



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISILOGIA ANIMAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM *Rhipicephalus sanguineus*  
(Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) E *Ctenocephalides felis felis*  
(Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**

**RECIFE – PE  
2016**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM *Rhipicephalus sanguineus*  
(Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) E *Ctenocephalides felis felis*  
(Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae)**

**MARIA FERNANDA MELO MONTEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

**RECIFE – PE**

**2016**

Ficha catalográfica

M775d Monteiro, Maria Fernanda Melo  
Detecção de *Rickettsia* spp. em *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera: Pulicidae) / Maria Fernanda Melo Monteiro. – Recife, 2016.  
64 f. : il.

Orientador: Leucio Câmara Alves.  
Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento  
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2016.  
Referências.

1. Reação em cadeia da polimerase 2. Ixodídeos  
3. Sifonápteros 4. Riquetsiose I. Alves, Leucio Câmara,  
orientador II. Título

CDD 636.089



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISILOGIA ANIMAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)  
(Acari: Ixodidae) E *Ctenocephalides felis felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera:  
Pulicidae)**

**MARIA FERNANDA MELO MONTEIRO**

Aprovada em \_\_\_\_\_ de fevereiro de 2016.

**BANCA EXAMINADORA:**

**ORIENTADOR:**

---

**Prof. Dr. Leucio Câmara Alves**  
Departamento de Medicina Veterinária-UFRPE

**EXAMINADORES:**

---

**Prof. Dr<sup>a</sup>. Edna Michelly de Sá Santos**  
Departamento de Medicina Veterinária-UFRPE

---

**Prof. Dr<sup>a</sup>. Márcia Paula de Oliveira Farias**  
Campus Professora Cinobelina Elvas-CPCE-UFPI  
Curso de Medicina Veterinária

---

**Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos**  
Pesquisador CAPES/UFRPE

*A minha avó Lúcia (in memoriam), pela estrutura familiar e por todo o carinho que me dedicou meu eterno amor e agradecimento.*

*Aos meus pais Edson e Maria do Carmo, e  
irmãs Cláudia e Érica pelo amor,  
compreensão, paciência e por terem me  
ensinado que a vida não tem sentido sem as  
pessoas que amamos.*

## **AGRADECIMENTOS**

Em primeiro lugar agradeço a Deus pela força espiritual e por ter iluminando meu caminho para que pudesse concluir esta etapa da minha vida.

A minha tia Edna que sempre torceu, me apoiou e acreditou no meu potencial profissional.

A Victor por sempre estar ao meu lado me apoiando e me compreendendo nos momentos de ausência. Por sua atenção e amor, elementos essenciais à minha realização pessoal.

Aos meus cunhados Frederico e Júlio pela torcida e incentivo.

Ao meu orientador Prof. Dr. Leucio Câmara Alves pela orientação deste trabalho e por ter me dado a oportunidade de trabalhar junto a ele e sua equipe. Muito obrigada pela confiança, paciência em me ensinar e pelas oportunidades.

Aos meus companheiros de coletas, Alexandre, Diogo, Edna, Hanna, Inês, Ingrid, Irma, Marília, Rafael, Raphael e Victor pela dedicação em me ajudar e pelas ótimas aventuras que passamos juntos.

A Ingrid e Rafael Ramos pela ajuda no processamento das amostras.

Aos meus colegas do Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos da Universidade Federal Rural de Pernambuco pelas trocas de conhecimentos e pelos ótimos momentos que passamos juntos.

A Prof. Dra. Maria Aparecida da Gloria Faustino por seus ensinamentos e ajuda durante todo esse tempo.

As minhas grandes amigas Evelyne, Girlene, Haidê, Karine, Lívia, Myllena e Nathalia que me acompanham desde o colégio, obrigada por todas as palavras de incentivo.

Aos proprietários dos animais que permitiram a coleta de material em suas propriedades.

Aos animais, indispensáveis, que mesmo sem entenderem o motivo daquela movimentação em torno deles, permitiram que coletássemos o material para o trabalho.

À CAPES e à FACEPE pelo apoio financeiro.

## RESUMO

As riquetsioses são doenças zoonóticas causadas por bactérias gram-negativas da família Rickettsiaceae sendo transmitidas por diversos ectoparasitos, destacando-se os carrapatos do gênero *Amblyomma*, entretanto, as espécies *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) e *Ctenocephalides felis felis* vêm sendo relatadas como vetores em potencial. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi diagnosticar a infecção por *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis* através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para tanto foram coletados 728 ectoparasitos de 155 cães de dois municípios do estado de Pernambuco (Recife e Bezerros) e de dois municípios do estado de Alagoas (Viçosa e Arapiraca). Todos os espécimes foram identificados morfológicamente (*R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis*), sendo separados em *pools* (n = 3) e analisados através da PCR. Dos 136 *pools* de *R. sanguineus* s.l. analisados 20,58% (28/136) e dos 80 *pools* de *C. felis felis* analisadas 31,20% (39/80) foi observado amplificação de fragmento de 401 pb compatíveis com *Rickettsia* spp. Em relação à positividade dos ectoparasitos nos municípios estudados, observou-se que *R. sanguineus* s.l. foi positivo na Região Metropolitana do Recife (20,49%) e em Bezerros (22,22%), entretanto, no estado de Alagoas não foi observada positividade para o município de Viçosa, porém, Arapiraca obteve 25% de positividade. Em relação à *C. felis felis* observou-se que em Pernambuco 54,54% das amostras foram positivas sendo elas procedentes da Região Metropolitana do Recife, enquanto que no município de Bezerros não foi observada amplificação do fragmento compatível com *Rickettsia* spp. Já em Alagoas observou-se positividade de 12,50% para Arapiraca e 50,00% para Viçosa. Este estudo reporta pela primeira vez a detecção de *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. parasitando cães provenientes do estado de Pernambuco e *R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis* parasitando cães provenientes do estado de Alagoas. Apesar de não existirem relatos de Febre Maculosa Brasileira (FMB) nas regiões estudadas, a presença de carrapatos e pulgas infectados sugere a circulação do patógeno entre hospedeiros vertebrados e vetores.

**Palavras-chave:** Reação em Cadeia da Polimerase, ixodídeos, sifonápteros, riquetsiose.



## ABSTRACT

Rickettsial diseases are zoonotic infections caused by gram-negative bacteria of the family Rickettsiaceae which are transmitted by several ectoparasites such as ticks belonging to the genus *Amblyomma*, however, the species *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) and *Ctenocephalides felis felis* have been reported as potential vectors. The aim of this study was to detect *Rickettsia* spp. DNA in *R. sanguineus* s.l. and *C. felis felis* through molecular examination (Polymerase Chain Reaction PCR). A total of 728 ectoparasites were collected of 155 dogs from the states of Pernambuco (municipalities of Recife and Bezerros) and Alagoas (municipalities of Viçosa and Arapiraca) were used in this study. All specimens were morphologically identified (*R. sanguineus* s.l. and *C. felis felis*), separated in pools (n = 3) and analyzed molecularly through PCR. Out of the 136 pools of *R. sanguineus* s.l. analyzed, 20.58% (28/136) and 80 pools of *C. felis felis* analyzed 31.20% (39/80) it was observed amplification fragment of 401 bp compatible with *Rickettsia* spp. In relation to the positivity of ectoparasites in the municipalities studied, it was observed that *R. sanguineus* s.l. was positive in the Metropolitan Area of Recife (20.49%) and Bezerros (22.22%), however in the state of Alagoas was not observed the positivity for Viçosa municipality, but, Arapiraca got 25% positive. With regard to *C. felis felis* it was observed that in Pernambuco 54.54% of samples were positive being derived from Metropolitan Area of Recife, while Bezerros municipality was not observed amplification of the fragment compatible with *Rickettsia* spp. In Alagoas, it was observed 12.50% of positivity for Arapiraca and 50.00% for Viçosa. This study reports, for the first time, the detection of *Rickettsia* spp. in *R. sanguineus* s.l. parasitizing dogs from the state of Pernambuco and *R. sanguineus* s.l. and *C. felis felis* parasitizing dogs from the state of Alagoas. Although there are no reports of Brazilian Spotted Fever (BSF) in the areas studied, the presence of infected ticks and fleas suggests the circulation of the pathogen between vertebrate hosts and vectors.

**Keywords:** Polymarase Chain Reaction, ixodides, siphonaptera, rickettsial disease.

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	12
2. Revisão de literatura .....	14
2.1 Ectoparasitos de cães .....	14
2.2.1 Ixodídeos.....	14
2.2.2 Sifonápteros.....	16
2.3 Riquetsioses .....	18
2.4 Ciclo biológico de <i>Rickettsia</i> spp. ....	19
2.5 Principais espécies de riquetsias e sua distribuição geográfica .....	20
2.5.1 <i>Rickettsia rickettsii</i> .....	21
2.5.2 <i>Rickettsia parkeri</i> .....	22
2.5.3 <i>Rickettsia rhipicephali</i> .....	22
2.5.4 <i>Rickettsia amblyommii</i> .....	23
2.5.5 <i>Rickettsia felis</i> .....	24
2.5.6 <i>Rickettsia bellii</i> .....	24
2.6 Riquetsias transmitidas por <i>R. sanguineus</i> s.l. e <i>C. felis felis</i> .....	25
2.7 Diagnóstico da infecção por <i>Rickettsia</i> spp. ....	26
3. Referências.....	27
4. Objetivos.....	43
4.1 Objetivo geral .....	43
4.2 Objetivos específicos .....	43
CAPÍTULO I.....	44
Resumo .....	45
Abstract .....	45
Introdução .....	46
Material e métodos .....	47

<b>Área de estudo e coleta de artrópodes .....</b>	<b>47</b>
<b>Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....</b>	<b>47</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>47</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>48</b>
<b>Referências .....</b>	<b>49</b>
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>54</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>55</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>55</b>
<b>Introdução .....</b>	<b>56</b>
<b>Material e métodos .....</b>	<b>57</b>
<b>Área de estudo e coleta de artrópodes .....</b>	<b>57</b>
<b>Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....</b>	<b>57</b>
<b>Resultados .....</b>	<b>57</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>58</b>
<b>Referências .....</b>	<b>60</b>

## 1. Introdução

As riquetsioses são zoonoses de caráter endêmico (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005; WALKER, 2007) com ocorrência no continente Europeu (BLANCO; OTEO, 2006; VITALE et al., 2006; OTEO; PORTILLO, 2012), Asiático (TARASEVICH; MEDIANNIKOV, 2006; AUNG et al., 2014; SULIS et al., 2015), Africano (BITAM, 2012; YSSOUF et al., 2014; LEULMI et al., 2014), Americano (CAMACHO; ACCINELLI; RODRIGUEZ, 1985; BEATI; RAOULT, 1993; PACHAS et al., 2001; CICUTTIN et al., 2004; VENZAL et al., 2006; APPERSON et al., 2008; ABARCA; OTEO, 2014; SOUZA; PINTER; DONALISIO, 2015; BLANTON et al., 2015) e na Oceania (DYER et al., 2005; LIM et al., 2012).

No Brasil, a ocorrência das riquetsioses tem sido descrita em todas as regiões geográficas, particularmente nos estados do Rio Grande do Sul (SANGIONI et al., 2011), São Paulo (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2015), Mato Grosso do Sul (MELO et al., 2015), Paraíba e Bahia (LUGARINI, et al., 2015; MCINTOSH et al., 2015), Pernambuco (HORTA et al., 2015) e Piauí (NIERI-BASTOS et al., 2014).

Causada por bactérias pertencentes à classe Alphaproteobacteria, ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae (GARRITY et al., 2004), as riquetsioses, estão inseridas em dois gêneros a saber: *Orientia* e *Rickettsia* (DUMLER et al., 2001), sendo este último de grande importância em saúde pública em função da ocorrência de casos clínicos em humanos (KELLY et al., 2002) além de sua associação a distribuição de artrópodes vetores (AZAD; BEARD, 1998).

Sendo assim, dois grupos importantes estão dispostos no gênero *Rickettsia*, o Grupo Tifo (GT), representada por três espécies, *R. prowazekii*, a *R. typhi* e a *R. canadensis* e um outro onde estão inseridas as espécies causadoras da febre maculosa (GFM), com mais de 30 espécies descritas, entre elas a *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii*, *R. felis* e *R. bellii*, entre outras (BURGDORFER et al., 1978; WEISS; MOULDER, 1984; WELLER et al., 1998; MAXEY, 1899; BOUYER et al., 2001; PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005) além de outras espécies de patogenicidade desconhecida.

Artrópodes hematófagos de diferentes classes e ordens têm sido incriminados como vetores potenciais na transmissão das riquetsioses,

particularmente carrapatos, ácaros, pulgas e piolhos (SAZBÓ; PINTER; LABRUNA, 2013).

Neste contexto destacam-se as espécies do gênero *Amblyomma*, consideradas os principais vetores da Febre Maculosa (MORAES-FILHO et al., 2009; SILVA et al., 2011), *Rhipicephalus sanguineus* s.l. (DEMMA et al., 2005; PIRANDA et al., 2008, CUNHA et al., 2009; MORAES-FILHO et al., 2009) *Allodermanyssus sanguineus* (EUSTIS; FULLER, 1952; PADDOCK et al., 2006), *Ctenocephalides felis felis* (AZAD et al., 1992; HIGGINS et al., 1996; BOUYER et al., 2001) e *Pediculus humanus* (ROBINSON et al., 2003).

Assim, esse estudo teve como objetivo detectar DNA de *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis* através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

## **2. Revisão de literatura**

### **2.1 Ectoparasitos de cães**

O número de animais de companhia tem aumentado bastante e o convívio destes com os humanos podem trazer inúmeros benefícios para o bem-estar das pessoas (WILSON, 1991), particularmente crianças e idosos (LABRUNA; PEREIRA, 2001). Entretanto, esse estreito convívio pode também acarretar na transmissão de patógenos, principalmente aqueles veiculados por artrópodes como carrapatos, ácaros, pulgas e piolhos (DANTAS-TORRES, 2008a).

Dentre estes, os carrapatos e as pulgas podem participar da transmissão de vírus, bactérias, protozoários e helmintos aos hospedeiros vertebrados susceptíveis, causando doenças muitas vezes severas, podendo levar o paciente ao óbito (MASSARD; FONSECA, 2004).

A diversidade de espécies de ectoparasitos parasitando esses animais no Brasil resulta dos diferentes ecossistemas existentes, sendo assim, as características ambientais e a diversidade de espécies de hospedeiros de cada área são fundamentais para determinadas espécies de ectoparasitos, particularmente nos cães (LABRUNA et al., 2001).

O conhecimento da fauna de ectoparasitos dos animais domésticos se faz necessário visando à diminuição do desconforto ocasionado e a prevenção enfermidades, desta forma pesquisas sobre prevalência de ectoparasitos em cães tem sido realizadas no Brasil (LINARDI; GUIMARÃES, 2000; LABRUNA et al., 2001; RODRIGUES; DAEMON; D'AGOSTO, 2001; BELLATO et al., 2003; STALLIVIERE et al., 2009).

#### **2.2.1 Ixodídeos**

Os carrapatos estão compreendidos na Classe Arachnida, Subclasse Acari, Ordem Parasitiformes e Subordem Ixodida sendo ectoparasitas hematófagos, de distribuição mundial (KLONPEN et al., 1996; BARROS-BATTESTI, 1998).

Mundialmente são conhecidas cerca de 825 espécies de carrapatos, divididas em três famílias: Ixodidae (625 espécies), Argasidae (195 espécies) e Nuttallielidae (cinco espécies) (BARKER; MURRELL, 2004; KEIRANS; DURDEN, 2005).

No Brasil, devido as suas dimensões continentais e presença de diferentes biomas, 64 espécies de carrapatos foram identificadas pertencentes às famílias Ixodidae e Argasidae (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013).

Contudo, os Ixodídeos têm uma maior importância devido a seu hábito alimentar, pois ao se fixarem nos hospedeiros para realizar o repasto sanguíneo, passam um longo período de tempo (FALCO; FISH 1988, 1989; FALCO et al., 1995), enquanto que os carrapatos da família Argasidae se alimentam rapidamente e deixam seus hospedeiros (SMITH et al., 1985).

Durante sua biologia, os ixodídeos passam por quatro estágios: ovo, larva, ninfa e adulto (Figura 1), com exceção ao estágio de ovo, os carrapatos parasitam o hospedeiro por alguns dias sendo, três a sete dias para larvas e ninfas, cinco a dez dias para fêmeas adultas e mais de 15 dias para machos adultos (FORTES, 1997; LABRUNA, 2004). Alguns carrapatos parasitam um único hospedeiro (monoxenos), outros necessitam diferentes hospedeiros (heteroxenos), o que facilita transmissão de patógenos, permitindo o contato do agente em diferentes momentos (GUGLIELMONE et al., 2006; SERRA-FREIRE, 2009; DANTAS-TORRES, 2008b).

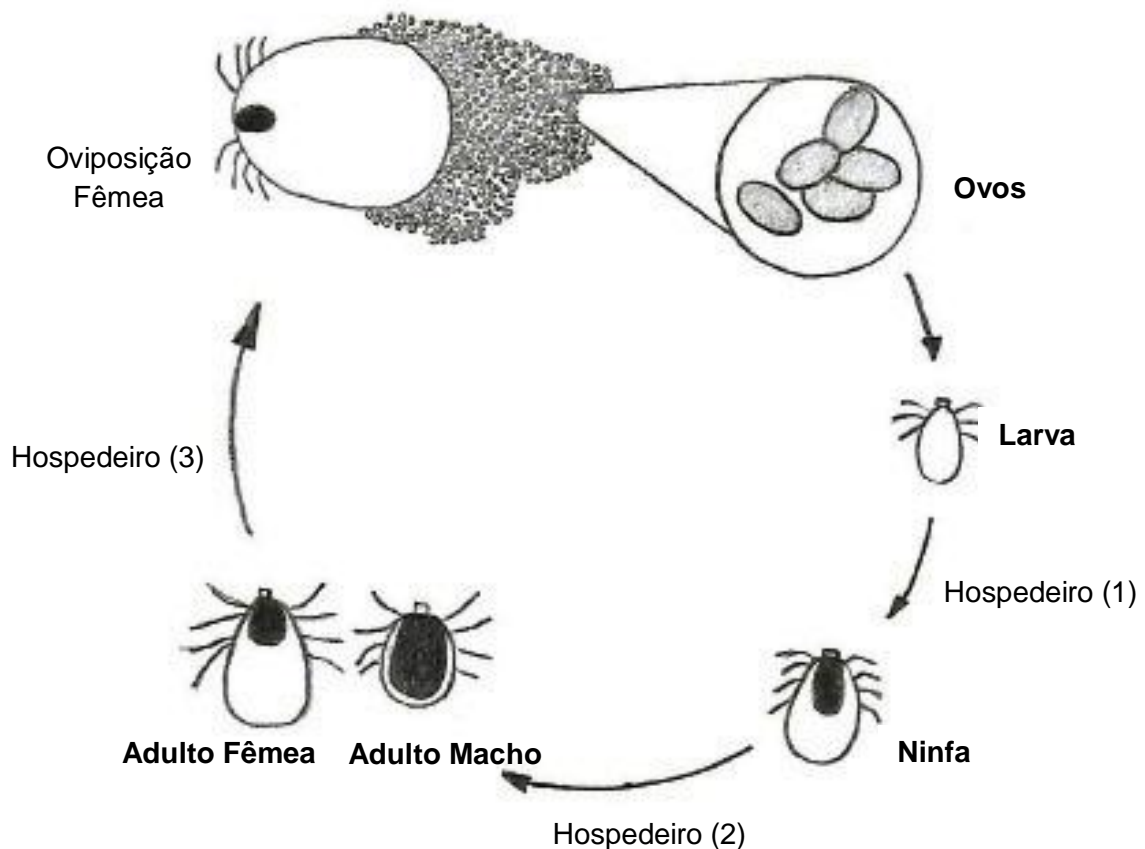


Figura 1: Ciclo do carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus*. Adaptado de Márquez-Jiménez et al. (2005).

