensure they conform to the **PRISMA** guidelines.

- **Case reports** should include a succinct introduction about the general medical condition or relevant symptoms that will be discussed in the case report; the case presentation including all of the relevant de-identified demographic and descriptive information about the patient(s), and a description of the symptoms, diagnosis, treatment, and outcome; a discussion providing context and any necessary explanation of specific treatment decisions; a conclusion briefly outlining the take-home message and the lessons learned.
- **Graphical Abstract:**

A graphical abstract (GA) is an image that appears alongside the text abstract in the Table of Contents. In addition to summarizing the content, it should represent the topic of the article in an attention-grabbing way. Moreover, it should not be exactly the same as the Figure in the paper or just a simple superposition of several subfigures. Note that the GA must be original and unpublished artwork. Any postage stamps, currency from any country, or trademarked items should not be included in it.

The GA should be a high-quality illustration or diagram in any of the following formats: PNG, JPEG, or TIFF. Written text in a GA should be clear and easy to read, using one of the following fonts: Times, Arial, Courier, Helvetica, Ubuntu or Calibri.

The minimum required size for the GA is 560 × 1100 pixels (height × width). The size should be of high quality in order to reproduce well.

- **Acronyms/Abbreviations/Initialisms** should be defined the first time they appear in each of three sections: the abstract; the main text; the first figure or table. When defined for the first time, the acronym/abbreviation/initialism should be added in parentheses after the written-out form.

- **SI Units** (International System of Units) should be used. Imperial, US customary and other units should be converted to SI units whenever possible.
- **Accession numbers** of RNA, DNA and protein sequences used in the manuscript should be provided in the Materials and Methods section. Also see the section on [Deposition of Sequences and Expression Data](#).
- **Equations:** If you are using Word, please use either the Microsoft Equation Editor or the MathType add-on. Equations should be editable by the editorial office and not appear in a picture format.
- **Research Data and supplementary materials:** Note that publication of your manuscript implies that you must make all materials, data, and protocols associated with the publication available to readers. Disclose at the submission stage any restrictions on the availability of materials or information. Read the information about [Supplementary Materials](#) and Data Deposit for additional guidelines.
- **Preregistration:** Where authors have preregistered studies or analysis plans, links to the preregistration must be provided in the manuscript.
- **Guidelines and standards:** MDPI follows standards and guidelines for certain types of research. See https://www.mdpi.com/editorial_process for further information.
- **New Species Description:** Manuscripts that describe new or revised taxon names must be registered in [ZooBank](#), as required by the International Code of Zoological Nomenclature, after article acceptance following peer review. This ensures that your article is officially recorded as the first paper to describe the new species. The ZooBank unique identification code (LSID—Life Science Identifier) should be provided at the final proofreading stage, on the first page of your manuscript, following the affiliations, so that it is included in your published article. An LSID is represented as a uniform resource name (URN) with the following format: urn:lsid:<Authority>:<Namespace>:<ObjectID>[:<Version>]. Authors will be asked to alert ZooBank with the final citation following publication. For further help registering with ZooBank, please go to [Help](#).

[\[Return to top\]](#)

Front Matter

These sections should appear in all manuscript types

- **Title:** The title of your manuscript should be concise, specific and relevant. It should identify if the study reports (human or animal) trial data, or is a systematic review, meta-analysis or replication study. When gene or protein names are included, the abbreviated name rather than full name should be used. Please do not include abbreviated or short forms of the title, such as a running title or head. These will be removed by our Editorial Office.
- **Author List and Affiliations:** Authors' full first and last names must be provided. The initials of any middle names can be added. The PubMed/MEDLINE standard format is used for affiliations: complete address information including city, zip code, state/province, and country. At least one author should be designated as the corresponding author. The email addresses of all authors will be displayed on published papers. It is the responsibility of the corresponding author to ensure that consent for the display of email addresses is obtained from all authors. If an author (other than the corresponding author) does not wish to have their email addresses displayed in this way, the corresponding author must indicate as such during proofreading. After acceptance, updates to author names or affiliations may not be permitted. Equal Contributions: authors who have contributed equally should be marked with a superscript symbol (†). The symbol must be

included below the affiliations, and the following statement added: “These authors contributed equally to this work”. The equal roles of authors should also be adequately disclosed in the author contributions statement. Please read the criteria to qualify for authorship.

