



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

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE RICKETTSIAS DO GRUPO
DA FEBRE MACULOSA EM HUMANOS, ANIMAIS NA INTERFACE
SILVESTRE/URBANA E IXODÍDEOS PROCEDENTES DO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

RECIFE – PE

2019



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

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE RICKETTSIAS DO GRUPO
DA FEBRE MACULOSA EM HUMANOS, ANIMAIS NA INTERFACE
SILVESTRE/URBANA E IXODÍDEOS PROCEDENTES DO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

MARIA FERNANDA MELO MONTEIRO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos

RECIFE – PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

M775d Monteiro, Maria Fernanda Melo.
Detecção e caracterização molecular de rickettsias do grupo da febre maculosa em humanos, animais na interface silvestre/urbana e ixodídeos procedentes do estado de Pernambuco / Maria Fernanda Melo Monteiro. – Recife, 2019.
99 f.: il.

Orientador(a): Leucio Câmara Alves.
Coorientador(a): Rafael Antonio do Nascimento Ramos.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências.

1. Carrapatos 2. Vetores 3. Riquetsiose 4. Bactérias gram-Negativas 5. Saúde pública I. Alves, Leucio Câmara, orient.
II. Ramos, Rafael Antonio do Nascimento, coorient. III. Título

CDD 574



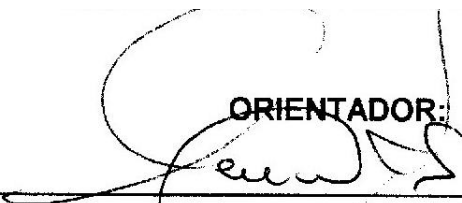
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE RICKETTSIAS DO GRUPO
DA FEBRE MACULOSA EM HUMANOS, ANIMAIS NA INTERFACE
SILVESTRE/URBANA E IXODÍDEOS PROCEDENTES DO ESTADO DE
PERNAMBUCO


MARIA FERNANDA MELO MONTEIRO

Aprovada em 06 de fevereiro de 2019.

ORIENTADOR:

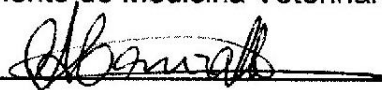

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE


Prof. Dr. Victor Fernando Santana Lima
Departamento de Medicina Veterinária – UFS


Profa. Dra. Edna Michelly de Sá Santos
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE


Profa. Dra. Gilcia Aparecida de Carvalho
Unidade Acadêmica de Garanhuns – UFRPE

Aos meus pais, Edson Fernando e Maria do Carmo pelo amor, compreensão e motivação. Vocês, que tranquilizam meu coração, com sorrisos que alegram a minha vida e me apoiam para percorrer os meus objetivos.

AGRADECIMENTOS

Primeiro de tudo, agradeço a Deus por me guiar, iluminar e me dar tranquilidade para seguir em frente com os meus objetivos e não desanimar com as dificuldades. Agradeço a Ele também por manter a minha família ao meu lado, com saúde para poderem me apoiar nos meus momentos de fraqueza.

Cláudia Lúcia e Erica Lúcia, minhas irmãs, meu agradecimento especial, por sempre terem cuidado de mim não só como a irmã mais nova, mas também como uma grande amiga. Obrigada por tudo!

A João Miguel, meu sobrinho, que apesar de ser tão pequeno, não imagina a alegria e tranquilidade que me dá.

A Edna Lúcia, minha tia que sempre torceu, investiu em meus estudos, me apoiou e acreditou no meu potencial profissional.

A Lúcia Pereira, minha vizinha, pela estrutura familiar e por todo o carinho que me dedicou meu eterno amor e agradecimento.

A Valdir José, meu querido esposo, por ter estado sempre a meu lado, me colocando para cima e me fazendo acreditar que posso mais do que imagino. Por seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor. Obrigada por ter feito do meu sonho o nosso sonho!

Ao Prof. Dr. Leucio Câmara Alves, a quem me orgulho de chamar de orientador. Não só pela orientação, dedicação, confiança, disponibilidade e incentivos que foram fundamentais para realizar e prosseguir este estudo, mas também como amigo e pelos sábios conselhos que me deu sempre que o procurei para conversar. Muito obrigada pela oportunidade de trabalhar a seu lado e aprender com um grande profissional!

Ao Prof. Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos, pela co-orientação e ensinamentos ao longo deste trabalho. Além disso, muito obrigada pela amizade e por ter acompanhado meu crescimento profissional desde quando cheguei ao Laboratório de Doenças Parasitárias em 2010. Sempre atencioso e disposto a me ensinar tudo.

A todos do laboratório por todas as experiências compartilhadas e pelos ótimos momentos que passamos juntos. Em especial Diogo Firmino, Edson Moura, Hévila Guerra, Victor Lima e Wagner Araújo que me ajudaram na realização deste trabalho e pelas ótimas aventuras que passamos juntos.

A Prof. Dra. Maria Aparecida da Gloria Faustino, com quem aprendi muito. Agradeço por toda paciência, confiança, carinho e amizade. Foi um convívio bastante prazeroso e enriquecedor. Minha admiração pelo seu caráter, ética e postura.

A Andréa Calado, Edna Santos e Marília Andrade, minhas amigas pesquisadoras que a vida acadêmica me presenteou, obrigada por me ensinarem, apoiarem e por toda a amizade construída em todos esses anos.

A Frederico Aguiar e Júlio Pereira Jr., meus cunhados pelo incentivo e apoio. Obrigada pelo carinho!

A Evelyne Freitas, Girlene Coelho, Haidê Vasconcelos, Karine Alves, Lívia Keiserman, Myllena Medeiros e Nathalia Prado, amigas que me acompanham desde o colégio, obrigada por todas as palavras e apoio ao longo desta jornada.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco, bem como todos os profissionais que contribuíram para minha formação.

A todos que fazem o PPGBA, pelo amadurecimento acadêmico e conhecimento oferecido durante a realização do curso de doutorado.

A CAPES pelo apoio financeiro.

RESUMO

Rickettsia spp. são bactérias de ampla distribuição geográfica, capazes de infectar seres humanos e animais, através dos carrapatos vetores do gênero *Amblyomma*. Até o momento sabe-se que a Febre Maculosa Brasileira está associada a três ciclos de transmissão de acordo com vetores, hospedeiros e os ambientes envolvidos. O objetivo deste trabalho foi detectar e caracterizar molecularmente riquetsias do grupo da Febre Maculosa em humanos, animais sinantrópicos e ixodídeos procedentes do estado de Pernambuco. Amostras de sangue de 97 roedores (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Trichomys* spp. e *Cavea aperea*) e 34 marsupiais (*Didelphis albiventris*) foram coletados e a caracterização molecular de *Rickettsia* spp. foi realizada através da Reação em Cadeia da Polimerase. Os resultados evidenciaram uma frequência de 6,18% de positividade para os roedores, no Recife (1,03%), Camaragibe (1,03%), Itamaracá (2,06%) na Região Metropolitana do Recife e Izacolândia (2,06%), Petrolina. Entretanto, não foram detectados presença de DNA de *Rickettsia* spp. em nenhum dos marsupiais estudados. Por outro lado, foi relatado o primeiro caso de Febre Maculosa na região Nordeste do Brasil em um indivíduo do sexo masculino do município de Arcoverde, sendo o provável local de infecção no município de Sertânia, ambos no estado de Pernambuco. O paciente apresentou manifestações clínicas compatíveis com a doença, e a infecção foi confirmada por Reação em Cadeia da Polimerase e posterior sequenciamento. A partir da confirmação deste caso foi procedida uma investigação epidemiológica para coleta de ixodídeos no local onde foi identificado FMB. Sendo assim foram coletados carrapatos de *Canis familiaris* e *Euphractus sexcinctus*, classificados como *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato e *Amblyomma pseudoconcolor*, respectivamente. Do total de *A. pseudoconcolor* coletados (90,9%) foram positivos para presença de *Rickettsia* spp., enquanto nenhum dos *R. sanguineus* s.l. encontraram-se infectados. A análise genética baseada em cinco genes rickettsiais mostrou que a cepa detectada está mais relacionada à *Rickettsia amblyommatis*, sendo esta sua primeira descrição em *Amblyomma pseudoconcolor*. Em conclusão, este é o primeiro relato de infecção de *Rickettsia* spp. em roedores e humanos além do primeiro relato de *R. amblyommatis* em *A. pseudoconcolor* no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Os dados obtidos neste estudo sugerem que pequenos mamíferos, podem desempenhar um papel importante na manutenção, circulação e disseminação de riquetsias dentro e fora dos focos naturais. Finalmente os resultados apontam este carrapato como um potencial vetor no ciclo enzoótico de *R. amblyommatis* no Nordeste brasileiro.

Palavras-chaves: Carrapatos, Vetores, Riquetsiose, Bactérias gram-negativas, Saúde pública.

ABSTRACT

Rickettsia spp. are bacteria of wide geographic distribution group capable of infecting humans and animals through ticks of the genus *Amblyomma*. Until now, it is known that Brazilian Spotted Fever is associated to three cycles of transmission according to vectors, hosts and the environments involved. The aim of this study was to detect and characterize molecularly rickettsiae of SF group in humans, synanthropic animals and ixodids from Pernambuco state. Blood samples from 97 rodents (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Trichomys* spp. and *Cavea aperea*) and 34 marsupials (*Didelphis albiventris*) were collected and the molecular characterization of *Rickettsia* spp. was performed using the Polymerase Chain Reaction. The data showed the frequency of 6.18% of positivity for rodents in Recife (1.03%), Camaragibe (1.03%), Itamaracá (2.06%) in the metropolitan region of Recife and Izacolândia (2.06%), Petrolina. However, no *Rickettsia* spp. was found in those marsupials. On the other hand, the first case of SF in the northeast region of Brazil was reported in a man of the Arcoverde County, but this patient may be infected at the Sertânia County, both places in Pernambuco State. The patient showed clinical signs suggestive of SF, and the infection was confirmed by Polymerase Chain Reaction and subsequent sequencing. From the confirmation of this case, an epidemiological investigation was carried out to collect ticks. Ticks collected from *Canis familiaris* and *Euphractus sexcinctus*, were classified as *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato and *Amblyomma pseudoconcolor*, respectively. Of the total *A. pseudoconcolor* collected (90.9%) were positive to presence of *Rickettsia* spp., and no infected *R. sanguineus* s.l. was found. Genetic analysis based on five rickettsial genes showed that the detected strain is most closely related to *Rickettsia amblyommatis*, confirmed, for the first time, detected in *Amblyomma pseudoconcolor*. In conclusion, this is the first report of infection of *Rickettsia* spp. in rodents and humans besides the first report of *R. amblyommatis* in *A. pseudoconcolor* in Pernambuco state, northeastern Brazil. The data obtained in this study suggest that small mammals can be an important role in maintaining, circulating and disseminating rickettsia inside and outside the natural focus. Finally the results point to this tick as a potential vector in the enzootic cycle of *R. amblyommatis* in Brazilian northeast.

Key-words: Ticks, Vectors, Rickettsiosis, Gram-negative bacteria, Public health.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 2. REVISÃO DE LITERATURA | 16 |
| 2.1 Gênero <i>Rickettsia</i> | 16 |
| 2.1.1 Grupo Tifo (GT) | 16 |
| 2.1.2 Grupo Ancestral (GA) | 17 |
| 2.1.3 Grupo da Febre Maculosa (GFM) | 17 |
| 2.2 Febre Maculosa Brasileira (FMB)..... | 19 |
| 2.3 Aspectos epidemiológicos da FMB..... | 20 |
| 2.4 Vetores | 21 |
| 2.5 Principais vetores da FMB..... | 21 |
| 2.5.1 <i>Amblyomma sculptum</i> | 22 |
| 2.5.2 <i>Amblyomma aureolatum</i> | 22 |
| 2.5.3 <i>Amblyomma ovale</i> | 22 |
| 2.6 Pequenos roedores e marsupiais..... | 23 |
| 2.7 Ciclo Biológico da <i>Rickettsia</i> sp..... | 24 |
| 2.8 Manifestações clínicas da FMB | 26 |
| 2.9 Diagnóstico da Febre Maculosa Brasileira..... | 26 |
| 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 28 |
| 4. OBJETIVOS | 48 |
| 4.1 Objetivo Geral | 48 |
| 4.2 Objetivos Específicos | 48 |
| CAPÍTULO I | 49 |
| DETECÇÃO DE <i>Rickettsia</i> spp. EM ROEDORES E MARSUPIAIS SINANTRÓPICOS EM DIFERENTES MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO | 49 |
| Resumo..... | 50 |
| Abstract | 50 |
| 1. INTRODUÇÃO | 51 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 52 |
| 2.1 Área de estudo e coleta de roedores e marsupiais..... | 52 |
| 2.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)..... | 53 |
| 3. RESULTADOS | 53 |
| 4. DISCUSSÃO | 54 |
| 5. CONCLUSÃO | 56 |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 56 |
| CAPÍTULO II | 61 |
| <i>Rickettsia amblyommatis</i> INFECTING <i>Amblyomma pseudoconcolor</i> IN AREA OF NEW FOCUS OF SPOTTED FEVER IN NORTHEAST BRAZIL..... | 61 |

| | |
|---|-----|
| [Artigo publicado na revista Acta tropica, v.182, p. 305-308, 2018] | 61 |
| Abstract | 62 |
| 1. INTRODUCTION | 63 |
| 2. MATERIALS AND METHODS | 64 |
| 2.1 Tick Collection | 64 |
| 2.2 DNA extraction and PCR reactions | 64 |
| 2.3 DNA sequencing | 65 |
| 2.4 Phylogenetic analysis | 65 |
| 3. RESULTS | 65 |
| 4. DISCUSSION | 66 |
| 5. CONCLUSION | 68 |
| 6. ACKNOWLEDGMENTS | 68 |
| 7. APPENDIX A. SUPPLEMENTARY DATA..... | 69 |
| 8. REFERENCES | 69 |
| CAPÍTULO III | 73 |
| FATAL CASE OF SPOTTED FEVER IN A PATIENT FROM NORTHEASTERN BRAZIL .. | 73 |
| [Artigo publicado na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v.60, 2018]..... | 73 |
| Abstract | 74 |
| 1. INTRODUCTION | 74 |
| 2. CASE PRESENTATION | 75 |
| 3. DISCUSSION | 76 |
| 4. CONCLUSIONS | 78 |
| 5. ACKNOWLEDGMENTS | 78 |
| 6. AUTHORS' CONTRIBUTIONS | 78 |
| 7. REFERENCES | 79 |
| CAPÍTULO IV | 81 |
| PERFIS EPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA: ARTIGO DE REVISÃO..... | 81 |
| Resumo..... | 82 |
| Abstract | 82 |
| 1. INTRODUÇÃO | 82 |
| 2. LEVANTAMENTO DE DADOS | 83 |
| 3. EPIDEMIOLOGIA DA FMB | 84 |
| 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 91 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 92 |
| 5. CONCLUSÕES GERAIS | 100 |

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

| | |
|--|----|
| Figura 1: Ciclo de vida de rickettsiae nos carrapatos..... | 24 |
|--|----|

CAPÍTULO II

| | |
|---|----|
| Figure 1: Phylogenetic tree of concatenated rickettsiae <i>gltA</i> , <i>htrA</i> , <i>ompA</i> , <i>ompB</i> , and <i>sca4</i> genes constructed by the neighbor-joining method, using 2-Kimura-parameters evolutionary model with MEGA 5.2 software. Bootstrap values below 70% were not shown. The black triangle indicates sequences obtained in the current study, as a result of molecular analyzes carried out on an <i>Rickettsia</i> spp. found infecting a <i>Amblyomma pseudoconcolor</i> ticks removed from an <i>Euphractus sexcinctus</i> in a rural area of Sertânea municipality, Pernambuco State, Brazil..... | 65 |
|---|----|

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1: Espécies de roedores e marsupiais capturados por municípios.....52

CAPÍTULO IV

Tabela 1: Casos confirmados de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas.
2000 a
2018*88

Tabela 2. Óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas.
2000 a
2018*89

1. INTRODUÇÃO

As bactérias do gênero *Rickettsia* são parasitos intracelulares obrigatórios (GILLESPIE et al., 2008) que infectam tanto humanos como animais, apresentam distribuição mundial, que evidencia complexos ciclos enzoóticos, envolvendo principalmente ectoparasitos e mamíferos (AZAD; BEARD, 1998; MOURA-MARTINIANO et al., 2014).

A Febre Maculosa, doença causada pela *Rickettsia rickettsii*, foi primeiramente diagnosticada em 1899, na região montanhosa do noroeste dos Estados Unidos da América (EUA), onde a doença foi denominada Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR) (MAXEY, 1899; HARDEN, 1990).

Posteriormente, passou a ser diagnosticada em vários países do mundo como Japão, México, Panamá, Costa Rica, Argentina e Brasil (FONSECA; MARTINS, 2007; DEL FIOLE et al., 2010; ARGÜELLO et al., 2012; BERMÚDEZ et al., 2013; SEIJO, et al., 2016; DZUL-ROSADO et al., 2017; MATSUURA; YOKOTA, 2018; OLIVEIRA et al., 2018).

No Brasil, a Febre Maculosa Brasileira (FMB), já foi descrita em todas as regiões do país (SANGIONI et al., 2011; NIERI-BASTOS et al., 2014; SILVEIRA et al., 2015; MELO et al., 2016; LUGARINI, et al., 2015; MCINTOSH et al., 2015; HORTA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017; MACHADO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; AGUIRRE et al., 2018) tendo como vetores os carrapatos das espécies *Amblyomma sculptum*, *A. aureolatum* e *A. ovale* (MORAES-FILHO, 2017).

Diversas são as espécies de riquetsias conhecidas, *Rickettsia typhi*, *R. amblyommii*, *R. rhipicephali*, *R. monteiroi* (LABRUNA et al., 2011), *R. bellii* (SZABÓ et al., 2018), *R. amblyommatis* (SILVA et al., 2018) entretanto *R. rickettsii* e *R. parkeri* são relatadas como as duas principais espécies do Grupo da Febre Maculosa (GFM) que causam doenças humanas no Brasil (SPOLIDORIO et al., 2010a; DE OLIVEIRA et al., 2016; WECK et al., 2016).

Os pequenos mamíferos silvestres, particularmente roedores e marsupiais, são considerados os principais reservatórios e amplificadores desses ectoparasitos (MORARU et al., 2013), devido à alta eficiência de multiplicação e transmissão transtestadial e transovariana que os microrganismos mantêm com ixodídeos (VÉLEZ et al., 2012).

Clinicamente a FMB tem sintomas iniciais inespecíficos (CHEN; SEXTON, 2008), podendo muitas vezes ser confundida com outras doenças como leptospirose, dengue, erliquiose, doenças exantemáticas virais e até outras riquetsioses (DEL FIOLE et al., 2010; ANGERAMI et al., 2012).

Por ser considerada uma zoonose reemergente, a FMB tem notificação compulsória no Brasil apresentando grande importância na saúde pública devido ao diagnóstico médico tardio e a alta letalidade nos humanos (BRASIL, 2018a).

No Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), consta que diversos óbitos por febre maculosa em humanos já ocorreram no país, sendo as regiões Sudeste e Sul as mais acometidas pela doença (BRASIL, 2018a).

Apesar das riquetsioses manterem caráter endêmico em algumas regiões brasileiras (BRASIL, 2018b), informações sobre FMB ainda permanecem escassas no Nordeste do país. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi detectar e caracterizar molecularmente *Rickettsias* do grupo da febre maculosa em humanos, animais sinantrópicos e ixodídeos procedentes do estado de Pernambuco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Gênero *Rickettsia*

O gênero *Rickettsia* é composto por bactérias intracelulares obrigatórias, gram-negativas, pertencentes à ordem Rickettsiales e família Rickettsiaceae (PAROLA et al., 2013).

Os representantes deste gênero estão agrupados em três diferentes grupos, a saber: o grupo Tifo (GT), representado pelas espécies *R. prowazekii* e *R. typhi*, o Grupo Ancestral (GA), que compreende as espécies *R. bellii* e *R. canadensis* (MORAES-FILHO et al., 2009; BARBIERI et al., 2014; GAJDA et al., 2017) e o grupo da Febre Maculosa (GFM), com mais de 30 espécies descritas, entre elas *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. rhipicephali*, *R. amblyommii* e *R. amblyommatis* (BURGDORFER et al., 1978; WEISS; MOULDER, 1984; WELLER et al., 1998; MAXEY, 1899; BOUYER et al., 2001; PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005).

2.1.1 Grupo Tifo (GT)

R. prowazekii é o agente etiológico do tifo epidêmico, transmitido por piolhos (BECHAH et al., 2008). Foi considerada primeiramente uma doença restrita ao ser humano, com transmissão através do *Pediculus humanus corporis* (BADIAGA; BROUQUI, 2012). Sua distribuição é desconhecida, mas desde a década de 1990, focos de tifo epidêmico foram descritos na África, incluindo países como Argélia (NIANG; BROUQUI; RAOULT, 1999; MOKRANI et al., 2004; MOKRANI et al., 2012), Texas (REEVES, et al., 2008), França (BADIAGA; BROUQUI; RAOULT, 2005) e também Rússia (TARASEVICH; RYDKINA; RAOULT, 1998). O tifo epidêmico, nunca foi descrito no Brasil (GALVÃO et al., 2005).

Por outro lado, *R. typhi* agente causador do tifo murino, apresenta distribuição mundial e ocorre principalmente em portos e cidades costeiras onde predominam-se os roedores (MAURIN et al., 2002). Notificações sobre casos de tifo murino indicam que a doença prevalece nos continentes asiático (ZIMMERMAN et al., 2008), europeu (NOGUERAS et al., 2006) e americano (WHITEFORD; TAYLOR; DUMLER, 2001; SILVA; PAPAORDANOU, 2004). Frequentemente, *R. typhi* é diagnosticada em viajantes ao retornarem de áreas endêmicas (TAKESHITA, et al., 2010; SCHULZE et al., 2011; WALTER et al., 2012). No território brasileiro, já foi descrita nos estados do

Rio de Janeiro (PEREIRA; TRAVASSOS; VASCONCELOS; 1949), de São Paulo (TIRIBA, 1972) e de Minas Gerais (COSTA; BRIGATTE; GRECO, 2005).