Diversos são os carrapatos veiculadores de agentes patogênicos, sendo as espécies, *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma*

*aureolatum*, *Amblyomma ovale*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* s.l. as espécies mais incriminadas (BANETH et al., 2001; PINTER et al., 2011).

Em se tratando do gênero *Amblyomma*, 126 espécies encontram-se distribuídas nas Ásia, África, Américas e Oceania, onde, metade dessas espécies são endêmicas no continente americano, sendo 57 restritas a região Neotropical, parasitando uma diversidade de hospedeiros e atuando como vetores de diversos agentes (BALASHOV, 1993; MARRELLI et al., 2007).

Várias espécies de *Amblyomma* tem sido relatadas como vetores da Febre Maculosa (FM) e Febre Maculosa Brasileira (FMB), particularmente, *A. cajennense*, *A. aureolatum* e *A. ovale*, as quais foram relatadas no Brasil transmitindo *R. rickettsii* (MORAES-FILHO et al., 2009; SILVA et al., 2011).

No Brasil, *A. cajennense* encontra-se amplamente distribuída, onde infesta mamíferos e aves, particularmente equinos e se apresenta como a principal espécie de carrapato encontrada parasitando seres humanos (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001; LABRUNA et al., 2001).

Outra espécie relevante é *Rhipicephalus sanguineus* s.l., que embora seja originado na região Afrotropical, é considerado uma espécie cosmopolita, (LABRUNA; PEREIRA, 2001), sendo o cão doméstico o principal hospedeiro (DANTAS-TORRES, 2008a; SERRA-FREIRE, 2009), podendo entretanto, parasitar outras espécies, inclusive os humanos (DANTAS-TORRES et al., 2006; LOULY et al., 2006).

Através do hematofagismo, *R. sanguineus* s.l. está envolvido no ciclo epidemiológico de vários patógenos (BANETH et al., 2001) sendo um problema de saúde pública e atuando como vetor biológico e mecânico de vírus, bactérias, protozoários e helmintos, dentre outros (DANTAS-TORRES, 2008a). Além disso, *R. sanguineus* s.l. tem mostrado competência vetorial na transmissão de *Rickettsia rickettsii* tanto em condições experimentais como natural (PIRANDA et al., 2008, CUNHA et al., 2009; ROZENTAL et al., 2008).

### **2.2.2 Sifonápteros**

Pertencentes à classe Insecta (FORTES, 2004), os sifonápteros, são representados por aproximadamente 3.000 espécies distribuídas em todo o mundo,



sendo 280 presentes na América do Sul e destas, 60 espécies encontradas no Brasil (REY, 2001), destacando-se as famílias Pulicidae e Tungidae (CORSEUIL, 2003).

O ciclo da pulga dura aproximadamente de 25-30 dias, dependendo das condições de temperatura e umidade, e após a eclosão, as larvas, passam por quatro estádios, seguido do estágio pupal e dentre alguns dias, emerge o adulto (Figura 2).

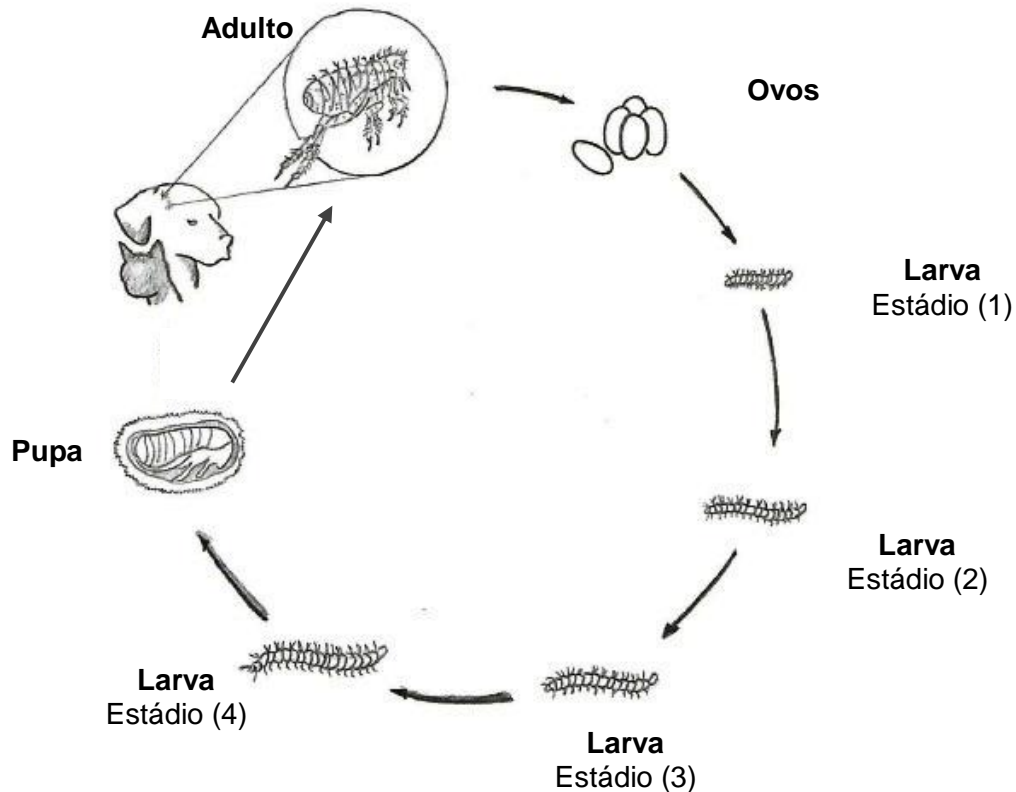


Figura 2: Ciclo da pulga. Adaptado de CDC (2013).

Os pulicídeos adultos constituem apenas 5% da população, ficando os 95% restantes distribuídos entre as outras fases de vida. Portanto, a maior parte do ciclo biológico se passa fora do hospedeiro, oscilando o período de incubação dos ovos entre um e 12 dias, dependendo da temperatura e umidade relativa do ar (SILVERMAN et al., 1981). Os demais estágios larvais desenvolvem-se geralmente entre cinco e 11 dias, enquanto que o de pupação, desde a postura dos ovos, varia entre sete e 24 dias, após isso os adultos emergem com tempo médio de 15 a 34 dias (KERN et al., 1999).

Em *C. felis felis*, a emergência das fêmeas antecede a dos machos em aproximadamente uma semana (LINARDI; NAGEM, 1972).

As espécies *C. canis* e *C. felis felis* são de grande importância na Medicina Veterinária sendo a espécie *C. felis felis* bem mais disseminada em muitas regiões acometendo os cães e o homem (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Os carnívoros são considerados como hospedeiros primários, sendo que em caninos, *C. felis felis* é tido como o ectoparasito mais prevalente e de maior importância em todo o mundo, infestando os animais de diferentes ordens como Carnivora, Rodentia, Lagomorpha, Edentata, Marsupialia e Primata (RUST; DRYDEN, 1997; LINARDI; GUIMARÃES, 2000). Algumas pulgas são conhecidas por exercer o hematofagismo comportando-se como vetores de importantes patógenos para os animais e o homem (LABRUNA; PEREIRA, 2001).

Dentre os principais patógenos transmitidos pelas pulgas, destacam-se *Yersinia pestis*, *Bartonella henselae*, *Dipylidium caninum* e *Acanthocheilonema reconditum* (LEÓN, 2010).

Além disso, o gênero *Ctenocephalides* tem sido descrito como veiculador da bactéria *Rickettsia* spp. atuando também na disseminação através da transmissão transovariana (AZAD et al., 1992; HIGGINS et al., 1996; BOUYER et al., 2001).

## 2.3 Riquetsioses

Pertencentes ao Filo Proteobactérias, classe Alphaproteobactérias, ordem Rickettsiales e família Rickettsiaceae (GARRITY et al., 2004), o gênero *Rickettsia* compreende bactérias gram-negativas, em associação obrigatória com células endoteliais eucariotas, distribuídos originalmente em três famílias Rickettsiaceae, Bartonellaceae e Anaplasmataceae (WEISS; MOULDER, 1984; YU; WALKER, 2003).

As riquetsioses estão divididas em quatro grupos distintos: o Grupo da Febre Maculosa (GFM) representados pela Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR) e Febre Maculosa Brasileira (FMB), com mais de 15 espécies descritas causadoras de enfermidades, dentre elas: *R. rickettsii* e *R. conorii*; o Grupo Tifo (GT) que inclui duas espécies, *R. prowazekii* (tifo exantemático epidêmico), *R. typhi*, além dos grupos de transição (GTr) representado pelas espécies *R. akari*, *R. australis* e *R. felis* e o grupo ancestral (GA) onde estão as espécies *R. belli* e *R. canadensis* (TAMURA et al., 1995; LEMOS, 2002; HORTA et al., 2004; ESTRADA et al., 2006; GILLESPIE et al., 2007; VALBUENA, 2010; PAROLA et al., 2013).

Vários gêneros e espécies da família Rickettsiaceae mantêm ciclos zoonóticos na natureza, representando assim uma ameaça à Saúde Pública (SOUSA et al., 2003; LEVINSON, 2010; MARTINEZ; TRABULSI, 2010), tanto em ambientes urbanos como em áreas rurais, onde os cães domésticos desempenham um importante papel epidemiológico, devido ao parasitismo por carrapatos infectados, e sua proximidade com o homem (PADDOCK et al., 2002), amplificando o número de vetores infectados no ambiente (RAOULT; PAROLA, 2007).

## 2.4 Ciclo biológico de *Rickettsia* spp.

A transmissão da *Rickettsia* spp. ocorre através da saliva, no caso dos carrapatos, ou de fezes infectadas que penetram pelo local da picada, no caso das pulgas, infectando assim as células do endotélio vascular, onde as riquetsias se proliferam causando vasculite, alcançando posteriormente os órgãos (VALBUENA et al., 2002).

No ciclo urbano e rural, os principais reservatórios são os roedores sinantrópicos, alguns marsupiais e caninos (AZAD; BEARD 1998) (Figura 3).

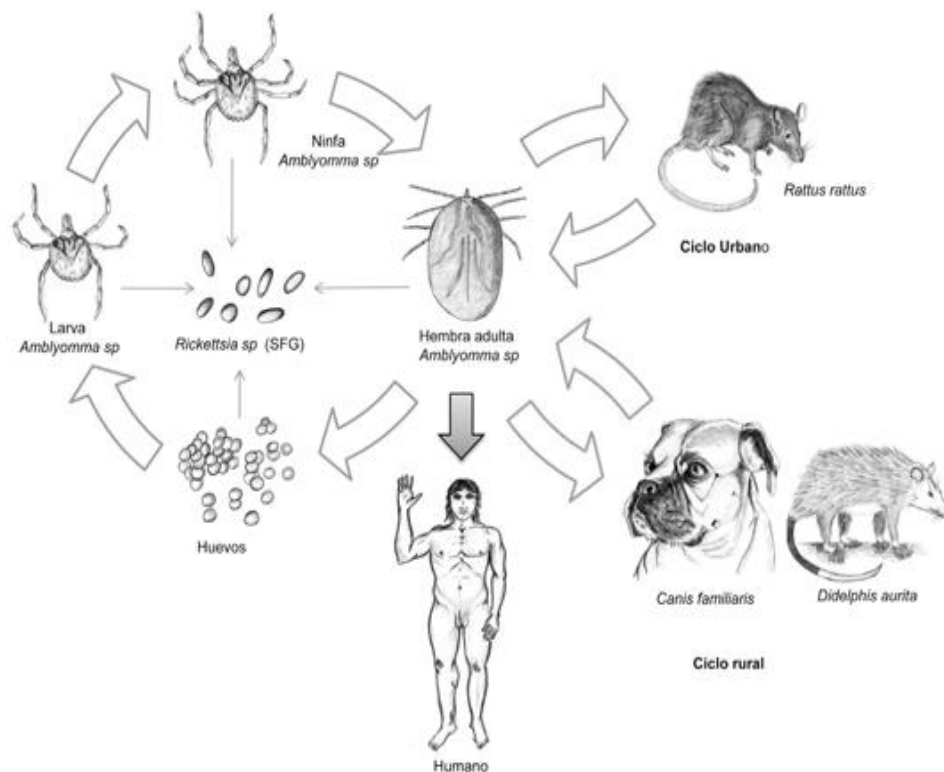


Figura 3: Ciclo de *Rickettsia* spp. no grupo da Febre Maculosa (VÉLVEZ; HIDALGO; GONZÁLEZ, 2012).

No grupo tifo, as pulgas das espécies *Xenopsylla cheopis* e *C. felis felis*, são os principais vetores da *Rickettsia typhi*, que ao adquirirem a infecção podem transmitir de maneira transovariana e transestadial, entretanto somente os artrópodes adultos podem transmitir a infecção aos hospedeiros susceptíveis (VÉLVEZ; HIDALGO; GONZÁLEZ, 2012).

Em relação aos seres humanos o contato com *Rickettsia* spp. ocorre através da pulga, seja por sua picada ou pelas fezes (MCELROY et al., 2010) (Figura 4).

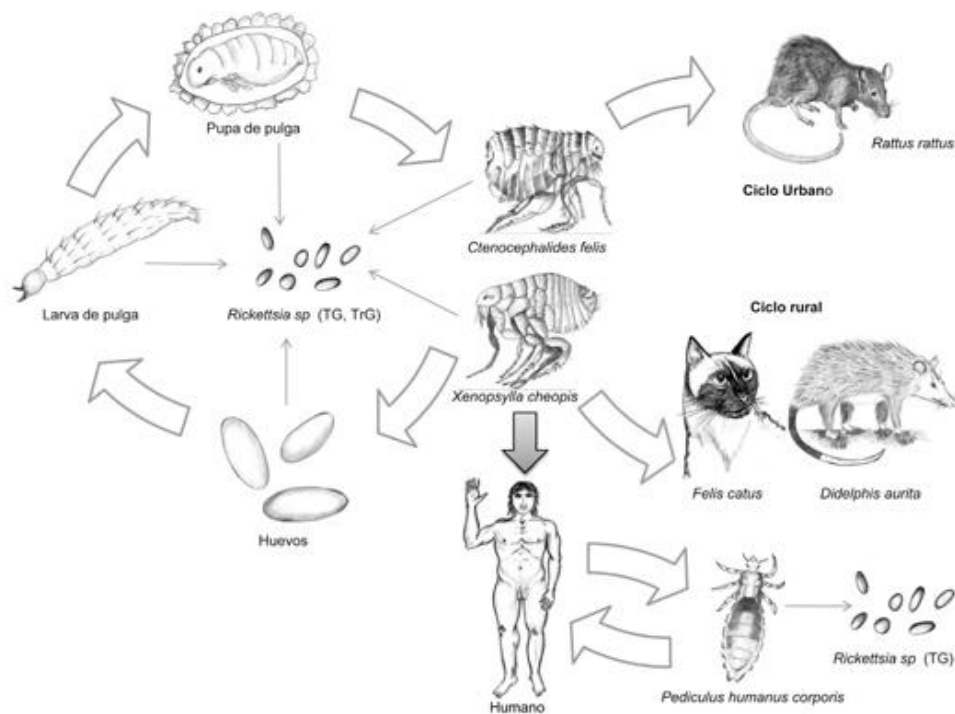


Figura 4: Ciclo de *Rickettsia* spp. no grupo tifo (VÉLVEZ; HIDALGO; GONZÁLEZ, 2012).

## 2.5 Principais espécies de riquetsias e sua distribuição geográfica

O gênero *Rickettsia* apresenta ampla distribuição (GALVÃO; RIBEIRO, 1993; HORTA, 2002) com sua ocorrência relatada no continente Europeu (BLANCO; OTEO, 2006; VITALE et al., 2006; OTEO; PORTILLO, 2012), Asiático (TARASEVICH; MEDIANNIKOV, 2006; AUNG et al., 2014; SULIS et al., 2015), Africano (BITAM, 2012; YSSOUF et al., 2014; LEULMI et al., 2014), Americano (CAMACHO; ACCINELLI; RODRIGUEZ, 1985; BEATI; RAOULT, 1993; PACHAS et al., 2001; CICUTTIN et al., 2004; APPERSON et al., 2008; ABARCA; OTEO, 2014;

SOUZA; PINTER; DONALISIO, 2015; BLANTON et al., 2015) e na Oceania (DYER et al., 2005; LIM et al., 2012).

A ocorrência das riquetsioses no Brasil tem sido descrita em humanos nos estados do Rio Grande do Sul (SANGIONI et al., 2011), São Paulo (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2015) e Mato Grosso do Sul (COUTO et al., 2015). Além disso, vários estudos reportam a detecção de DNA de *Rickettsia* spp. em diferentes ectoparasitos, sobretudo em carrapatos nos estados de São Paulo (PACHECO et al., 2009), Rio de Janeiro (CUNHA et al., 2009), Mato Grosso do Sul (MELO et al., 2015); Paraíba e Bahia (LUGARINI, et al., 2015; MCINTOSH et al., 2015), Pernambuco (SARAIVA et al., 2013; HORTA et al., 2015), Piauí (NIERI-BASTOS et al., 2014) e Rondônia (LABRUNA et al., 2004).