- **Abstract:** The abstract should be a total of about 200 words maximum. The abstract should be a single paragraph and should follow the style of structured abstracts, but without headings: 1) Background: Place the question addressed in a broad context and highlight the purpose of the study; 2) Methods: Describe briefly the main methods or treatments applied. Include any relevant preregistration numbers, and species and strains of any animals used; 3) Results: Summarize the article's main findings; and 4) Conclusion: Indicate the main conclusions or interpretations. The abstract should be an objective representation of the article: it must not contain results which are not presented and substantiated in the main text and should not exaggerate the main conclusions.
- **Keywords:** Three to ten pertinent keywords need to be added after the abstract. We recommend that the keywords are specific to the article, yet reasonably common within the subject discipline.

Research Manuscript Sections

- **Introduction:** The introduction should briefly place the study in a broad context and highlight why it is important. It should define the purpose of the work and its significance, including specific hypotheses being tested. The current state of the research field should be reviewed carefully and key publications cited. Please highlight controversial and diverging hypotheses when necessary. Finally, briefly mention the main aim of the work and highlight the main conclusions. Keep the introduction comprehensible to scientists working outside the topic of the paper.
- **Materials and Methods:** They should be described with sufficient detail to allow others to replicate and build on published results. New methods and protocols should be described in detail while well-established methods can be briefly described and appropriately cited. Give the name and version of any software used and make clear whether computer code used is available. Include any pre-registration codes.
- **Results:** Provide a concise and precise description of the experimental results, their interpretation as well as the experimental conclusions that can be drawn.
- **Discussion:** Authors should discuss the results and how they can be interpreted in perspective of previous studies and of the working hypotheses. The findings and their implications should be discussed in the broadest context possible and limitations of the work highlighted. Future research directions may also be mentioned. This section may be combined with Results.
- **Conclusions:** This section is not mandatory but can be added to the manuscript if the discussion is unusually long or complex.
- **Patents:** This section is not mandatory but may be added if there are patents resulting from the work reported in this manuscript.

[\[Return to top\]](#)

Back Matter

- **Supplementary Materials:** Describe any supplementary material published online alongside the manuscript (figure, tables, video, spreadsheets, etc.). Please indicate the name and title of each element as follows Figure S1: title, Table S1: title, etc.

- **Author Contributions:** Each author is expected to have made substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data; or the creation of new software used in the work; or have drafted the work or substantively revised it; AND has approved the submitted version (and version substantially edited by journal staff that involves the author's contribution to the study); AND agrees to be personally accountable for the author's own contributions and for ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work, even ones in which the author was not personally involved, are appropriately investigated, resolved, and documented in the literature. For research articles with several authors, a short paragraph specifying their individual contributions must be provided. The following statements should be used "Conceptualization, X.X. and Y.Y.; Methodology, X.X.; Software, X.X.; Validation, X.X., Y.Y. and Z.Z.; Formal Analysis, X.X.; Investigation, X.X.; Resources, X.X.; Data Curation, X.X.; Writing – Original Draft Preparation, X.X.; Writing – Review & Editing, X.X.; Visualization, X.X.; Supervision, X.X.; Project Administration, X.X.; Funding Acquisition, Y.Y.", please turn to the [CRediT taxonomy](#) for the term explanation. For more background on CRediT, see [here](#). **"Authorship must include and be limited to those who have contributed substantially to the work. Please read the section concerning the [criteria to qualify for authorship](#) carefully".**
- **Funding:** All sources of funding of the study should be disclosed. Clearly indicate grants that you have received in support of your research work and if you received funds to cover publication costs. Note that some funders will not refund article processing charges (APC) if the funder and grant number are not clearly and correctly identified in the paper. Funding information can be entered separately into the submission system by the authors during submission of their manuscript. Such funding information, if available, will be deposited to FundRef if the manuscript is finally published. Please add: "This research received no external funding" or "This research was funded by [name of funder] grant number [xxx]" and "The APC was funded by [XXX]" in this section. Check carefully that the details given are accurate and use the standard spelling of funding agency names at <https://search.crossref.org/funding>, any errors may affect your future funding.
- **Institutional Review Board Statement:** In this section, please add the Institutional Review Board Statement and approval number for studies involving humans or animals. Please note that the Editorial Office might ask you for further information. Please add "The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of NAME OF INSTITUTE (protocol code XXX and date of approval)." OR "Ethical review and approval were waived for this study, due to REASON (please provide a detailed justification)." OR "Not applicable" for studies not involving humans or animals. You might also choose to exclude this statement if the study did not involve humans or animals.
- **Informed Consent Statement:** Any research article describing a study involving humans should contain this statement. Please add "Informed consent was obtained from all subjects involved in the study." OR "Patient consent was waived due to REASON (please provide a detailed justification)." OR "Not applicable." for studies not involving humans. You might also choose to exclude this statement if the study did not involve humans.