2.1.2 Grupo Ancestral (GA)

Uma das principais espécies deste grupo é *R. canadenses*, que foi primeiramente isolada no Canadá em carrapatos *Haemaphysalis leporispalustris* (MCKIEL; BELL; LACKMAN, 1967). Inicialmente esta espécie foi considerada um membro do GT com base em semelhanças antigênicas (IGNATOVICH, 1977). Entretanto, estudos moleculares mostraram que *R. canadensis* deve ser representativo de um grupo distinto dentro do gênero *Rickettsia* como *R. bellii* (ROUX et al., 1997; SEKEYOVA; ROUX; RAOULT, 2001; FOURNIER et al., 2005). O papel de *R. canadensis* como um patógeno humano não foi definitivamente estabelecido, entretanto o exame sorológico evidenciou infecção humana em quatro pacientes na Califórnia e Texas (BOZEMAN et al., 1970).

R. bellii foi relatada primeiramente nos EUA onde foram observados carrapatos infectados com essa bactéria (WEISS; MOULDER, 1984). É uma espécie que durante muito tempo foi considerada não patogênica, até que pesquisadores realizaram uma infecção experimental e teve como resultado reação inflamatória e escaras no hospedeiro (OGATA et al., 2006), sendo considerada a partir de então de patogenicidade indeterminada (PAROLA et al., 2013). Já houve registros dessa bactéria em diversas espécies de carrapatos em países como El Salvador (BARBIERI; ROMERO; LABRUNA, 2012), Colômbia (MIRANDA; MATTAR, 2014), Peru (OGRZEWALSKA et al., 2012) e Argentina (TOMASSONE et al., 2010). No Brasil, há relatos de *R. bellii* em carrapatos (LABRUNA et al., 2004) nos estados de São Paulo (HORTA et al., 2006), Rio Grande do Sul (KRAWCZAK et al., 2016), Rio de Janeiro (MONTENEGRO et al., 2017) e Goiás (MACHADO et al., 2018).

2.1.3 Grupo da Febre Maculosa (GFM)

Considerado o grupo mais numeroso, possui como principal representante *R. rickettsii* que foi reportada inicialmente 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 *Dermacentor andersoni* na transmissão da Febre Maculosa e realizou o primeiro isolamento da bactéria que foi nomeada *Rickettsia* em sua homenagem (RICKETTS, 1909). É considerada a bactéria de maior importância zoonótica nas Américas (CDC, 2006; BRASIL, 2009), tendo sido diagnosticada em diversos países do mundo como China (KUO et al., 2015), África (RILEY et al., 2015) Estados Unidos da América (EUA) (FRYXELL et al., 2015; DREXLER et al., 2017) e México (SOSA-GUTIERREZ et al., 2016; TINOCO-GRACIA et al., 2018). No Brasil, é a espécie responsável pela FMB, sendo o principal agente etiológico do GFM, infectando seres humanos (GALVÃO et al., 2003; FACCINI-MARTÍNEZ et al., 2018a; SEXTON et al., 1993; LEMOS; ROZENTAL; VILLELA, 2002; LABRUNA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2016a).

R. parkeri foi identificada por Parker em 1939 nos EUA, quando isolou uma nova espécie de riquetsia em *Amblyomma maculatum* (PARKER et al., 1939). Na década de 90, vários casos de Febre Maculosa 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; HERRICK et al., 2016; STRAILY et al., 2016), Uruguai (CONTI-DIAZ et al., 2009; ROMER et al., 2011; FACCINI-MARTÍNEZ et al., 2018b) e Brasil (SILVA et al., 2011; SILVEIRA et al., 2007; SPOLIDORIO et al., 2010a; SPOLIDORIO et al., 2010b; BONOLDI et al., 2014; SANGIONI et al., 2011).

Por outro lado, *R. rhipicephali* foi isolada em 1975 durante um estudo sobre riquetsiose no Mississippi, EUA, quando foi observado que a bactéria isolada em *R. sanguineus* não apresentava reação sorológica com *R. rickettsi* (BURGDORFER et al., 1975). Assim, *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* 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), posteriormente no estado de São Paulo (LABRUNA et al., 2007a), Mato Grosso (ALVES et al., 2014) e Minas Gerais (ZERINGÓTA et al., 2017).

R. amblyommatis anteriormente conhecida por *Candidatus "Rickettsia amblyommii"* (KARPATHY et al., 2016) é uma bactéria de alta patogenicidade

(APPERSON et al., 2008; RIVAS et al., 2015). Foi isolada pela primeira vez de *A. americanum* em 1974 nos EUA (BURGDORFER et al., 1981; WELLER et al., 1998) e posteriormente foi observada nos Estados Unidos (MONCAYO et al., 2010), México (MEDINA et al., 2007), Costa Rica (HUN et al., 2011; RIVAS et al., 2015), Panamá (BERMÚDEZ et al., 2009; CASTRO et al., 2015; BERMÚDEZ et al., 2017); Colômbia (FACCINI-MARTÍNEZ et al., 2016), Guiana Francesa (PAROLA et al., 2007), Paraguai (OGRZEWALSKA et al., 2014) e Argentina (LABRUNA et al., 2007b; MASTROPAOLO et al., 2016; SEBASTIAN et al., 2017). Foi detectada pela primeira vez no Brasil em *A. cajennense* e *A. coelebs* coletados no ambiente no estado de Rondônia (LABRUNA et al., 2004) e após esse episódio já foi observada nos estados (LABRUNA et al., 2004) da Bahia (MCINTOSH et al., 2015), Minas Gerais (NUNES et al., 2015) e no estado de Pernambuco (COSTA et al., 2017; SILVA et al., 2018). Neste contexto, *R. amblyommatis* provavelmente representa a espécie rickettsial do GFM mais difundida e amplamente distribuída nas Américas (KARPATHY et al., 2016).

2.2 Febre Maculosa Brasileira (FMB)

A FMB é considerada uma zoonose febril aguda, que tem como agente etiológico a bactéria *R. rickettsii* (MONTEIRO; ROZENTHAL; LEMOS, 2014). Na natureza, seu ciclo de transmissão é mantido pela capacidade dos carrapatos em atuar como vetores das bactérias, podendo ainda permanecer infectados ao longo de suas vidas (WALKER, 1989).

Assim, está associada a escara de inoculação do vetor, no paciente humano que tem acontecido predominantemente em áreas de Mata Atlântica, nas regiões Sul, Nordeste, Centro-Oeste e partes da região Sudeste do país, onde a *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica é o agente etiológico, associado principalmente ao carrapato *Amblyomma ovale* considerado como vetor competente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Especialmente em áreas moderadamente degradadas da mata atlântica, embora sem a ocorrência de casos fatais (SABATINI et al., 2010; SILVA et al., 2011; MELO et al., 2016; MOERBECK et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2016b; VOZZONI et al., 2016).

2.3 Aspectos epidemiológicos da FMB

No Brasil, *R. rickettsii* foi primeiramente relatada no ano de 1900, no Instituto Bacteriológico de São Paulo, pelo Dr. Adolfo Lutz, e posteriormente em 1932, foram descritos casos da infecção em humanos, no município de São Paulo, na época, ainda denominada como afecção de “tifo exantemático” (MORAES-FILHO, 2017).

Após isso, outras descrições da FMB foram a partir da ocorrência de casos na capital paulista, em áreas que passavam por um processo de expansão urbana (PIZA et al., 1932; LABRUNA, 2009). Até a década de 80, os casos vinham sendo provenientes dos Municípios de Mogi das Cruzes, Diadema e Santo André, com ocorrência de 53 casos no período de 1957 a 1974 e outros 10 casos de 1976 a 1982 (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2002).

Somente após a doença ser incluída na Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória, do Ministério da Saúde, pela Portaria GM/MS nº 1.943, de 18 de outubro de 2001, casos de FMB passaram a ser notificados em outros estados do país, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Santa Catarina e a partir de 2005, nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Distrito Federal (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2010). Atualmente além dos estados citados anteriormente, os casos de FMB têm sido registrados no Piauí, Ceará, Goiás e Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2018b). Sabe-se que *R. rickettsii* é considerada a bactéria mais patogênica das espécies e registrada no Sudeste do país, onde ocorreram a grande maioria dos casos fatais (OLIVEIRA et al., 2016b).

Os animais vertebrados como cães, cavalos, gatos, capivara, marsupiais, pequenos roedores e outros animais silvestres são os principais hospedeiros da riquetsia e a transmissão ocorre pela picada dos carrapatos infectados com a bactéria (LEMONS, 2004; GAZETA et al., 2009).

Assim, animais silvestres, domésticos e sinantrópicos (MILAGRES et al., 2010) são de grande importância no ciclo de transmissão da FMB seja como reservatórios, amplificadores ou transportadores de ectoparasitos potencialmente infectados (MINERVINO et al., 2015; MELO et al., 2016).

Os caninos podem ter participação no ciclo de transmissão da FMB, por estarem inseridos no domicílio humano e por serem susceptíveis à doença, sendo considerados também como animais sentinelas para FMB (PADDOCK et al., 2002; LABRUNA et al., 2009).

2.4 Vetores

Os carrapatos vivem parte de sua vida parasitando a superfície do corpo de seus hospedeiros podendo ser animais silvestres, domésticos e também ocasionalmente o homem (SZABÓ et al., 2013; EREMEEVA; DASCH, 2015).

Desta forma, esses hospedeiros também podem atuar como amplificadores, aumentando sua área de distribuição geográfica ou atuando na amplificação de doenças como por exemplo as riquetsias, pois quando infectados e em riquetsemia, os hospedeiros tem potencial para infectar novas linhagens de carrapatos (EREMEEVA; DASCH, 2015).

Os ixodídeos passam por quatro estágios durante sua biologia: ovo, larva, ninfa e adulto, 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 de diferentes hospedeiros (heteroxenos), o que facilita transmissão de patógenos, permitindo o contato do agente em diferentes momentos (GUGLIELMONE et al., 2006; DANTAS-TORRES, 2008; SERRA-FREIRE, 2009).

2.5 Principais vetores da FMB

Os principais vetores da FMB são os ectoparasitos do gênero *Amblyomma*, sendo *Amblyomma cajennense* considerado por muitos anos a espécie de carrapato relacionada à transmissão da doença (LABRUNA, 2009).

Hoje sabe-se que *A. cajennense* é um complexo de seis espécies, *A. cajennense* sensu stricto s.s., *Amblyomma mixtum*, *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma interandinum*, *Amblyomma tonelliae* e *Amblyomma patinoi*, estas têm distribuição geográfica distinta, porém na nova classificação, determinou-se que *A. cajennense* é encontrado somente na região Amazônica da América do Sul, englobando Venezuela, Guianas e parte do Brasil (NAVA et al., 2014).

Dentre estas espécies, os principais vetores da doença no Brasil destacam-se *A. sculptum*, *A. aureolatum* e *A. ovale* (MORAES-FILHO, 2017).

2.5.1 *Amblyomma sculptum*

A. sculptum possui uma ampla distribuição geográfica, sendo encontrado desde o norte da Argentina, Paraguai, até áreas tropicais e subtropicais do Brasil sendo considerada uma espécie de carrapato de grande impacto, tanto para saúde animal quanto para saúde humana, por se tratar do principal vetor da FMB (NAVA et al., 2014; MARTINS et al., 2016).

Tem sido encontrado em capivaras e antas, podendo ainda parasitar equinos e suínos em áreas endêmicas (LABRUNA, 2009; FREITAS et al., 2010; BATISTA et al., 2010; MEIRA et al., 2013). Larvas e ninfas de *A. sculptum* ocorrem em diversos hospedeiros, sendo também parasitos de humanos, permanecendo por horas sem serem notadas, desta forma os ambientes arborizados antropizados como parques urbanos e margens de rios com matas são propícios para a espécie e para contato com seres humanos (GUGLIELMONE et al., 2006; SZABÓ et al., 2013).

2.5.2 *Amblyomma aureolatum*

A. aureolatum é encontrado nos estados de São Paulo, Santa Catarina, Rio Grande do Sul, Paraná e Pernambuco (BARBIERI et al., 2015; QUADROS et al., 2015; PINTO et al., 2017; SILVA et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

Seus principais hospedeiros na fase adulta são os canídeos que atuam como amplificadores de *A. aureolatum* (SZABÓ et al., 2013; BARBIERI et al., 2014). Além disso, este carrapato pode ser encontrado em cervídeos, bovinos e suínos e também em felinos, equinos, didelfídeos, roedores e humanos (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; PINTER et al., 2008; SZABÓ et al., 2013). Já nas fases imaturas, tem preferência por locais com alta umidade e temperaturas amenas (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; SZABÓ et al., 2013).

Em áreas endêmicas para FMB, humanos que habitam periferia de mata podem ser parasitados pelo vetor, além disso, os animais domésticos, contribuem para carrear os carrapatos de seu ambiente natural às residências (PINTER et al., 2008; SARAIVA et al., 2013; SZABÓ et al., 2013).

2.5.3 *Amblyomma ovale*

A. ovale é observado no Brasil nas regiões, Norte (GIANIZELLA et al., 2018), Nordeste (FERREIRA et al., 2013; PEREIRA et al., 2017), Centro-Oeste (ALMEIDA et al., 2013a; MARTINS et al., 2015), Sudeste (SZABÓ et al., 2013; CUNHA et al., 2014)

e Sul (LAVINA et al., 2011; GOMES; PESENTI; MÜLLER, 2015), sendo encontrado como o principal vetor de *Rickettsia* sp. - Cepa Mata Atlântica (SZABÓ et al., 2013; BARBIERI et al., 2014).

Os adultos de *A. ovale* têm como hospedeiros mamíferos os cervídeos, canídeos, felídeos, mustelídeos, primatas como os humanos e roedores silvestres (GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATTESTI, 2001; GUGLIELMONE et al., 2003).

2.6 Pequenos roedores e marsupiais

As ordens Rodentia (roedores) e Didelphimorphia (marsupiais) (FONSECA et al., 1996), conhecidos como pequenos mamíferos constituem um grupo bastante importante ecologicamente, do ponto de vista de abundância e diversidade de espécies, registradas em 1.750 de roedores e 262 de marsupiais (FINNIE, 1986; COLAZO; CASTRO, 1997).

São conhecidos por habitarem ou migrarem através de ecótonos que contêm florestas, pastos e habitações humanas, e podem ser componentes importantes da ecologia de transmissão de diferentes microorganismos patogênicos (BRADLEY; ALTIZER, 2007; MCFARLANE; SLEIGH; MCMICHAEL, 2012).

A diversidade de mamíferos encontrados no Brasil é considerada a maior do mundo, sendo que a maioria dos mamíferos terrestres são de pequeno porte e de difícil visualização (REIS, 2006). Na região Nordeste do país, são observados 30 gêneros de roedores e 11 gêneros de marsupiais, encontrados nos biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (FREITAS, 2012), podendo adaptar-se a outros ambientes facilmente (ALMEIDA et al., 2013b).

As espécies de roedores estão divididas em roedores sinantrópicos comensais, *Rattus norvegicus* (ratazana ou rato de esgoto), *Rattus rattus* (rato de telhado ou rato preto) e *Mus musculus* (camundongo ou catita), considerados responsáveis pela maior parte dos prejuízos econômicos e sanitários causados à população humana (ARSKY; ARAÚJO, 2002). Por outro lado, existem os sinantrópicos não comensais ou silvestres, ainda não estritamente dependentes do ambiente antrópico, destacando-se *Thrichomys* sp. (rato rabudo) que habitam ambientes xéricos e rochosos nos biomas da Caatinga e Cerrado brasileiros (ALHO et al., 1986) e *Cavia aperea* (preá), compreendendo um enorme grupo de espécies que exploram diferentes habitats e

também incluem algumas espécies já domesticadas por seres humanos, como a chinchila e a cobaia (*Cavia* spp.) (VOLOCH et al., 2013).

Os marsupiais ocorrem em diversos biomas, sendo que o maior número de espécies ocorre na Mata Atlântica (MELO; SPONCHIADO 2012). Dentre as espécies de *Didelphis* destacam-se na América do Sul *D. aurita* e *D. albiventris* (CERQUEIRA, 1985; CERQUEIRA; LEMOS, 2000).

Os marsupiais são bastante adaptáveis aos mais variados ambientes, como florestas e também podem viver próximos à civilização humana, sendo assim, é difícil definir seu território, pois percorrem longas distâncias e permanecem em locais por períodos relativamente curtos, facilitando assim a disseminação de patógenos (FINNIE, 1986).

Por apresentarem espécies de fácil adaptação ambiental, os roedores e marsupiais em período de seca prolongada, migram frequentemente para outros locais em busca de alimentos, tornando-se vulneráveis às infestações por ectoparasitos infectados por riquetsias, mantendo desta maneira o ciclo das riquetsias na natureza (FREITAS, 2012; SARAIVA et al., 2013).

Além disso, vetores como pulgas podem participar da transmissão do tifo epidêmico como nos anos de 1930, quando *Rickettsia typhi* foi isolada de pulgas coletadas de roedores (BOUDEBOUCH et al., 2011) e em 1974 registrou-se pela primeira vez *Rickettsia amblyommii* em *Amblyomma americanum* (BURGDORFER et al., 1981).

Sendo assim, roedores e marsupiais em seu ambiente natural, frequentemente sofrem infecções múltiplas por várias espécies de *Rickettsia*, podendo desenvolver sintomas característicos de riquetsiose ou serem reservatórios amplificadores (MIRANDA et al., 2011).

2.7 Ciclo Biológico da *Rickettsia* sp.

O ciclo da *Rickettsia* sp. inicia-se no trato digestivo dos ixodídeos para realizar sua replicação, se espalhando e multiplicando em outros tecidos, incluindo glândulas salivares, ovários intestino, túbulos de malpighi e hemolinfa (WEISS, MOULDER, 1984; BILLINGS et al., 1998; QUINTERO et al., 2013).

Nos carrapatos fêmeas, as riquetsias se propagam por transmissão transovariana e transestadial (Figura 1), durante as próximas quatro gerações dos

vetores infectados (LABRUNA et al., 2011). Além disso, machos podem transferir para as fêmeas através dos fluidos corporais ou dos espermatozoides durante o processo de acasalamento (PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005).

O ciclo biológico rickettsial tem continuidade quando os ixodídeos realizam o repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado e nesse momento, a riquetsia através da saliva pode ser inoculada diretamente na corrente sanguínea do hospedeiro (PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005).

Após a inoculação da riquetsia pelo carrapato infectado no hospedeiro, ela é disseminada através dos vasos linfáticos e pequenos vasos sanguíneos, atingindo pele, pulmões, coração, cérebro, baço, pâncreas, fígado e trato gastrointestinal (WALKER; VALBUENA; OLANO, 2003). Em todos os tecidos atingidos, a riquetsia invade o endotélio vascular, onde se replica para atingir células da musculatura lisa, liga-se a receptores que contêm colesterol, fixando-se às células do endotélio através de proteínas específicas (*ompA* e *ompB*) (WALKER; VALBUENA; OLANO, 2003).

A penetração nas células do hospedeiro ocorre por fagocitose induzida e com o rompimento do fagossoma, o microrganismo alcança o citoplasma, onde se multiplica por fissão binária com tempo de replicação de aproximadamente dez minutos (TRABULSI, 2004).

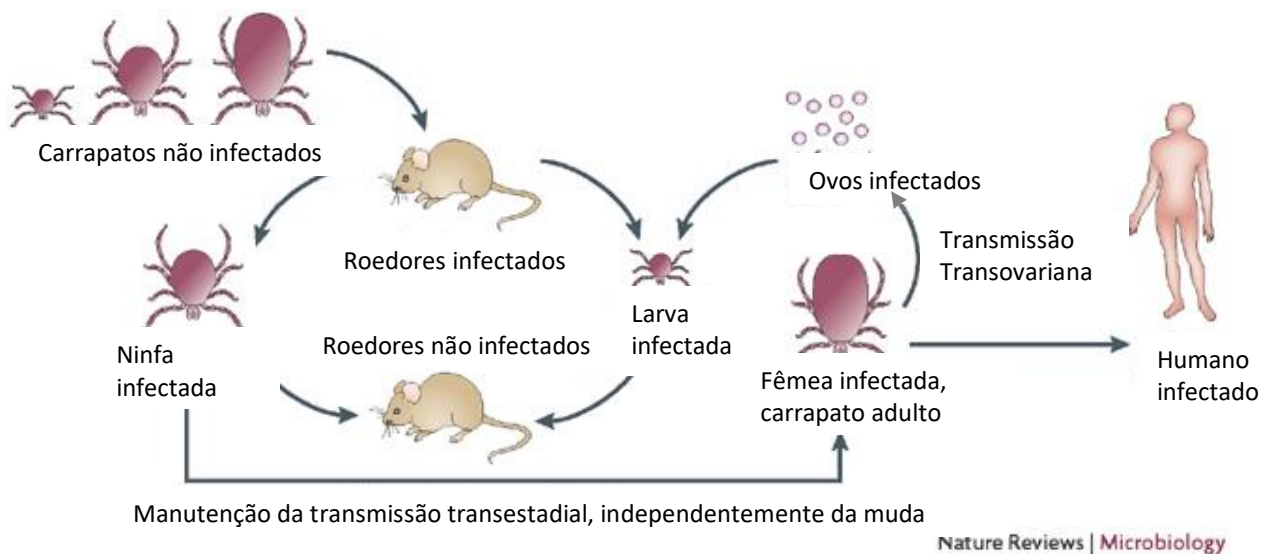


Figura 1: Ciclo de vida de rickettsiae nos carrapatos (Fonte: WALKER; ISMAIL, 2008).

2.8 Manifestações clínicas da FMB

Clinicamente a FMB tem sintomas iniciais inespecíficos como febre alta, cefaleia intensa, mialgias, artralgia, astenia, inapetência, mal-estar generalizado, hiperemia das conjuntivas e hepatoesplenomegalia (THORNER et al., 1998; ABRAMSON; GIVNER, 1999; MASTERS et al., 2003; CUNHA, 2004; CHEN; SEXTON, 2008). Sintomas gastrointestinais também podem surgir, como vômitos, diarreia e dor abdominal, podendo ser confundido com abdômen agudo (MANDELL et al., 1995).