Neste contexto a FMB foi identificada inicialmente em 1929, no estado de São Paulo, seguido do Rio de Janeiro (PIZA, 1932; MONTEIRO, 1936; DIAS, 1939; TOSTES; BRETZ, 1941; TRAVASSOS; VALLEJO-FREIRE, 1945), Minas Gerais, Espírito Santo (SEXTON et al., 1993) e Rio Grande do Sul (GREGORY, 1941; GALVÃO; RIBEIRO, 1993; SANGIONI et al., 2011).

Dentre as diversas riquetsias de importância médica, destacam-se, *Rickettsia rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii*, *R. felis* e *R. bellii* (BURGDORFER et al., 1975; WEISS; MOULDER, 1984; WELLER et al., 1998; MAXEY, 1899; BOUYER et al., 2001; PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005)

### **2.5.1 *Rickettsia rickettsii***

O primeiro relato de *R. rickettsii* em seres humanos foi no ano de 1899 (MAXEY, 1899) na região montanhosa do noroeste dos Estados Unidos da América (EUA), onde a doença foi denominada Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR) (HARDEN, 1990). No início do século XX, Howard Taylor Ricketts estabeleceu o papel do carrapato *Dermacentor andersoni* na transmissão da doença e realizou o primeiro isolamento da bactéria que foi nomeada *Rickettsia* em sua homenagem (RICKETTS, 1909).

*R. rickettsii* é a espécie responsável pela FMB, sendo o principal agente etiológico do GFM, infectando cães e seres humanos em áreas endêmicas de todo o mundo, podendo haver variação quanto à virulência dos genótipos circulantes da bactéria (BIBERSTEIN; HIRSH, 2003; PAROLA; LABRUNA; RAOULT, 2009).

Os vetores de *R. rickettsii*, são os carrapatos ixodídeos das espécies *A. cajennense*, *A. aureolatum*, *D. andersoni*, *D. variabilis* e *R. sanguineus* s.l. (PATINO-CAMARGO, 1941; BUSTAMANTE; VARELA, 1947; RODANICHE, 1953; DEMMA et al., 2005; GUEDES et al., 2005; PINTER; LABRUNA, 2006).

### **2.5.2 *Rickettsia parkeri***

Parker em 1939 nos EUA, isolou uma nova espécie de riquetsia no carrapato *Amblyomma maculatum*, sendo posteriormente denominada de *R. parkeri* (PARKER et al., 1939). Na década de 90, vários casos de FM foram reportados, os quais não tiveram a espécie de riquetsia definida (CONTI-DIAZ et al., 1990; CONTI-DIAZ, 2001). Desta forma, *R. parkeri* foi considerada não patogênica por mais de 60 anos, porém passou a ser documentada causando infecções humanas em diversos países, dentre eles: EUA (RAOULT, 2004), Uruguai (CONTI-DIAZ et al., 2009; ROMER et al., 2011) e Brasil (SILVEIRA et al., 2007; SANGIONI et al., 2011; SILVA et al., 2011).

Recentemente, *R. parkeri* tem sido observada nos vetores *A. triste* na Argentina (MONJE et al., 2014), *A. tigrinum* e *A. dubitatum* no Uruguai (LADO et al., 2014) e *A. maculatum* nos EUA (PADDOCK et al., 2010; WRIGHT et al., 2015). Já no Brasil, foi observada *A. dubitatum* e *A. cajennense* e *A. triste* em São Paulo (SILVEIRA et al., 2007; PACHECO et al., 2007) e em *A. triste* no Pantanal (MELO et al., 2015).

*R. parkeri* se caracteriza por um curso não grave da doença, não havendo letalidade registrada, dificultando o diagnóstico clínico, entretanto, esta doença pode se diferenciar clinicamente da FM causada por *R. rickettsii*, por apresentar linfadenopatia e uma lesão papular típica no sítio de fixação do carrapato (CONTI-DIAZ, 2001; PADDOCK et al., 2004).

### **2.5.3 *Rickettsia rhipicephali***

Em 1975, *R. rhipicephali* foi isolada durante um estudo sobre riquetsiose no Mississippi, EUA, quando foi observado que a bactéria isolada em *R. sanguineus* s.l. não apresentava reação sorológica com *R. rickettsii* assim como das demais bactérias isoladas na época, sendo assim denominada *R. rhipicephali* (BURGDORFER et al., 1975).

Neste sentido, *Dermacentor occidentalis* na Califórnia, *D. andersoni*, em Montana e *D. variabilis* na Carolina do Sul (BURGDORFER et al., 1978; LANE et al., 1981), *R. sanguineus* s.l. e *R. haemaphysaloides* (HSU et al., 2011) foram incriminados como vetores de *R. rhipicephali*.

O primeiro relato na América do Sul foi observado no Brasil, em 2005, no estado de Rondônia, detectado através da análise molecular no carrapato *Haemaphysalis juxtakochi* (LABRUNA et al., 2005) e posteriormente no estado de São Paulo (LABRUNA et al., 2007).

Apesar destes carrapatos serem relacionados como vetores de *R. rhipicephali*, sua transmissão transestadial ou transovariana por mais de uma geração (MACALUSO et al., 2002) não tem sido observada.

#### **2.5.4 *Rickettsia amblyommii***

Esta bactéria foi isolada no ano de 1974 em *A. americanum* nos EUA (BURGDORFER et al., 1981; WELLER et al., 1998) e posteriormente, relatada em diversos países das Américas, como Brasil (LABRUNA et al., 2004a; MCINTOSH et al., 2015) Argentina, Guiana Francesa (PAROLA et al., 2007), Panamá (BERMÚDEZ et al., 2009), Costa Rica (HUN et al., 2011) e Paraguai (OGRZEWALSKA et al., 2014).

Em algumas áreas americanas, esta bactéria pode ser relativamente frequente, pois aproximadamente 40% dos carrapatos *A. americanum* podem estar infectados e, todos os três estágios do ciclo deste ectoparasito parasitam humanos podendo transmitir a doença (GODDARD; NORMENT, 1986; PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005).

No Brasil, foi descrita nos estados do São Paulo (LABRUNA et al., 2004a), Paraná (PACHECO et al., 2012), Mato Grosso (MELO et al., 2011), Maranhão (AMORIM-FILHO, 2013), Pernambuco (SARAIVA et al., 2013) e Mato Grosso do Sul (OGRZEWALSKA et al., 2013) em diferentes biomas como Amazônia, Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (OGRZEWALSKA; UEZU; LABRUNA, 2010).

Em relação aos vetores de *R. amblyommii* no Brasil, *A. cajennense* e *A. coelebs* na floresta amazônica brasileira (LABRUNA et al., 2004a) e também em *A. longirostre* no Sul do Brasil (SOARES et al., 2009) tem sido encontrado infectados.

### 2.5.5 *Rickettsia felis*

Foi observada por Adams, Schmidtmann and Azad em 1990 nas células do intestino médio de *C. felis felis*, (BOUYER et al., 2001) e posteriormente observada em outras pulgas das espécies *C. canis*, *P. irritans* e *X. cheopis* colhidas em diferentes animais domésticos e silvestres (DE SOUSA et al., 2006). Essas pulgas atuam também como disseminadoras do agente etiológico uma vez que podem transmitir a bactéria por transmissão transovariana (HIGGINS et al., 1996; BOUYER et al., 2001).

Os primeiros países que relataram a presença de *R. felis* foram os EUA (WILLIAMS et al., 1992), seguido do México (ZAVALA-VELÁZQUEZ et al., 2002), Espanha (MARQUEZ et al., 2002) e Brasil (OLIVEIRA et al., 2002), além de outros países (PÉREZ-OSORIO et al., 2008).

*R. felis* é transmitida principalmente pela espécie *C. felis felis* em diversos estados do Brasil (RAOULT et al., 2001), particularmente em Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Rio de Janeiro (OLIVEIRA et al., 2002, 2008; HORTA et al., 2005, 2007, 2010).

Contudo outros artrópodes como *C. canis*, *Anomipsyllus nudata*, *Archaeopsylla erinacei*, *Ctenophthalmus* sp. e *X. cheopis*, além de carrapatos *R. sanguineus* s.l. e *Ixodes ovatus* (ISHIKURA et al., 2003; STEVENSON et al., 2005; BITAM et al., 2006; CARDOSO et al., 2006; DE SOUSA et al., 2006; HORTA et al., 2006; VENZAL et al., 2006; CHOI et al., 2007) também tem sido incriminado como vetores desta bactéria.

### 2.5.6 *Rickettsia bellii*

O primeiro relato de *R. bellii* foi nos EUA onde foram observados carrapatos infectados com essa bactéria (WEISS; MOULDER, 1984).

Alguns lugares já relataram esta bactéria em diversas espécies de carrapatos sendo eles Argentina em *A. neumani* e *A. tigrinum* (TOMASSONE et al., 2010), Colômbia em larvas de *Amblyomma* sp. (MIRANDA; MATTAR, 2014) e no Peru em *A. varium* (OGRZEWALSKA et al., 2012). Na América Central, quatro carrapatos fêmeas da espécie *A. sabanerae* foram coletados de uma tartaruga (*Kinosternon* sp.) em San Miguel, El Salvador, e após análise molecular, observou-se que esses artrópodes eram positivos para *R. bellii*, sendo este o primeiro relato na América Central (BARBIERI et al., 2012).



No Brasil, esta riquetsiose, tem se apresentado com alta frequência em carrapatos, e dentre as diversas espécies existentes, já foram observadas em *A. longirostre*, *A. aureolatum*, *A. dubitatum*, *A. humerale*, *A. sculpturatum*, *A. rotundatum*, *A. oblongoguttatum*, *A. ovale*, *Ixodes loricatus* e *H. juxtakochi* (LABRUNA et al., 2004b; PINTER; LABRUNA, 2006).

## **2.6 Riquetsias transmitidas por *R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis***

*R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis*, tem sido apontados na cadeia epidemiológica de transmissão de *Rickettsia* spp. aos homens e animais, comprovando a complexidade do ciclo da FMB (DIAS, 1939; LEMOS et al., 1997; GUEDES et al., 2005; HORTA et al., 2007; SANGIONI et al., 2005).

O carrapato *R. sanguineus* s.l. é considerado um dos vetores de FMMR nos EUA (DEMMA et al., 2005) e na Europa é um dos principais vetores da Febre Maculosa do Mediterrâneo, principalmente *R. conorii* (SOUSA et al., 2003). Além disso, recentemente *R. sanguineus* s.l. foi observado como vetor para *R. rickettsii* na cidade do México (EREMEEVA et al., 2011).

Diversos estados brasileiros já relataram a positividade de *R. sanguineus* s.l. para *Rickettsia* spp. dentre eles Rio de Janeiro (ROZENTAL et al., 2008; CUNHA et al., 2009), São Paulo (MORAES-FILHO et al., 2009), Paraíba (TANIKAWA et al., 2013) e Goiás (MARTINS et al., 2015).

Em relação às pulgas, a espécie *C. felis felis* também tem sido bastante estudada como transmissora de *Rickettsia* spp. sendo detectada em vários países como, EUA (WILLIAMS et al., 1992), Andes Peruanos (PACHAS et al., 2001), México (ZAVALA-VELÁZQUEZ et al., 2002) e Espanha (MARQUEZ et al., 2002).

No Brasil, já foram relatados diversos trabalhos com *Rickettsia* spp. infectando *C. felis felis*, sendo esses relatos nos estados de Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2002) São Paulo (HORTA, 2002; SANTOS, 2003; HORTA et al., 2005), Espírito Santo (OLIVEIRA et al., 2008) e Rio de Janeiro (CARDOSO et al., 2006; GEHRKE et al., 2009; HORTA et al., 2010). Recentemente Horta et al. (2014) assinalaram a maior positividade para *Rickettsia felis* em *C. felis felis* na região Sul e menor positividade na região Nordeste.

## 2.7 Diagnóstico da infecção por *Rickettsia* spp.

A diagnóstico das riquetsioses é sempre difícil, uma vez que os métodos utilizados na bacteriologia não podem ser aplicados para a identificação de riquetsias devido a sua natureza intracelular (SANTOS; GAGLIANI, 2007). Outro fato que dificulta o diagnóstico está relacionado à falta de informações sobre a prevalência da doença em uma determinada região (FONSECA; MARTINS, 2007) além da distribuição de seus artrópodes vetores.

Apesar dos sinais clínicos serem característicos e indicativos para a infecção por *Rickettsia* spp., em animais e humanos, se faz necessário a confirmação por meio de exames laboratoriais para o diagnóstico diferencial (LA SCOLA; RAOULT, 1997).

Além dos exames de rotina, tem-se o cultivo celular possibilitando o estudo de fenômenos, inacessíveis em tecidos intactos, sendo o isolamento a partir de sangue ou biópsia de pele resultando no diagnóstico precoce da doença, pois na fase de ricketsemia não há anticorpos detectáveis no sangue (MELLES; COLOMBO; LEMOS, 1999). Nas riquetsias, essa técnica permite a visualização dos corpúsculos elementares (FONSECA; MARTINS, 2007).

Diversas técnicas sorológicas têm sido empregadas, destacando-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Aglutinação, Fixação do Complemento, entre outras, sendo a RIFI a mais empregada (FONSECA; MARTINS, 2007).

A técnica de imunohistoquímica tem sido utilizada para detecção de *Rickettsia* spp. em tecidos (LA SCOLA; RAOULT, 1997; ROZENTAL, 2006), desta forma, cortes histológicos de pele ou de outros tecidos são submetidos à ação de anticorpos anti-riquetsias (monoclonais ou policlonais) (HERRERO-HERRERO; WALKER; RUIZ-BELTRAN, 1987; PADDOCK et al., 1999).

Além disso, o diagnóstico molecular e o sequenciamento também são bastante utilizados para detecção de ectoparasitos, sendo a PCR o diagnóstico mais utilizado para a detecção *Rickettsia* spp. uma vez que a técnica tem sido empregada em estudos epidemiológicos ou em surtos de riquetsioses (GUEDES et al., 2005, LABRUNA et al., 2005, SANGIONI et al., 2005).

### 3. Referências

- ABARCA, K.; OTEO, J.A. Clinical approach and main tick-borne rickettsiosis present in Latin America. **Revista Chilena Infectología**, v.31, n.5, p.569-576, 2014.
- AMORIM-FILHO, E.F. **Pesquisa de Rickettsia em cavalos baixadeiros e ectoparasitas potencialmente vetores de patógenos**. 65f (Mestrado em Ciência animal) - Universidade Estadual do Maranhão, Maranhão, 2013.
- APPERSON, C.S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W.L.; MEAD, D.G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M.J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D.W. Tick-borne diseases in North Carolina: is "*Rickettsia amblyommi*" a possible cause of rickettsiosis reported as Rocky Mountain spotted fever? **Vector-Borne and Zoonotic**, v.8, n.5, p.597-606, 2008.
- AUNG, A.K.; SPELMAN, D.W.; MURRAY, R.J.; STEPHEN, G. Review Article: Rickettsial Infections in Southeast Asia: Implications for Local Populace and Febrile Returned Travelers. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.91, n.3, p. 451–460, 2014.
- AZAD, A.F.; SACCI, J.B.; JR NELSON, W.M.; DASCH, G.A.; SCHMIDTMANN, E.T.; CARL, M. Genetic characterization and transovarial transmission of a typhuslike rickettsia found in cat fleas. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.89, n.1, p.43-46, 1992.
- AZAD, A.F.; BEARD, C.B. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. **Emerging Infectious Diseases**, v.4, n.2, p.179-186, 1998.
- BALASHOV, Y.; Importance of Continental Drift in the Distribution and Evolution of Ixodid Ticks. **Entomological Review**, v.73, p.42-50, 1993.
- BANETH G.; SAMISH M.; ALEKSEEV E; AROCH I.; SHKAP, V. Transmission of *Hepatozoon canis* to dogs by naturally fed or percutaneously injected *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Journal of Parasitology**. v.87, n.3, p.606-611, 2001.
- BARBIERI, A.R.; ROMERO, L.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* infecting *Amblyomma sabanerae* ticks in El Salvador. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.102, n.3, p.188-189, 2012.
- BARKER, S. C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, Cambridge, v.129, p.15-36, 2004.
- BARROS-BATTESTI, D.M. **Estudos de Carrapatos e Pequenos Mamíferos Silvestres Naturalmente Infectados com Espiroquetas Semelhantes à Borrelia, no Município de Itapevi, estado de São Paulo**. PhD Thesis, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 116 pp., 1998.
- BEATI, L.; RAOULT, D. *Rickettsia massiliae* sp. nov., a New Spotted Fever Group Rickettsia. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.43, n.4, p.839-840, 1993.
- BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; SOUZA, A.P.; RAMOS, B.C. Ectoparasitos em caninos do município de Lages, SC, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.3, p.95-98, 2003.

- BERMÚDEZ, S.E.; EREMEEVA, M.E.; LARPATY, S.E.; SAMUDIO, F.; ZAMBRANO, M.L.; ZALDIVAR, Y.; MOTTA, J.A.; DASCH, G.A. Detection and Identification of Rickettsial Agents in Ticks From Domestic Mammals in Eastern Panama. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n.4, p 856-861, 2009.
- BIBERSTEIN, E.L.; HIRSH, D.C. Agentes Rickettsiais de doenças animais; as Riquetsias. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 273-275, 2003.
- BITAM, I.; PAROLA, P.; DE LA CRUZ, K.D.; MATSUMOTO, K.; BAZIZ, B.; ROLAIN, J.M.; BELKAID, M.; RAOULT, D. First molecular detection of *Rickettsia felis* in fleas from Algeria. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.74, n.4, p.532-535, 2006.
- BITAM, I. Vectors of rickettsiae in Africa. **Ticks Tick-Borne Diseases**, v.3, n.5-6, p.382-386, 2012.
- BLANCO, J.R.; OTEO, J.A. Rickettsiosis in Europe. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.26–33, 2006.
- BLANTON, L.S.; LEA, A.S.; KELLY, B.C.; WALKER, D.H. An Unusual Cutaneous Manifestation in a Patient with Murine Typhus. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.93, n.6, p.1164-1167, 2015.
- BOUYER, D.H.; STENOS, J.; CROCQUET-VALDES, P.; MORON, C.G.; POPOV, V. L.; ZAVALA-VELAZQUEZ, J.E.; FOIL, L.D.; STOTHARD, D.R.; AZAD, A.F.; WALKER, D.H. *Rickettsia felis*: molecular characterization of a new member of the spotted fever group. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, n.2, p.339-347, 2001.
- BRANDÃO, L.P.; HAGIWARA, M.K. Babesiose canina: revisão. **Clínica Veterinária**, n.41, p.50-59, 2002.
- BURGDORFER, W.; SEXTON, D.J.; GERLOFF, R.K.; ANACKER, R.L.; PHILIP, R.N.; THOMAS, L.A. *Rhipicephalus sanguineus*: vector of a new spotted fever group rickettsia in the United States. **Infection and Immunity**, v.12, p.205-210, 1975.
- BURGDORFER, W.; BRINTON, L.P.; KRINSKY, W.L.; PHILIP, R.N. *Rickettsia rhipicephali*: a new spotted fever group rickettsia from the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. In: KAZAR, J.; ORMSBEE, R.A.; TARASEVICH, I.V. (Ed.). Rickettsiae and Rickettsial Diseases. Bratislava: **House of the Slovak Academy of Sciences**, p. 237-316, 1978.
- BURGDORFER, W.; HAYES, S.F.; THOMAS, L.A.; LANCASTER, J.L. **A new spotted fever group rickettsia from the star tick, *Amblyomma americanum***. In: BURGDORFER, W.; NACKER, R.L. (Ed). Rickettsiae and Rickettsial Diseases. New York: Academic Press, p.595-602, 1981.
- BUSTAMANTE, M.E.; VARELA, G. Distribución de las rickettsiasis en Mexico. **Revista del Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales**, v.8, p.3-14, 1947.
- CAMACHO, J.; ACCINELLI, R.; RODRIGUEZ, E. Typhus fever occurrences in two rural communities in Urcos-Cusco. **Diagnostico**, v.15, p.17–212, 1985.