Written informed consent for publication must be obtained from participating patients who can be identified (including by the patients themselves). Please state "Written informed consent has been obtained from the patient(s) to publish this paper" if applicable.

- **Data Availability Statement:** In this section, please provide details regarding where data supporting reported results can be found, including links to publicly archived datasets analyzed or generated during the study. Please refer to suggested Data Availability Statements in section “[MDPI Research Data Policies](#)”. You might choose to exclude this statement if the study did not report any data.
- **Acknowledgments:** In this section you can acknowledge any support given which is not covered by the author contribution or funding sections. This may include administrative and technical support, or donations in kind (e.g., materials used for experiments).
- **Conflicts of Interest:** Authors must identify and declare any personal circumstances or interest that may be perceived as influencing the representation or interpretation of reported research results. If there is no conflict of interest, please state "The authors declare no conflict of interest." Any role of the funding sponsors in the choice of research project; design of the study; in the collection, analyses or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results must be declared in this section. *TropicalMed* does not publish studies funded partially or fully by the tobacco industry. Any projects funded by industry must pay special attention to the full declaration of funder involvement. If there is no role, please state “The sponsors had no role in the design, execution, interpretation, or writing of the study”. For more details please see [Conflict of Interest](#).
- **References:** References must be numbered in order of appearance in the text (including table captions and figure legends) and listed individually at the end of the manuscript. We recommend preparing the references with a bibliography software package, such as [EndNote](#), [ReferenceManager](#) or [Zotero](#) to avoid typing mistakes and duplicated references. We encourage citations to data, computer code and other citable research material. If available online, you may use reference style 9. below.
- Citations and References in Supplementary files are permitted provided that they also appear in the main text and in the reference list.

In the text, reference numbers should be placed in square brackets [], and placed before the punctuation; for example [1], [1–3] or [1,3]. For embedded citations in the text with pagination, use both parentheses and brackets to indicate the reference number and page numbers; for example [5] (p. 10). or [6] (pp. 101–105).

The reference list should include the full title, as recommended by the ACS style guide. Style files for [Endnote](#) and [Zotero](#) are available.

References should be described as follows, depending on the type of work:

- Journal Articles:
1. Author 1, A.B.; Author 2, C.D. Title of the article. *Abbreviated Journal Name* **Year**, *Volume*, page range.
- Books and Book Chapters:
2. Author 1, A.; Author 2, B. *Book Title*, 3rd ed.; Publisher: Publisher Location, Country, Year; pp. 154–196.
3. Author 1, A.; Author 2, B. Title of the chapter. In *Book Title*, 2nd ed.; Editor 1, A., Editor 2, B., Eds.; Publisher: Publisher Location, Country, Year; Volume 3, pp. 154–196.
- Unpublished materials intended for publication:
4. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work (optional). Correspondence Affiliation, City, State, Country. year, *status (manuscript in preparation; to be submitted)*.
5. Author 1, A.B.; Author 2, C. Title of Unpublished Work. *Abbreviated Journal Name* year, *phrase indicating stage of publication (submitted; accepted; in press)*.