Além disso, as riquetsias ao infectarem as células endoteliais podem desencadear um processo de vasculite disseminada (CHEN; SEXTON, 2008; WOODS; OLANO, 2008) e dessa forma, manifestações clínicas são frequentemente observadas como problemas cutâneos, musculoesqueléticos, cardíacos, pulmonares, renais e neurológicos (WOODS; OLANO, 2008; CUNHA, 2008).

2.9 Diagnóstico da Febre Maculosa Brasileira

O diagnóstico clínico da FMB é complicado devido aos sinais inespecíficos da doença (SAHNI; RYDKINA, 2009).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é considerada método padrão-ouro segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1988) e preconizado pelo Ministério da Saúde do Brasil, sendo a técnica sorológica mais utilizada no diagnóstico das riquetsioses (RENVOISÉ et al., 2009; LEMOS, 2013), podendo ser utilizada para detectar anticorpos IgM e IgG em amostras pareadas de soro, na fase aguda e crônica da doença.

Apresenta uma sensibilidade de 94% a 100% e especificidade de 100% (DUMLER, 1996; MELLES et al., 1999; CDC, 2006). Mesmo que os resultados não revelem confiabilidade com o agente, a RIFI pode apresentar reações cruzadas com outras riquetsias não patogênicas (GALVÃO et al., 2005; BIGGIS et al., 2016). É considerada simples e econômica para o diagnóstico precoce de riquetsioses e estudos soropidemiológicos (LA SCOLA; RAOULT, 1997).

Por outro lado, a imunohistoquímica é a metodologia utilizada para o diagnóstico em biópsia de pele, esta técnica que tem sido aplicada em laboratórios de

referência, principalmente para investigação diagnóstica em casos de óbitos, apresentando sensibilidade próxima a 70% e especificidade de 100% (PADDOCK et al., 1999; CHEN; SEXTON, 2008).

A técnica de imunohistoquímica, em que são utilizados anticorpos monoclonais específicos anti-*Rickettsia rickettsii*, é realizada em lesões de pele, fragmentos de pulmão, fígado, baço, coração, cérebro (BRITES; DUARTE, 2010). A visualização dos antígenos de riquetsias no tecido pode ser realizada através da coloração pelas técnicas da peroxidase ou por fluorescência direta (THORNER et al., 1998; CHEN; SEXTON, 2008).

Em contrapartida, os exames moleculares, como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), possibilita a amplificação de sequências de DNA do agente, além do sequenciamento (PADDOCK et al., 2010; KAHN et al., 2013; SUMRANDEE et al., 2014), têm sido bastante utilizados na detecção e identificação das espécies de riquetsia presentes em órgãos de animais e também nos vetores da doença a partir de fragmentos dos genes *gltA*, *ompA* e *ompB* (ŠPITALSKÁ et al., 2015).

Por outro lado, o isolamento de riquetsias em cultura de células, é um procedimento que exige alta qualificação técnica e laboratórios com biosegurança nível três, sendo considerado o exame mais apropriado para a identificação da espécie infectante (MELLES et al., 1999; CHEN; SEXTON, 2008).

O resultado do isolamento é conclusivo quando positivo, entretanto quando negativo tem baixo valor diagnóstico, pois uma série de fatores pode interferir no processo, apresentando um resultado falso-negativo (PINTER et al., 2011). Esses fatores são o uso de antibiótico antes da coleta, condições de esterilidade na coleta, armazenamento da amostra sob -60° C a -80° C, utilização de sistemas de cultura de células in vitro e o potencial risco biológico (DANTAS-TORRES, 2007; CHEN; SEXTON, 2008).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRAMSON, J.S.; GIVNER, L.B. Rocky Mountain spotted fever. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v.18, n.6, p.539-540, 1999.
- AGUIRRE, A.A.R.; GARCIA, M.V.; COSTA, I.N.; CSORDAS, B.G.; SILVA RODRIGUES, V.; MEDEIROS, J.F.; ANDREOTTI, R. New records of tick-associated spotted fever group *Rickettsia* in an Amazon-Savannah ecotone, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.9, n.4, p.1038-1044, 2018.
- ALHO, C.J.R.; PEREIRA, L.A.; PAULA, A.C. Patterns of habitat utilization by small mammal populations in cerrado biome of central Brazil. **Mammalia**, v.50, n.4, p.447-460, 1986.
- ALMEIDA, R.F.; GARCIA, M.V.; CUNHA, R.C.; MATIAS, J.; LABRUNA, M.B.; ANDREOTTI, R. The first report of *Rickettsia* spp. in *Amblyomma nodosum* in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.4, n.1-2, p.156-159, 2013a.
- ALMEIDA, A.J.; FREITAS, M.M.F.; TALAMONI, S.A. Use of Space by the Neotropical Caviomorph Rodent *Thrichomys apereoides* (Rodentia: Echimyidae). **Zoologia**, v.30, n.1, p.35-42, 2013b.
- ALVES, A.D.S.; MELO, A.L.; AMORIM, M.V.; BORGES, A.M.; GAÍVA, E.; SILVA, L.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B.; AGUIAR, D.M.; PACHECO, R.C. Seroprevalence of *Rickettsia* spp. in equids and molecular detection of '*Candidatus Rickettsia amblyommii*' in *Amblyomma cajennense* sensu lato ticks from the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 51, n. 6, p. 1242-1247, 2014.
- ANGERAMI, R.N.; CÂMARA, M.; PACOLA, M.R.; REZENDE, R.C.; DUARTE, R.M.; NASCIMENTO, E.M.; COLOMBO, S.; SANTOS, F.C.; LEITE, R.M.; KATZ, G.; SILVA, L.J. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.3, p.346-348, 2012.
- APPERSON, C.S.; ENGBER, B.; NICHOLSON, W.L.; MEAD, D.G.; ENGEL, J.; YABSLEY, M.J.; DAIL, K.; JOHNSON, J.; WATSON, D.W. Tick borne diseases in North Carolina: is "*Rickettsia amblyommii*" a possible cause of rickettsiosis reported as Rocky Mountain spotted fever? **Vector Borne Zoonotic Disease**, v.8, p.597-606, 2008.
- ARGÜELLO, A.P.; HUN, L.; RIVERA, P.; TAYLOR, L. A fatal urban case of Rocky Mountain spotted fever presenting an eschar in San Jose, Costa Rica. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.87, n.2, p.345-348, 2012.
- ARSKY, M.; ARAÚJO, F. Biologia e comportamento de roedores sinantrópicos. In: ARSKY, M. **Manual de Controle de Roedores**. Brasília: ASCOM/FUNASA, 2002. p.11-42.
- AZAD, A.F.; BEARD, C.B. Rickettsial diseases and their arthropod vectors. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.4, p.179-186, 1998.

- BADIAGA, S.; BROUQUI, P.; RAOULT, D. Autochthonous epidemic typhus associated with *Bartonella quintana* bacteremia in a homeless person. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.72, p.638-639, 2005.
- BADIAGA, S.; BROUQUI, P. Human louse-transmitted infectious diseases. **Clinical Microbiology and Infection**, v.18, n.4, p.332-337, 2012.
- 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.
- BARBIERI, A.R.; JONAS FILHO, M.; NIERI-BASTOS, F.A.; SOUZA JR, J.C.; SZABÓ, M.P.; LABRUNA, M.B. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.5, n.6, p.848-853, 2014.
- BARBIERI, J.M.; DA ROCHA, C.M.; BRUHN, F.R.P.; CARDOSO, D.L.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Altitudinal assessment of *Amblyomma aureolatum* and *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), vectors of spotted fever group rickettsiosis in the state of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.52, n.5, p.1170-1174, 2015.
- BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. Carrapatos de importância médico veterinário da região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. Modelos Biológicos. São Paulo: Vox; ICTTD-3; **Butantan**, 223 p., 2006.
- BATISTA, F.G.; SILVA, D.M.; GREEN, K.T.; TEZZA, L.B.; VASCONCELOS, S.P.; CARVALHO, S.G.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B.; FORTES, F.S.; MOLENTO, M.B. Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in an non-endemic area in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.4, p.205-209, 2010.
- BECHAH, Y.; CAPO, C.; MEGE, J.L. RAOULT, T.D. Tifo epidêmico. **The Lancet Infectious Diseases**, v.8, p.417-426, 2008.
- BERMÚDEZ, S.E.; EREMEEVA, M.E.; KARPATY, 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.
- BERMÚDEZ, S.E.; LYONS, C.R.; GARCÍA, G.G.; ZALDÍVA, Y.L.; GABSTER, A.; ARTEAGA, G.B. Serologic evidence of human *Rickettsia* infection found in three locations in Panama. **Biomédica**, v.33, p.31-37, 2013.
- BERMÚDEZ, S.E.; GOTTDENKER, N.; KRISHNVAJHALA, A.; FOX, A.; WILDER, H.K.; GONZÁLEZ, K.; SMITH, D.; LÓPEZ, M.; PEREA, M.; RIGG, C.; MONTILLA, S.; CALZADA, J.E.; SALDAÑA, A.; CABALLERO, C.M.; LOPEZ, J.E. Synanthropic Mammals as Potential Hosts of Tick-Borne Pathogens in Panama. **PLoS One**, v.12, n.1, p.e0169047, 2017.
- BIGGS, H.M.; BEHRAVESH, C.B.; BRADLEY, K.K.; DAHLGREN, F.S.; DREXLER, N.A.; DUMLER, J.S.; FOLK, S.M.; KATO, C.Y.; LASH, R.R.; LEVIN, M.L.; MASSUNG, R.F.; NADELMAN, R.B.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D.; PRITT, B.S.; TRAEGER, M.S. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial

Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever and Other Spotted Fever Group Rickettsioses, Ehrlichioses, and Anaplasmosis - United States. **MMWR Recommendations and Reports**, v.65, n.2, p.1-44, 2016.

BILLINGS, A.N.; YU, X.J.; TEEL, P.D.; WALKER, D.H. Detection of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in south Texas. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 474-478, 1998.

BONOLDI, V.L.N.; MARANGONI, R.G.; GAUDITANO, G.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B.; YOSHINARI, N.H. First report of mild Brazilian spotted fever associated to arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.54, n.3, p.237-240, 2014.

BOUDEBOUCH, N.; SARIH, M.; BEAUCOURNU, J.C.; AMAROUCH, H.; HASSAR, M.; RAOULT, D.; PAROLA, P. *Bartonella clarridgeiae*, *B. henselae* and *Rickettsia felis* in fleas from Morocco. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v.105, n.7, p.493-498, 2011.

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.

BOZEMAN, F.M.; ELISBERG, B.L.; HUMPHRIES, J.W.; RUNCIK, K.; PALMER, D.B.JR. Serologic evidence of *Rickettsia canada* infection of man. **The Journal of Infectious Diseases**, v.121, n4, p.367-371, 1970.

BRADLEY, C.A.; ALTIZER, S. Urbanization and the ecology of wildlife diseases. **Trends Ecology Evolution**, v.22, n.2, p.95–102, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**. 7ed. Brasília: Ministério da Saúde, 816p, 2009.

BRASIL, 2018a. DATASUS/FEBRE MACULOSA - **Óbitos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação** - SinanNet. Disponível em:<
<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/06/obito-fmb-01-08-2018.pdf> >. Acesso em: 10 de outubro de 2018.

BRASIL, 2018b. DATASUS/FEBRE MACULOSA - **Casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação** - SinanNet. Disponível em:<
<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/06/caso-fmb-atualiza---o-site-01.08.2018.pdf> >. Acesso em: 10 de outubro de 2018.

BRITES-NETO, J.; DUARTE, K.M.R. Diagnostic assays for Rickettsiosis infectiveness. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.161, n.4 p.167-172, 2010.

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. A new spotted fever group rickettsia from the lone star tick, *Amblyomma americanum*. In: R.W. Anacker (ed) *Rickettsiae and Rickettsial Diseases*. **Academic Press**, p. 213-267, 1981.

CASTRO, A.M.; GARCÍA, G.G.; DZUL-ROSADO, K.; AGUILAR, A.; CASTILLO, J.; GABSTER, A.; TREJOS, D.; ZAVALA-CASTRO, J.; BERMÚDEZ, S.E. Questing *Amblyomma mixtum* and *Haemaphysalis juxtakochi* (Acari: Ixodidae) infected with *Candidatus 'Rickettsia amblyommii'* from the natural environment in Panama Canal Basin, Panama. **Tropical Medicine and Health**, v.43, p.217–222, 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain Spotted Fever, Ehrlichioses, and Anaplasmosis - United States; a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. CDC, Atlanta, GA. v.55, n.RR-4, 36p, 2006.

CERQUEIRA, R. The distribution of *Didelphis* in South America (Polyprotodontia, Didelphidae). **Journal of Biogeography**, v.12, p.135-145, 1985.

CERQUEIRA, R.; LEMOS, B. Morphometric differentiation between Neotropical black-eared opossums, *Didelphis marsupialis* and *D. aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae). **Mammalia**, v.64, n.3, p.319-327, 2000.

CHEN, L.F.; SEXTON, D.J. What's new in Rocky Mountain spotted fever? **Infectious Disease Clinics of North America**, v.22, p.415-432, 2008.

COLAZO, R.; CASTRO, J. Los Roedores Dañinos: Algunos Aspectos Del Control Químico y Bacteriológico. **Revista de Investigaciones Pecuarias**, v.8, n.1, p.1-9, 1997.

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.

COSTA, P.S.G.D.; BRIGATTE, M.E.; GRECO, D.B. Antibodies to *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia typhi*, *Coxiella burnetii*, *Bartonella henselae*, *Bartonella quintana*, and *Ehrlichia chaffeensis* among healthy population in Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n.8, p.853-859, 2005.

COSTA, F.B.; DA COSTA, A.P.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; SOARES, H.S.; RAMIREZ, D.G.; DIAS R.A.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia amblyommatis* infecting ticks and exposure of domestic dogs to *Rickettsia* spp. in an Amazon-Cerrado transition region of northeastern Brazil. **PloS One**, v.12, n.6, p.e0179163, 2017.

CUNHA, B.A. Rocky Mountain spotted fever revisited. **Archives of Internal Medicine**, v.164, p.221-222, 2004.

CUNHA, B.A. Clinical features of Rocky Mountain spotted fever. **The Lancet Infectious Diseases**, v.8, n.3, p.143-144, 2008.

CUNHA, N.C.; LEMOS, E.R.; ROZENTAL, T.; TEIXEIRA, R.C.; CORDEIRO, M.D.; LISBÔA, R.S.; FAVACHO, A.R.; BARREIRA, D.J.; REZENDE, J.; FONSECA, A.H. Rickettsias do grupo da febre maculosa em cães, equinos e carrapatos: um estudo epidemiológico em região endêmica do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v.36, n.3, p.294-300, 2014.

DANTAS-TORRES, F. Rocky Mountain spotted fever. **The Lancet Infectious Diseases**, v.7, p.724-732, 2007.

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.

DEL FIOLE, F.S.; JUNQUEIRA, F.M.; ROCHA, M.C.; TOLEDO, M.I.; FILHO, S.B. Rocky Mountain spotted fever in Brazil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.27, n.6, p.461-466, 2010.

DREXLER, N.A.; YAGLOM, H.; CASAL, M.; FIERRO, M.; KRINER, P.; MURPHY, B.; KJEMTRUP, A.; PADDOCK, C.D. Fatal Rocky Mountain spotted fever along the United States–Mexico Border, 2013–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v.23, n.10, p.1621, 2017.

DUMLER, J.S. Laboratory diagnosis of Rickettsial and Ehrlichial infections. **Clinical Microbiological Newsletter**, v.15, p.57-60, 1996.

DZUL-ROSADO, K.; BALAM-ROMERO, J.; VALENCIA-PACHECO, G.; LUGO-CABALLERO, C.; ARIAS-LEÓN, J.; PENICHE-LARA, G.; ZAVALA-CASTRO, J. Immunogenicity of OmpA and OmpB antigens from *Rickettsia rickettsii* on mononuclear cells from Rickettsia positive Mexican patients. **Journal of Vector Borne Diseases**, v.54, n.4, p.317, 2017.

EREMEEVA, M.E.; DASCH, G.A.; GREGORY, A. Challenges posed by tick-borne rickettsiae: eco-epidemiology and public health implications. **Frontiers in Public Health**, v.3, p.55, 2015.

FACCINI-MARTINEZ, Á.; RAMÍREZ-HERNÁNDEZ, A.; FORERO-BECCERRA, E.; CORTÉS-VECINO, J.A.; ESCANDÓN, P.; RODAS, J.D.; PALOMAR, A.M.; PORTILLO, A.; OTEO, J.A.; HIDALGO, M. Molecular evidence of different Rickettsia species in Villeta, Colombia. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.16, p.85–87, 2016.

FACCINI-MARTÍNEZ, Á.A.; MUÑOZ-LEAL, S.; ACOSTA, I.C.; DE OLIVEIRA, S.V.; DE LIMA DURÉ, A.Í.; JUNIOR, C.C.; LABRUNA, M.B. Confirming *Rickettsia*

rickettsii as the etiological agent of lethal spotted fever group rickettsiosis in human patients from Espírito Santo state, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v. 9, n. 3, p. 496-499, 2018a.

FACCINI-MARTÍNEZ, Á.A.; FÉLIX, M.L.; ARMUA-FERNANDEZ, M.T.; VENZAL, J.M. An autochthonous confirmed case of *Rickettsia parkeri* rickettsiosis in Uruguay. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.9, n.3, p.718-719, 2018b.

FERREIRA, C.G.T.; BEZERRA, A.C.D.S.; CARVALHO, O.V.D.; ALMEIDA, M. R.D.; MAFRA, C. First occurrence of *Amblyomma ovale* in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22, n.1, p.167-170, 2013.

FINNIE, E.P. **Monotremes and Marsupials (Anatomy)**. In: FOWLER, M.E. Zoo and wild animal medicine. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1986. Cap.36, p.558-560.

FONSECA, G.A.B.; HERMANN, G.; LEITE, Y.L.R.; MITTERMEIER, R.A.; RYLANDS, A.B.; PATTON, J.L. Lista anotada dos mamíferos do Brasil. **Occasional Papers in Conservation Biology**, v.4, p.1-38, 1996.

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.

FOURNIER, P.E.; GOURIET, F.; BROUQUI, P.; LUCHT, F.; RAOULT, D. Lymphangitis-associated rickettsiosis (LAR), a new rickettsiosis caused by *Rickettsia sibirica mongolotimonae*. Seven new cases and review of the literature. **Clinical Infectious Diseases**, v.40, n.10, p.1435–1444, 2005.

FREITAS, M.C.; GRUCAJUK, M.; MOLENTO, M.B.; BONACIN, J.; LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; DECONTO, I., BIONDO, A.W. Brazilian spotted fever in cart horses in a non-endemic area in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.2, p.130-131, 2010.

FREITAS, A.M. **Mamíferos no nordeste Brasileiro: Espécies Continentais**. Pelotas: USEB, 2012. 133p.

FRYXELL, R.T.T.; STEELMAN, C.D.; SZALANSKI, A.L.; BILLINGSLEY, P.M.; WILLIAMSON, P.C. Molecular detection of *Rickettsia* species within ticks (Acari: Ixodidae) collected from Arkansas United States. **Journal of Medical Entomology**, v.52, n.3, p.500-508, 2015.

GAJDA, E.; HILDEBRAND, J.; SPRONG, H.; BUŃKOWSKA-GAWLIK, K.; PEREC-MATYSIAK, A.; COIPAN, E.C. Spotted fever rickettsiae in wild-living rodents from south-western Poland. **Parasites & Vectors**, v.10, n.1, p.413, 2017.

GALVÃO, M.A.; DUMLER, J.S.; MAFRA, C.L.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; CESARINO, F.G.; OLANO, J.P.; WALKER, D.H. Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.9, n.11, p.1402-1405, 2003.

GALVÃO, M.A.M.; SILVA, L.J.D.; NASCIMENTO, E.M.M.; CALIC, S.B.; SOUSA, R.D.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. **Revista de Saúde Pública**, v.39, p.850-856, 2005.

GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; ABOUD-DUTRA, A.E.; AMORIM, M.; BARBOSA, P.R.; ALMEIDA, A.B.; GOMES, V.; GEHRKE, F.S.; MARRELLI, M.T.; SCHUMAKER, T.T.S. Potential vectors and hosts of *Rickettsia* spp: epidemiological studies in the Vale do Paraíba, state of Rio de Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, n.15 p.269-270, 2009.

GIANIZELLA, S.L.; MARTINS, T.F.; ONOFRIO, V.C.; AGUIAR, N.O.; GRAVENA, W.; DO NASCIMENTO, C.A.R.; NETO, L.C.; FARIA, D.L.; LIMA, N.A.S.; SOLORIO, M.R.; MARANHÃO, L.; LIMA, I.J.; COBRA, I.V.D.; SANTOS, T.; LOPES, G.P. Ticks (Acari: Ixodidae) of the state of Amazonas, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.74, n.2, p.177-183, 2018.

GILLESPIE, J.J.; WILLIAMS, K.; SHUKLA, M.; SNYDER, E.E.; NORDBERG, E.K.; CERAUL, S.M.; DHARMANOLLA, C.; RAINEY, D.; SONEJA, J.; SHALLOM, J.M.; VISHNUBHAT, N.D.; WATTAM, R.; PURKAYASTHA, A.; CZAR, M.; CRASTA, O.; SETUBAL, J.C.; AZAD, A.F.; SOBRAL, B.S. 2008. *Rickettsia* phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. **PloS One**, v.3, n.4, p.e2018, 2008.

GOMES, S.N.; PESENTI, T.C.; MÜLLER, G. Parasitism by *Amblyomma ovale* and *Amblyomma fuscum* (Acari: Ixodidae) on *Dasyus novemcinctus* (Xenarthra: Dasypodidae) in Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.82, p.1-4, 2015.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Informe técnico Febre Maculosa Brasileira. **Centro de Vigilância Epidemiológica**, p.1-7, 2002.

GUGLIELMONE, A.A.; ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A.J.; BARROSBATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; MARTINS, J.R.; VENZAL, J.M.; ARZUA, M.; KEIRANS, J.E. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**, v.113, p.273-288, 2003.