- CARDOSO, L.D.; FREITAS, R.N.; MAFRA, C.L.; NEVES, C.V.; FIGUEIRA, F.C.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H.; GALVÃO, M.A. Characterization of *Rickettsia* spp. circulating in a silente peri-urban focus for Brazilian spotted fever in Caatinga, Minas Gerais, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.22, n.3, p.495-501, 2006.
- CHOI, Y.J.; LEE, E.M.; PARK, J.M.; LEE, K.M.; HAN, S.H.; KIM, J.K.; LEE, S.H.; SONG, H.J.; CHOI, M.S.; KIM, I.S.; PARK, K.H.; JANG, W.J. Molecular detection of various rickettsiae in mites (Acari: Trombiculidae) in southern Jeolla Province, Korea. **Microbiology and Immunology**, v.51, n.3, p. 307-312, 2007.
- CICUTTIN, G.L.; RODRÍGUEZ VARGAS, M.; JADO, I.; ANDA, P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* em la Ciudad de Buenos Aires, Resultados preliminares. **Revista Argentina Zoonosis**, v.1, n.1, p.8-10, 2004.
- CONTI-DÍAZ, I.A.; RUBIO, I.; MOREIRA, R.E.S.; BÓRMIDA, G.P. Rickettsiosis cutáneo ganglionar por *Rickettsia conorii* en el Uruguay. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.32, p.313-318, 1990.
- CONTI-DÍAZ, I.A. Rickettsiosis por *Rickettsia conorii* (fiebre botonosa del Mediterráneo o fiebre de Marsella). Estado actual en Uruguay. **Revista Médica del Uruguay**, v.17, p.119-24, 2001.
- CONTI-DÍAZ, I.A.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B. Serological evidence of *Rickettsia parkeri* as etiological agent of rickettsiosis in Uruguay. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.51, p.337-339, 2009.
- CORSEUIL, E. **Apostila de Entomologia**. 3ed. Porto Alegre: Edição do Autor, 124 p. 2003.
- COUTO, D.V.; MEDEIROS, M.Z.; HANS FILHO, G.; LIMA, A.M.; BARBOSA, A.B.; VICARI, C.F. A febre maculosa brasileira: a importância de sinais dermatológicos para o diagnóstico precoce. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.90, n.2, p.248-250, 2015.
- CUNHA, N.C.; FONSECA, A.H.; REZENDE, J.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A.R.M.; BARREIRA, J.D.; MASSARD, C.L.; LEMOS, E.R.S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.2, p.105-108, 2009.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L.A.; BRANDÃO-FILHO, S.P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v.39, n.1, p.64-67, 2006.
- DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**, Keele University, v.1, n.1, p.25-42, 2008(a).
- DANTAS-TORRES, F. The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. **Veterinary Parasitology**, v.152, n.3-4, p.173-185, 2008(b).
- DE SOUSA, R.; EDOUARD-FOURNIER, P.; SANTOS-SILVA, M.; AMARO, F.; BACELLAR, F.; RAOULT, D. Molecular detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia*

*typhi* and two genotypes closely related to *Bartonella elizabethae*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.75, n.4, p.727-31, 2006.

DEMMA, L.J.; TRAEGER, M.S.; NICHOLSON, W.L. PADDOCK, C.D.; BLAU, D.M.; EREMEEVA, M.E.; DASCH, G.A.; LEVIN, M.L.; SINGLETON, J.; ZAKI, S.R.; CHEEK, J.E.; SWERDLOW, D.L.; MCQUISTON, J.H. Rock Mountain Spotted Fever from Arizona an unexpected tick vector in Arizona. **The New England Journal of Medicine**, v.353, p.587-594, 2005.

DIAS, E. Depositários naturais e transmissores da febre maculosa brasileira. **Brasil Médico**, v.52, p.269-272, 1939.

DUMLER, J.S.; BARBET, A.F.; BEKKER, C.P.J.; DASCH, G.A.; PALMER, G.H.; RAY, S.C.; RIKIHISA, Y.; RURANGIRWA, F.R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and HE agent as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. **International Journal of Systematic Evolution Microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2145- 2165, 2001.

DYER, J.R.; EINSIEDEL, L.; FERGUSON, P.E.; LEE, A.S.; UNSWORTH, N.B.; GRAVES, S.R.; GORDON, D.L. A new focus of *Rickettsia honei* spotted fever in South Australia. **The Medical Journal of Australia**, v.182, n.5, p. 231-234, 2005.

EREMEEVA, M.E.; ZAMBRANO, M.L.; ANAYA, L.; BEATI, L.; KARPATY, S.E.; SANTOS-SILVA, M.M.; SALCEDA, B.; MACBETH, D.; OLGUIN, H.; DASCH, G.A.; ARANDA C.A. *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus* Ticks, Mexicali, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v. 48, n. 2, p. 418- 421, 2011.

ESTRADA, D.A.; SHUMAKER, T.T.; SOUZA, C.E.; RODRIGUES-NETO, E.J.; LINHARES, A.X. Rickettsiae detection in Amblyomma ticks (Acari: Ixodidae) collected in the urban area of Campinas City, SP. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.1, p.68-71, 2006.

EUSTIS, E.B.; FULLER, H.S. Rickettsia. II. Recuperação de *Rickettsia akari* de ácaros, *Allodermanyssus sanguineus*, de West Hartford, Conn. **Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine**, v.80, n.546 -549, 1952.

FALCO, C.R.; DANIELS, T.J.; FISH, D. Increase in abundance of immature *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in an emergent Lyme disease endemic area. **Journal of Medical Entomology**, v.32, n.4, p.522-526, 1995.

FALCO, C.R.; FISH, D. Ticks parasitizing humans in a Lyme disease endemic area of southern New York State. **American Journal of Epidemiology**, v.128, p.1146-1152, 1988.

FALCO, C.R.; FISH, D. Potential for exposure to tick bites in recreational parks in a Lyme disease endemic area. **American Journal of Public Health**, v.79, p.12-15, 1989.

FONSECA, L.M.; MARTINS, A.V. Febre maculosa: Revisão de literatura – Artigo Revisão. **Saúde & ambiente em Revista**. v.2, n.1, p.01-20, 2007.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 3.ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, p 465, 1997.

- FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 4.ed., São Paulo: Ícone, 2004.
- GALVÃO, M.A.M.; RIBEIRO, J.G.L. Febre Maculosa. In: PEDROSO, E. R. P.; ROCHA, M. O. C.; SILVA, O. A. EDS. **Clínica Médica; os princípios da prática ambulatorial**. São Paulo; Atheneu, p.1374-1380, 1993.
- GARRITY, G.M.; BELL, J.A.; LILBURN, T.G. **Bergey's Manual of Systematic of bacteriology**. 2ed. Baltimore: Willians; Wilkins, 2004.
- GEHRKE, F.S.; GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; RIBEIRO, A.; MARRELLI, M.T.; SCHUMAKER, T.T.S. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* spp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian Spotted Fever focus in the state of Rio de Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology Infection Disease**, v.15, n.2, p.267-268, 2009.
- GILLESPIE, J.J.; BEIER, M.S.; RAHMAN, M.S.; AMMERMAN, N.C.; SHALLOM, J.M.; PURKAYASTHA, A.; SOBRAL, B.S.; AZAD, A.F. Plasmids and rickettsial evolution: insight from *Rickettsia felis*. **PLoS One**, v.2, n.3, p.266, 2007.
- GODDARD, J.; NORMENT, B.R. Spotted fever group Rickettsiae in the Lone Star tick, *Amblyomma americanum* (Acari; Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.23, n.5, p.465-472, 1986.
- GREGORY, R. Tifo exantemático (primeiro relato no Rio Grande do Sul). **Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul**, v.3, p.3-11, 1941.
- GUEDES, E.; LEITE, R.; PRATA, M.C.A.; PACHECO, R.C.; WALKER, D.G.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n.8, p.841-845, 2005.
- GUGLIELMONE, A.A.; SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, J.R.S.; ESTRADAPEÑA, A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. In: BARROS-BATESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical, um guia ilustrado para identificação de espécies**. 1ª ed. São Paulo: Instituto Butantan, cap.7, p.115-138. 2006.
- GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATESTI, D.M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Editora Plêiade; 2001.
- HARDEN, V.A. **Rocky mountain spotted fever: history of a twentieth-century disease**. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1990.
- HERRERO-HERRERO, I.; WALKER, D.H.; RUIZ-BELTRAN, R. Immunohistochemical evaluation of cellular immune response to *Rickettsia conorii* in taches noires. **The Journal of Infectious Diseases**, v.155, n.4, p.802-805, 1987.
- HIGGINS, J.A.; RADULOVIC, S.; SCHIEFER, M.E.; AZAD, A.F. *Rickettsia felis*: a new specie of pathogenic Rickettsia isolates from cat fleas. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34, n.3, p.671-674, 1996.
- HORTA, M.C. **Pesquisa de infecção por rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, equídeos, caninos e em diferentes estádios de vida do *Amblyomma cajennense*, provenientes de uma área endêmica do estado de São Paulo**. Tese de Mestrado em epidemiologia experimental aplicada as

zoonoses do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 72, 2002.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SANGIONI, L.A.; VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S.M.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T.T.S.; WALKER, D.H. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian Spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group Rickettsia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.71, n.1, p.93-97, 2004.

HORTA, M.C.; PINTER, A.; CORTEZ, A.; SOARES, R.M.; GENNARI, S.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia felis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Publicidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.321-325, 2005.

HORTA, M.C.; CHIEBAO, D.P.; SOUZA, D.B.; FERREIRA, F.; PINHEIRO, R.S.; LABRUNA, M.B.; SCHUMAKER, A.T.S. Prevalence of *Rickettsia felis* in the Fleas *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* from Two Indian Villages in São Paulo Municipality, Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n.1078, p.361–363, 2006.

HORTA, M.C.; LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; LINARDI, P.M.; SCHUMAKER, T.T. Rickettsia infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.102, n.7, p.793-801, 2007.

HORTA, M.C.; SCOTT, F.B.; CORREIA, T.; FERNANDES, J.I.; RICHTZENHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia felis* infection in cat fleas *Ctenocephalides felis felis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.3, p.813-818, 2010.

HORTA, M.C.; OGRZEWALSKA, M.; AZEVEDO, M.C.; COSTA, F.B.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis felis* from Five Geographic Regions of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.91, n.1, p. 96-100, 2014.

HORTA, M.C.; SARAIVA, D.G.; OLIVEIRA, G.M.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* in *Amblyomma rotundatum* ticks parasitizing *Rhinella jimi* from northeastern Brazil. **Microbes and Infection**, v.17, n.11-12, p. 856-858, 2015.

HSU, Y.M.; LIN, C.C.; CHOMEL, B.,B.; TSAI, K.H.; WU, W.J.; HUANG, C.G.; CHANG, C.C. Identification of *Rickettsia felis* in fleas but not ticks on stray cats and dogs and the evidence of *Rickettsia rhipicephali* only in adult stage of *Rhipicephalus sanguineus* and *Rhipicephalus haemaphysaloides*. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.34, n.6, p.513-518, 2011.

HUN, L.; TROYO, A.; TAYLOR, L.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. First report of the isolation and molecular characterization of *Rickettsia amblyommii* and *Rickettsia felis* in central america. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.11, n.10, p.1395-1397, 2011.

ISHIKURA, M.; ANDO, S.; SHINAGAWA, Y.; MATSUURA, K.; HASEGAWA, S.; NAKAYAMA, T.; FUJITA, H.; WATANABE, M. Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae based on gltA, 17-kDa, and rOmpA genes amplified by



nested PCR from ticks in Japan. **Microbiology and Immunology**, v.47, n.11, p.823-832, 2003.

KEIRANS, J.E.; DURDEN, L.A. Tick systematics and identification. In: GOODEMAN, J.L.; DENNIS, D.T.; SONENSHINE, D.E. **Tick-borne diseases of humans**. ASM Press: Washington, D.C. Cap.7, 2005.

KELLY, D.J.; RICHARDS, A.L.; TEMENAK, J.; STRICKMAN, D.; DASCH, G.A. The Past and Present Threat of Rickettsial Diseases to Military. *Medicine and International Public Health*. **Clinical Infectious Diseases**, v.34, n.4, p.145–169, 2002.

KERN, W.H.JR.; RICHMAN, D.L.; KOEHLER, P.G.; BRENNER, R.J. Outdoor survival and development of immature cat fleas (Siphonaptera: Pulicidae) in Florida. **Journal of Medical Entomology**, v.36 n.2, p.207-211, 1999.

KLONPEN, J.S.H.; BLACK, W.C.; KEIRANS, J.E.; OLIVERM, J.H. Evolution of ticks. **Annual Review Entomology**, v.41, p.141-161, 1996.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapato em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v.6, n.30, p.24-32, 2001.

LABRUNA, M.B.; KERBER, C.E.; FERREIRA, F.; FACCINI, J.L.H.; DE WAAL, D.T.; GENNARI, S.M. Risk factors to tick infestations and their occurrence horses in the State of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.97, n.1, p.1-14, 2001.

LABRUNA, M.B. Biológica-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acar: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, p.123-124, 2004.

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

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

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

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

LADO, P.; CASTRO, O.; LABRUNA, M.B.; VENZAL, J.M. First molecular detection of *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma tigrinum* and *Amblyomma dubitatum* ticks from Uruguay. **Ticks Tick Borne Diseases**, v.5, n.6, p.660-662, 2014.

LANE, R.S.; EMMONS, R.W.; DONDERO, D.V.; NELSON, B.C. Ecology of tick borne agents in California: further observations on rickettsiae. In: BURGDORFER,

W.; ANACKER, R.L. (Ed.). **Rickettsiae and Rickettsial diseases**. New York: Academic Press, p.575-584, 1981.

LA SCOLA, B.; D. RAOULT. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, p.2715–2727, 1997.

LEMOS, E.R.S.; MACHADO, R.D.; PIRES, F.D.A.; MACHADO, S.L.; COSTA, L.M.C.; COURA, J.R. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the State Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.92, n.4, p.477-481, 1997.

LEMOS, E.R.S. Rickettsial diseases in Brazil. **Virus Reviews and Research**, v.7, p.7-16, 2002.

LEÓN, M. El papel patógeno de las pulgas una seria amenaza para las personas y los animales. **Consulta de Difusión Veterinária**, v.172, n.8, p.29-32, 2010.

LEULMI, H.; SOCOLOVSKI, C.; LAUDISOIT, A.; HOUEMENO, G.; DAVOUST, B.; BITAM, I.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, Bartonella Species and *Yersinia pestis* in Fleas (Siphonaptera) from Africa. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.8, n.10 p.3152, 2014.

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

LIM, M.Y.; BRADY, H.; HAMBLING, T.; SEXTON, K.; TOMPKINS, D.; SLANEY, D. *Rickettsia felis* Infections, New Zealand. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, n.1, 2012.

LINARDI, P.M.; GUIMARÃES, L.R. Sifonápteros do Brasil. **Museum of Zoology of the University of São Paulo**. Fundação Amparo a Pesquisa, Estado SP, 2000, 173p.

LINARDI, P.M.; NAGEM, R.L. Observações sobre o ciclo evolutivo de *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) (Siphonaptera, Pulicidae) e sua sobrevivência fora do hospedeiro. **Boletim do Museu de História Natural UFMG, Zoologia**, v. 13, p. 1-22, 1972.

LOULY, C.C.B.; FONSECA, I.N.; OLIVEIRA, V.F.; BORGES, L.M.F. Ocorrência de *Rhipicephalus sanguineus* em trabalhadores de clínicas veterinárias e canis, no município de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, v.7, n.1, p.103-106, 2006.

LUGARINI, C.; MARTINS, T.F.; OGRZEWALSKA, M.; de VASCONCELOS, N.C.; ELLIS, V.A.; de OLIVEIRA, J.B.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B.; SILVA, J.C. Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.6, n.3, p.364-75, 2015.

MACULOSO, K.R.; SONESHINE, D.E.; CERAUL, S.M.; AZAD, A.F. Rickettsial infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second rickettsia. **Journal of Medical Entomology**, v.36, n.6, p.809-813, 2002.

MARQUEZ, F.J.; MUNIAIN, M.A.; PEREZ, J.M.; PACHON, J. Presence of *Rickettsia felis* in the cat flea from southwestern Europe. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.8, n.1, p.89–91, 2002.