- Unpublished materials not intended for publication:
6. Author 1, A.B. (Affiliation, City, State, Country); Author 2, C. (Affiliation, City, State, Country). Phase describing the material, year. (phase: Personal communication; Private communication; Unpublished work; etc.)
- Conference Proceedings:
7. Author 1, A.B.; Author 2, C.D.; Author 3, E.F. Title of Presentation. In *Title of the Collected Work* (if available), Proceedings of the Name of the Conference, Location of Conference, Country, Date of Conference; Editor 1, Editor 2, Eds. (if available); Publisher: City, Country, Year (if available); Abstract Number (optional), Pagination (optional).
- Thesis:
8. Author 1, A.B. Title of Thesis. Level of Thesis, Degree-Granting University, Location of University, Date of Completion.
- Websites:
9. Title of Site. Available online: URL (accessed on Day Month Year). Unlike published works, websites may change over time or disappear, so we encourage you create an archive of the cited website using a service such as [WebCite](#). Archived websites should be cited using the link provided as follows:
10. Title of Site. URL (archived on Day Month Year).

See the [Reference List and Citations Guide](#) for more detailed information.

[\[Return to top\]](#)

Preparing Figures, Schemes and Tables

TropicalMed can publish multimedia files in articles or as supplementary materials. Please contact the Editorial Office for further information.

Our guidance regarding various aspects of figures, schemes and tables is described below.

Resolution, color and format:

- All figures should be of a high quality (preferably no less than 600 dpi) in PNG, JPEG or TIFF formats.
- Authors are encouraged to prepare figures and schemes in color (RGB at 8-bit per channel). There is no additional cost for publishing full-color graphics.
- Images should be combined to avoid any issues during formatting changes. There should be no editable parts in the images.
- All table columns should have an explanatory heading. To facilitate the copy-editing of larger tables, smaller fonts (no smaller than 8 pt.) may be used. Authors should use the “Table” option in Microsoft Word to create tables.

Order:

- All figures, schemes and tables should be inserted into the main text close to their first citation and must be numbered following their order of appearance (e.g., Figure 1, Scheme 1, Figure 2, Scheme 2, Table 1, etc.).

Content:

- Generally, figures should contain only English text and the correct mathematical symbols, e.g., - instead of — and decimal points instead of commas.

- The figure content should be complete and the characters should not be masked. Unnecessary marks such as red wavy lines and hard (soft) returns are not allowed.
- A comma should be added in numbers of five or more digits in all figures, schemes and tables. The scientific enumeration should be correct.
- All figures, schemes and tables should have a short explanatory title and caption. Any special characters or icons in an image, e.g., *, **, and #, need to have a corresponding explanation in the caption.

Copyright:

- Reprinted/adapted figures or tables may have copyright issues. Whether copyright permission is required and should be obtained will need to be determined. Please add the corresponding copyright-related content in the caption if required (please refer to **Intellectual Property i.a. Copyright, Patent and Licensing**).

Please note that MDPI offers professional support for creating publication-ready figures that clearly communicate your research to readers. Learn more about the Figure Editing Service [here](#).

APÊNDICE 2 - ARTIGO 2: NORMAS DA REVISTA PLOS ONE

(<https://journals.plos.org/plosone/s/submission-guidelines>).

Style and Format

File format

Manuscript files can be in the following formats: DOC, DOCX, or RTF. Microsoft Word documents should not be locked or protected.

LaTeX manuscripts must be submitted as PDFs. Read the LaTeX guidelines.

Length

Manuscripts can be any length. There are no restrictions on word count, number of figures, or amount of supporting information.

We encourage you to present and discuss your findings concisely.

Font

Use a standard font size and any standard font, except for the font named “Symbol”. To add symbols to the manuscript, use the Insert → Symbol function in your word processor or paste in the appropriate Unicode character.

Headings

Limit manuscript sections and sub-sections to 3 heading levels. Make sure heading levels are clearly indicated in the manuscript text.

Layout and spacing

Manuscript text should be double-spaced.

Do not format text in multiple columns.

Page and line numbers

Include page numbers and line numbers in the manuscript file. Use continuous line numbers (do not restart the numbering on each page).

Footnotes

Footnotes are not permitted. If your manuscript contains footnotes, move the information into the main text or the reference list, depending on the content.

Language

Manuscripts must be submitted in English.

You may submit translations of the manuscript or abstract as supporting information. Read the supporting information guidelines.