GUGLIELMONE, A.A.; SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, J.R.S.; ESTRADAPEÑA, A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal. In: BARROSBATTESTI, 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.; BARROSBATTESTI, 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.

HERRICK, K.L.; PENA, S.A.; YAGLOM, H.D.; LAYTON, B.J.; MOORS, A.; LOFTIS, A.D.; CONDIT, M.E.; SINGLETON, J.; KATO, C.Y.; DENISON, A.M.; NG, D.; MERTINS, J.W.; PADDOCK, C.D. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis, Arizona, USA. **Emerging Infectious Diseases**, v.22, n.5, p.780, 2016.

- HORTA, M.C.; PINTER, A.; SCHUMAKER, T.T.; LABRUNA, M.B. Natural infection, transovarial transmission, and transstadial survival of *Rickettsia bellii* in the tick *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, n.1, p.285-290, 2006.
- 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.
- IGNATOVICH, V.F. Antigenic relations of *Rickettsia prowazekii* and *Rickettsia canada*, established in the study of sera of patients with Brill's disease. **Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology**, v.21, p.55-60, 1977.
- KAHLON, A.; OJOGUN, N.; RAGLAND, S.A.; SEIDMAN, D.; TROESE, M.J.; OTTENS, A.K.; MASTRONUNZIO, J.E.; TRUCHAN, H.K.; WALKER, N.J.; BORJESSON, D.L.; FIKRIG, E.; CARLYON, J.A. *Anaplasma phagocytophilum* Asp14 is an invasion that interacts with mammalian host cells via its C terminus to facilitate infection. **Infection and Immunity**, v.81, n.1, p.65-79, 2013.
- KARPATY, S.E.; SLATER, K.S.; GOLDSMITH, C.S.; NICHOLSON, W.L.; PADDOCK, C.D. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia* associated with multiple species of *Amblyomma* ticks in North, Central and South America. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.66, p.5236-5243, 2016.
- KRAWCZAK, F.S.; BINDER, L.C.; OLIVEIRA, C.S.; COSTA, F.B.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; SPONCHIADO, J.; MELO, G.L.; GREGORI, F.; POLO, G.; OLIVEIRA, S.V.; LABRUNA, M.B. Ecology of a tick-borne spotted fever in southern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.70, n.2, p.219-229, 2016.
- KUO, C.C.; SHU, P.Y.; MU, J.J.; WANG, H.C. High prevalence of *Rickettsia* spp. infections in small mammals in Taiwan. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v.12, n.1 p.13-20, 2015.
- LA SCOLA, B.; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, p.2715-2727, 1997.
- LABRUNA, M.B. Biológica-ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: 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.

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, n. 2, p.169-174, 2005.

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

LABRUNA, M.B.; PACHECO, R.C.; NAVA, S.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; GUGLIELMONE, A.A. Infection by *Rickettsia bellii* and *Candidatus 'Rickettsia amblyommii'* in *Amblyomma neumannii* ticks from Argentina. **Microbial Ecology**, v.54, p.126–133, 2007b.

LABRUNA, M.B. Ecology of Rickettsia in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1166, p.156-166, 2009.

LABRUNA, M.B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C. Rocky Mountain spotted fever in dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 3, p. 458-460, 2009.

LABRUNA, M.B., MATTAR, S., NAVA, S., BERMUDEZ, S., VENZAL, J.M., DOLZ, G.; ABARCA, K.; ROMERO, L.; SOUSA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO, J. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, v.16, n.2, p.2435-2457, 2011.

LABRUNA, M.B.; SANTOS, F.C.; OGRZEWALSKA, M.; NASCIMENTO, E.M.; COLOMBO, S.; MARCILI, A.; ANGERAMI, R.N. Genetic identification of rickettsial isolates from fatal cases of Brazilian spotted fever and comparison with *Rickettsia rickettsii* isolates from the American continents. **Journal of Clinical Microbiology**, n.52, v.10, p.3788-3791, 2014.

LANE, R.S.; EMMONS, R.W.; DONDERO, D.V.; NELSON, B.C. Ecology of tick-borne agents in California. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.30, p.239-52, 1981.

LAVINA, M.S.; SOUZA, A.P.; SOUZA, J.C.; BELLATO, V.; SARTOR, A.A.; MOURA, A.B. Occurrence of *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *A. ovale* (Kock, 1844) (Acari: Ixodidae) parasitizing *Alouatta clamitans* Cabrera, 1940 (Primates: Atelidae) in the north of Santa Catarina state, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.63, n.1, p.266-269, 2011.

LEMOS, E.R.S.; ROZENTAL, T.; VILLELA, C.L. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, n.5, p.2002.

LEMOS, E.R.S. Investigação sobre as rickettsioses: diagnósticos e avanços, In: **Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas américas**. Ouro Preto, p. 53, 2004.

LEMOS, E.R.S. Rickettsioses. In: COURA JR. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2013.

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.

MACHADO, I.B.; BITENCOURTH, K.; CARDOSO, K.M.; OLIVEIRA, S.V.; SANTALUCIA, M.; MARQUES, S.F.F.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G.S. Diversity of rickettsiae and potential vectors of spotted fever in an area of epidemiological interest in the Cerrado biome, midwestern Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v.32, n.4, p.481-489, 2018.

MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DOLIN, R. **Principles and practices of infectious diseases**. New York: Churchill Livingstone, 1995.

MARTINS, T.F.; ARRAIS, R.C.; ROCHA, F.L.; SANTOS, J.P., MAY JÚNIOR, J. A., AZEVEDO, F.C.; PAULA, R.C.; MORATO, R.G.; RODRIGUES, F.H.G.; LABRUNA, M.B. Carrapatos (Acari: Ixodidae) em mamíferos silvestres do Parque Nacional da Serra da Canastra e arredores, Minas Gerais, Brasil. **Ciência Rural**, v.45, n.2, p.288-291, 2015.

MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.R.; COSTA, F.B.; TERASSINI, F.A.; CAMARGO, L.M.; PETERKA, C.R.; PACHECO, R.C.; DIAS, R.A.; NUNES, P.H.; MARCILI, A.; SCOFIELD, A.; CAMPOS, A.K.; HORTA, M.C.; GUILLOUX, A.G.; BENATTI, H.R.; RAMIREZ, D.G., BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (sensu lato) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (sensu stricto). **Parasites & Vectors**, v.9, n.1, p.186, 2016.

MASTERS, E.J.; OLSON, G.S.; WEINER, S.J.; PADDOCK, C.D. Rocky Mountain spotted fever: a clinician's dilemma. **Archives of Internal Medicine**, v.163, p.769-774, 2003.

MASTROPAOLO, M.; TARRAGONA, E.L.; SILAGHI, C.; PFISTER, K.; THIEL, C.; NAVA, S. High prevalence of '*Candidatus Rickettsia amblyommii*' in *Amblyomma* ticks from a spotted fever endemic region in north Argentina. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.46, p.73–76, 2016.

MATSUURA, H.; YOKOTA, K. Case Report: Family Cluster of Japanese Spotted Fever. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v.98, n.3, p.835-837, 2018.

MAURIN, M.; RAOULT, D.; YU, V.; WEBER, R.; RAOULT, D. *Rickettsia typhi* (murine typhus). **Antimicrobial Therapy and Vaccines**, p.907-911, 2002.

MAXEY, E.E. Some observations on the so-called spotted fever of Idaho. **SentinelMed**, v.7, p.433-438, 1899.

MCFARLANE, R.; SLEIGH, A.; MCMICHAEL, T. Synanthropy of wild mammals as a determinant of emerging infectious diseases in the Asian–Australasian Region. **EcoHealth**, v.9, p.24–35, 2012.

- 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.
- MCKIEL, Y.A.; BELL, E.J.; LACKMAN, D.B. *Rickettsia canada*: a new member of the typhus group of rickettsiae isolated from *Haemaphysalis leporispalustris* ticks in Canada. **Canadian Journal of Microbiology**, v.13, n.5, p.503–510, 1967.
- MEDINA A.; GUEVARA, E.; ALCANTARA, V.; GARZA, C.; HUNT, F.; DAVIS, J.; GONZALEZ, R.; BOUYER, D.; WALKER, D. Isolation of *Rickettsia amblyommii* and seroprevalence of rickettsia in the state of Veracruz, Mexico. **In 21st Meeting of the American Society for Rickettsiology**, Abstract #132. Colorado Springs, CO, 2007.
- MEIRA, A.M.; COOPER, M.; FERRAZ, K.M.P.M.B.; MONTI, J.A.; CARAMÉZ, R.B.; DELITTI, W.B.C. (org.). Febre maculosa: dinâmica da doença, hospedeiros e vetores. **Escola Superior de Agricultura 'Luiz de Queiroz'**, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2013; 176 pp
- MELLES, H.H.B.; COLOMBO, S.; LEMOS, E.R.S. Isolation of *Rickettsia* in vero cell culture. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.32, n.5, 1999.
- MELO, G.L.; SPONCHIADO, J. 2012. **Distribuição geográfica dos marsupiais do Brasil**. In: Cáceres, N.C. (Ed.) Os Marsupiais do Brasil: biologia, ecologia e conservação. Ed. UFMS. 2a Ed., 93-110 pp.
- 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**, v.30, n.1, p.112-116, 2016.
- MILAGRES, B.S.; PADILHA, A.F.; BARCELOS, R.M.; GOMES, G.G.; MONTANDON, C.E.; PENA, D.C.; NIERI-BASTOS, F.A.; SILVEIRA, I.; PACHECO, R.; LABRUNA, M.B.; BOUYER, D.H.; FREITAS, R.N.; WALKER, D.H.; MAFRA, C.L.; GALVÃO, M.A. *Rickettsia* em sinantrópicos e animais domésticos e seus hospedeiros de duas áreas de baixa endemicidade para a brasileira manchado febre na região leste de Minas Gerais, Brasil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.83, n.6, p.1305-1307, 2010.
- MINERVINO, A.H.; LIMA, J.T.; SOARES, H.S.; MALHEIROS, A.F.; MARCILI, A.; KRAWCZAK, F.; LOPES, M.G.; MARTINS, T.F.; MOREIRA, T.R.; RIBEIRO, M.F.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M. Seroprevalence of Tick-Borne Pathogens and Tick Infestation in Dogs from Tapirapé and Karajá Indigenous Communities, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v.15, n.7, p.412-418, 2015.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018. Situação epidemiológica da Febre Maculosa. Disponível em: <<http://portalm.s.saude.gov.br/saude-de-a-z/febre-maculosa/situacao-epidemiologica>>. Acesso em: 12 mar 2018.
- MIRANDA, J.; CONTRERAS, V.; NEGRETE, Y.; LABRUNA, M.B.; MÁTTAR, S. Vigilancia de la Infección por *Rickettsia* sp. en Capibaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) Un Modelo Potencial de Alerta Epidemiológica en Zonas Endémicas. **Biomédica**, v.31, n.2, p.216-21, 2011.

- MIRANDA, J.; MATTAR, S. Molecular detection of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia* sp. strain Colombianensi in ticks from Cordoba, Colombia. **Ticks and Tick-Born Diseases**, v.5, n.2, p.208-212, 2014.
- MOERBECK, L.M.; VIZZONI, V.F.; MACHADO-FERREIRA, E.; CAVALCANTE, R.C.; OLIVEIRA, S.V.; SOARES, C.A.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G.S. *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) vector biodiversity in high altitude Atlantic Forest fragments within a semiarid climate: a new endemic area of spotted fever in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.53, n.6, p.1458-1466, 2016.
- MOKRANI, K.; FOURNIER, P.E.; DALICHAOUICHE, M.; TEBBAL, S.; AOUATI, A.; RAOULT, D. Reemerging threat of epidemic typhus in Algeria. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, p.3898-3900, 2004.
- MOKRANI, K.; TEBBAL, S.; RAOULT, D.; FOURNIER, P.E. Human rickettsioses in the Batna area, eastern Algeria. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.3, p.364-366, 2012.
- MONCAYO, A.C.; COHEN, S.B.; FRITZEN, C.M.; HUANG, E.; YABSLEY, M.J.; FREYE, J.D.; DUNLAP, B.G.; HUANG, J.; MEAD, D.G.; JONES, T.F.; DUNN, J.R. Absence of *Rickettsia rickettsii* and occurrence of other spotted fever group rickettsiae in ticks from Tennessee. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.83, n.3, p.653-657, 2010.
- MONTEIRO, K.J.L.; ROZENTHAL, T.; LEMOS, E.R.S.D. Diagnóstico diferencial entre a febre maculosa brasileira e ao dengue no contexto das doenças febris agudas. **Revista de Patologia Tropical**, v.43, n.3, p.241-250, 2014.
- MONTENEGRO, D.C.; BITENCOURTH, K.; DE OLIVEIRA, S.V.; BORSOI, A.P.; CARDOSO, K. M.; SOUSA, M.S.; GIORDANO-DIAS, C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N.M.; GAZÊTA, G.S.; BRAZIL, R.P. Spotted fever: epidemiology and vector-rickettsia-host relationship in Rio de Janeiro state. **Frontiers in Microbiology**, v.8, p.505, 2017.
- 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.
- MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária*, v.15, n.1, p.38-45, 2017.
- MORARU, G.M.; GODDARD, J.; MURPHY, A.; LINK, D.; BELANT J.L.; VARELA-STOKES A. Evidence of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in small mammals and quail from Mississippi. *Vector. Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, v.13, n.1, p.1-5, 2013.
- MOURA-MARTINIANO, N.O.; MACHADO-FERREIRA, E.; CARDOSO, K.M.; GEHRKE, F.S.; AMORIM, M.; FOGAÇA, A.C.; SOARES, C.A.; GAZÊTA, G.S.; SCHUMAKER, T.T. *Rickettsia* and vector biodiversity of spotted fever focus, Atlantic Rain Forest Biome, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.20, n.3, p.498, 2014.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M.B.; CÁCERES, A.G.; MANGOLD, A.J.; GUGLIELMONE, A.A. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.5, n.3, p.252-276, 2014.

NIANG, M.; BROUQUI, P.; RAOULT, D. Epidemic typhus imported from Algeria. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.5, n.5, p. 716-718, 1999.

NIERI-BASTOS, F.A.; LOPES, M.G.; CANÇADO, P.H.D.; ROSSA, G.A.R.; FACCINI, J.L.H.; GENNARI, S.M. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, p.259-261, 2014.

NOGUERAS, M.M.; CARDEÑOSA, N.; SANFELIU, I.; MUÑOZ, T.; FONT, B.; SEGURA, F. Serological evidence of infection with *Rickettsia typhi* and *Rickettsia felis* among the human population of Catalonia, in the northeast of Spain. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.74, p.123-126, 2006.

NUNES, E.D.C.; VIZZONI, V.F.; NAVARRO, D.L.; IANI, F.C.D.M.; DURÃES, L.S.; DAEMON, E.; SOARES C.A.; GAZETA, G.S. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.10, n.8, p.1058-1061, 2015.

OGATA, H.; SCOLA, B.L.; AUDIC, S.; RENESTO, P.; BLANC, G.; P, BLANC G, ROBERT, C.; FOURNIER, P.E.; CLAVERIE, J.M.; RAOULT, D. Genome sequence of *Rickettsia bellii* illuminates the role of amoebae in gene exchanges between intracellular pathogens. **PLoS Genetics**, v.2, n.5, p.733-744. 2006.

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.

OLIVEIRA, S.V.; CALDAS, E.P.D.; COLOMBO, S.; GAZETA, G.S.; LABRUNA, M.B.; SANTOS, F.C.P.D.; ANGERAMI, R.N. A fatal case of Brazilian spotted fever in a non-endemic area in Brazil: the importance of having health professionals who understand the disease and its areas of transmission. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.49, n.5, p.653-655, 2016a.

OLIVEIRA, S.V.; GUIMARÃES, J.N.; RECKZIEGEL, G.C.; NEVES, B.M.; ARAÚJO-VILGES, K.M.; FONSECA, L.X.; PINNA, F.V.; PEREIRA, S.V.; DE CALDAS, E.P.; GAZETA, G.S.; GURGEL-GONÇALVES, R. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.22, n.1, p.22, 2016b.

OLIVEIRA, S.V.; WILLEMANN, M.C.A.; GAZETA, G.S.; ANGERAMI, R.N.; GURGEL-GONÇALVES, R. Predictive Factors for Fatal Tick-Borne Spotted Fever in Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v.64, e44-e50, 2017.

OLIVEIRA, S.V.; COSTA, R.M.F.; FERREIRA, G.; PEREIRA, S.V.C.; AMORIM, M.; MONTEIRO, M.F.M.; ALVES, L.C.; GAZETA, G. S. Fatal case of spotted fever in a patient from Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, 2018.

PADDOCK, C.D.; GREER, P.W.; FEREBEE, T.L.; SINGLETON, J.R.J.; MCKECHNIE DB, 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, 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.; 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.; PADDOCK, C.D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.18, n.4, p.719-756, 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, p.185-188, 2007.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSCHI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T. ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, p.657-702, 2013.

PEREIRA, H.G.; TRAVASSOS, J.; VASCONCELOS, J.V. Tifo murino no Rio de Janeiro. I. Ocorrência de ratos naturalmente infectados. **Hospital**, v.35, p.679-687, 1949.

PEREIRA, J.S.; MARTINS, T.F.; MUÑOZ-LEAL, S.; LOPES, M.G.; LABRUNA, M.B.; DE PAIVA, K.A.; OLIVEIRA, M.F.; AHID, S. M. Infestation by ticks Argasidae and Ixodidae on small wild mammals at the Experimental Station Rafael Fernandes, Mossoró/RN, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n.7, p.741-748, 2017.

PINTER, A.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B. Serosurvey for *Rickettsia* spp. in dogs and humans from a Brazilian spotted

fever endemic area in the state of São Paulo. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24, n.2, p.247-252, 2008.

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.

PINTO, D.M.; AGUIAR, C.L.G.; VILLARREAL, P.V.; BECKER, M.; TAVARES, N.C.; MARTINS, N.S. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: Ixodidae) parasitando gato-maracajá (*Leopardus wiedii*) (Schinz, 1821), em Uruguaiiana, Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.39, n.3, p.397-399, 2017.

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 Impressora Paulista, São Paulo p.11-119, 1932.

QUADROS, R.M.; MARQUES, S.M.T.; VERONEZI, W.R.; JÚNIOR, J.A.C. *Amblyomma aureolatum* (PALLAS, 1772) parasitando capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) na região do planalto catarinense-relato de caso. **Science and Animal Health**, v.3, n.2, p.151-158, 2015.

QUINTERO, J.C.; LONDOÑO, A.F.; DÍAZ, F.J.; AGUDELO-FLÓREZ, P.; ARBOLEDA, M.; RODAS, J.D. Ecoepidemiología de la infección por rickettsias en roedores, ectoparásitos y humanos en el Noroeste de Antioquia, Colombia. **Biomédica**, v.33, n.1, p.38-51, 2013.

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

REEVES, W.K.; MURRAY, K.O.; MEYER, T.E.; BULL, L.M.; PASCUA, R.F.; HOLMES, K.C.; LOFTIS, A.D. Serological evidence of typhus group rickettsia in a homeless population in Houston, Texas. **Journal of Vector Ecology**, v.33, n.1, p.205-207, 2008.

REIS, N.R.; SHIBATTA, O.A.; PERACHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. (2006) **Sobre os Mamíferos do Brasil**. In: REIS, N.R.; PERACHI, A.L.; PEDRO, W.A.; LIMA, I.P. (eds) Mamíferos do Brasil. Edifurb, Londrina, pp 17–26.

RENVOISÉ, A.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D. Old and new tick-borne rickettsioses. **International Health**, v.1, p.17-25, 2009.

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

RILEY, S.P.; CARDWELL, M.M.; CHAN, Y.G.; PRUNEAU, L.; DEL PIERO, F.; MARTINEZ, J.J. Failure of a heterologous recombinant Sca5/OmpB protein-based vaccine to elicit effective protective immunity against *Rickettsia rickettsii* infections in C3H/HeN mice. **Pathogens and Disease**, v.73, n.9, 2015.

RIVAS, J. J.; MOREIRA-SOTO, A.; ALVARADO, G.; TAYLOR, L.; CALDERÓN-ARGUEDAS, O.; HUN, L.; CORRALES-AGUILAR, E.; MORALES, J.A.; TROYO, A. Pathogenic potential of a Costa Rican strain of '*Candidatus* Rickettsia

amblyommii' in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and protective immunity against *Rickettsia rickettsii*. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.6, n.6, p.805-811, 2015.

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.

ROUX, V.; RYDKINA, E.; EREMEEVA, M.; RAOULT, D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v.47, n.2, p.252–261, 1997.

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.

SAHNI, S.K.; RYDKINA, E. Host-cell interactions with pathogenic *Rickettsia* species. **Future Microbiology**, n.4, p.323-339, 2009.

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.

SARAIVA, D.G.; NIERI-BASTOS, F.A.; HORTA, M.C.; SOARES, H.S.; NICOLA, P.A.; PEREIRA, L.C.; LABRUNA, N.B. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma auricularium* ticks in Pernambuco, northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission, and transstadial perpetuation. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v.13, n.9, p.615-618, 2013.

SCHULZE, M.H.; KELLER, C.; MÜLLER, A.; ZIEGLER, U.; LANGEN, H.J.; HEGASY, G.; STICH, A. *Rickettsia typhi* Infection with Interstitial Pneumonia in a Traveler Treated with Moxifloxacin. **Journal of Clinical Microbiology**, v.49, p.741-743, 2011.

SEBASTIAN, P.S.; TARRAGONA, E.L.; BOTTERO, M.N.S.; MANGOLD, A.J.; MACKENSTEDT, U.; NAVA, S. Bacteria of the genera *Ehrlichia* and *Rickettsia* in ticks of the family Ixodidae with medical importance in Argentina. **Experimental and Applied Acarology**, v.71, n.1, p.87-96, 2017.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE / MS. **Guia de Vigilância Epidemiológica**, Caderno 12, 7 ed., 2010. Disponível em: <<http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/guia-de-ve-febre-maculosa-brasileira-7ed-2010.pdf>>. Acesso em: 16 mar de 2018.