- MÁRQUEZ-JIMÉNEZ, F.J.; HIDALGO-PONTIVEROS, A.; CONTRERAS-CHOVA, F.; RODRÍGUEZ-LIÉBANA, J.J.; MUNIAIN-EZCURRA, M.A. [Ticks (Acarina: Ixodidae) as vectors and reservoirs of pathogen microorganisms in Spain]. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v.23, n.2, p.94-102, 2005.
- MARRELLI, M.T.; SOUZA, L.F.; MARQUES, R.C.; LABRUNA, M.B.; MATIOLI, R.S.; TONON, A.P.; RIBOLLA, P.E.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; Taxonomic and Phylogenetic Relationships Between Neotropical Species of Ticks from Genus *Amblyomma* (Acari:Ixodidae) Inferred from Second Internal Transcribed Spacer Sequences of Rdna. **Journal of Medical Entomology**, v.44, n.2, p.222-228, 2007.
- MARTINEZ, M.B.; TRABULSI, L.R. Bactérias Patogênicas. In: TRACULSI, L.R.; ALTERTHUM. **Microbiologia**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, cap.59, p.445-446, 2010.
- MARTINS, M.E.P.; BRITO, W.M.E.D.; LABRUNA, M.B.; FILHO, J.M. Identificação e pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos colhidos em cães e equinos em Quirinópolis, Goiás, Brasil. **Multi-Science Journal**, v.1, n.1, p.120-127, 2015.
- MASSARD, C.L.; FONSECA, A.H. Carrapatos e doenças transmitidas comuns ao homem e aos animais. **A Hora Veterinária**, v.135, n.1, p.15-23, 2004.
- MAXEY, E.E. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. **SentinelMed**, v.7, p.433-438, 1899.
- MCELROY, K.M.; BLAGBURN, B.L.; BREITSCHWERDT, E.B.; MEAD, P.S.; MCQUISTON, J.H. Flea-associated zoonotic diseases of cats in the USA: bartonellosis, flea-borne rickettsioses, and plague. **Trends in Parasitology**, v.26, n.4, p.197-204, 2010.
- MCINTOSH, D.; BEZERRA, R.A.; LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H.; GAIOTTO, F.A.; GINÉ, G.A.F.; ALBUQUERQUE, G.R. Detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma longirostre* (Acari: Ixodidae) from Bahia state, Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.46, n.3, p.879-883, 2015.
- MELLES, H.H.B.; COLOMBO, S.; LEMOS, E.R.S. Isolamento de *Rickettsia* em cultura de células vero. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32 n.5, p.469-473, 1999.
- MELO, A.L.T.; MARTINS, T.F.; HORTA, M.C.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M. Seroprevalence and risk factors to *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. in dogs the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.2, n.4, p.213-218, 2011.
- MELO, A.L.; WITTER, R.; MARTINS, T.F.; PACHECO, T.A.; ALVES, A.S.; CHITARRA, C.S.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, 2015. doi: 10.1111/mve.12139. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26467462>>. Acesso em 17.10. 2015.
- MIRANDA, J.; MATTAR, S. Molecular detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia* sp. strain Colombianensi in ticks from Cordoba, Colombia. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.5, n.2, p.208-212, 2014.

- MONJE, L.D.; NAVA, S.; ANTONIAZZI, L.R.; COLOMBO, V.C.; BELDOMENICO, P.M. In vitro isolation and infection intensity of *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* ticks from the Paraná River Delta region, Argentina. **Ticks Tick Borne Diseases**, v.5, n.6, p.924-7, 2014.
- MONTEIRO, J.L. A vacinação preventiva como base da prophylaxia do "Typho Exanтемático de São Paulo (*Rickettsiose neotropica*) **Memórias do Instituto Butantã**, v.10, n.1-16, p.1935-1936.
- MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R. C.; GUTMANN, T. B.; BARBOSA, S. O.; GONZÁLES, M. A. R. M.; MURARO, M. A.; CECÍLIO, S. R. M.; LABRUNA, M. B. New epidemiological data on brazilian spotted fever in an endemic area of the State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.9, n.1, p.73-78, 2009.
- NIERI-BASTOS, F.A.; LOPES, M.G.; CANÇADO, P.H.; ROSSA, G.A.; FACCINI, J.L.; GENNARI, S.M.; LABRUNA, M.B. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a Spotted Fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, n.2, p. 259-261, 2014.
- OGRZEWALSKA, M.; LITERAK, I.; CARDENAS-CALLIRGOS, J.M.; CAPEK, M.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* in ticks *Amblyomma varium* Koch, 1844, from birds in Peru. **Ticks and Tick Borne Diseases**, v.3, n.4, p.254-256, 2012.
- OGRZEWALSKA, M.; LITERAK, I.; MARTINS, T.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infections in the ticks wild birds in Paraguay. **Ticks and Tick Borne Diseases**, v.5, n.2, p. 83-89, 2014.
- OGRZEWALSKA, M.; MARTINS, T.; CAPEK, M.; LITERAK, I.; LABRUNA, M.B.A. *Rickettsia parkeri*-like agent infecting *Amblyomma calcaratum* nymphs from wild birds in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick Borne Diseases**, v.4, n.2-4, p.145-147, 2013.
- ORGZEWALSKA.; UEZU, A.; LABRUNA, M. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in the eastern Amazon, norther Brazil, with notes on rickettsial infection in ticks. **Parasitology Research**, v.106, n.4, p.809-816, 2010.
- OLIVEIRA, R.P.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L.; CHAMONE, C.B.; CALIC, S.B.; SILVA S.U.; WALKER, D.H. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**. v.8, n.3, p.317-319, 2002.
- OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.; SILVA, A.JR.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, D.H.; GALVÃO, M.A.; MAFRA, C. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.103, n.2, p.191-194, 2008.
- OTEO, J.A.; PORTILLO, A. Tick-borne rickettsioses in Europe. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.3, n.5-6, p.271-278, 2012.
- PACHAS, P.E., MORON, C.; HOYOS, A.; RAMREZ, C.; MINAYA, P.; DEL AGUILAR, R.; WALKER, D. *Rickettsia felis* identified in *Ctenocephalides canis* fleas from Peruvian Andes. Presented at the ASR/Bartonella **Joint Conference**. Big Sky, Montana, USA, 2001.
- PACHECO, R.C.; HORTA, MC.; MORAES-FILHO, J.; ATALIBA, A.C.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B.; Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus*

*hydrochaeris*) from São Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. **Biomedica**, v.27, n.3, p.364-371, 2007.

PACHECO, R.C.; HORTA, M.C.; PINTER, A.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; NARDIL, M.S.; SOUZA, S.S.A.L.; SOUZA, C.E.; SZABOL, M.P.J.; RICHTZENHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.3, p.351-353, 2009.

PACHECO, R.C.; ARZUA, M.; NIERI-BASTOS, F.A.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A.; RICHTZENHAIN, L.J.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.9, n.3, p.710-716, 2012.

PADDOCK, C.D.; GREER, P.W.; FEREBEE, T.L.; SINGLETON, JR.J.; MCKECHNIE, D.B.; TREADWELL, T.A.; KREBS, J.W.; CLARKE, M.J.; HOLMAN, R.C.; OLSON, J.G.; CHILDS, J.E.; ZAKI, S.R. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: immunohistochemical detection of fatal, serologically unconfirmed disease. **The Journal of Infectious Diseases**, v.179, n.6, p.1469-1476, 1999.

PADDOCK, C. D.; BRENNER, O.; VAID, C.; BOYD, D. B.; BERG, J. M.; JOSEPH, R. J.; ZAKI, S. R.; CHILDS, J. E. Short report: concurrent Rocky Mountain spotted fever in a dog and its owner. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.66, n.2, p.197-199, 2002.

PADDOCK, C.D.; SUMMER, J.W.; COMER, J.A.; ZAKI, S.R.; GOLDSMITH, C.S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S.L.F.; TAMMINGA, C.L. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, n.6, p.805-11, 2004.

PADDOCK, C.D.; KOSS, T.; EREMEEVA, M.E.; DASCH, G.A.; ZAKI, S.R.; SUMNER, J.W. Isolation of *Rickettsia akari* from eschars of patients with rickettsialpox. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.75, n.4, p.732-738, 2006.

PADDOCK, C.D.; FOURNIER, P.E.; SUMNER, J.W.; GODDARD, J.; ELSHENAWY, Y.; METCALFE, M.G.; LOFTIS, A.D.; VARELA-STOKES, A. Isolation of *Rickettsia parkeri* and identification of a novel spotted fever group *Rickettsia* sp. from Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) in the United States. **Applied Environmental Microbiology**, v.76, n.9, p.2689-2696, 2010.

PARKER, R.R.; KOHLS, G.M.; COX, G.W.; DAVIS, G.E. Observations on an infectious agent from *Amblyomma maculatum*. **Public Health Reports**, v.54, n. 32, p.1482-1484, 1939.

PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Veterinary Research**, v.36, n.3, p.469-492, 2005.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.18, n.4, p.719- 56, 2005.

PAROLA, P.; MATSUMOTO, K.; SOCOLOVSCHI, C.; PARZY, D.; RAOULT, D. A tick-borne rickettsia of the spotted-fever group, similar to *Rickettsia amblyommii*,

in French Guyana. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.101, n.2, p.185-188, 2007.

PAROLA, P.; LABRUNA, M.B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v.11, p.40-50, 2009.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSKI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Update on Tick-Born Rickettsioses around the World: a Geographic Approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, n.4, p.657, 2013.

PATINO-CAMARGO, L. Nuevas observaciones sobre un tercer foco de fiebre petequial (maculosa) en el hemisferio americano. **Boletín de la oficina Sanitaria Panamericana**, v.20, p.112-1124, 1941.

PERES-OSORIO, C.E.; ZALAVALA-VELAZQUEZ, J.E.; ARIAS LEON, J.J.; ZAVALA-CASTRO, J.E. *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. **Emerging of Infectious Diseases**, v.14, n.7, p.1019-1023, 2008.

PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in Cell Culture from the Tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.523-529, 2006.

PINTER, A.; FRANÇA, A.C.; SOUZA, C.E.; SABOO, C.; NASCIMENTO, E.M.M.; SANTOS, F.C.P.S.; KATZ, G.; LABRUINA, M.B.; HOLCMAN, M.M.; ALVES, M.J.C.P.; HORTA, M.C.; MASCHERETTI, M.; MAYO, R.C.; ANGERAMI, R.N.; BRASIL, R.A.; LEITE, R.M.; SOUZA, S.S.A.L.; COLOMBO, S.; OLIVEIRA, V.L.M. Febre Maculosa Brasileira. **Suplemento Bepa**, v.8, n.1, p.3-31, 2011.

PIRANDA, E.M.; FACCINI, J.L.; PINTER, A.; SAITO, T.B.; PACHECO, R.C.; HAGIWARA, M.K.; LABRUNA, M.B. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.107, n.7, p.696-701, 2008.

PIZA, J.T. **Considerações epidemiológicas e clínicas sobre o Tifo Exantemático de São Paulo**. In: Piza JT, Meyer JR, Salles GL (eds) Tifo Exantemático de São Paulo. Sociedade Imprensa Paulista, São Paulo p.11-119, 1932.

RAOULT, D.; LA SCOLA, B.; ENEA, M.; FOURNIER, P.E.; ROUX, V.; FENOLLAR, F.; GALVÃO, M.A.M.; LAMBALLERIE, X. A Flea-Associated *Rickettsia* Pathogenic for Humans, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.7, n.1, p.73-81, 2001.

RAOULT, D. A new tick-borne rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v.38, n.6, p.812- 813, 2004.

RAOULT, D.; PAROLA, P. **Rickettsial Diseases**. New York London: CRC Press, 2007.

REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 624p.

RICKETTS, H.T. Some aspects of Rock Mountain Spotted Fever as by recent investigations. **Medical Record**, n.76, p.843-855, 1909.

- ROBINSON, D.; LEO, N.; PROCIV, P.; BARKER, S.C. Potential role of head lice, *Pediculus humanus capitis*, as vectors of *Rickettsia prowazekii*. **Parasitology Research**, v.90, n.3, p.209-211, 2003
- RODANICHE, E.C.; Natural infectious of the tick *Amblyomma cajennense* with *Rickettsia rickettsii* in Panamá. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.2, n.4, p.696-699, 1953.
- RODRIGUES, A.F.S.F.; DAEMON, E.; D'AGOSTO, M. Investigação sobre alguns ectoparasitos em cães de rua no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.10, n.1, p.13-19, 2001.
- ROMER, Y.; SEIJO, A.C.; CRUDO, F.; NICHOLSON, W.L.; VARELA-STOKES, A.; LASH, R.; PADDOCK, C.D. *Rickettsia parkeri* Rickettsiosis, Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, n.7, p.1169-1173, 2011.
- ROZENTAL, T.; EREMEEVA, M.E.; PADDOCK, C.D.; ZAKI, S.R.; DASCH, G.A.; LEMOS, E.R.S. Fatal case of Brazilian spotted fever confirmed by immunohistochemical staining and sequencing methods on fixed tissues. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.257-259, 2006.
- ROZENTAL, T.; FAVACHO, A. R. M.; BARREIRA, J. D.; OLIVEIRA, R. C.; GOMES, R.; ALMEIDA, D. N. P.; LEMOS, E. R. S. *Rickettsia* spp. infection in *Rhipicephalus sanguineus* ticks in a Brazilian spotted fever endemic rural area in Rio de Janeiro state, Brazil. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.15, n.2, p.245–246, 2008.
- RUST, M.K.; DRYDEN, M.W. The biology, ecology and management of the cat flea. **Annual Review of Entomology**, n.42, p.451-473, 1997.
- SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, v.11, n.2, p.265-270, 2005.
- SANGIONI, L. A.; VOGEL, F.F.S.; CADORE, G.C.; HILGER, R.B.; TONIM, R.; PACHECO, R.C.; OGRZEWALSKA, M.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in Cerro Largo, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.511-514, 2011.
- SANTOS, A.P. **Aspectos epidemiológicos da febre maculosa em uma área endêmica do município de Mogi das Cruzes (SP) e estudo em laboratório do ciclo de vida do vetor *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae)**. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, 2003.
- SANTOS, M.G.; GAGLIANI, L.H. Febre Maculosa. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**, v.4, n.6, 2007.
- SARAIVA, D.F.; NIERI-BASTOS, F.A.; HORTA, M.C.; SOARES, H.S.; NICOLA, P.A.; PEREIRA, L.C.M.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma auricularium* ticks in Pernambuco, Northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission and transstadial perpetuation. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.14, n.9, p. 615-618, 2013.
- SERRA-FREIRE, N.M. **Doenças causadas por carrapatos**. In: MARCONDES, C. B. Doenças Transmitidas e Causadas Por Artrópodes. 1. ed. São Paulo, Atheneu, cap. 27, p.377-402, 2009.

- SEXTON, D.J.; MUNIZ, M.; COREY, G.R.; BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; DUMLER, S.; WALTER, D.H.; PECANHA, P.M.; DIETZE, R. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. **The American Journal of Tropical and Medicine Hygiene**, v.49, n.2, p.222-226, 1993.
- SILVA, N.; EREMEEVA, M.E.; ROZENTAL, T.; RIBEIRO, G.S.; PADDOCK, C.D.; RAMOS, E.A.G.; FAVACHO, A.R.M.; REIS, M.G.; DASCH, G.A.; LEMOS, E.R.S.; KO, A.I. Eschar-associated Spotted Fever Rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.17, n.2, p.275-278, 2011.
- SILVEIRA, I.; PACHECO, R.C.; SZABÓ, M.P.J.; RAMOS, H.G.C.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, n.7, p.1111-1113, 2007.
- SILVEIRA, I.; MARTINS, T.F.; OLEGÁRIO, M.M.; PETERKA, C.; GUEDES, E.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Rickettsial Infection in Animals, Humans and Ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v.62, n.7, p.525-533, 2015.
- SILVERMAN, J.; RUST, M.K.; REIERSON, D.A. Influence of temperature and humidity on survival and development of the cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). **Journal of Medical Entomology**, v.18, n.1, p.78-83, 1981.
- SMITH, R.D.; MIRANPURI, G.S.; ADAMS, J.H.; AHRENS, E.H. *Borrelia theileri*: isolation from ticks (*Boophilus microplus*) and tick-borne transmission between splenectomized calves. **American Journal of Veterinary Research**, v.46, n.6, p.1396-1398, 1985.
- SOARES, J.F.; SOARES, C.D.M.; GALLIO, M.; SILVA, A.S.; MOREIRA, J.P.; BARROS-BATTESTI, D.M.; MONTEIRO, S.G. Occurrence of *Amblyomma longirostre* in *Ramphastos dicolorus* in Southern Brazil. **Ciência Rural**, v.39 n.3, 2009.
- SOUSA, R.; NÓBREGA, S. D.; BACELLAR, F.; TORGAL, J. Sobre a realidade da febre escaro-nodular em Portugal. **Acta Médica Portuguesa**, v.16, p.429-436, 2003.
- SOUZA, C.E.; PINTER, A.; DONALISIO, M.R. Risk factors associated with the transmission of Brazilian spotted fever in the Piracicaba river basin, State of São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.48, n.1, p.11-17, 2015.
- SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E. BRANDÃO, P.E; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v.16, n.3, p.521-523, 2010.
- STALLIVIERE, F.M.; BELLATO, V.; SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; MOURA, A.B.; NEIDERMAIER, L. Ectoparasitos em *Canis familiaris* da cidade de Lages, SC, Brasil e aspectos sócio-econômicos e culturais das famílias dos proprietários dos animais. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v.8, n.2, p. 179-183, 2009.
- STEVENSON, H.L.; LABRUNA, M.B.; MONTENIERI, J.A.; KOSOY, M.Y.; GAGE, K.L.; WALKER, D.H. Detection of *Rickettsia felis* in a New World flea species, *Anomiopsyllus nudata* (Siphonaptera: Ctenocephthalmidae). **Journal of Medical Entomology**, v.42, n.2, p.163-167, 2005.



- SULIS, G.; RODARI, P.; CALIGARIS, S.; TOMASONI, L.R. CASTELLI, F.; GULLETTA, M. A Case of *Rickettsia felis* Infection Imported From Nepal. **Journal of Travel Medicine**, v.22, n.4, p.276–278, 2015.
- SZABÓ, M.P.J.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.3, n.27, p.1-9, 2013.
- TABOADA, J. **Babesiosis**. In: Greene, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 2ed. Philadelphia: WB Saunders, p.473-481, 1998.
- TAMURA, A.; OHASHI, N.; URAKAMI, H.; MIYAMURA, S. Classification of *Rickettsia tsutsugamushi* in a *Orientia* gen. nov., as *Orientia tsutsugamushi* New Genus, comb. nov. **International Journal of systematic Bacteriology**, v.45, n.3, p.589-591, 1995.
- TANIKAWA, A.; LABRUNA, M.B.; COSTA, A.; AGUIAR, D.M.; JUSTINIANO, S.V.; MENDES, R.S.; MELO, A.L.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S. *Ehrlichia canis* in dogs in a semiarid region of Northeastern Brazil: Serology, molecular detection and associated factors. **Research in Veterinary Science**, v.94, n.3, p.474-477, 2013.
- TARASEVICH, I.V.; MEDIANNIKOV, O.Y. Rickettsial Diseases in Russia. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.48–59, 2006.
- TOMASSONE, L.; NUNEZ, P.; CEBALLOS, L.A.; GÜRTLER, R.E.; KITRON, U.; FARBER, M. Detection of *Candidatus Rickettsia* sp. strain Argentina an *Rickettsia bellii* in *Amblyomma ticks* (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina. **Experimental and Applied Acarology**, v.52, n.1, p.93-100, 2010.
- TOSTES, J.; BRETZ, G. Sobre uma Rickettsiose observada em zona rural do estado do Rio de Janeiro. **Brasil Médico**, 1941.
- TRAVASSOS, J.; VALLEJO-FREIRE, A. Criação Artificial de *Amblyoma cajennense* para o Preparo da Vacina contra a Febre Maculosa. **Memórias do Instituto Butantã** v.18, p.145-235, 1944/1945.
- VALBUENA, G.; FENG, H.M.; WALKER, D.H. Mechanisms of immunity against rickettsiae. New perspectives and opportunities offered by unusual intracellular parasites. **Microbes and Infection**, v.4, n.6, p.625-633, 2002.
- VALBUENA, G. Patogénesis de las infecciones producidas por rickettsias en las Americas. **Revista MVZ Córdoba**, v.5, n.1, p.2004-2006, 2010.
- VÉLVEZ, J.C.Q.; HIDALGO, M.; GONZÁLEZ, J.D.R. Rickettsiosis, una enfermedad letal emergente y re-emergente en Colombia. **Universitas Scientiarum**, v.17, n.1, p.82-99, 2012.
- VENZAL, J.M.; PEREZ-MARTINEZ, L.; FELIX, M.L.; PORTILLO, A.; BLANCO, J.R.; OTEO, J.A. Prevalence of *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* and *Ctenocephalides canis* from Uruguay. **Annals of The New York Academy of Sciences**, v.1078, p.305-308, 2006.
- VITALE, G.; MANSUETO, S.; ROLAIN, J.M.; RAOULT, D. *Rickettsia massiliae* Human Isolation. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, n. 1, p.174-175, 2006.
- WALKER, D.H. Rickettsiae and Rickettsial Infections: The Current State of Knowledge. **Clinical Infectious Diseases**, v.45, n.1, s.39-44, 2007.