Abbreviations

Define abbreviations upon first appearance in the text.

Do not use non-standard abbreviations unless they appear at least three times in the text.

Keep abbreviations to a minimum.

Reference style

PLOS uses “Vancouver” style, as outlined in the ICMJE sample references.

See reference formatting examples and additional instructions below.

Equations

We recommend using MathType for display and inline equations, as it will provide the most reliable outcome. If this is not possible, Equation Editor or Microsoft's Insert→Equation function is acceptable.

Avoid using MathType, Equation Editor, or the Insert→Equation function to insert single variables (e.g., “ $a^2 + b^2 = c^2$ ”), Greek or other symbols (e.g., β , Δ , or ' [prime]), or mathematical operators (e.g., $\times$, $\geq$, or $\pm$) in running text. Wherever possible, insert single symbols as normal text with the correct Unicode (hex) values.

Do not use MathType, Equation Editor, or the Insert→Equation function for only a portion of an equation. Rather, ensure that the entire equation is included. Equations should not contain a mix of different equation tools. Avoid “hybrid” inline or display equations, in which part is text and part is MathType, or part is MathType and part is Equation Editor.

Nomenclature

Use correct and established nomenclature wherever possible.

Units of measurement Use SI units. If you do not use these exclusively, provide the SI value in parentheses after each value. Read more about SI units.

Drugs Provide the Recommended International Non-Proprietary Name (rINN).

Species names Write in italics (e.g., *Homo sapiens*). Write out in full the genus and species, both in the title of the manuscript and at the first mention of an organism in a paper. After first mention, the first letter of the genus name followed by the full species name may be used (e.g., *H. sapiens*).

Genes, mutations, genotypes, and alleles Write in italics. Use the recommended name by consulting the appropriate genetic nomenclature database (e.g., HGNC for human genes; we strongly recommend using this tool to check against previously approved names). It is sometimes advisable to indicate the synonyms for the gene the first time it appears in the text. Gene prefixes such as those used for oncogenes or cellular localization should be shown in roman typeface (e.g., v-fes, c-MYC).

Allergens

The systematic allergen nomenclature of the World Health Organization/International Union of Immunological Societies (WHO/IUIS) Allergen Nomenclature Sub-committee should be used for manuscripts that include the description or use of allergenic proteins. For manuscripts describing new allergens, the systematic name of the allergen should be approved by the WHO/IUIS Allergen Nomenclature Sub-Committee prior to manuscript publication. Examples of the systematic allergen nomenclature can be found at the WHO/IUIS Allergen Nomenclature site.

Copyediting manuscripts

Prior to submission, authors who believe their manuscripts would benefit from professional editing are encouraged to use language-editing and copyediting services. Obtaining this service is the responsibility of the author, and should be done before initial submission. These services can be found on the web using search terms like “scientific editing service” or “manuscript editing service.”

Submissions are not copyedited before publication.

Submissions that do not meet the PLOS ONE publication criterion for language standards may be rejected.

Manuscript Organization

Manuscripts should be organized as follows. Instructions for each element appear below the list.

Beginning section

The following elements are required, in order:

Title page: List title, authors, and affiliations as first page of the manuscript

Abstract

Introduction

Middle section

The following elements can be renamed as needed and presented in any order:

Materials and Methods

Results

Discussion

Conclusions (optional)

Ending section

The following elements are required, in order:

Acknowledgments

References

Supporting information captions (if applicable)

Other elements

Figure captions are inserted immediately after the first paragraph in which the figure is cited. Figure files are uploaded separately.

Tables are inserted immediately after the first paragraph in which they are cited.

Supporting information files are uploaded separately.

Refer to our downloadable sample files to ensure that your submission meets our formatting requirements:

[Download sample title, author list, and affiliations page \(PDF\)](#)

[Download sample manuscript body \(PDF\)](#)

[Viewing Figures and Supporting Information in the compiled submission PDF](#)

The compiled submission PDF includes low-resolution preview images of the figures after the reference list. The function of these previews is to allow you to download the entire submission as quickly as possible. Click the link at the top of each preview page to download a high-resolution version of each figure. Links to download Supporting Information files are also available after the reference list.