SEIJO, A.; GIAMPERETTI, S.; ORTIZ MAYOR, S. M.; GONZÁLEZ, M.B.; ORTEGA, E.S.; GONZÁLEZ, R.C. Fiebre manchada grave por *Rickettsia rickettsii* en turista en el Noroeste Argentino. **Medicina (Buenos Aires)**, v.76, n.5, p.317-320, 2016.

SEKEYOVA, Z.; ROUX, V.; RAOULT, D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v.51, p.1353–1360, 2001.

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.; WALKER, 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 Medicine and Hygiene**, v.49, n.2, p.222-226, 1993.

SILVA, L.J.; PAPAIOORDANOU, P.M. Murine (endemic) typhus in Brazil: case report and review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.46, n.5, p.283-285, 2004.

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.

SILVA, B.R.D.; GARCIA, M.V.; RODRIGUES, V.D.S.; ANDREOTTI, R.; DITTRICH, R.L. Ixodidae fauna of domestic dogs in Parana, southern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, n. AHEAD, p. 0-0, 2017.

SILVA, A.B.; CARDOSO, K.M.; DE OLIVEIRA, S.V.; COSTA, R.M.F.; OLIVEIRA, G.; AMORIM, M.; ALVES, L.C.; MONTEIRO, M.F.M.; GAZETA, G.S. *Rickettsia amblyommatis* infecting *Amblyomma pseudoconcolor* in area of new focus of spotted fever in northeast Brazil. **Acta Tropica**, v. 182, p. 305-308, 2018.

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.

SOSA-GUTIERREZ, C.G.; VARGAS-SANDOVAL, M.; TORRES, J.; GORDILLO-PÉREZ, G. Tick-borne rickettsial pathogens in questing ticks, removed from humans and animals in Mexico. **Journal of Veterinary Science**, v.17, n.3, p.353-360, 2016.

ŠPITALSKÁ, E.; BOLDIŠ V.; MOŠANSKÝ L.; SPARAGANO O.; STANKO M. *Rickettsia* Species in Fleas Collected from Small Mammals in Slovakia. **Parasitology Research**, v.114, n.11, p.4333-4339, 2015.

SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z.; MORAES-FILHO, J.; ZAGO, A.M.; DONATELE, D.M.; PINHEIRO, S.R.; SILVEIRA, I.; CALIARI, K.M.; YOSHINARI, N.H. Survey for Tick-Borne Zoonoses in State of Espírito Santo, Southeastern Brazil. **American Journal Tropical Medicine and Hygiene**, v.83, n.1, p.201-206, 2010a.

SPOLIDORIO, M.G.; LABRUNA, M.B.; MANTOVAN, E.I.; BRANDÃO, P.E.; RICHTZENHAIN, L.J.; YOSHINARI, N.H. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases journal – CDC**, v.16, p.521-523, 2010b.

STRAILY, A.; FELDPAUSCH, A.; ULBRICH, C.; SCHELL, K.; CASILLAS, S.; ZAKI, S.R.; DENISON, A.M.; CONDIT, M.; GABEL, J.; PADDOCK, C.D. Notes from the Field: *Rickettsia parkeri* rickettsiosis - Georgia, 2012–2014. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, n.28, p.718-719 2016.

SUMRANDEE, C.; HIRUNKANOKPUN, S.; DOORNBOS, K.; KITTHAWEE, S.; BAIMAI, V.; GRUBHOFFER, L.; TRINACHARTVANIT, W.; AHANTARIG, A. Molecular Detection of *Rickettsia* Species in *Amblyomma* Ticks Collected from Snakes in Thailand. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.5, n.6, p.632-640, 2014.

SZABÓ, M.P.J.; NIERI-BASTOS, F.A.; SPOLIDORIO, M.G.; MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia*, the causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology**, v.140, n.6, p.719-728, 2013.

SZABÓ, M.P.J.; MARTINS, M.M.; DE CASTRO, M.B.; PACHECO, R.C.; TOLESANO-PASCOLI, G.V.; DOS SANTOS, K.T.; MARTINS, T.F.; DE SOUZA, L.G.A.; MAY-JUNIOR, J.A.; YOKOSAWA, J.; LABRUNA, M.B. Ticks (Acari: Ixodidae) in the Serra da Canastra National Park in Minas Gerais, Brazil: species, abundance, ecological and seasonal aspects with notes on rickettsial infection. **Experimental and Applied Acarology**, v. 76, n. 3, p. 381-397, 2018.

TAKESHITA, N.; IMOTO, K.; ANDO, S.; YANAGISAWA, K.; OHJI, G.; KATO, Y.; SAKATA, A.; HOSOKAWA, N.; KISHIMOTO, T. Murine typhus in two travelers returning from Bali, Indonesia: an underdiagnosed disease. **Journal of Travel Medicine**, v.17, p.356-358, 2010.

TARASEVICH, I.; RYDKINA, E.; RAOULT, D. Outbreak of epidemic typhus in Russia. **Lancet**, v.352, n.9134, p.1151, 1998.

THORNER, A.R.; WALKER, D.H.; PETRI JR, W.A. Rocky Mountain spotted fever. **Clinical Infectious Diseases**, v.27, 1353-1360, 1998.

TINOCO-GRACIA, L.; LOMELÍ, M.R.; HORI-OSHIMA, S.; STEPHENSON, N.; FOLEY, J. Molecular Confirmation of Rocky Mountain Spotted Fever Epidemic Agent in Mexicali, Mexico. **Emerging Infectious Diseases**, v. 24, n. 9, p. 1723, 2018.

TIRIBA, A.C. Geografia médica das riquetsioses. In: Lacaz CS, Baruzzi RG, Siqueira Jr W, editores. **Introdução à geografia médica do Brasil**. São Paulo: Edgard Blücher/Edusp, p. 388-97, 1972.

TOMASSONE, L.; NUÑEZ, P.; CEBALLOS, L.A.; GÜRTLER, R.E.; KITRON, U.; FARBER, M. "Detection of "*Candidatus Rickettsia* sp. strain Argentina" and *Rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina." **Experimental and Applied Acarology**, v.52, p.93-100, 2010.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia**. São Paulo: Atheneu; 2004.

VÉLEZ, 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.

VOIZZONI, V.F., SILVA, A.B., CARDOSO, K.M.; SANTOS, F.B.; STENZEL, B.; AMORIM, M.; OLIVEIRA, S.V.; GAZETA, G.S. Genetic identification of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in an endemic area of a mild spotted fever in southern Brazil. **Acta Tropica**, v.162, p.142-145, 2016.

VOLOCH, C.M.; VILELA, J.F.; LOSS-OLIVEIRA, L.; SCHRAGO, C.G. Phylogeny and chronology of the major lineages of New World hystricognath rodents: insights on the biogeography of the Eocene/Oligocene arrival of mammals in South America. **BMC Research Notes**, v.6, n.1, p.160, 2013.

WALKER, D.H. Rocky Mountain spotted fever: a disease in need of microbiological concern. **Clinical Microbiology Reviews**, v.2, p.227-240, 1989.

WALKER, D.H.; ISMAIL, N. Emerging and re-emerging rickettsioses: endothelial cell infection and early disease events. **Nature Reviews Microbiology**, v.6, n.5, p.375-386, 2008.

WALKER, D.H.; VALBUENA, G.A.; OLANO, J.P. Pathogenic mechanisms of diseases caused by *Rickettsia*. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.990, p.1-11, 2003.

WALTER, G.; BOTELHO-NEVERS, E.; SOCOLOVSCHI, C.; RAOULT, D.; PAROLI, P. Murine typhus in returned travelers: a report of thirty-two cases. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.86, p.1049-1053, 2012.

WECK, B.; DALL'AGNOL, B.; SOUZA, U.; WEBSTER, A.; STENZEL, B.; KLAFKE, G.; MARTINS, J.R.; RECK, J. Spotted fever group *Rickettsia* in the Pampa biome, Brazil, 2015–2016. **Emerging infectious diseases**, v.22, n.11, p.2014, 2016.

WEISS, E.; MOULDER, J.W. **The Rickettsias and Chlamydias**. In: KREIG, N.R.; HOLT, J.G. 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.

WHITEFORD, S.F.; TAYLOR, J.P.; DUMLER, J.S. Clinical, laboratory, and epidemiologic features of murine typhus in 97 Texas children. **Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine**, v.155, p.396-400, 2001.

WHO. World Health Organisation. Laboratory diagnosis of Rickettsial diseases. **Bulletin of the World Health Organization**, v.66, p.283-420, 1988.

WOODS, M.E.; OLANO, J.P. Host defenses to *Rickettsia rickettsii* infection contribute to increase microvascular permeability in human cerebral endothelial cells. **Journal of Clinical Immunology**, v.28, n.2, p.174-185, 2008.

ZERINGÓTA, V.; MATURANO, R.; LUZ, H. R.; SENRA, T.O.S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H.; MCINTOSH, D. Molecular detection of *Rickettsia rhipicephali* and other spotted fever group *Rickettsia* species in *Amblyomma* ticks infesting wild birds in the state of Minas Gerais, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.8, n.1, p.81-89, 2017.

ZIMMERMAN, M.D.; MURDOCH, D.R.; ROZMAJZL, P.J.; BASNYAT, B.; WOODS, C.W.; RICHARDS, A.L.; BELBASE, R.H.; HAMMER, D.A.; ANDERSON, T.P.; RELLER, L.B. Murine typhus and febrile illness, Nepal. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v.14, p.1656–1659, 2008.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Detectar e caracterizar molecularmente *Rickettsias* do grupo da Febre Maculosa em humanos, animais na interface silvestre/urbana e ixodídeos procedentes do estado de Pernambuco.

4.2 Objetivos Específicos

- Detectar DNA de *Rickettsia* spp. em roedores silvestres e marsupiais através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR);
- Avaliar as implicações epidemiológicas dos achados obtidos neste estudo;
- Avaliar a infecção rickettsial de carrapatos coletados durante a investigação do foco de febre maculosa no estado de Pernambuco;
- Descrever o primeiro caso fatal de febre maculosa no Nordeste do Brasil.

CAPÍTULO I

DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM ROEDORES E MARSUPIAIS SINANTRÓPICOS EM DIFERENTES MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO

DETECÇÃO DE *Rickettsia* spp. EM ROEDORES E MARSUPIAIS SINANTRÓPICOS EM DIFERENTES MESORREGIÕES DO ESTADO DE PERNAMBUCO

Resumo

As riquetsias do grupo da febre maculosa são consideradas patógenos zoonóticos emergentes e reemergentes. No entanto, a prevalência e diversidade de espécies de rickettsias em pequenos mamíferos e o papel desses hospedeiros na circulação de bactérias são pouco estudados. Desta forma, considerando o potencial zoonótico de espécies do gênero *Rickettsia* e a importância de roedores e marsupiais silvestres na transmissão e disseminação da doença no país, o presente estudo teve como objetivo detectar *Rickettsia* spp. em roedores e marsupiais sinantrópicos em diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco. Para tanto foram analisadas pela Reação em Cadeia da Polimerase amostras sanguíneas de 97 roedores (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Trichomys* spp. e *Cavea aperea*) e 34 marsupiais (*Didelphis albiventris*) dos quais foi coletado sangue por via intracardíaca. O resultado da análise molecular revelou 6,18% de positividade para os roedores, sendo Recife (1,03%), Camaragibe (1,03%), Itamaracá (2,06%) e Izacolândia (2,06%). Entretanto, não foram detectados presença de DNA de *Rickettsia* spp. em nenhum dos marsupiais estudados. Os dados obtidos neste estudo sugerem que pequenos mamíferos, pode desempenhar um papel importante na manutenção, circulação e disseminação de riquetsias dentro e fora dos focos naturais.

Palavras-chaves: Febre Maculosa, riquetsiose, pequenos mamíferos, zoonose parasitária, Pernambuco.

Abstract

Spotted fever group are considered emerging and reemerging zoonotic pathogens. However, the prevalence and diversity of rickettsial species in small mammals and the role of these hosts in the circulation of bacteria are poorly studied. Thus, considering the zoonotic potential of species of the genus *Rickettsia* and the importance of rodents and marsupials in the transmission and dissemination of this disease, the present study aimed was detect *Rickettsia* spp. in synanthropics rodents and marsupials in mesoregions of Pernambuco state. For this purpose, blood samples was collected from 97 rodents (*Rattus norvegicus*, *Rattus rattus*, *Trichomys* spp. and *Cavea aperea*) and 34 marsupials (*Didelphis albiventris*) were analyzed by the Polymerase Chain Reaction. The results of the molecular analysis revealed a 6.18% positive for rodents, with different prevalence rates in Recife (1.03%), Camaragibe (1.03%), Itamaracá (2.06%) and Izacolândia (2.06%). However, no presence of *Rickettsia* spp. was detectes in marsupials. The data obtained in this study suggest that small mammals can play an important role in maintaining, circulating and disseminating rickettsia inside and outside of the natural focus.

Key words: Spotted Fever, rickettsiosis, small mammals, parasitic zoonosis, Pernambuco.

1. INTRODUÇÃO

As riquetsias são bactérias causadoras de doenças transmitidas por artrópodes e estão entre os patógenos zoonóticos mais importantes em todo o mundo (GILLESPIE et al., 2009; BLANTON et al., 2015), sendo relatadas principalmente na América do Sul e América do Norte (JIANG et al., 2010; SZABÓ et al., 2013).

As principais espécies de riquetsia que são transmitidas por carrapatos do gênero *Amblyomma* à mamíferos silvestres são as pertencentes ao Grupo Febre Maculosa, podendo destacar *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia amblyommii*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia bellii* e *Rickettsia rhipicephali* (HORTA et al., 2011; MEDEIROS et al., 2011; SZABÓ et al., 2013; NUNES et al., 2015).

Dentre os mamíferos silvestres importantes na Febre Maculosa Brasileira destacam-se as capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*, Linneaus, 1766) que possuem um importante papel na cadeia epidemiológica por serem hospedeiros do principal vetor da bactéria (SOUZA; CALLE; CAMARGO, 2004).

Além disso, os pequenos mamíferos silvestres também são considerados reservatórios e amplificadores de riquetsias por serem hospedeiros primários na biologia parasitária dos carrapatos (MORARU et al., 2013). Dentre eles, destacam-se os roedores e marsupiais. Sabe-se que ambos possuem fácil adaptação ambiental, em condições climáticas adversas, como seca prolongada, ou com aumento da ação antrópica sobre o ambiente silvestre (SANTOS-FILHO; DA SILVA; SANAIOTTI, 2008; FACURE; RAMOS, 2011).

Com isso tornam-se vulneráveis as infestações por carrapatos infectados por riquetsias, provocando múltiplas infecções nos roedores e marsupiais, mantendo assim o ciclo destes agentes na natureza (FREITAS, 2012; SARAIVA et al., 2013).

Contudo, não há registros de infecções por *Rickettsia* em roedores e marsupiais no estado de Pernambuco. Desta forma, considerando o potencial zoonótico de espécies do gênero *Rickettsia* e a importância de roedores e marsupiais silvestres na transmissão e disseminação da doença, o presente estudo teve como objetivo detectar *Rickettsia* spp. em roedores e marsupiais sinantrópicos em diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo e coleta de roedores e marsupiais

Foram capturados roedores sinantrópicos e marsupiais de diferentes idades, ambos os sexos em áreas urbanas e periurbanas de diferentes mesorregiões (Região Metropolitana do Recife, Zona da Mata, Agreste e Sertão) do estado de Pernambuco (8° 4' 14" S, 37° 15'57" O), Nordeste do Brasil.

Inicialmente para captura dos roedores e marsupiais foram utilizadas armadilhas do tipo Tomahawk Live Trap (20 armadilhas por noite) montadas em locais próximos às habitações e na periferia das matas. Para a atração desses animais, foram utilizadas iscas com mistura de pasta de amendoim, banana, sardinha e farinha de trigo (ARAÚJO, 2009). As armadilhas foram dispostas ao entardecer e recolhidas ao amanhecer do dia seguinte à captura. A amostragem foi por conveniência não probabilística, capturando o maior número possível de roedores silvestres e marsupiais.

O manejo dos animais foi realizado no local da captura, evitando assim o transporte a exposição de animais portadores de agentes infecciosos para o laboratório. Durante todo o procedimento, foram adotados Equipamentos de Proteção Individual (EPIs) proporcionando proteção aos manipuladores.

Procurando minimizar o estresse deste procedimento nos animais, foi realizada contenção química. Nos roedores, foi aplicada por via intraperitoneal, uma associação de cetamina (22 a 40mg) e xilazina (1mg/Kg), após confirmação do efeito anestésico. Posterior ao exame físico foram realizadas coletas de 2mL de sangue por via intracardíaca. Nos marsupiais a contenção química foi realizada através da aplicação por via intramuscular de uma associação de cloridrato de cetamina (8mg/Kg) e o cloridrato de xilzina (0,8 mg/Kg), e após a confirmação do efeito anestésico, foi procedido o exame físico, sendo preenchida uma ficha específica de identificação para cada animal. E assim, foram realizadas as coletas de 2mL de sangue por via intracardíaca. Ao término do manejo, aguardou-se o retorno completo da sedação e posteriormente liberação à vida livre, no mesmo local onde foram capturados.

Os roedores capturados foram identificados através de chaves dicotômicas baseados em características externas descritas no Guia de Roedores do Brasil (BONVICINO; OLIVEIRA; D'ANDREA, 2008; NEVES; MANCINI FILHO; MENEZES, 2013).

O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) – UFRPE licenças de nº 103/2015 e nº127/2015 e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO), sob o número: 50.588-1.

2.2 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).

3. RESULTADOS

Foram capturados um total de 97 roedores e 34 marsupiais, sendo 63,91% (62/97) roedores sinantrópicos comensais e 36,08% (35/97) roedores sinantrópicos não comensais (Tabela 1).

Tabela 1: Espécies de roedores e marsupiais capturados por municípios.

| Localidade | <i>Rattus rattus</i> | <i>Rattus norvegicus</i> | <i>Mus musculus</i> | <i>Thrichomys</i> sp. | <i>Cavia aperea</i> | <i>Didelphis albiventris</i> |
|---------------------|----------------------|--------------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|------------------------------|
| Recife | 4 | 22 | - | 2 | - | - |
| Olinda | - | 11 | - | - | - | - |
| Camaragibe | - | 7 | 3 | - | - | 10 |
| Itamaracá | 4 | 2 | - | - | - | 12 |
| Vitória de S. Antão | 2 | - | - | - | - | - |
| Barreiros | 7 | - | - | - | - | - |
| Gravatá | - | - | - | 4 | - | - |

| | | | | | | |
|-------------|----|----|---|----|----|----|
| Bodocó | - | - | - | - | - | 9 |
| Petrolândia | - | - | - | 18 | 11 | 3 |
| Total | 17 | 42 | 3 | 24 | 11 | 34 |

Das amostras analisadas 6,18 % (6/97), foram positivas para *Rickettsia* spp. nos municípios Recife (1,03%), Camaragibe (1,03%), Itamaracá (2,06%) e Izacolândia (2,06%) para roedores. Entretanto, não foram detectados presença de DNA de *Rickettsia* spp. em nenhum dos marsupiais estudados. Durante as capturas dos roedores e marsupiais, não foram observados ectoparasitos nestes animais.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo registra pela primeira vez a ocorrência de *Rickettsia* spp. em roedores silvestres e sinantrópicos no Brasil através da Reação em Cadeia da Polimerase.

A positividade geral aqui observada 6,18% (6/97) foram superiores as pesquisas sobre a presença detecção de DNA de *Rickettsia* em roedores europeus, em estudos na Alemanha (SCHEX et al., 2011), onde foi detectado de DNA de *Rickettsia* spp. em 5,2% dos roedores estudados.

Entretanto, outros estudos detectaram uma maior prevalência na Áustria 7,3% (SCHMIDT et al, 2014) e Eslováquia 9,44% (MIŤKOVÁ et al., 2015). Na Eslováquia, Heglasová et al. (2018) registraram 11% das amostras positivas para *Rickettsia* spp. em pequenos mamíferos silvestres. Sendo a espécie *Rickettsia helvetica* a mais prevalente, seguida por *Rickettsia* spp. intimamente relacionada com *Rickettsia felis* e *Rickettsia slovaca*. Gajda et al. (2017) detectaram na Polônia uma prevalência de infecção por *Rickettsia* spp. em 17,6% das amostras testadas e após sequenciamento observou-se a espécie *R. helvetica* e *R. felis* em roedores silvestres.

Os trabalhos no território brasileiro em relação a presença de *Rickettsia* spp. em roedores e marsupiais tem sido diagnosticado através da soroprevalência. Dentre os testes sorológicos a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) tem sido considerada o método sorológico de referência (BROUQUI et al., 2004). No entanto, a RIFI não permite a identificação da espécie de *Rickettsia* envolvida na infecção, uma vez que as rickettsias do Grupo da Febre Maculosa apresentam reação sorológica cruzada entre si (PHILIP et al., 1978). Isto ocorre devido à presença de epítomos

semelhantes em diferentes espécies do gênero *Rickettsia* (SAITO et al., 2008). Além disso, a detecção de FMB pode ser realizada através de outros testes laboratoriais, incluindo os métodos moleculares (BRASIL, 2017).

Neste estudo todas as amostras analisadas através da reação em cadeia da polimerase nos marsupiais foram negativas, resultado este que corrobora com os de De Souza et al. (2018) onde nenhum dos marsupiais mostraram sororeatividade para nenhum dos três antígenos rickettsiais empregados (DE SOUSA et al., 2018)

Entretanto, Milagres et al. (2010) em Minas Gerais, observou DNA de *Rickettsia* spp. em 1,2% das amostras obtidas de ectoparasitos, esfregaços anais e sangue de animais capturados. A análise da sequência mostrou que todas as amostras positivas tinham 100% de identidade com a bactéria *R. felis*.

Sabe-se que espécies de *Rickettsia* já foram detectadas em ectoparasitos em diversos lugares do Brasil como, Piauí (NIERI-BASTOS et al., 2014), Paraíba (LUGARINI, et al., 2015), Pernambuco (HORTA et al., 2015), Bahia (MCINTOSH et al., 2015), Mato Grosso do Sul (MELO et al., 2016), São Paulo (SPOLIDORIO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2015), e Rio Grande do Sul (SANGIONI et al., 2011).