- WEISS, E.; MOULDER, J.W. **The Rickettsias and Chlamydias**. In: N.R. Kreig & J.G.Holt, 1984, Baltimore, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, v.1, 1984.
- WELLER, S.J.; BALDRIDGE, G.D.; MUNDERLOH, U.G.; NODA, H.; SIMSER, J.; KURTTI, T.J. Phylogenetic placement of rickettsiae from the ticks *Amblyomma americanum* and *Ixodes scapularis*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.36, n.5, p.1305–1317, 1998.
- WILLIAMS, S.G.; SACCI J.B.Jr.; SCHRIEFER, M.E.; ANDERSEN, E.M.; FUJIOKA, K.K.; SORVILLO, F.J.; BARR, A.R.; AZAD, A.F.; Typhus and typhuslike rickettsiae associated with opossums and their fleas in Los Angeles County, California. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, n.7, p.1758-1762, 1992.
- WILSON, C.C. The pet as an anxiolytic intervention. **The Journal of Nervous and Mental Disease**, v.179, n.8, p.482-489, 1991.
- WRIGHT, C.L.; GAFF, H.D.; SONENSHINE, D.E.; HYNES, W.L. Experimental vertical transmission of *Rickettsia parkeri* in the Gulf Coast tick, *Amblyomma maculatum*. **Ticks and Tick-Borne Disease**, v.6, n.5, p.568-573, 2015.
- YSSOUF, A.; SOCOLOVSCHI, C.; KERNIF, T.; TEMMAM, S.; LAGADEC, E.; TORTOSA, P.; PAROLA, P. First molecular detection of *Rickettsia africae* in ticks from the Union of the Comoros. **Parasites & Vectors**, v.7, n.444, p.1-5, 2014.
- YU, X.J.; WALKER, D.H. **The Order Rickettsiales**. In: M Dworkin, the Prokaryotes: an evolving electronic resource for the microbiology community, 2003, New York, Springer-Verlag, 3 ed., 2003.
- ZAVALA-VELÁSQUEZ, J.E.; ZAVALA-CASTRO, J.E.; VADO-SOLÍS, I.; RUIZ, SOSA, J.A.; MORON, C.G.; BOUYER, D.H.; WALKER, D.H. Identification of *Ctenocephalides felis* fleas as a host of *Rickettsia felis*, the agent of a spotted fever rickettsiosis in Yucatan, Mexico. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v.2, n.2, p.69-75, 2002.

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo geral**

- Detectar DNA de *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. e *C. felis felis*.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Identificar a presença de DNA de *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. através da Reação em Cadeia da Polimerase;
- Identificar a presença de DNA de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* através da Reação em Cadeia da Polimerase.

## **CAPÍTULO I**

**Detecção de *Rickettsia* spp. em *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) coletados em cães provenientes dos estados de Pernambuco e Alagoas, Brasil**

**Detecção de *Rickettsia* spp. em *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) coletados em cães provenientes dos estados de Pernambuco e Alagoas, Brasil**

Detection of *Rickettsia* spp. in *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) collected in dogs from Pernambuco and Alagoas states, Brazil

MONTEIRO, M.F.M.<sup>1</sup>; RAMOS, R.A.N.<sup>1</sup>; RAMOS, I.C.N.<sup>1</sup>; FIRMINO, E.D.F.<sup>1</sup>; LIMA, V.F.S.<sup>1</sup>; PORTO, W.J.N.<sup>2</sup>; ALVES, L.C.<sup>1</sup>

1. Universidade Federal Rural de Pernambuco
2. Universidade Federal de Alagoas

### Resumo

*Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) é considerado transmissor de diversos patógenos atuando como grande problema de saúde pública. Neste sentido, esse ectoparasito tem sido apontado na cadeia epidemiológica de transmissão de *Rickettsia* spp. aos homens e animais comprovando a complexidade do ciclo da Febre Maculosa Brasileira (FMB). O objetivo deste estudo foi detectar DNA de *Rickettsia* spp. em carrapatos de cães provenientes de área urbana da Região Nordeste, Brasil. Foram coletados 488 carrapatos de 155 cães de dois municípios do estado de Pernambuco (Recife e Bezerros) e do estado de Alagoas (Viçosa e Arapiraca). Os ectoparasitos foram identificados em relação à espécie e estágio de desenvolvimento. Para a extração de DNA, foram analisados em *pools* contendo no máximo três carrapatos sendo separados de acordo com o sexo e estágio de vida. Todos os carrapatos aqui estudados foram identificados como *R. sanguineus* s.l. Dos 136 *pools* submetidos à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), 20,58% (28/136) foram positivos para *Rickettsia* spp. Em relação aos diferentes estágios de vida, observou-se que 60,71% (17/28), 35,71% (10/28) e 3,57% (1/28) eram formados por *pools* de machos, fêmeas e ninfas, respectivamente. Em Pernambuco observou-se positividade de 20,49% para Recife e 22,22% para Bezerros. Já Alagoas não foi observada positividade para o município de Viçosa, entanto, Arapiraca obteve 25% de positividade. Este estudo reporta pela primeira vez a detecção de *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. parasitando cães provenientes do estado de Pernambuco e Alagoas. Apesar de não existirem relatos de FMB nas regiões estudadas, a presença de carrapatos infectados pode sugerir a circulação do patógeno entre hospedeiros vertebrados e vetores.

**Palavras-chave:** Riquetsiose, ixodídeo, diagnóstico molecular.

### Abstract

*Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) is considered a transmitter various pathogens acting as a major public health problem. In this sense, this ectoparasite has been pointed out in the epidemiological chain of transmission of *Rickettsia* spp. to humans and animals demonstrating the complexity of the cycle of Brazilian Spotted Fever (BSF). The main of this study was detect DNA from *Rickettsia* spp. in ticks from dogs from urban area in the Northeast of Brazil. Therefore, were collected 488 ticks of 155 dogs in two counties of the State of Pernambuco (Recife and Bezerros) and two municipalities in the state of Alagoas (Viçosa and Arapiraca). Ectoparasites were identified in relation to species and stage of development. For DNA extraction, were analyzed in pools containing up to three ticks are separated according to sex and stage of life. All the ticks identified was *R. sanguineus* s.l. Of the 136 pools submited to Polimerase Chain Reaction (PCR), 20.58% (28/136) were positive for *Rickettsia* spp. Regarding the different stages of life, it was found that 60.71% (17/28) 35.71% (10/28) and 3.57% (1/28) pools were formed by males, females and nymphs, respectively. In Pernambuco there was positivity of 20.49% to Recife and 22.22% for Bezerros. In Alagoas was not observed positive for Viçosa, however, Arapiraca got 25% positive. This study reports the first detection of *Rickettsia* spp. in *R. sanguineus* s.l. parasitizing dogs from the Pernambuco and Alagoas state. Although there are no reports of BSF in the regions studied, the presence of infected ticks can suggest the circulation of the pathogen between vertebrate hosts and vectors.

**Key-words:** Rickettsial disease, ixodideo, molecular diagnosis.

## Introdução

*Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.), é considerado um dos ectoparasitos de maior importância médico-veterinária em todo o mundo (SZABÓ et al., 2001; GONZÁLEZ et al., 2004; DANTAS-TORRES et al., 2012).

É responsável pela transmissão de diversos patógenos como *Babesia* sp. (TRAPP et al., 2006), *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Anaplasma platys* (WOLDEHIWET; RISTIC, 1993), *Cercopithifilaria baina* (RAMOS et al., 2013). Além de agentes como *Rickettsia rickettsii*, principal causador da Febre Maculosa (FM) (PIRANDA et al., 2008; CUNHA et al., 2009; ROZENTAL et al., 2008), e também *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia rhipicephali*, *Rickettsia amblyommii*, *Rickettsia felis* e *Rickettsia bellii* (BURGDORFER et al., 1975; BOUYER et al., 2001).

As riquetsioses apresentam ampla distribuição nas regiões tropicais e subtropicais (GALVÃO; RIBEIRO, 1993), desta forma, são encontradas em todos os continentes (WALKER, 2007; LIM et al., 2012; OTEO; PORTILLO, 2012; LEULMI et al., 2014; SULIS et al., 2015; BLANTON et al., 2015), com detecção em ixodídeos e diversos hospedeiros vertebrados (CICUTTIN et al., 2004), podendo infectar cães e seres humanos em áreas endêmicas de todo o mundo (BIBERSTEIN; HIRSH, 2003; PAROLA et al., 2009).

No Brasil, a ocorrência das riquetsioses em humanos tem sido descrita nos estados do Rio Grande do Sul (SANGIONI et al., 2011), São Paulo (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2015) e Mato Grosso do Sul (COUTO et al., 2015). Além disso, vários estudos reportam a detecção de DNA de *Rickettsia* spp. em diferentes ectoparasitos, sobretudo em carrapatos nos estados de São Paulo (PACHECO et al., 2009), Rio de Janeiro (CUNHA et al., 2009), Mato Grosso do Sul (MELO et al., 2015); Paraíba e Bahia (LUGARINI, et al., 2015; MCINTOSH et al., 2015), Pernambuco (SARAIVA et al., 2013; HORTA et al., 2015), Piauí (NIERI-BASTOS et al., 2014) e Rondônia (LABRUNA et al., 2004).

Assim a relação de *R. sanguineus* s.l. na transmissão de *Rickettsia* spp. tem sido estabelecida desde da década de 30 (BRUMPT, 1932).

Apesar da detecção destes patógenos em diferentes espécies de carrapatos, não existe relatos do diagnóstico *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. no nordeste brasileiro. Desta forma, o objetivo deste estudo foi detectar DNA de *Rickettsia* spp.

em *R. sanguineus* s.l. coletados em cães provenientes de área urbana da Região Nordeste do Brasil.

## Material e métodos

### Área de estudo e coleta de artrópodes

Os ixodídeos foram coletados em cães (n = 155) provenientes dos municípios de Recife (08° 03' 14" S e 34° 52' 52" O) e Bezerros ( 8° 14' 33" S e 35° 47' 7" O), no estado de Pernambuco e dos municípios de Viçosa (9° 39' 57" S e 35° 44' 07" O) e Arapiraca (9°45'08"S e 36°39'39"O ) no estado de Alagoas. Os espécimes foram obtidos após uma inspeção minuciosa em cada animal por um período de três minutos e coleta manual com auxílio de pinças. Todos os carrapatos coletados foram acondicionados em tubos plásticos contendo álcool absoluto, quantificados e em seguida morfologicamente identificados utilizando chaves dicotômicas (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

Para a extração de DNA, os artrópodes foram separados em *pools* contendo no máximo três carrapatos que foram agrupados de acordo com o sexo e estágio de vida.

### Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

As extrações de DNA foram realizadas utilizando o kit comercial (Kit Tissue & Blood Qiamp Qiagen®) conforme recomendações do fabricante. Para a PCR de *Rickettsia* spp. foram utilizados os primers CS-78 (forward [5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3']) e CS-323 (reverse [5'-GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT'-3']) (LABRUNA et al., 2004) que amplificam um fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*gltA*) presente em todas as espécies do gênero *Rickettsia*. Para cada reação foram utilizados controles negativos (água ultrapura livre de DNA) e positivos (DNA de *R. parkeri*). Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% corado com o corante comercial Blue Green (LGC Biotecnologia).

## Resultados

Um total de 488 carrapatos foram coletados sendo todos eles morfologicamente identificados como *R. sanguineus* s.l. De todos os espécimes coletados 253 eram machos, 225 fêmeas e 10 ninfas. Para facilitar a pesquisa foram formados 136 *pools*, sendo 72 de machos, 58 de fêmeas, e seis de ninfas.

Dos *pools*, DNA de *Rickettsia* spp. foi detectado em 20,58% (28/136) das amostras analisadas. Em relação aos diferentes estágios de vida de *R. sanguineus* s.l. positivos a análise molecular, observou-se que 60,71% (17/28), 35,71% (10/28) e 3,57% (1/28) eram formados por *pools* de machos, fêmeas e ninfas, respectivamente.

Em relação aos municípios do estado de Pernambuco, observou-se positividade de 20,49% e 22,22% para os municípios da Região Metropolitana do Recife e Bezerros, respectivamente. Já no estado de Alagoas não foi observada positividade para o município de Viçosa, entando, Arapiraca obteve 25% de positividade.

## **Discussão**

A positividade geral aqui observada (20,58%) mostrou-se inferior a do estudo conduzido no Rio de Janeiro (69,23%) e em Pernambuco, onde 99,00% dos *pools* contendo *Amblyomma* spp. foram positivos para DNA de *Rickettsia* spp. (ROZENTAL et al., 2008; HORTA et al., 2015). Entretanto, a positividade do presente estudo foi superior às observadas em outros trabalhos realizados no Rio de Janeiro (4,5%) (CUNHA et al., 2009), São Paulo (1,9%) (SABATINI et al., 2010) e Santa Catarina (4%) (MEDEIROS et al., 2011).

Interessantemente, uma maior positividade foi observada nos *pools* formados apenas por machos (60,71%) quando comparados com *pools* de fêmeas (35,71%). Provavelmente, isto pode estar relacionado com o comportamento biológico de cada sexo de carrapato. Na verdade, sabe-se que normalmente as fêmeas se alimentam em único animal (FREITAS, 1982), já os machos podem copular com várias fêmeas e parasitar diferentes animais, sendo desta forma mais expostos a infecções, participando também da transmissão de doenças (YOUSFI-MONOD, 1985).

Dentre os *pools* de ninfas testados, apenas um foi observado amplificação de fragmento de 401 pb. Do ponto de vista epidemiológico este achado é importantíssimo, já que em virtude do reduzido tamanho das ninfas, o seu parasitismo em animais e humanos pode passar despercebido pelo menos nos primeiros momentos de alimentação (DANTAS-TORRES et al., 2006; LABRUNA et al., 2008).

Embora carrapatos pertencentes ao gênero *Amblyomma* tenham sido considerados os principais vetores de *Rickettsia* spp. em diversas áreas do mundo



(SUMNER et al., 2007), acredita-se que a espécie *R. sanguineus* s.l. também pode desempenhar este papel vetorial da Febre Maculosa no Brasil (FMB) como sugerido por Moraes-Filho et al. (2009).

Considerando a transmissão transovariana e transestadial da *Rickettsia* spp., não é possível afirmar qual estágio de vida do ixodídeo é mais susceptível a infecção. Desta forma é importante destacar que qualquer fase de vida o *R. sanguineus* s.l. pode veicular a bactéria, aumentando as chances de infecção para os animais, incluindo humanos (SOUZA et al., 2015).

Em relação aos municípios do estado de Pernambuco, região metropolitana do Recife (20,49%) e Bezerros (22,22%), observou-se menor positividade em relação a outros estados como em São Paulo (23,80%) (PACHECO et al., 2009) e Minas Gerais (32,04%) (VIANNA et al., 2008). Sendo superior aos observados em Patos na Paraíba, onde relataram 4,5% de positividade nos *R. sanguineus* s.l. coletados (TANIKAWA et al., 2013).

Nos municípios do estado de Alagoas, foi observada positividade para *Rickettsia* spp. em 25% dos *R. sanguineus* s.l. coletados em cães no município de Arapiraca, sendo este resultado oposto ao de Viçosa onde não foi detectado DNA de *Rickettsia* spp., nos ixodídeos analisados.

Do ponto de vista de Saúde Pública os dados aqui registrados são importantes, já que o parasitismo em humanos por *R. sanguineus* s.l. tem sido relatado, particularmente na área deste estudo (DANTAS-TORRES et al., 2006).

Em conclusão, este trabalho reporta pela primeira vez a detecção de DNA de *Rickettsia* spp. em *R. sanguineus* s.l. parasitando cães provenientes dos estados de Pernambuco e Alagoas. Apesar de não existirem relatos de FMB nas regiões estudadas, a presença de carrapatos infectados sugere a circulação do patógeno entre hospedeiros vertebrados e vetores.

## Referências

- BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/**Butantan**. 223p. 2006.
- BIBERSTEIN, E.L.; HIRSH, D.C. Agentes Rickettsiais de doenças animais; as Riquetsias. In: HIRSH, D.C.; ZEE, Y.C. **Microbiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 273-275, 2003.