A confirmação de *Rickettsia* spp. em roedores no presente estudo indica que esses pequenos mamíferos podem agir como hospedeiros ou reservatórios das riquetsias. Apesar de não ter sido observados ectoparasitos no momento da captura desses animais, sua implicação na circulação de múltiplos microorganismos vetores, é altamente possível. Como observado por Meerburg et al. (2009) afirmando que roedores são conhecidos por agirem como hospedeiros ou reservatórios de numerosos patógenos.

O período de coleta dos animais foi entre os meses de setembro, outubro e novembro, quando a umidade do ar se encontra abaixo de 70% e para a incubação dos ovos e sobrevivência das larvas, faz-se necessária uma umidade de 70% ou maior pois abaixo desse nível, a perda de água resulta em dessecação e morte dos estágios de carrapatos (PANDA; ANSARI; SASHAI, 1992). Além disso, durante esses meses, as temperaturas começam a se elevar, não proporcionando um ambiente ideal para fêmeas ingurgitadas sobreviverem e fazerem a oviposição (SOUZA; FURLONG; NASCIMENTO, 2001).

Entretanto o papel do reservatório, os animais silvestres, incluindo roedores, no ciclo de vida das riquetsias ainda não está claro (GAJDA et al., 2017). De acordo com pesquisas, esses pequenos mamíferos também são suspeitos de serem reservatórios

de riquetsia, podendo também serem hospedeiros ou amplificadores acidentais, como na espécie *Rickettsia rickettsii* (PAROLA et al., 2013; RIZZOLI et al., 2014).

5. CONCLUSÃO

A investigação de populações de pequenos mamíferos para a presença de *Rickettsia* spp. patógenos podem ajudar a melhorar o conhecimento sobre a ocorrência, circulação e disseminação do patógeno. Os dados obtidos neste estudo sugerem que pequenos mamíferos, principalmente algumas espécies predominantes (por exemplo, *R. novergicus*, *R. rattus*, *Trichomys* spp. e *C. aperea*), pode desempenhar um papel mais importante na manutenção, circulação e disseminação de riquetsias dentro e fora dos focos naturais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, E.O. Helmintofauna de *Rattus rattus* de ambientes urbano e rural no sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pelotas**, 2009.
- 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.
- BONVICINO, C.R.; OLIVEIRA, J.A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa; OPAS/OMS, 2008. 120p.
- BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de vigilância em saúde: volume único. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde**; 2017. Disponível em: <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>> Acesso em: 12 de outubro de 2018.
- BROUQUI, P.; BACELLAR, F.; BARANTON, G.; BIRTLES, R.J.; BJOERSDORFF, A.; BLANCO, J.R.; CARUSO, G.; CINCO, M.; FOURNIER, P.E.; FRANCAVILLA, E.; JENSENIUS, M.; KAZAR, J.; LAFER, H.; LAKOS, A.; LOTRIC FURLAN, S.; MAURIN, M.; OTEO, J.A.; PAROLA, P.; WILSKÉ, B. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v.10, p.1108-1132, 2004.
- DE SOUSA, K.C.M.; HERRERA, H.M.; ROCHA, F.L.; COSTA, F.B.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M.R. *Rickettsia* spp. among wild mammals and their respective ectoparasites in Pantanal wetland, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.9, n.1, p.10-17, 2018.
- FACURE, K.G.; RAMOS, V.N. Food Habits of the Thick-Tailed Opossum *Lutreolina Crassicaudata* (Didelphimorphia, Didelphidae) in Two Urban Areas of Southeastern Brazil. **Mammalian Biology**, v.76, n.2, p.234-236, 2011.

- FREITAS, A.M. **Mamíferos no nordeste Brasileiro: Espécies Continentais**. Pelotas: USEB, 2012. 133p.
- GAJDA, E.; HILDEBRAND, J.; SPRONG, H.; BUŃKOWSKA-GAWLIK, K.; PEREC-MATYSIAK, A.; COIPAN, E.C. Spotted fever rickettsiae in wild-living rodents from south-western Poland. **Parasites & Vectors**, v.10, n.1, p.413, 2017.
- GILLESPIE, J.J.; AMMERMAN, N.C.; BEIER-SEXTON, M.; SOBRAL, B.S.; AZAD, A.F. Louse- and flea-borne rickettsioses: biological and genomic analyses. **Veterinary Research**, v.40, n.2, p.12, 2009.
- HEGLASOVÁ, I.; VÍCHOVÁ, B.; KRALJIK, J.; MOŠANSKÝ, L.; MIKLISOVÁ, D.; STANKO, M. Molecular evidence and diversity of the spotted-fever group *Rickettsia* spp. in small mammals from natural, suburban and urban areas of Eastern Slovakia. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.9, n.6, p.1400-1406, 2018.
- HORTA, M.C.; NASCIMENTO, G.F.D.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B.; MACHADO, L.C.; NICOLA, P.A. Ticks (Acari: Ixodida) Parasitizing Free-Living Wild Animals in the Caatinga Biome in the State of Pernambuco, Northeastern Brazil. **Systematic & Applied Acarology**, v.16, n.3, p.207-211, 2011.
- 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.
- JIANG J.; YARINA T.; MILLER M.K.; STROMDAHL E.Y.; RICHARDS A.L. Molecular Detection of *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma americanum* parasitizing humans. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.10, n.4, p.329-340, 2010.
- 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 Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.1, p.90-98, 2004.
- 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, 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.
- MEDEIROS, A.P.; SOUZA, A.P.D.; MOURA, A.B.D.; 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.
- MEERBURG, B.G.; SINGLETON, G.R.; KIJLSTRA, A. Doenças transmitidas por roedores e seus riscos para a saúde pública. **Critical Reviews in Microbiology**, v.35, n.3, p.221-270, 2009

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**, v.30, n.1, p.112-116, 2016.

MILAGRES, B.S.; PADILHA, A.F.; BARCELOS, R.M.; GOMES, G.G.; MONTANDON, C.E.; PENA, D.C.; BOUYER, D.H. Rickettsia in synanthropic and domestic animals and their hosts from two areas of low endemicity for Brazilian spotted fever in the eastern region of Minas Gerais, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.83, n.6, p.1305-1307, 2010.

MIŤKOVÁ, K.; BERTHOVÁ, L.; KALÚZ, S.; KAZIMÍROVÁ, M.; BURDOVÁ, L.; KOCIANOVÁ, E. First detection of *Rickettsia helvetica* and *R. monacensis* in ectoparasitic mites (Laelapidae and Trombiculidae) infesting rodents in southwestern Slovakia. **Parasitology Research**, v.114, n.7, p.2465-2472, 2015.

MORARU, G.M.; GODDARD, J.; MURPHY, A.; LINK, D.; BELANT J.L.; VARELA-STOKES A. Evidence of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in small mammals and quail from Mississippi. Vector. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.13, n.1, p.1-5, 2013.

NEVES, S.M.P.; MANCINI FILHO, J.; MENEZES, E.W. **Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP**. São Paulo: FCF-IQ/USP, 2013. 216p.

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.

NUNES, E.D.C.; VIZZONI, V.F.; NAVARRO, D.L.; IANI, F.C.D.M.; DURÃES, L.S.; DAEMON, E.; SOARES, C.A.G.; GAZETA, G.S. *Rickettsia amblyommii* Infecting *Amblyomma sculptum* in Endemic Spotted Fever Area from Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.110, n.8, p.1058-1061, 2015.

PANDA, D.N.; ANSARI, M.Z.; SASHAI, B.N. Studies on the development and survival periods of the non-parasitic stages of *Boophilus microplus* (Canestrini), in the climatic conditions of Ranchi (India). **Veterinary Parasitology**, v.44, p.275-283, 1992.

PAROLA, P.; PADDOCK, C.D.; SOCOLOVSCHI, C.; LABRUNA, M.B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M.Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P.E.; RAOULT, D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 657-702, 2013.

PHILIP, R.N.; CASPER, E.A.; BURGDORFER, W.; GERLOFF, R.K.; HUGHES, L.E.; BELL, E.J. Serologic typing of rickettsiae of the spotted fever group by microimmunofluorescence. **The Journal of Immunology**, v.121, n.5, p.1961-1968, 1978.

RIZZOLI, A.; SILAGHI, C.; OBIEGALA, A.; RUDOLF, I.; HUBÁLEK, Z.; FÖLDVÁRI, G.; PLANTARD, O.; VAYSSIER-TAUSSAT, M.; BONNET, S.; ŠPITALSKÁ, E.;

KAZIMÍROVÁ, M. *Ixodes ricinus* and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: New hazards and relevance for public health. **Frontiers in Public Health**, v.2, p.251, 2014.

SAITO, T.B.; CUNHA-FILHO, N.A.; PACHECO, R.C. FERREIRA, F. PAPPEN, F.G.; FARIAS, N.A.; LARSON, C.E.; LABRUNA, M.B. Canine infection by *Rickettsiae* and *Ehrlichiae* in Southern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.79, n.1, p.102-108, 2008.

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-FILHO, M.; DA SILVA, D.J.; SANAIOTTI, T.M. Variação sazonal na riqueza e na abundância de pequenos mamíferos, na estrutura da floresta e na disponibilidade de artrópodes em fragmentos florestais no Mato Grosso, Brasil. **Biota Neotropica**, v.8, n.1, p.115-121, 2008

SARAIVA, D.G.; 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.13, n.10, p.1-4, 2013.

SCHEX, S.; DOBLER, G.; RIEHM, J.; MÜLLER, J.; ESSBAUER, S. *Rickettsia* spp. in wild small mammals in Lower Bavaria, South-Eastern Germany. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.11, n.5, p.493-502, 2011.

SCHMIDT, S.; ESSBAUER, S.S.; MAYER-SCHOLL, A.; POPPERT, S.; SCHMIDT-CHANASIT, J.; KLEMPA, B.; HENNING, K.; SCHARES, G.; GOSCHUP, M.H.; SPITZENBERGER, F.; RICHER, D.; HECKEL, G.; ULRICH, R.G. Multiple infections of rodents with zoonotic pathogens in Austria. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v.14, n.7, p.467-475, 2014.

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, A.C.C.; FURLONG, J.; NASCIMENTO, C.B. Comportamento e ecologia de fêmeas ingurgitadas do carrapato *Boophilus microplus* em pastagem de *Brachiaria decumbens* no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.38, n.4, p.188-191, 2001.

SOUZA, C.E.; CALLE, S.B.; CAMARGO, M.C.G.O. O papel da capivara na cadeia Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, n.1, p. 203-204, 2004.

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.

SZABÓ, M.P.J.; NIERI-BASTOS, F.A.; SPOLIDORIO, M.G.; MARTINS, T.F.; BARBIERI, A.M.; LABRUNA, M.B. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest *Rickettsia* the

causative agent of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. **Parasitology** v.140, n.6, p.719-728, 2013.

CAPÍTULO II

***Rickettsia amblyommatis* INFECTING *Amblyomma pseudoconcolor* IN AREA
OF NEW FOCUS OF SPOTTED FEVER IN NORTHEAST BRAZIL**
[Artigo publicado na revista Acta tropica, v.182, p. 305-308, 2018]

***Rickettsia amblyommatis* INFECTING *Amblyomma pseudoconcolor* IN AREA OF NEW FOCUS OF SPOTTED FEVER IN NORTHEAST BRAZIL**

Arannadia Barbosa Silva^{1,2,3*}, Karen Medeiros Cardoso^{1*}, Stefan Vilges de Oliveira⁴, Raylene Medeiros Ferreira Costa⁵, Geane Oliveira⁵, Marinete Amorim¹, Leucio Câmara Alves⁶, Maria Fernanda Melo Monteiro⁷, Gilberto Salles Gazeta^{1**}

¹Fundação Oswaldo Cruz/ Instituto Oswaldo Cruz/ (FIOCRUZ/IOC), Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses (LIRN), Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

²Universidade CEUMA – UNICEUMA, Imperatriz, MA, Brazil.

³Faculdade Vale do Aço – FAVALE, Açailândia, MA, Brazil.

⁴Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brazil.

⁵Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

⁶Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

⁷Programa de Pós Graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

*ABS and KMC contributed equally to this work.

**Corresponding author. E-mail: gsgazeta@ioc.fiocruz.br, Fundação Oswaldo Cruz/ Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ/IOC), Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses (LIRN), Av. Brasil, 4365. CEP 21040-900. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Abstract

In Brazil, active infections of *Rickettsia* spp. is confirmed in all regions, involving various species of ticks. During investigation of a new focus of Spotted Fever (SF) incidence in the state of Pernambuco, northeastern Brazil, tick species *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille), and *Amblyomma pseudoconcolor* were collected from one *Canis familiaris* and four *Euphractus sexcinctus*, respectively, and analyzed for the presence of rickettsial genes. Ten *A. pseudoconcolor* ticks (90.9%) were found to be infected with *Rickettsia*, whereas no evidence of *Rickettsia* spp. was found in *R. sanguineus* s. l. Genetic analysis based of five rickettsial genes showed that the detected strain is most closely related to *Rickettsia amblyommatis* (formerly *Candidatus Rickettsia amblyommii*). *R. amblyommatis* was, for the first time, detected

in *Amblyomma pseudoconcolor* and the results pointed to this tick like a potential vector in the enzootic cycle of *R. amblyommatis* in a typical semiarid Brazilian savannah region. In conclusion, despite the need for further studies to confirm if *R. amblyommatis* was responsible for the observed case in the state of Pernambuco, the presence of this bacterium during an SF focussed investigation should be a major concern in terms of public health due the capacity of SF for rapid and extensive dispersion within Brazilian territory.

Keywords: *Rickettsia amblyommatis*, *Amblyomma pseudoconcolor*, spotted fever, case investigation

1. INTRODUCTION

Rickettsia are obligate intracellular bacteria and their transmission to humans by ticks, causing Spotted Fever (SF), is known from around of the world. In Brazil, two pathogenic species of the Spotted Fever Group (SFG) are currently known to be responsible for causing disease in humans (Oliveira et al. 2016a). The most important pathogen, *Rickettsia rickettsii*, agent of Brazilian Spotted Fever (BSF), has been implicated in all fatal cases of SF, and is concentrated in the Southeast region, an area which includes anthropized areas of the Cerrado and Atlantic rainforest biomes (Labruna et al. 2011, Oliveira et al. 2016a). However, in recent years, this bioagent has been found in areas outside the original area from which it was known (Almeida et al. 2013, Oliveira et al. 2016b, Silva et al. 2017a).

The other pathogenic rickettsia, *Rickettsia parkeri* strain Atlantic rainforest, causes a milder disease, being reported from areas of Atlantic rainforest biome with lower levels of anthropization, in South, Southeast and Northeast regions of the country (Spolidorio et al. 2010, Silva et al. 2011, Krawczak et al. 2016, Vizzoni et al 2016).

However, some cases of SF recorded in Brazil show clinical profiles that differ from those already known, the bioagent responsible for the transmission remains unconfirmed, and the epidemic or enzootic cycle is uncharacterized (Oliveira et al. 2016a,c, Oliveira et al. 2017). In addition, during recent decades, other pathogenic species (Labruna et al. 2011, Parola et al. 2013, Weck et al. 2016) or species that are potentially so (Labruna et al. 2011, Parola et al. 2013, Nieri-Bastos et al. 2014, Nunes

et al. 2015, Moerbeek et al. 2016, Silva et al. 2017b) have been reported in Brazil, but without confirmed SF case association.

Spotted fever incidence requires compulsory and immediate notification be given to the Ministry of Health (MH) (Ministério da Saúde 2016). Health surveillance services monitor the occurrence of cases and infection environments, seeking to achieve reductions in morbidity and mortality (Oliveira et al.2015, Oliveira et al. 2016a). SF has generally been considered largely absent from the Northeast region of Brazil with few confirmed cases in the states of Bahia and Ceará, all with mild clinical symptoms and occurring in Atlantic forest fragments (Silva et al. 2011, Oliveira et al. 2016a,c.). However, in the end of 2015, the first SF case was detected in the state of Pernambuco, in the semi-arid region (Oliveira et al. 2016c), and after reporting the case to MH, investigations were conducted at probable infection sites. Allied to this event, the present study evaluated the rickettsial infection of ticks collected during this SF focus investigation in the state of Pernambuco.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Tick Collection

In December 2015, during investigation of an SF case in a rural area of Sertãoa municipality, Pernambuco State, Brazil. Dogs, horses, armadillos, sheeps and goats were examined for the presence of ticks. In total, 23 adult *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (12 males and 11 females) and 20 *Amblyomma pseudoconcolor* males, were collected from one *Canis familiaris* and four *Euphractus sexcinctus*, respectively. The ticks were taxonomically identified using keys in Aragão and Fonseca (1961), and Barros-Battesti et al. (2006).

2.2 DNA extraction and PCR reactions

Eleven *A. pseudoconcolor* and 11 *R. sanguineus* (6 males and 5 females) were submitted to DNA extraction as described elsewhere (Aljanabi and Martinez 1997; method with NaCl). *Rickettsia* infected samples were identified by PCR screening using the primers CS-78/CS-323 and Rr.190.70p/ Rr.190.602n, targeting the *gltA* and *ompA* genes, respectively (Regnery et al. 1991, Labruna et al. 2004b). Some positive samples were subjected to novel PCR reactions using the primers 17k-3/17k-5,120.M59/120.807 and D1738f/D2482r for the rickettsial genes *htrA* (17kDa), *ompB*,

and *geneD* (*sca4*), respectively (Roux and Raoult 2000, Sekeyova et al. 2001, Labruna et al. 2004b).

2.3 DNA sequencing

PCR products were purified using Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System kit (Promega, Madison, WI) according to manufacturer's instructions. Purified PCR products were sequenced using an automated ABI 3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems®, Foster City, CA, USA), following the protocol given by Otto et al. (2008). Sequence edition was performed with Lasergene software packages (DNASTAR, Madison, WI).

2.4 Phylogenetic analysis

To perform phylogenetic analysis, the neighbor-joining method (Tamura et al. 2011) was applied with Kimura two-parameter as the correction model (Kimura 1980), with bootstrap values obtained from 1000 randomly generated trees. Sequences generated in this study were deposited in GenBank with accession numbers MG674585-MG674594. For LIC7790A (MG674585, MG674587, MG674589, MG674591, and MG674593) and LIC7790B (MG674586, MG674588, MG674590, MG674592, and MG674594) for *htrA*, *gltA*, *ompA*, *ompB*, and *geneD* genes, respectively. Specimens not tested by PCR were deposited at the Coleção de Artrópodes Vetores Ápteros de Importância em Saúde das Comunidades, Rio de Janeiro-RJ (CAVAISC/FIOCRUZ), for further analysis.

3. RESULTS

Using *gltA* and *ompA* as rickettsial PCR targets, ten *A. pseudoconcolor* ticks (90.9%) were found to be infected with *Rickettsia* species whereas no evidence of *Rickettsia* spp. was found in *R. sanguineus* s. l. To confirm the identity of the rickettsiae, two rickettsia-positive ticks were selected and assayed with PCR and sequencing of rickettsial *gltA* gene (392 nt) and *ompA* gene (504-511 nt). They showed concordances of 100% and 99%, respectively, with *Candidatus* *Rickettsia amblyommii* str. Ac37 (CP012420) and *Rickettsia amblyommatis* isolate An13 (CP015012). In addition, to confirm the identity of the rickettsia e, sequences of *htrA* gene (409-426 nt), *ompB* gene (815-820 nt), and *sca4* gene (720-737 nt), obtained from two ticks most

closely resembled (99%) *Candidatus Rickettsia amblyommii* str. Ac37 (CP012420) and *Rickettsia amblyommatis* isolate An13 (CP015012).

One phylogenetic inference was obtained with a concatenated sequence of *gltA*, *htrA*, *ompA*, *ompB*, and *sca4* genes, showing that the identified strains were closely related to *R. amblyommatis* (Fig. 1). Another phylogenetic tree was obtained with a concatenated sequence of *gltA* and *ompA*, sequences obtained in the present study and with sequences of *Candidatus Rickettsia amblyommii* from Brazil, Central America and South America, deposited in Genbank (Supplementary Figure).

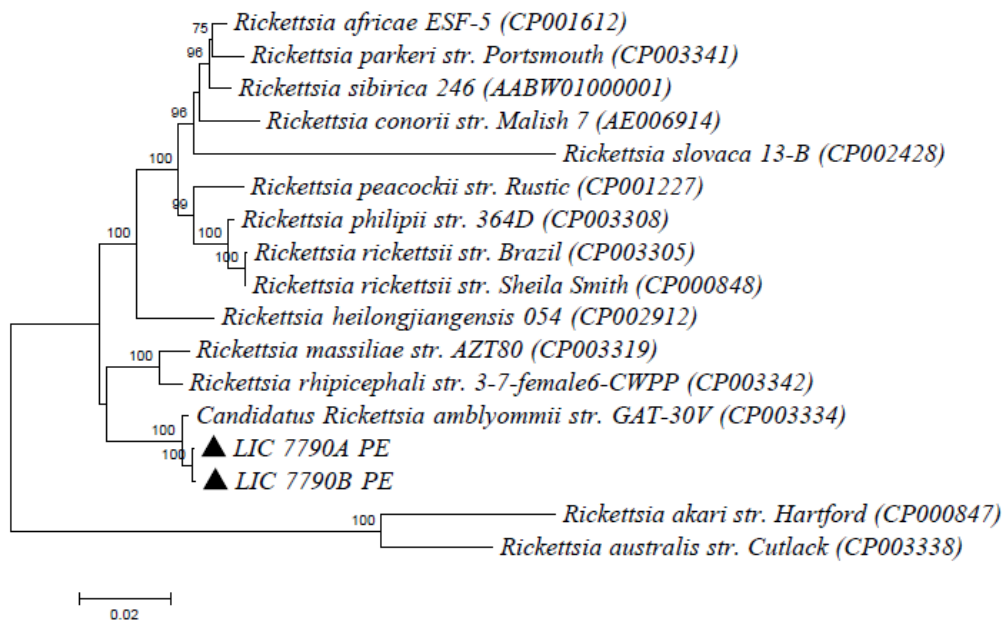


Figure 1. Phylogenetic tree of concatenated rickettsiae *gltA*, *htrA*, *ompA*, *ompB*, and *sca4* genes constructed by the neighbor-joining method, using 2-Kimura-parameters evolutionary model with MEGA 5.2 software. Bootstrap values below 70% were not shown. The black triangle indicates sequences obtained in the current study, as a result of molecular analyzes carried out on an *Rickettsia* spp. found infecting a *Amblyomma pseudoconcolor* ticks removed from an *Euphractus sexcinctus* in a rural area of Sertânea municipality, Pernambuco State, Brazil.

4. DISCUSSION

In the northeastern region of Brazil, previously detected SF cases have a mild clinical symptoms, and are concentrated in areas of the Atlantic forest biome (Silva et al. 2011, Oliveira et al. 2016a). However, Sertânea municipality, Pernambuco, is

located in the Caatinga biome (Borsato et al. 2015), in a typical semiarid or Brazilian savannah region, with high temperatures and low humidity (Castelleti et al. 2003). Under such conditions, the development of the tick life cycle depends on the presence of very specific environments, where they can find favorable conditions suitable for feeding and reproduction. Consequently, the probable site of infection is a rural property, where the patient kept a few animals in the surrounding area, most of animals did not have ticks. Only one dog and all armadillos (n=4) (the latter kept in captivity for food), were parasitized. The patient, an adult man, had frequent contact with these vertebrates and their ectoparasites. As SF was not initially a clinical suspect, a detailed and adequate study of the case did not occur in this context. However, molecular biology assays using biological samples from patient allowed the detection of fragments of genes for the *Rickettsia* of the SFG, though the specific confirmation of the *Rickettsia* was not made (Oliveira et al. 2018).

Rickettsia amblyommatis (= *Candidatus Rickettsia amblyommii*, Karpathy et al. 2016) has been identified in Americas, in different species of ticks (Parola et al. 2013), and its potential pathogenicity has been reported (Apperson et al. 2008, Rivas et al. 2015). It can therefore be considered as a potential bioagent of asymptomatic infection or self-limiting disease (Fang et al. 2017). In Brazil, *R. amblyommatis* presence has already been reported in a variety of different biomes, vertebrates and ticks (Labruna et al. 2004a, Saraiva et al. 2013, Alves et al. 2014, Melo et al. 2016, Costa et al. 2017, Bitencourth et al. 2017), demonstrating its capacity for adaptation and dispersion within Brazil.

Brazilian species of the *Amblyomma cajennense* complex seem to be more frequently infected by *R. amblyommatis*. The regions where this is true include those where mild SF cases have been reported, without evidence of the bioagent involved, or in areas of BSF occurrence (Labruna et al. 2004a, Alves et al. 2014, Nunes et al. 2015, Oliveira et al. 2016a, Bitencourth et al. 2017). The presence of *R. amblyommatis* in SF areas in the USA was discussed by Apperson et al. (2008), who suggested that this species is causing diseases, but that without adequate characterization of the etiological agent, the disease is confused with *R. rickettsia*.

The current study reports, for the first time, *R. amblyommatis* infecting *A. pseudoconcolor*, a Neotropical tick known from a number of South American countries. Despite some reports of it parasitising wild and domestic/domesticated animals, *A.*

pseudoconcolor is most strongly associated with Xernatha, especially Dasypodidae (Botelho et al. 1989, Guglielmone et al. 2003).

There is only one report of human parasitism by *A. pseudoconcolor* and a record of its infection by Rickettsia (species of unknown pathogenicity) (Tomassone et al. 2010). Therefore, although the literature does not point to *A. pseudoconcolor* as a species of medical interest, our results suggests that this tick, and, probably their host, armadillos, can participate of the *R. amblyommatis* enzootic cycle in Brazilian savannah. This is confirmed for the tick *Amblyomma auricularium*, a species morphologically and biologically close to *A. pseudoconcolor*, with which it can share the same ecoepidemiological elements (Guglielmone et al. 2003, Dantas-Torres et al. 2010), from which *R. amblyommatis* was isolated and its transovarial and transestadial transmission was confirmed (Saraiva et al. 2013).

The confirmation of *R. amblyommatis* as a bioagent in SF cases is necessary, and should include study of SF cases involving the milder variety of this disease, as observed in the Cerrado biome (Bitencourth et al. 2017). Thus, further studies should be carried out in this focusing on SF in this region of northeastern Brazil, in order to determine seasonal rates of tick infection, frequency of parasitism, biological cycles of ticks and Rickettsia, and host-parasite relationships that determine the epidemic cycles. The service of epidemiological surveillance and medical assistance in Brazil that monitors SF cases in areas where *R. amblyommatis* has already been identified, should evaluate patients more carefully and undertake timely collection of biological material so that the responsible bioagent can be identified in human cases.

5. CONCLUSION

In conclusion, despite the need for further studies to confirm if *R. amblyommatis* was responsible for the reported case in the state of Pernambuco, the presence of this bacterium during the SF focus investigation should be of major concerns in terms of public health due to its capacity of dispersion within Brazilian territory. This is the first reports of *R. amblyommatis* infecting *A. pseudoconcolor*.

6. ACKNOWLEDGMENTS

To Dr. Adrian Barnet, English Zoologist, for providing a native English speaker revision of the manuscript. We would like to thank Plataforma Genômica Sequenciamento de DNA – RPT01A – PDTIS/FIOCRUZ for DNA sequences.

7. APPENDIX A. SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.03.005>.

8. REFERENCES

- Alves AS, Melo ALT, Amorim MV, Borges AMCM, Gaíva EL, Martins TF, et al. Seroprevalence of *Rickettsia* spp. in equids and molecular detection of ‘*Candidatus Rickettsia amblyommii*’ in *Amblyomma cajennense* sensu lato ticks from the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. *J Med Entomol* 2014; 51: 1242–7.
- Aljanabi SM, Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Res* 1997; 25: 4692-3.
- Almeida RFC, Garcia MV, Cunha RC, Matias J, Silva EA, Matos MFC. et al. Ixodid fauna and zoonotic agents in ticks from dogs: first report of *Rickettsia rickettsii* in *Rhipicephalus sanguineus* in the state of Mato Grosso do Sul, mid-western Brazil. *Exp Appl Acarol* 2013; 60: 63-72.
- Apperson CS, Engber B, Nicholson WL, Mead DG, Engel J, Yabsley MJ. et al. Tick borne diseases in North Carolina: is “*Rickettsia amblyommii*” a possible cause of rickettsiosis reported as Rocky Mountain spotted fever? *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8:597–606.
- Aragão HB, Fonseca F. Notas de ixodologia VIII: lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1961; 59: 115–30.
- Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara G.H. Carrapatos de importância médico veterinário da região Neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. *Modelos Biológicos*. São Paulo: Vox; ICTTD-3; Butantã, 2006. 223 p.
- Bitencourth K, Amorim M, Oliveira SV, Caetano RC, Voloc CM, Gazêta GS. *Amblyomma sculptum*: genetic diversity and rickettsias in the Brazilian Cerrado biome. *Med Vet Entomol*. 2017 [Epub ahead of print].
- Borsato R, Loyola R, Lemes P. Ecorregiões do Brasil: prioridades terrestres e marinhas. *Série Cadernos Técnicos – Volume III*. Curitiba: Instituto LIFE. 2015, 397pp.
- Botelho JR, Linardi PM, Encarnação CDD. Interrelationships between acari Ixodidae and Edentata hosts form Serra da Canastra, Minas Gerais State, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1989; 84: 61-4.
- Castelletti CHM, Santos AMM, Tabarelli M, and Silva JMC. Quanto ainda resta da caatinga? Uma estimativa preliminar, 2003, pp. 719–734. In Leal I, Tabarelli M, and Silva LMC. (eds.), *Ecologia e Conservação da Caatinga*. Recife, Editora Universitária da Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, PE.

- Costa FB, da Costa AP, Moraes-Filho J, Martins TF, Soares HS, Ramirez DG. et al. *Rickettsia amblyommatis* infecting ticks and exposure of domestic dogs to *Rickettsia* spp. in an Amazon-Cerrado transition region of northeastern Brazil. PLoS One 2017; 12:e0179163.
- Dantas-Torres F, Siqueira DB, Rameh-De-Albuquerque LC, Da Silva SD, Zanotti AP, Ferreira DR. et al. Ticks infesting wildlife species in Northeastern Brazil with new host and locality records. J Med Entomol 2010; 47: 1243-6.
- Fang R, Blanton LS, Walker DH. Rickettsiae as emerging infectious agents. Clin Lab Med 2017; 37: 383-400.
- Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Luciani CA, Mangold AJ, Keirans JE. "Hosts and distribution of *Amblyomma auricularium* and *Amblyomma pseudoconcolor* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae)." Exp Appl Acarol 2003; 29:131-9.
- Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol 1980; 16:111-20.
- Karpathy SE, Slater KS, Goldsmith CS, Nicholson WL, Paddock CD. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia* associated with multiple species of *Amblyomma* ticks in North, Central and South America. Int J Syst Evol Microbiol 2016; 66:5236-43.
- Krawczak FS, Munoz-Leal S, Guztazaky AC, Oliveira SV, Santos FC, Angerami RN, et al. *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest infection in a human patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. Am J Trop Med Hyg 2016; 95:551-3.
- Labruna MB, Mattar S, Nava S, Bermudez S, Venzal JM, Dolz G, et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. Rev. MVZ Córdoba 2011; 16: 2435–57.
- Labruna MB, Whitworth T, Bouyer DH, McBride JW, Camargo LMA, Camargo EP, et al. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the state of Rondônia, Western Amazon, Brazil. J Med Entomol 2004a; 41:1073-81.
- Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A. et al. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the State of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. J Clin Microbiol 2004b; 42: 90-8.
- Melo ALT, Witter R, Martins TF, Pacheco TA, Alves AS, Chitarra CS, et al. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. Med Vet Entomol 2016; 30: 112-6.
- Ministério da Saúde, Gabinete do Ministro. Portaria nº 204, de 17 de fevereiro de 2016: Define a lista nacional de notificação compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências. Available in: http://cosemsrs.org.br/imagens/portarias/por_t6h5.pdf. (accessed on 29 August 2016).
- Moerbeck L, Vizzoni VF, Machado-Ferreira E, Cavalcante RC, Oliveira SV, Soares CA, et al. *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) Vector Biodiversity in High Altitude

Atlantic Forest Fragments Within a Semiarid Climate: A New Endemic Area of Spotted-Fever in Brazil. *J Med Entomol* 2016; 53: 1458-66.

Nieri-Bastos FA, Lopes MG, Caçado PHD, Rossa GAR, Faccini JLH, Gennari SM. *Candidatus Rickettsia andeanae*, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014; 109: 259–61.

Nunes EDC, Vizzoni VF, Navarro DL, Iani FCDM, Durães LS, Daemon E. et al. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015; 110:1058-61.

Oliveira SV, Caldas EP, Colombo S, Gazeta GS, Labruna MB, Santos FCP. et al. A Fatal Case of Brazilian Spotted Fever in a Non-Endemic Area in Brazil: The importance of having health professionals understanding the disease and its areas of transmission. *Rev Soc Bras Med Trop* 2016b, 49: 653-5.

Oliveira SV; Costa RMF; Ferreira G; Pereira SVC; Amorim M; Monteiro MFM; Alves LC; Gazeta GS. Fatal case of spotted fever in a patient from Northeastern Brazil. *Ver Inst Med Trop S Paulo*. 2018. vol.60. [In press].

Oliveira SV, Guimarães JN, Reckziegel GC, Neves BMC, Araújo-Vilges KM, Fonseca LX, et al. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. *J. Venom. Anim and Toxins Incl Trop Dis* 2016a; 22:22.

Oliveira SV, Pereira SVC, Silva PMRB, Pereira JM, Gomes V, Amorim Marinete et al. Vigilância de ambientes da febre maculosa brasileira e outras riquetsioses: a etapa inicial de uma proposta para a formação de rede. *Rev Pan-Amaz Saude* 2015; 6: 67-71.

Oliveira SV, Pereira SVC, Voietta F, Fonseca L. Serra-Freire NM, Cardoso KM. et al. Vigilância de ambientes da febre maculosa: explorando as áreas silenciosas do Brasil. *Rev Pan Amaz Saúde* 2016c. 7:65-72.

Oliveira SV, Willemann MCA, Gazeta GS, Angerami RN, Gurgel-Goncalves R. Predictive Factors for Fatal Tick-Borne Spotted Fever in Brazil. *Zoonoses and Public Health* 2017; 64:e44-e50.

Otto TD, Vasconcellos EA, Gomes LHF, Moreira AS, Degraive WM, Mendonça-Lima LM. et al. ChromaPipe: a pipeline for analysis, quality control and management for a DNA sequencing facility. *Genet Mol Res* 2008; 7: 861–71.

Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T. et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev* 2013; 26: 657-702.

Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic identification of rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J Bacteriol* 1991; 173: 1576–89.

Rivas JJ, Moreira-Soto A, Alvarado G, Taylor L, Calderón-Arguedas O, Hun L et al. Pathogenic potential of a Costa Rican strain of ‘*Candidatus Rickettsia amblyommii*’ in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and protective immunity against *Rickettsia rickettsii*. *Ticks Tick-borne Dis* 2015; 6: 805–811.

Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (OmpB). *Int J Syst Evol Microbiol* 2000; 50: 1449–55.

Saraiva DG, Nieri-Bastos FA, Horta MC, Soares HS, Nicola PA, Pereira LC, et al. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma auricularium* ticks in Pernambuco, northeastern Brazil: isolation, transovarial transmission, and transstadial perpetuation. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2013; 13: 615-8.

Sekeyova Z, Roux V, Raoult D. Phylogenu of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'geneD', which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51:1353–60.

Silva AB, Duarte MM, Cavalcante RC, Oliveira SV, Vizzoni VF, Duré AIL. et al. *Rickettsia rickettsii* infecting *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille 1806), in high altitude atlantic forest fragments, Ceara State, Brazil. *Acta Trop* 2017a; 173:30–3.

Silva N, Eremeeva ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EAG, Favacho ARM et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2011, 17: 275-8.

Silva AB, Vizzoni VF, Costa AP, Costa FB, Moraes-Filho J, Labruna MB. et al. First report of a *Rickettsia asembonensis* related infecting fleas in Brazil. *Acta Trop* 2017b; 172:44-9.

Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovan EI, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2010; 16: 521-3.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28: 2731–9.

Tomassone L, Nuñez P, Ceballos LA, Gürtler RE, Kitron U, Farber M. "Detection of "*Candidatus Rickettsia* sp. strain Argentina" and *Rickettsia bellii* in *Amblyomma* ticks (Acari: Ixodidae) from Northern Argentina." *Exp App Acarol* 2010; 52: 93-100.

Vizzoni VF, Silva AB, Cardoso KM, Santos FB, Stenzel B, Amorim M, et al. Genetic identification of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in an endemic area of a mild spotted fever in Rio Grande do Sul State, Southern Brazil. *Acta Trop* 2016; 162: 142–5.

Weck B, Dall'Agnol B, Souza U, Webster A, Stenzel B, Klafke G. et al. Spotted Fever Group *Rickettsia* in the Pampa Biome, Brazil, 2015–2016. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 358 14-16.

CAPÍTULO III

**FATAL CASE OF SPOTTED FEVER IN A PATIENT FROM NORTHEASTERN
BRAZIL**

[Artigo publicado na Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v.60,
2018]

FATAL CASE OF SPOTTED FEVER IN A PATIENT FROM NORTHEASTERN BRAZIL

Stefan Vilges de Oliveira^{1,2}, Raylene Medeiros Ferreira Costa³, Geane Ferreira³, Simone Valéria Costa Pereira¹, Marinete Amorim², Maria Fernanda Melo Monteiro⁴, Leucio Câmara Alves⁴, Gilberto Salles Gazeta²

¹*Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, Distrito Federal, Brazil.*

²*Fundação Oswaldo Cruz, Laboratório de Referência Nacional para Vetores das Riquetsioses, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.*

³*Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.*

⁴*Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, Pernambuco, Brazil.*

Correspondence to: Stefan Vilges de Oliveira Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, SRTV 702, Via W 5 Norte, CEP 70723-040, Brasília, Distrito Federal, Brazil. E-mail: stefanbio@yahoo.com.br

Abstract

Spotted fevers are diseases caused by bacterial agents belonging to the spotted-fever (SF) group of the genus *Rickettsia*. The first documented case of SF in Pernambuco State, Northeast Brazil, was reported here. Also, it is the first case described of fatal SF in Northeast region of Brazil. The patient was a resident of Arcoverde municipality and the probable site of infection lies in Sertania municipality, both in Pernambuco State, a semi-arid region of Brazil. The patient had not visited other areas where SF is endemic. The patient showed clinical manifestations and epidemiological exposure compatible with SF, and the infection was confirmed by molecular biology techniques.

Keywords: *Rickettsia*, Differential diagnosis, Tick-borne diseases, Brazilian semi-arid, Caatinga biome.

1. INTRODUCTION

Spotted fever (SF) is an infectious, acute, febrile disease of varying severity, mainly transmitted by ticks^{1,2}. It has a non-specific symptomatology, during which early

clinical-epidemiological diagnosis is a great challenge³. The rash, considered the only clinical marker, is not always present, which delays diagnosis and hinders appropriate medical action⁴.

In Brazil, the occurrence of other diseases of epidemic nature and more incidents (with similar symptomatology) add to the diagnostic difficulty, since it is necessary to consider the occurrence of other acute febrile diseases during assessment of cases⁵.

SF is widespread, with the highest incidence rate in the South and Southeast⁶. Classically, severe cases were associated with *Rickettsia rickettsii*, which have been recorded in anthropized areas of the Cerrado and Atlantic Rainforest biomes. The lethality rate of *R. rickettsii* infection in Brazil exceeds 50%, and may even reach 100%⁷⁻¹⁰.

In the Atlantic Rainforest, SF is also caused by *Rickettsia* sp. Atlantic Rainforest strain, a species genetically close to *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia sibirica* and *Rickettsia africae*. In these area, both milder clinical forms were observed, having as common characteristics the presence of inoculation eschars (lesion at the tick attachment site) and lymphadenopathy^{2,11-17}. In the Northeast of Brazil, *Rickettsia* sp. Atlantic Rainforest strain has been recorded from fragments of Atlantic Rainforest in the States of Bahia and Ceara, though there were no reports of associated deaths^{6,15-17}. Here we described the first fatal case of spotted fever in the Northeast Brazil.

2. CASE PRESENTATION

A 78-year-old male patient with Alzheimer's disease, resident of Arcoverde municipality, State of Pernambuco, was admitted to hospital on November 14, 2015, with fever, oliguria and palmar and plantar rash. Symptom onset was reported to have begun approximately seven days before, accompanied by a progressive decline in general conditions. After admission, there was worsening of the clinical state, with tachypnea and decline in renal function. The patient was hospitalized, and management for pulmonary sepsis and renal dysfunction were initiated.

After 24 hours, a seizures occurred (there was no history of epilepsy). The patient was sedated (dormonid [midazolam] + fentanyl), intubated and transferred to the State referral hospital in Recife, Pernambuco (PE), where he was admitted to the intensive care unit. There, the following were observed: bilateral pleural effusion, leukocytosis with left upper shift; distended abdomen; Miotic pupils, GOT/AST - 188

U/L; GPT/ALT - 76 U/L; Total Bilirubin - 2.10 mg/dL, Direct - 2.00 mg/dL, Indirect - 0.10 mg/dL; CK MB - 12 U/L; CK Total - 438 U/L. The diagnostic hypotheses were severe viral meningoencephalitis; metabolic encephalopathy; acute respiratory failure or metabolic ileus. Treatment with intramuscular ceftriaxone and acyclovir was initiated.

On November 21st, 2015, the patient's condition got worsened, secretions were accumulating in the respiratory tract in moderate quantity. Teicoplanin was included in the treatment.

On November 24th, suspicion of rickettsiosis was raised as a result of the family information about the patient's routine visit to a rural property, located in Sertania municipality, State of Pernambuco, where he had direct and indirect contact with animals (dogs, horses, goats, armadillos, cows). Doxycycline treatment administered twice a day was initiated. The patient did not improve during treatment and died on January 16th, 2016.

A blood sample collected on November 24th, 2015 and kept at -20°C, was sent for analysis of *Rickettsia* sp. Using the Polymerase Chain Reaction (PCR). We used genespecific primers CS-78 (forward [5'-GCAAGTATCGGT GAGGATGTAAT-3']), CS-323 (reverse [5'-GCTTCCT TAAAATTCAATAAATCAGGAT'-3']) - which amplify a 401-bp fragment of the Citrate Synthase gene (*gltA*). Ultrapure milli-Q water was used, free of DNA, as the negative control, and *Rickettsia parkeri* genomic DNA as the positive control. PCR temperature conditions included an initial cycle at 95 °C for 3 min; 40 cycles of 15 s at 95 °C, 30 s at 48 °C and 30 s at 72 °C and one final cycle at 72 °C for 7 min^{18,19}.

The blood sample tested positive. However, the obtained sequence did not allow the construction of a phylogenogram to determine the identity of the detected rickettsia.

3. DISCUSSION

Although the indirect immunofluorescence test is considered the gold standard for SF diagnosis, there was initially no clinical suspicion. Thus, the sampling procedure did not follow the protocol established by the Brazilian Ministry of Health¹⁹ and, thus, it was not possible to evaluate the serological conversion by using paired samples collected with a minimum interval of 14 days. However, case confirmation can be made by other laboratory criteria, including molecular methods¹⁹. The performed molecular

assays detected a genomicspecific gene fragment, confirming the patient's infection by *Rickettsia* sp.

The absence of initial clinical and epidemiological indicators, coupled with the rapid evolution of SF, has resulted in rickettsial deaths in several Brazilian States^{3,5,6}. *Rickettsia rickettsii* shows the strongest pathological alterations associated with the most severe and lethal clinical conditions. The effects of this pathogenic mechanism result in localized inflammation and procoagulant processes, causing increased vascular permeability, edema, hypovolemia and hypotension with vascular insufficiency associated with the subsequent leukocyte mononuclear response of the host²⁰. However, even if the patient's clinical evolution is compatible with *R. rickettsii* infections¹⁹, existing data are insufficient to infer which rickettsia species was responsible for the infection. Also, it is not possible to evaluate whether the infection got worsened due to comorbidity/ patient's advanced age, or whether the use of different antimicrobials during treatment could have interfered in the disease progression, which had a morbidity period distinct from that known for *R. rickettsii*⁸.