- BLANTON, L.S.; LEA, A.S.; KELLY, B.C.; WALKER, D.H. An Unusual Cutaneous Manifestation in a Patient with Murine Typhus. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.93, n.6, p.1164-1167, 2015.
- BOUYER, D.H.; STENOS, J.; CROCQUET-VALDES, P.; MORON, C.G.; POPOV, V. L.; ZAVALA-VELAZQUEZ, J.E.; FOIL, L.D.; STOTHARD, D.R.; AZAD, A.F.; WALKER, D.H. *Rickettsia felis*: molecular characterization of a new member of the spotted fever group. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, n. 2, p. 339-347, 2001.
- BRUMPT, E. Longévité du virus de la fièvre boutonneuse (*Rickettsia conorii*, n. sp.) 367 chez la tique *Rhipicephalus sanguineus*, **Comptes Rendus Société de Biologie**, v.110, p.1119-202, 1932.
- BURGDORFER, W.; SEXTON, D.J.; GERLOFF, R.K.; ANACKER, R.L.; PHILIP, R.N.; THOMAS, L.A. *Rhipicephalus sanguineus*: vector of a new spotted fever group rickettsia in the United States. **Infection and Immunity**, v.12, p.205-210, 1975.
- CICUTTIN, G.L.; RODRIGUEZ, V. M.; JADO, I.; ANDA, P. Primera detección de *Rickettsia massiliae* en la ciudad de Buenos Aires, resultados preliminares. **Revista Argentina Zoonosis**, v.1, p.10, 2004.
- COUTO, D.V.; MEDEIROS, M.Z.; HANS FILHO, G.; LIMA, A.M.; BARBOSA, A.B.; VICARI, C.F. A febre maculosa brasileira: a importância de sinais dermatológicos para o diagnóstico precoce. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.90, n.2, p.248-250, 2015.
- CUNHA, N.C.; FONSECA, A.H.; REZENDE, J.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A.R.M.; BARREIRA, J.D.; MASSARD, C.L.; LEMOS, E.R.S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro, **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.2, p.105-108, 2009.
- DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L.A.; BRANDÃO-FILHO, S.P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), o carrapato vermelho do cão, parasitando humanos no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. n.39, p.64-67, 2006.
- DANTAS-TORRES, F.; CHOMEL, B.B.; OTRANTO, D. Ticks and tick-born diseases: a One Health perspective. **Trends Parasitology**. n.28, p.437-446, 2012.
- FREITAS, M.G. **Entomologia e Acarologia Médica e Veterinária**. Belo Horizonte: Precisa, 1982. 253p.
- GALVÃO, M.A.M.; RIBEIRO, J.G.L. Febre Maculosa. In: PEDROSO, E.R.P.; ROCHA, M.O.C.; SILVA, O.A. EDS. **Clínica Médica; os princípios da prática ambulatorial**. São Paulo; Atheneu, p.1374-1380, 1993.
- GONZÁLEZ, A.; CASTRO, D.D.C; GONZÁLEZ, S. Ectoparasitics species from *Canis familiaris* (Linné) in Buenos Aires province, Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.120, p.123-129, 2004.
- HORTA, M.C.; SARAIVA, D.G.; OLIVEIRA, G.M.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia bellii* in *Amblyomma rotundatum* ticks parasitizing *Rhinella jimi* from northeastern Brazil. **Microbes and Infection**, v.17, n.11-12, p. 856-858, 2015.
- LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.; CAMARGO, L.M.; CAMARGO, E.P.; POPOV, V.; WALKER, D.H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia*

- amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.41, n.6, p.1073-1081, 2004.
- LABRUNA, M.B.; TERASSINI, F.A.; CAMARGO, L.M.; BRANDÃO, P.E.; RIBEIRO, A.F.; ESTRADA-PENÃ, A. New reports of *Antricola guglielmonei* and *Antricola delacruzii* in Brazil, and a description of a new argasid species (Acari). **Journal of Parasitology**, v.94, n.4, p.788-792, 2008.
- LIM, M.Y.; BRADY, H.; HAMBLING, T.; SEXTON, K.; TOMPKINS, D.; SLANEY, D. *Rickettsia felis* Infections, New Zealand. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, n.1, 2012.
- LEULMI, H.; SOCOLOVSCHI, C.; LAUDISOIT, A.; HOUEMENOU, G.; DAVOUST, B.; BITAM, I.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, Bartonella Species and *Yersinia pestis* in Fleas (Siphonaptera) from Africa. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.8, n.10 p.3152, 2014.
- LUGARINI, C.; MARTINS, T.F.; OGRZEWALSKA, M.; de VASCONCELOS, N.C.; ELLIS, V.A.; de OLIVEIRA, J.B.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B.; SILVA, J.C. Rickettsial agents in avian ixodid ticks in northeast Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.6, n.3, p.364-75, 2015.
- MCINTOSH, D.; BEZERRA, R.A.; LUZ, R.H.; FACCINI, J.L.H.; GAIOTTO, F.A.; GINÉ, G.A.F.; ALBUQUERQUE, G.R. Detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma longirostre* (Acari: Ixodidae) from Bahia state, Northeast Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v.46, n.3, p.879-883, 2015.
- MEDEIROS, A.P.; SOUZA, A.P.; MOURA, A.B.; LAVINA, M.S.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; NIERI-BASTOS, F.A.; RICHTZENHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.106, n.8, p.926-930, 2011.
- MELO, A.L.; WITTER, R.; MARTINS, T.F.; PACHECO, T.A.; ALVES, A.S.; CHITARRA, C.S.; DUTRA, V.; NAKAZATO, L.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, doi: 10.1111/mve.12139. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26467462>>. Acesso em 17.10. 2015.
- MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R.C.; GUTMANN, T.B.; BARBOSA, S.O.; GONZÁLES, M.A.R.M.; MURARO, M.A.; CECÍLIO, S.R.M.; LABRUNA, M.B. New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.9, n.1, p.73-78, 2009.
- NIERI-BASTOS, F.A.; LOPES, M.G.; CANÇADO, P.H.; ROSSA, G.A.; FACCINI, J.L.; GENNARI, S.M.; LABRUNA, M.B. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a Spotted Fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, n.2, p.259-261, 2014.
- OTEO, J.A.; PORTILLO, A. Tick-borne rickettsioses in Europe. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.3, n.5-6, p.271-278, 2012.
- PACHECO, R.C.; HORTA, M.C.; PINTER, A.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; NARDIL, M.S.; SOUZA, S.S.A.L.; SOUZA, C.E.; SZABOL, M.P.J.; RICHTZENHAIN,

- L.J.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de *Rickettsia* spp. em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.3, p.351-353, 2009.
- PAROLA, P.; LABRUNA, M.B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Reports**, v.11, p.40-50, 2009.
- PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L.; PINTER, A.; SAITO, T. B.; PACHECO, R. C.; HAGIWARA, M. K.; LABRUNA, M. B. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 7, p. 696-701, 2008.
- RAMOS, R.A.; GIANNELLI, A.; BRIANTI, E.; ANNOSCIA, G.; CANTACESSI, C.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Tick vectors of *Cercopithifilaria bairdii* in dogs: *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato versus *Ixodes ricinus*. **Parasitology Research**, v.112, n.8, p.3013-3017, 2013.
- ROZENTAL, T.; FAVACHO, A. R. M.; BARREIRA, J. D.; OLIVEIRA, R. C.; GOMES, R.; ALMEIDA, D. N. P.; LEMOS, E. R. S. *Rickettsia* spp. infection in *Rhipicephalus sanguineus* ticks in a Brazilian spotted fever endemic rural area in Rio de Janeiro state, Brazil. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.15 (Suppl. 2), 245–246, 2008.
- SABATINI, G.S.; PINTER, A.; NIERI-BASTOS, F.A.; MARCILI, A.; LABRUNA, M.B. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the state of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.47, n.5, p.913-916, 2010.
- SANGIONI, L. A., VOGELI, F.F.S.; CADORE, R.B.; HILGER, R.B.; TONIM, R.; PACHECO, R.C.; OGRZEWALSKA, M.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in Cerro Largo, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.63, p.511-514, 2011.
- SARAIVA, D.G.; NIERI-BASTOS, F.A.; HORTA, M.C.; HERBERT, S.S.; NICOLA, P.A.; PEREIRA, L.C.M.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia amblyommii* Infecting *Amblyomma auricularium* ticks in Pernambuco, Northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission, and transstadial perpetuation. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.13, n.9, p.615-618, 2013.
- SILVEIRA, I.; MARTINS, T.F.; OLEGÁRIO, M.M.; PETERKA, C.; GUEDES, E.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Rickettsial Infection in Animals, Humans and Ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v.62, n.7, p.525-533, 2015.
- SOUZA, C.E.; PINTER, A.; DONALISIO, M.R. Risk factors associated with the transmission of Brazilian spotted fever in the Piracicaba river basin, State of São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.48, n.1, p.11-17, 2015.
- SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, n.3, p. 521–523, 2010.
- SULIS, G.; RODARI, P.; CALIGARIS, S.; TOMASONI, L.R. CASTELLI, F.; GULLETTA, M. A Case of *Rickettsia felis* Infection Imported From Nepal. **Journal of Travel Medicine**, v.22, n.4, p.276–278, 2015.

- SUMNER, J.W.; DURDEN, L.A.; GODDARD, J.; STROMDAHL, E.Y.; CLARK, W.R.; PADDOCK, C.D. Gulf Coast Ticks (*Amblyomma maculatum*) and *Rickettsia parkeri*, United States. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.13, n.5, p.751–753, 2007.
- SZABÓ, M. P. J.; CUNHA, T. M.; PINTER, A.; VICENTINI, F. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with domestic dogs in Franca region, São Paulo, Brazil. **Experimental & Applied Acarology**, v.25, n.10, p.909-916, 2001.
- TANIKAWA, A.; COSTA, F.B.; LABRUNA, M.B.; AZEVEDO, S.S. A survey for rickettsial agents on *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodida, Ixodidae) ticks in Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 414-417, 2013.
- TRAPP, S.M.; MESSICK, J.B.; VIDOTTO, O.; JOJIMA, F.S.; MORAIS, H.S.A. *Babesia gibsoni* genotype Asia in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.141, n.1-2, p.177-180, 2006.
- VIANNA, M.C.; HORTA, M.C.; SANGIONI, L.A.; CORTEZ, A.; SOARES, R.M.; MAFRA, C.L.; GALVÃO, M.A.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M. Rickettsial Spotted Fever in Capoeirão Village, Itabira, Minas Gerais, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.50, n.5, p.297-301, 2008.
- WALKER, D.H. Rickettsiae and Rickettsial Infections: The Current State of Knowledge. **Clinical Infectious Diseases**, v.45, n.1, s.39-44, 2007.
- WOLDEHIWET, Z.; RISTIC, M. **Rickettsia and Chlamydial Diseases of Domestic Animals**. New York. USA, 1993, 427p.
- YOUSFI-MONOD, R. Evolution annuelle de la sex-ratio de *Rhipicephalus sanguineus* (Acarina, Ixodidae) en zone urbaine de l'ouest Algérien. **Acarology**, v.26, n.4, p.361-365, 1985.

## **CAPÍTULO II**

**Detecção de *Rickettsia* spp. em *Ctenocephalides felis felis*  
coletadas de cães provenientes dos estados de Pernambuco e  
Alagoas, Brasil**

## **Detecção de *Rickettsia* spp. em *Ctenocephalides felis felis* coletadas de cães provenientes dos estados de Pernambuco e Alagoas, Brasil**

Detection of *Rickettsia* spp. in *Ctenocephalides felis felis* collected in dogs from Pernambuco and Alagoas states, Brazil

MONTEIRO, M.F.M.<sup>1</sup>; RAMOS, R.A.N.<sup>1</sup>; RAMOS, I.C.N.<sup>1</sup>; LIMA, V.F.S.<sup>1</sup>; FIRMINO, E.D.F.<sup>1</sup>; SANTANA, M.A.<sup>1</sup>; PORTO, W.J.N.<sup>2</sup>; ALVES, L.C.<sup>1</sup>

1. Universidade Federal Rural de Pernambuco
2. Universidade Federal de Alagoas

### **Resumo**

Riquetsias são bactérias patogênicas de caráter zoonótico transmitidas por ectoparasitos, representando assim uma ameaça à saúde pública. Desta forma, a pulga *Ctenocephalides felis felis* tem sido apontada como vetor de riquetsias, particularmente *Rickettsia felis*. O objetivo deste estudo foi detectar DNA de *Rickettsia* spp. em pulgas de cães provenientes de área urbana da Região Nordeste do Brasil. Para tanto foram coletados 240 pulgas de 155 cães de dois municípios do estado de Pernambuco (Recife e Bezerros) e de Alagoas (Viçosa e Arapiraca). Os ectoparasitos foram identificados em relação à espécie. Para a extração de DNA, foram analisados em *pools* contendo no máximo três pulgas. Após isso, foi realizada a análise molecular através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Dos 80 *pools* analisados 31,20% (39/80) foram positivos para *Rickettsia* spp. Sendo todas as pulgas identificadas como *C. felis felis*. Em Pernambuco, observou-se positividade de 54,54% para Recife, enquanto que no município de Bezerros não foi observada amplificação do fragmento compatível com *Rickettsia* spp. Já em Alagoas observou-se positividade de 12,50% para Arapiraca e 50,00% para Viçosa. Este estudo reporta pela primeira vez a detecção de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* parasitando cães provenientes do estado Alagoas. Apesar de não existirem registros de casos de Febre Maculosa Brasileira na região estudada, a presença de DNA de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis*, sugere a circulação do patógeno entre hospedeiros vertebrados e vetores. Sendo de grande relevância a avaliação o real papel na transmissão de *Rickettsia* spp. por esses ectoparasitos uma vez que apresentam ampla distribuição geográfica.

**Palavras-chave:** Riquetsiose, sifonáptero, Reação em Cadeia da Polimerase.

### **Abstract**

*Rickettsia* spp. are important pathogens of zoonotic concern transmitted by ectoparasites. Among the ectoparasites, fleas of the species *Ctenocephalides felis felis* has been identified as important rickettsiae vectors, particularly of the species *Rickettsia felis*. The aim of this study was to detect DNA of *Rickettsia* spp. in fleas of dogs living in urban areas of the Northeastern region of Brazil. Fleas (n = 240) collected of 155 from the states of Pernambuco (municipalities Recife and Bezerros) and Alagoas (municipalities of Viçosa and Arapiraca) were used in this study. All specimens were identified as *C. felis felis*. DNA extraction were performed of pools (up to three specimens), and then were molecularly analyzed through the Polymerase Chain Reaction (PCR). Out of 80 pools analyzed, in 31.20% (39/80) were detected DNA of *Rickettsia* spp. In Pernambuco, it was observed positivity of 54.54% to Recife while Bezerros was not observed amplification of the compatible fragment with *Rickettsia* spp. In Alagoas there was positivity of 12.50% to Arapiraca and 50.00% to Viçosa. This study reports the first detection of *Rickettsia* spp. in *C. felis felis* parasitizing dogs from Alagoas state. Although, until now there are no reports of Brazilian Spotted Fever in the area studied, the presence of DNA of *Rickettsia* spp. in *C. felis felis* indicates the circulation of the pathogen between vertebrate hosts and vectors. This finding is of great relevance, however furthers studies are need in order to evaluate the real role of this flea species in the transmission of *Rickettsia* spp. in the area of study.

**Key-words:** Rickettsial disease, siphonaptero, Polymerase Chain Reaction.

## Introdução

Riquetsioses são doenças zoonóticas patogênicas de caráter endêmico, (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005; WALKER, 2007) distribuídas em diversos países do mundo (APPERSON et al., 2008; LIM et al., 2012; OTEO; PORTILLO, 2012; LEULMI et al., 2014; ABARCA; OTEO, 2014; BLANTON et al., 2015; SULIS et al., 2015).

Sendo assim, são de grande importância em saúde pública devido à ocorrência de casos clínicos em humanos (GRECA; LANGONI; SOUZA, 2008; SPOLIDORIO et al., 2010; SANGIONI et al., 2011; SILVEIRA et al., 2015) além de sua associação na distribuição de artrópodes vetores (AZAD; BEARD, 1998; PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005; MCINTOSH et al., 2015).

Várias espécies de *Rickettsia* spp., dentre elas *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia felis*, mantêm ciclos zoonóticos na natureza, estando presentes tanto em ambientes urbanos como em áreas rurais, onde os cães domésticos desempenham um importante papel epidemiológico, devido ao parasitismo por ectoparasitos infectados (PADDOCK et al., 2002).

Sua transmissão ocorre principalmente por picadas de carrapatos do gênero *Amblyomma* (GUEDES et al., 2005; PINTER; LABRUNA, 2006; NIERI-BASTOS et al., 2014). Entretanto existe um crescente interesse no papel de *Ctenocephalides felis felis* na epidemiologia das riquetsioses indicando esta espécie como provável vetor de riquetsias, particularmente *R. felis* (RAOULT et al., 2001).

Diversos relatos da infecção por *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* tem sido registrada em vários países, Estados Unidos da América, (WILLIAMS et al., 1992), Andes Peruanos (PACHAS et al., 2001), México (ZAVALA-VELÁZQUEZ et al., 2002) e Espanha (MARQUEZ et al., 2002).

No Brasil, a ocorrência de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* tem sido reportada nos estados de Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2002), São Paulo (HORTA et al., 2005a), Espírito Santo (OLIVEIRA et al., 2008), Rio de Janeiro (GEHRKE et al., 2009; HORTA et al., 2010) e recentemente Horta et al. (2014) assinalaram positividade para *Rickettsia felis* em *C. felis felis* em diversos estados brasileiros.

Assim, o gênero *Ctenocephalides* além de ser descrito como veiculador da bactéria *Rickettsia* spp., atua também na disseminação em função da transmissão transovariana (AZAD et al., 1992; HIGGINS et al., 1996; BOUYER et al., 2001). Além disso, a espécie *C. felis felis* é de grande importância por ser bem disseminada em



muitas regiões, infestando animais de diferentes ordens (RUST; DRYDEN, 1997; LINARDI; GUIMARÃES, 2000), dentre eles, os cães e o homem (LINARDI, 2000).

Desta forma, este estudo teve como objetivo detectar *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* coletadas de cães provenientes de área urbana da Região Nordeste do Brasil.

## Material e métodos

### Área de estudo e coleta de artrópodes

Os sifonápteros foram coletados em cães (n = 155) provenientes dos municípios de Recife (08° 03' 14" S e 34° 52' 52" O) e Bezerros ( 8° 14' 33" S e 35° 47' 7" O), no estado de Pernambuco e dos municípios de Viçosa (9° 39' 57" S e 35° 44' 07" O) e Arapiraca (9°45'08"S e 36°39'39"O) no estado de Alagoas. Os espécimes foram obtidos após uma inspeção minuciosa em cada animal por um período de três minutos e coleta manual com auxílio de pinças. Todas as pulgas coletadas foram acondicionadas em tubos plásticos contendo álcool absoluto, quantificadas e em seguida identificadas morfológicamente utilizando chaves dicotômicas (LINARDI; GUIMARÃES, 2000).

Para a extração de DNA, os artrópodes foram analisados em pools contendo no máximo três pulgas.

### Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

As extrações de DNA foram realizadas utilizando o kit comercial (Kit Tissue & Blood Qiamp Qiagen®) conforme recomendações do fabricante. Para a PCR de *Rickettsia* spp. foram utilizados os primers CS-78 (5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3') e CS-323 (5'-GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT'-3') (LABRUNA et al., 2004) que amplificam um fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*gltA*) presente em todas as espécies do gênero *Rickettsia*. Para cada reação foram utilizados controles negativos (água ultrapura livre de DNA) e positivos (DNA de *R. parkeri*). Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% corado com o corante comercial Blue Green (LGC Biotecnologia).

## Resultados

Um total de 240 pulgas foram coletadas sendo morfológicamente identificadas como *C. felis felis*. Para facilitar a pesquisa foram formados 80 pools de pulgas. Dos

80 *pools* analisados pela PCR, 31,20% (39/80) obtiveram amplificação do fragmento de 401 pb para *Rickettsia* spp.

Em relação aos municípios do estado de Pernambuco, observou-se que 54,54% das amostras positivas para a presença de DNA de *Rickettsia* spp. foram procedentes da Região Metropolitana do Recife, enquanto que no município de Bezerros não foi observada amplificação do fragmento compatível com *Rickettsia* spp. No estado de Alagoas a positividade da PCR para DNA de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* foi de 12,50% e 50,00% nos municípios de Arapiraca e Viçosa, respectivamente.

### **Discussão**

Os resultados do presente estudo representam uma contribuição para o entendimento inicial da ecologia rickettsial na área estudada. A amplificação do fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*gltA*), em *C. felis felis*, demonstrou que esta bactéria está circulando nas áreas estudadas, confirmando o papel deste ectoparasito na manutenção desses organismos.

A ocorrência de pulgas deste gênero infectadas com *R. felis*, tem sido detectadas por meio da PCR, em diversos lugares do mundo (TROYO et al., 2012; THEPPARIT et al., 2013; ZHANG et al., 2014; LAWRENCE et al., 2015) e do Brasil (OLIVEIRA et al., 2008; GEHRKE et al., 2009; HORTA et al., 2006; 2010) constituindo a evidência de que *R. felis* pode ser uma espécie de importância epidemiológica além de atestar a potencialidade das pulgas como vetores na transmissão das riquetsioses (CARDOSO et al., 2006).

Os resultados aqui observados foram superiores ao estudo realizado em Minas Gerais onde foi detectada positividade de 7,14% dos *pools* contendo *C. felis felis* (CARDOSO et al., 2006). Por outro lado, esta positividade foi inferior as relatadas em outros estudos realizados no estado de São Paulo onde se detectou prevalências de 70,80% (HORTA et al., 2005b) e 36,00% (HORTA et al., 2006).

Recentemente, Horta et al. (2014) estudando a epidemiologia das riquetsioses no Brasil, observaram que a positividade de *R. felis* em *C. felis felis* variou de 2,9% a 100%, na dependência das regiões estudadas. Entretanto, a presença de *R. felis* em pulgas do gênero *Ctenocephalides* tem sido relatada principalmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, sendo todos pertencentes à região Sudeste do país (OLIVEIRA et al., 2002; GEHRKE et al., 2009).

A presença de DNA de *Rickettsia* spp. em 54,54% dos sifonápteros procedentes da Região Metropolitana do Recife aqui analisados é um dado preocupante tendo em vista que *C. felis felis* parasita várias espécies de mamíferos, incluindo o homem (LINARDI; SANTOS, 2012), podendo assim transmitir a infecção em áreas urbanas.

Da mesma forma os índices de positividade na PCR de 12,50% e 50,00% em *C. felis felis* nos municípios de Arapiraca e Viçosa, respectivamente gera uma preocupação, pois diferentemente do Recife estes municípios pertencem a área rural do estado, onde deve ocorrer o compartilhamento desta espécie de sifonáptero com outros animais silvestres, o que sem dúvida facilita a transmissão de *Rickettsia* spp. (FIGUEIREDO et al., 2010).

Neste sentido os dados percentuais aqui observados são compatíveis com os dados previamente relatado na literatura onde a o índice de infecção em *C. felis felis* no nordeste brasileiro varia de 19,60 a 41,7% (HORTA et al., 2014).

Vale salientar que a infecção de *R. felis* é também mantida por transmissão transovariana (AZAD et al., 1992), onde seus vetores atuam como reservatórios (HIGGINS et al., 1996; BOUYER et al., 2001). Assim, *C. felis felis* pode passar por sucessivas gerações sem a necessidade de um reservatório, justificando o número da incidência nos agentes vetores (WEDINCAMP; FOIL, 2002).

Além disso, algumas riquetsias como *R. felis* não são letais para seus vetores naturais, divergindo do que acontece com outras riquetsias, como por exemplo as espécies *Rickettsia prowazekii* (AZAD et al., 1997) e *Rickettsia rickettsii* (NIEBYLSKI; PEACOCK; SCHWAN, 1999) para piolhos e carrapatos, respectivamente.

É importante destacar que *C. felis felis* apesar de ser frequentemente encontrada parasitando felinos e caninos, têm facilidade em parasitar diversos hospedeiros devido à falta de especificidade podendo transmitir, uma vez infectadas, patógenos (PÉREZ-OSORIO et al., 2008).

Este trabalho reporta pela primeira vez a detecção de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis* parasitando cães provenientes do estado de Alagoas.

Apesar de não existirem registros de casos de Febre Maculosa Brasileira na região estudada, a presença de DNA de *Rickettsia* spp. em *C. felis felis*, sugere a circulação do patógeno entre hospedeiros vertebrados e vetores. Sendo de grande

relevância a avaliação do real papel da transmissão de *Rickettsia* spp. por esses ectoparasitos uma vez que apresentam ampla distribuição geográfica.

## Referências

- ABARCA, K.; OTEO, J.A. Clinical approach and main tick-borne rickettsiosis present in Latin America. **Revista Chilena Infectología**, v.31, n.5, p.569-576, 2014.
- APPERSON, C.S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W.L.; MEAD, D.G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M.J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D.W. Tick-borne diseases in North Carolina: is "*Rickettsia amblyommii*" a possible cause of rickettsiosis reported as Rocky Mountain spotted fever? **Vector-Borne and Zoonotic**, v.8, n.5, p.597-606, 2008.
- AZAD, A.F.; SACCI, J.B.; NELSON, W.M.; DASCH, G.A.; SCHMIDTMANN, E.T.; CARL, M. Caracterização genética e transmissão transovariana de uma rickettsia tifo-like encontrado em pulgas de gato. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.89, p.43-46, 1992.
- AZAD, A.F.; RADULOVISC, S.; HINGGINS, J.A.; NODEN, B.H.; TROYER, J.M. Flea borne Rickettsioses: ecologic considerations. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.3, p.319-327, 1997.
- AZAD, A.F.; BEARD, C.B. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. **Emerging Infectious Diseases**, v.4, n.2, p.179-186, 1998.
- BLANTON, L.S.; LEA, A.S.; KELLY, B.C.; WALKER, D.H. An Unusual Cutaneous Manifestation in a Patient with Murine Typhus. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.93, n.6, p.1164-1167, 2015.
- BOUYER, D.H.; STENOS, J.; CROCQUET-VALDES, P.A. *Rickettsia felis*: molecular characterization of a new member of the spotted fever group. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, n.2, p.339-47, 2001.
- CARDOSO, L.D.; FREITAS, R.N.; MAFRA, C.L.; NEVES, C.V.; FIGUEIRA, F.C.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H.; GALVÃO, M.A. Characterization of *Rickettsia* spp. circulating in a silente peri-urban focus for Brazilian spotted fever in Caatinga, Minas Gerais, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.22, n.3, p.495-501, 2006.
- FIGUEIREDO, M.A.P.; SANTOS, A.C.G.; GUERRA, R.M.S.N.C. Ectoparasitos de animais silvestres no Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.11, p.988-990, 2010.
- GEHRKE, F.S.; GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; RIBEIRO, A.; MARRELLI, M.T.; SCHUMAKER, T.T.S. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* spp. TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian Spotted Fever focus in the state of Rio de Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology Infection Disease**, v.15, n.2, p.267-268, 2009.
- GRECA, H.; LANGONI, H.; SOUZA, L.C. Brazilian spotted fever: a reemergent zoonosis. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.14, n.1, p.3-18, 2008.
- GUEDES, E.; LEITE, R.; PRATA, M.C.A.; PACHECO, R.C.; WALKER, D.G.; LABRUNA, M.B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense*

in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n.8, p.841-845, 2005.

HIGGINS, J.A.; RADULOVIC, S.; SCHIEFER, M.E.; AZAD, A.F. *Rickettsia felis*: a new species of pathogenic *Rickettsia* isolated from cat fleas. **Journal of Clinical Microbiology**, v.34, n.3, p.671-674, 1996.

HORTA, M.C.; PINTER, A.; CORTEZ, A.; SOARES, R.M.; GENNARI, S.M.; SCHUMAKER, T.T.S.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia felis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Publicidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.3, p.321-325, 2005(a).

HORTA, M.C.; CHIEBAO, D.P.; SOUZA, D.B.; FERREIRA, F.; PINHEIRO, S.R.; LABRUNA, M.B.; SCHUMAKER, T.T.S. Prevalence of *Rickettsia felis* in the fleas *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* from two Indian communities in São Paulo municipality, Brazil. In: **INTERNATIONAL CONFERENCE ON RICKETTSIAE AND RICKETTSIAL DISEASES**, 4, 2005(b), Logroño, Espanha. Anais... res. P-165.

HORTA, M.C.; CHIEBAO, D.P.; SOUZA, D.B.; FERREIRA, F.; PINHEIRO, R.S.; LABRUNA, M.B.; SCHUMAKER, A.T.S. Prevalence of *Rickettsia felis* in the Fleas *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* from Two Indian Villages in São Paulo Municipality, Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n.1078, p.361–363, 2006.

HORTA, M.C.; SCOTT, F.B.; CORREIA, T.; FERNANDES, J.I.; RICHTZENHAIN, L.J.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia felis* infection in cat fleas *Ctenocephalides felis felis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.41, n.3, p.813-818, 2010.

HORTA, M.C.; OGRZEWALSKA, M.; AZEVEDO, M.C.; COSTA, F.B.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis felis* from Five Geographic Regions of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.91, n.1, p, 96-100, 2014.

LABRUNA, M.B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M.C.; BOUYER, D.H.; MCBRIDE, J.W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H. *Rickettsia* Species Infecting *Amblyomma cooperi* Ticks from an Area in the State of São Paulo, Brazil, Where Brazilian Spotted Fever Is Endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.1, p.90-98, 2004.

LAWRENCE, A.L.; HIL, S.F.; JIRSOVÁ, D.; PANÁKOVÁ, L.; IONICĂ, A.M.; GILCHRIST, K.; MODRÝ, D.; MIHALCA, A.D.; WEBB, C.E.; TRAUB, R.J.; ŠLAPETA, J. Integrated morphological and molecular identification of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and dog fleas (*Ctenocephalides canis*) vectoring *Rickettsia felis* in central Europe. **Veterinary Parasitology**, v.210, n.3-4, p.215-223, 2015.

LEULMI, H.; SOCOLOVSCHI, C.; LAUDISOIT, A.; HOUEMENOU, G.; DAVOUST, B.; BITAM, I.; RAOULT, D.; PAROLA, P. Detection of *Rickettsia felis*, *Rickettsia typhi*, Bartonella Species and *Yersinia pestis* in Fleas (Siphonaptera) from Africa. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.8, n.10 p.3152, 2014.

LIM, M.Y.; BRADY, H.; HAMBLING, T.; SEXTON, K.; TOMPKINS, D.; SLANEY, D. *Rickettsia felis* Infections, New Zealand. **Emerging Infectious Diseases**, v.18, n.1, 2012.

- LINARDI, P.M.; GUIMARÃES, L.R. Sifonápteros do Brasil. **Museum of Zoology of the University of São Paulo**. Fundação Amparo a Pesquisa, Estado SP, 2000, 173p.
- LINARDI, P.M.; SANTOS, J.L.C. *Ctenocephalides felis felis* vs. *Ctenocephalides canis* (Siphonaptera: Pulicidae): some issues in correctly identify these species. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.4, p.345-354, 2012.
- MARQUEZ, F.J.; MUNIAIN, M.A.; PEREZ, J.M.; PACHON, J. Presence of *Rickettsia felis* in the cat flea from southwestern Europe. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.8, n.1, p.89–91, 2002.
- MCINTOSH, D.; BEZERRA, R.A.; LUZ, R.H.; FACCINI, J.L.H.; GAIOTTO, F.A.; GINÉ, G.A.F.; ALBUQUERQUE, G.R. Detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma longirostre* (Acari: Ixodidae) from Bahia state, Northeast Brazil. **Brazilian Journal Microbiology**, v.46, n.3, p.879-883, 2015.
- NIEBYLSKI, M.L.; PEACOCK, M.G.; SCHWAN, T.G. Lethal effect of *Rickettsia rickettsii* on its tick vector (*Dermacentor andersoni*). **Applied and Environmental Microbiology**, v.65, n.2, p.773-778, 1999.
- NIERI-BASTOS, F.A.; LOPES, M.G.; CANÇADO, P.H.; ROSSA, G.A.; FACCINI, J.L.; GENNARI, S.M.; LABRUNA, M.B. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a Spotted Fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, n.2, p. 259-261, 2014.
- OLIVEIRA, R.P.; GALVÃO, M.A.M.; MAFRA, C.L.; CHAMONE, C.B.; CALIC, S.B.; SILVA S.U.; WALKER, D.H. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides* spp. fleas, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**. v.8, n.3, p.317-319, 2002.
- OLIVEIRA, K.A.; OLIVEIRA, L.S.; DIAS, C.C.; SILVA, A.JR.; ALMEIDA, M.R.; ALMADA, G.; BOUYER, D.H.; GALVÃO, M.A.; MAFRA, C. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.103, n.2, p.191-194, 2008.
- OTEO, J.A.; PORTILLO, A. Tick-borne rickettsioses in Europe. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.3, n.5-6, p.271-278, 2012.
- PACHAS, P.E., MORON, C.; HOYOS, A.; RAMREZ, C.; MINAYA, P.; DEL AGUILAR, R.; WALKER, D. *Rickettsia felis* identified in *Ctenocephalides canis* fleas from Peruvian Andes. Presented at the ASR/Bartonella **Joint Conference**. Big Sky, Montana, USA, 2001.
- PADDOCK, C. D.; BRENNER, O.; VAID, C.; BOYD, D. B.; BERG, J. M.; JOSEPH, R. J.; ZAKI, S. R.; CHILDS, J. E. Short report: concurrent Rocky Mountain spotted fever in a dog and its owner. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.66, n.2, p.197-199, 2002.
- PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Veterinary Research**, v.36, n.3, p.469-492, 2005.
- PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.18, n.4, p.719- 56, 2005.

- PÉREZ-OSORIO, C.; ZAVALA-VELÁZQUEZ, J.E.; LEÓN, J.J.A.; ZAVALA-CASTRO, J.E. *Rickettsia felis* as Emergent Global Threat for Humans. **Emerging Infectious Diseases**, v.14, n.7, p. 1019-1023, 2008.
- PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in Cell Culture from the Tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p.523-529, 2006.
- RAOULT, D.; LA SCOLA, B.; ENEA, M.; FOURNIER, P.E.; ROUX, V.; FENOLLAR, F.; GALVÃO, M.A.M.; LAMBALLERIE, X. A Flea-Associated *Rickettsia* Pathogenic for Humans, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.7, n.1, p.73-81, 2001.
- RUST, M.K.; DRYDEN, M.W. The biology, ecology and management of the cat flea. **Annual Review of Entomology**, n.42, p.451-473, 1997.
- SANGIONI, L. A.; VOGEL, F.F.S.; CADORE, G.C.; HILGER, R.B.; TONIM, R.; PACHECO, R.C.; OGRZEWALSKA, M.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infection in Cerro Largo, State of Rio Grande do Sul, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.2, p.511-514, 2011.
- SILVEIRA, I.; MARTINS, T.F.; OLEGÁRIO, M.M.; PETERKA, C.; GUEDES, E.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M.B. Rickettsial Infection in Animals, Humans and Ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v.62, n.7, p.525-533, 2015.
- SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVANI, E. BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel Spotted Fever Group Rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. v.16, n.3, p.521-523, 2010.
- SULIS, G.; RODARI, P.; CALIGARIS, S.; TOMASONI, L.R. CASTELLI, F.; GULLETTA, M. A Case of *Rickettsia felis* Infection Imported From Nepal. **Journal of Travel Medicine**, v.22, n.4, p.276–278, 2015.
- THEPPARIT, C.; HIRUNKANOKPUN, S.; POPOV, V.L.; FOIL, L.D.; MACULOSO, K.R. Dissemination of bloodmeal acquired *Rickettsia felis* in cat fleas, *Ctenocephalides felis*. **Parasites & Vectors**, v.24, n.6, p.149, 2013.
- TROYO, A.; ÀLVARE, D.; TAYLOR, L.; ABDALLA, G.; CALDERON-ARGUEDAS, Ó.; ZAMBRANO, M.L.; DASCH, G.A.; LINDBLADE, K.; HUN, L.; EREMEEVA, M.E.; ESTÉVEZ, A. *Rickettsia felis* em *Ctenocephalides felis* da Guatemala e Costa Rica. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.86, n.6, p.1054-1056, 2012.
- WALKER, D.H. Rickettsiae and Rickettsial Infections: The Current State of Knowledge. **Clinical Infectious Diseases**, v.45, n.1, s.39-44, 2007.
- WEDINCAMP, J.; FOIL, L.D. Vertical transmission of *Rickettsia felis* in cat flea (*Ctenocephalides felis* Bouché). **Journal of Vector Ecology**, v.27, n.1, p.96-101, 2002.
- WILLIAMS, S.G.; SACCI J.B.Jr.; SCHRIEFER, M.E.; ANDERSEN, E.M.; FUJIOKA, K.K.; SORVILLO, F.J.; BARR, A.R.; AZAD, A.F.; Typhus and typhuslike rickettsiae associated with opossums and their fleas in Los Angeles County, California. **Journal of Clinical Microbiology**, v.30, n.7, p.1758-1762, 1992.
- ZAVALA-VELÁZQUEZ, J.E.; ZAVALA-CASTRO, J.E.; VADO-SOLÍS, I.; RUIZ, SOSA, J.A.; MORON, C.G.; BOUYER, D.H.; WALKER, D.H. Identification of *Ctenocephalides felis* fleas as a host of *Rickettsia felis*, the agent of a spotted fever

rickettsiosis in Yucatan, Mexico. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**, v.2, n.2, p.69-75, 2002.

ZHANG, J.; LU, G.; KELLY, P.; ZHANG, Z.; WEI, L.; YU, D.; KAYIZHA, S.; WANG, C. First report of *Rickettsia felis* in China. **BCM Infectious Diseases**, v.16, n.14, p.682, 2014.