During the epidemiological investigation of the case, it was considered that the patient had no history of travel to any area where SF is known to be endemic, and that the probable site of infection (PSI) (in Sertania municipality, PE) was the only environment frequented by the patient possessing favorable conditions for development of the rickettsial enzootic and epidemic cycle. The rural property, about 60 km from the patient's home, was frequently visited, primarily serving as a recreation area, as well as for the rearing of a few wild animals (armadillos), kept in captivity as a food source, and a variety of domestic animals (cows, goats etc.). An environmental investigation in the PSI, conducted during the patient's hospitalization period, did not detect any of the ticks known in Brazil for transmitting rickettsia².

This result indicates the possibility of a still unknown transmission scenario in the country. The SF foci closer to the Caatinga biome have been detected only in the State of Ceara so far. However, these areas were located in Atlantic forest fragments and, like other foci in Brazilian Atlantic forests, involved dogs, *Amblyomma ovale* ticks and *Rickettsia* sp. strain Atlantic Rainforest, and mild to moderate disease associated with inoculation swelling and lymphadenopathy^{15,17}. In contrast, both Sertania municipality and Arcoverde municipality (where the patient resided) lie within the Caatinga biome, in a typical area of the Brazilian semi-arid region²¹. This area lacks any previous known epidemiological context for SF establishment. *R. rickettsii* was

recently detected in *Rhipicephalus sanguineus* in areas of spotted fever transmission in Northeastern Brazil²², indicating the presence of this tick in areas where the ecoepidemiological profile is still unknown. However, this tick has a wide geographic distribution and is responsible for SF transmission in other parts of the world¹. This potential vector was found during the PSI investigation, but a PCR for *Rickettsia* was negative for the analyzed samples²³.

Considering that this is the first SF case in this region, to confirm identification of the transmission site and increase the robustness of the existing laboratory results, blood collection of contact people, area residents and animals (dogs and horses), as well as a seasonal monitoring of vector fauna, could reinforce the identity of the probable site of infection and support characterization of this new transmission scenario.

4. CONCLUSIONS

The first SF case is reported from Pernambuco State, in the Brazilian semiarid area, Caatinga biome, as the first death in the Northeast of Brazil associated with *Rickettsia* sp.

5. ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the team from the Zoonosis Surveillance Technical Unit, the technical group for rodent-related diseases from the Brazilian Ministry of Health, and the team for epidemiological and environmental surveillance of Pernambuco. We also thank Adrian Paul Ashton Barnett for the English review and comments to manuscript.

6. AUTHORS' CONTRIBUTIONS

SVO and GSG participated in the study planning; MFM and LCA were responsible for the molecular diagnosis. RMFC, GF, SVCP and MA were involved in discussion of results and the drafting/ reviewing of the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

7. REFERENCES

1. Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev.* 2013;26:657-702.
2. Szabó MP, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013;3:27.
3. Oliveira SV, Caldas EP, Colombo S, Gazeta GS, Labruna MB, Santos FC, et al. A fatal case of Brazilian spotted fever in a non-endemic area in Brazil: the importance of having health professionals who understand the disease and its areas of transmission. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016;49:653-5.
4. Biggs HM, Behravesh CB, Bradley KK, Dahlgren FS, Drexler NA, Dumler JS, et al. Diagnosis and management of tickborne rickettsial diseases: Rocky Mountain spotted fever and other spotted fever group rickettsioses, ehrlichioses, and anaplasmosis - United States. *MMWR Recomm Rep* 2016;65:1-44.
5. Lopez DM, de Mello FL, Giordano Dias CM, Almeida P, Araújo M, Magalhães MA, et al. Evaluating the surveillance system for spotted fever in Brazil using machine-learning techniques. *Front Public Health.* 2017;5:323.
6. Oliveira SV, Guimarães JN, Reckziegel GC, Neves BM, Araújo-Vilges KM, Fonseca LX, et al. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2016;22:22.
7. Lemos E, Rozental T, Villela CL. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002;35:523-5.
8. Angerami RN, Câmara M, Pacola MR, Rezende RC, Duarte RM, Nascimento EM, et al. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012;3:346-8.
9. Labruna MB, Mattar V S, Nava S, Bermudez S, Venzal JM, Dolz G, et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Rev MVZ Córdoba.* 2011;16:2435-57.
10. Faccini-Martínez AA, Muñoz-Leal S, Acosta IC, Oliveira SV, Duré AI, Cerutti Jr C, et al. Confirming *Rickettsia rickettsii* as the etiological agent of spotted fever group rickettsiosis in human lethal cases from Espírito Santo state, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018;9:496-9.
11. Silva N, Eremeeva ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EA, et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2011;17:275-8.
12. Vizzoni VF, Silva AB, Cardoso KM, Santos FB, Stenzel B, Amorim M, et al. Genetic identification of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in an endemic area of a mild spotted fever in Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. *Acta Trop.* 2016;162:142-5.
13. Krawczak FS, Muñoz-Leal S, Guztzazky AC, Oliveira SV, Santos FC, Angerami RN, et al. *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. *Am J Trop Med Hyg.* 2016;95:551-3.

14. Oliveira SV. Regarding the ecoepidemiology of a tick-borne spotted fever Southernmost state of Brazil. *Ann Clin Cytol Pathol*. 2017;3:1048.
15. Oliveira SV. Tick-borne spotted fever in the northeast of Brazil: the series of cases a new endemic area. *Rev Med UFC*. 2016;56:8-9.
16. Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2010;16:521-3.
17. Moerbeck L, Vizzoni VF, Machado-Ferreira E, Cavalcante RC, Oliveira SV, Soares CA, et al. *Rickettsia* (Rickettsiales: Rickettsiaceae) vector biodiversity in high altitude Atlantic Forest fragments within a semiarid climate: a new endemic area of spotted-fever in Brazil. *J Med Entomol*. 2016;53:1458-66.
18. Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A, et al. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol*. 2004;42:90-8.
19. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. Guia de vigilância em saúde: volume único. 2ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2017. [cited 2018 Feb 5] Available from: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/outubro/06/Volume-Unico-2017.pdf>
20. Walker DH, Raoult D. *Rickettsia rickettsii* and other spotted fever group rickettsiae (Rocky Mountain spotted fever and other spotted fever). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. editors. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and practices of infectious diseases*. 6th ed. New York: Elsevier/Churchill Livingstone; 2005. p.2287-95.
21. Borsato R, coordenação. *Ecorregiões do Brasil: prioridades terrestres e marinhas*. Curitiba: Instituto Life; 2015.
22. Silva AB, Duarte MM, Cavalcante RC, Oliveira SV, Vizzoni VF, Duré AI, et al. *Rickettsia rickettsii* infecting *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (Latreille 1806), in high altitude atlantic forest fragments, Ceará state, Brazil. *Acta Trop*. 2017;173:30-3.
23. Silva AB, Cardoso KM, de Oliveira SV, Costa RM, Oliveira G, Amorim M, et al. *Rickettsia amblyommatis* infecting *Amblyomma pseudoconcolor* in area of new focus of spotted fever in northeast Brazil. *Acta Trop*. 2018;182:305-8.

CAPÍTULO IV

PERFIS EPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA: ARTIGO DE REVISÃO

PERFIS EPIDEMIOLÓGICOS DA FEBRE MACULOSA BRASILEIRA: ARTIGO DE REVISÃO

Resumo

Febre Maculosa Brasileira é uma doença causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii* com uma diversidade de formas clínicas na dependência da localização geográfica e espécies vetoras. O objetivo deste estudo foi revisar as características dos perfis epidemiológicos existentes e assim contribuir para melhor compreensão da doença pelos profissionais da saúde quanto às ações de vigilância. Para tanto, realizou-se revisão na literatura científica sobre a epidemiologia da FMB no país, por meio das buscas nas bases MEDLINE, SciELO, LILACS e SINAN. Dos trabalhos selecionados para a revisão de literatura indicam que a FMB está associada a três ciclos de transmissão e suas distinções estão relacionadas às espécies de vetores, hospedeiros e os ambientes envolvidos.

Palavras-chaves: *Rickettsia rickettsii*, riquetsioses, vetores, epidemiologia.

Abstract

Brazilian Spotted Fever is a disease caused by *Rickettsia rickettsii* with a variety clinical forms depending of geographic location and vector species. The objective of this study was to review the characteristics of existing epidemiological profiles and contribute to a better understanding of the disease by health professionals regarding surveillance actions. For that, a review was conducted in the scientific literature on SF epidemiology in the country, through the searches in the MEDLINE, SciELO, LILACS and SINAN databases. From the papers selected for the literature review, SF is associated with three cycles of transmission and its distinctions are related to the species of vectors, hosts and the environments involved.

Key words: *Rickettsia rickettsii*, rickettsioses, vectors, epidemiology.

1. INTRODUÇÃO

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma zoonose causada pela *Rickettsia rickettsii*, bactéria gram-negativa intracelular obrigatória que circula entre carrapatos e mamíferos (PAROLA et al., 2013).

O primeiro caso da FMB foi descrito em 1990 no estado de São Paulo e posteriormente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Rio de Janeiro (GRECA; LANGONI; SOUZA, 2008; MORAES-FILHO, 2017). Atualmente foi já descrita em todas as regiões do país (SANGIONI et al., 2011; NIERI-BASTOS et al., 2014; SILVEIRA et al., 2015; MELO et al., 2016; LUGARINI, et al., 2015; MCINTOSH et al., 2015; HORTA et al., 2015; OLIVEIRA et al., 2017; MACHADO et al., 2018; OLIVEIRA

et al., 2018; AGUIRRE et al., 2018), algumas vezes com casos fatais nos estados de São Paulo (LABRUNA et al., 2014), Minas Gerais (GALVÃO et al., 2003b), Rio de Janeiro (LEMOS; ROZENTAL; VILLELA, 2002), Espírito Santo (SEXTON et al., 1993) e Paraná (OLIVEIRA et al., 2016a).

No Brasil, *R. rickettsii* é transmitida ao homem por ixodídeos das espécies *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma aureolatum* e *Amblyomma ovale* (MORAES-FILHO, 2017). Além destes, outra espécie de carrapato pode ser transmissora da *R. rickettsii*, como *Rhipicephalus sanguineus* sensu lato (s.l.) (CUNHA et al., 2009; PACHECO et al., 2011).

Dentre os reservatórios de *R. rickettsii* destacam-se algumas espécies de mamíferos como: capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*), gambás (*Didelphis marsupialis*), coelhos (*Sylvilagus* spp), equinos e caninos (JOANNITTI et al., 2014). Capivaras, gambás e equinos tem grande importância na cadeia epidemiológica da FMB, pois além de transportarem os vetores para os domicílios, desempenham papel importante na infecção dos carrapatos (FONSECA; MARTINS et al., 2007).

Atualmente existem três perfis epidemiológicos associados à FMB, o primeiro ocorre na presença da *R. rickettsii*, *A. sculptum* e capivaras sendo este o ciclo epidemiológico ocorrendo na região Sul e Sudeste do país (SZABÓ et al., 2013; NASSER et al., 2015; SOUZA et al., 2015; BRITES-NETO et al., 2015), o segundo com *R. rickettsii*, *A. aureolatum* e cães domésticos que propiciam a ocorrência da FMB na região metropolitana de São Paulo, em áreas urbanas que se dividem com fragmentos de Mata Atlântica (PINTER et al., 2004; OGRZEWALSKA et al., 2011) e o terceiro envolvendo *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, *A. ovale* e o cão doméstico em áreas de Mata Atlântica das regiões Sul, Sudeste e Nordeste (SZABÓ et al., 2013; BARBIERI et al., 2014; VOIZZONI et al., 2016).

Desta forma, a presente revisão teve como objetivo relatar as características dos perfis epidemiológicos e a prevalência de casos confirmados e óbitos, contribuindo assim para a compreensão da doença pelos profissionais da saúde quanto às ações de vigilância.

2. LEVANTAMENTO DE DADOS

Este estudo foi baseado na análise de publicações da literatura científica sobre as características dos perfis epidemiológicos e a prevalência de casos confirmados e óbitos registrados. Para tanto, procedeu-se a busca de artigos nas bases eletrônicas

de dados MEDLINE (National Library of Medicine, USA), SciELO (Scientific Electronic Library Online), LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e SINAN (Sistema de Informação e Agravos de Notificação), sem restrição com relação ao idioma ou data de publicação. Para a pesquisa foram utilizados os seguintes termos: “febre maculosa brasileira”, *Rickettsia rickettsii*, “vetores”, “Amblyomma”, “epidemiologia” e “Brasil”. Para o inglês, utilizou-se: “spotted fever”, “*Rickettsia rickettsii*”, “vectors”, “Amblyomma” “epidemiology” e “Brazil”. Além disso, outros estudos foram levantados a partir das listas de referências dos trabalhos localizados nas bases eletrônicas de dados. Foram excluídos trabalhos sobre aspectos clínicos ou desenvolvimento de métodos de diagnóstico. Outras publicações como por exemplo, dissertações de mestrado, teses de doutorado e trabalhos apresentados em anais de eventos científicos, foram incluídos quando considerados relevantes.

3. EPIDEMIOLOGIA DA FMB

No Brasil, *R. rickettsii* foi primeiramente relatada no ano de 1900, no Instituto Bacteriológico de São Paulo, pelo Dr. Adolfo Lutz, e posteriormente em 1932, foram descritos casos da infecção em humanos, no município de São Paulo, na época, ainda denominada como afecção de “tifo exantemático” (MORAES-FILHO, 2017). Após vários relatos da doença, houve um período de “silêncio” com pouquíssimos casos registrados (LIMA et al., 1995).

Após isso, as primeiras descrições da FMB, foi a partir da ocorrência de casos na capital paulista, em áreas que passavam por um processo de expansão urbana (LABRUNA et al., 2009). Até a década de 80, os casos vinham sendo provenientes dos Municípios de Mogi das Cruzes, Diadema e Santo André, com ocorrência de 53 casos no período de 1957 a 1974 e outros 10 casos de 1976 a 1982 (GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO, 2002).

A partir do final da década de 1980, houve uma clara reemergência da FMB, com inúmeros casos relatados, especialmente no estado de Minas Gerais (CALIC et al., 2005; PINTER et al., 2011) e de São Paulo (GRECA; LANGONI; SOUZA, 2008; LABRUNA et al., 2009; PINTER et al., 2011), onde houveram mais registros na região de Campinas (LIMA et al., 2003).

Somente após a doença ser incluída na Lista Nacional de Doenças de Notificação Compulsória, do Ministério da Saúde, pela Portaria GM/MS nº 1.943, de

18 de outubro de 2001, casos de FMB passaram a ser notificados em outros estados do país como Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia, Santa Catarina e a partir de 2005, nos estados do Paraná, Rio Grande do Sul e Distrito Federal (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2010). Atualmente além dos estados citados anteriormente, os casos de FMB tem sido registrado no Piauí, Ceará, Goiás e Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2018a).

Sabe-se que *R. rickettsii* é considerada a bactéria mais patogênica das espécies registradas no Sudeste do país, onde ocorreram a grande maioria dos casos fatais (OLIVEIRA et al., 2016a). Na natureza, seu ciclo de transmissão é mantido pela capacidade dos vetores, realizar as transmissões transtadial e transovariana, características estas que permitem ao carrapato permanecer infectado durante toda a sua vida e também por muitas gerações após uma infecção primária (WALKER, 1989).

A transmissão de *R. rickettsii* acontece através da picada do carrapato em qualquer uma das fases de vida do artrópode (larva, ninfa ou adulto), sendo *A. sculptum* o principal vetor da FMB, além de outras espécies também participarem transmissão como *A. aureolatum* e *A. ovale* (HORTA et al., 2004; DEL FIOLE et al., 2010; MORAES-FILHO, 2017).

Apesar de existirem três perfis epidemiológicos associados à FMB (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018), é no Sudeste do Brasil que ocorre a forma mais grave da doença com taxa de letalidade que ultrapassa 50% (ANGERAMI et al., 2006, 2009b, 2012; OLIVEIRA et al., 2016b).

Na região Sudeste e Sul do Brasil, a doença ocorre principalmente em áreas ocupacionais habitadas por capivaras em margens de rios, lagoas e parques públicos propiciando a manutenção destes animais, vetores e o parasitismo acidental ao homem que frequenta estes locais (GUGLIELMONE et al., 2006; PINTER et al., 2011; NASSER et al., 2015). Além disso, os animais domésticos e silvestres tais como caninos e equinos são responsáveis pela manutenção por perpetuarem a população destes carrapatos na natureza (SOUZA et al., 2016).

A maioria dos casos de FMB ocorreram na Região Sudeste do país, com casos esparsos em outros estados brasileiros, em especial no Sul do Brasil (DEL FIOLE et al., 2010). Além de *A. sculptum* (PINTER et al., 2011), também estão associadas à transmissão da FMB as espécies *A. aureolatum* e *A. dubitatum* (LEMOS, 2002; PINTER; LABRUNA, 2006; DEL FIOLE et al., 2010; OGRZEWALSKA et al., 2012). Quanto à sazonalidade, a maioria dos casos se apresentam entre os meses de junho

e novembro, coincidindo com a maior abundância dos estágios ninfais do carrapato *A. sculptum* nestas regiões. A maioria desses casos (>70%) tem sido notificada em pacientes adultos do sexo masculino, estando fortemente relacionado a atividades ocupacionais nas margens de rios e lagos habitadas por capivaras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

No perfil da região metropolitana de São Paulo (áreas urbanas que tem divisa com fragmentos de Mata Atlântica), *R. rickettsii* também é o agente etiológico, porém, o vetor é *A. aureolatum* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Nesse perfil, tanto em ambientes urbanos como periurbanos, os cães domésticos desempenham um papel epidemiológico particularmente importante, pois com o acesso livre aos fragmentos de Mata Atlântica podem ser parasitados por estágios adultos de *A. aureolatum*, levando-os ao domicílio e peridomicílio e devido à aproximação de carrapatos infectados ao ambiente doméstico podem parasitar seres humanos, causando assim a infecção no homem (PADDOCK et al., 2002).

O contato desses animais domésticos, é apontado como um dos principais fatores exposicionais devido a quantidade de novos casos confirmados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018). Desta forma observa-se a alta frequência de crianças e mulheres infectadas no ambiente intradomiciliar e letalidade elevada, próxima dos 100% (SZABÓ et al., 2006; PINTER et al., 2008; SARAIVA et al., 2014; BARBIERI et al., 2015).

Há relatos que o carrapato do cão *R. sanguineus* s.l., também pode estar atuando como vetor dessa bactéria (OGRZEWALSKA et al., 2012). Contudo, não foi comprovada a transmissão de *R. rickettsii* a humanos por essa espécie de carrapato (DANTAS-TORRES; FIGUEREDO; BRANDÃO-FILHO, 2006; SERRA-FREIRE, 2010).

Nas áreas de Mata Atlântica nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste, *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica é considerado agente etiológico da FMB associado ao *A. ovale* (BARBIERI et al., 2014; VOIZZONI et al., 2016).

Essa cepa foi descrita primeiramente em 2009, no estado de São Paulo estando intimamente relacionada à *Rickettsia sibirica*, *Rickettsia parkeri* e *Rickettsia africae* (SPOLDORIO et al., 2010), com casos relatados na Bahia, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e Espírito Santo (SILVA et al., 2011; BARBIERI et al., 2014; VOIZZONI et al., 2016; ACOSTA et al., 2018).

Os estágios adultos de *A. ovale* podem entrar em contato com os seres humanos de duas maneiras, quando os humanos circulam em áreas preservadas de Mata Atlântica para atividades de caça ou lazer (SZABÓ et al., 2013) ou através dos cães que têm acesso livre a essas áreas, carregando *A. ovale* para o domicílio e peridomicílio das casas (GUGLIELMONE et al., 2003).

Segundo os poucos casos confirmados em alguns estados brasileiros, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Bahia e Ceará (BARBIERI et al., 2014; KRAWCZAK et al, 2016a; KRAWCZAK et al, 2016b; NIERI-BASTOS et al, 2016; MOERBECK et al, 2016; LUZ; FACCINI; MCINTOSH, 2017), a FMB causada pela *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, manifesta-se como uma riquetsiose até então sem gravidade e letalidade associada e por apresentar como característica comum a presença de escara de inoculação e linfadenopatia (SPOLIDORIO et al., 2010; FACCINI-MARTÍNEZ et al., 2014; KRAWCZAK et al., 2016a). Por enquanto, não tem sido definido um padrão de sazonalidade específico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018) para *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica.

Independente do perfil, a FMB tem sido registrada pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Espírito Santo e Santa Catarina e a partir de 2005, nos estados do, Rio Grande do Sul, Distrito Federal, Ceará, Bahia, Paraná, Mato Grosso do Sul, Goiás, Pernambuco, Rondônia, Pará e Tocantins (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018) (Tabela 1).

O Ministério da saúde informa que no período de janeiro de 2000 a julho de 2018 foram confirmados 1.940 casos de FMB no SINAN, com taxa de letalidade média de 31,7% (BRASIL, 2018b) (Tabela 2). A maioria dos casos que evoluíram para óbito ocorreram na região Sudeste do Brasil, nos estados de Minas Gerais (GALVÃO et al., 2003b), Espírito Santo (SEXTON et al., 1993), Rio de Janeiro (LEMOS, 2002) e São Paulo (LABRUNA et al., 2014).

Na região Sudeste, registrou-se 1.418 casos no período de janeiro de 2000 a julho de 2018, destes, foram observados 42,94% de letalidade nesta região (BRASIL, 2018b). Somente no estado de São Paulo foram registrados 915 casos com letalidade média de 47,75% (BRASIL, 2018b).

Foram observadas novas áreas de transmissão, além das relacionadas às regiões de Campinas e São João da Boa Vista: as bacias dos rios Atibaia e Jaguari

(GALVÃO; SILVA, 2005; AMGERAMI et al., 2006), além de Mogi das Cruzes e Piracicaba (CVE, 2012).

A doença não se restringiu apenas às áreas rurais, atingindo também áreas urbanas e periurbanas, inclusive a capital do estado (AMGERAMI et al., 2006), mostrando mudanças na ecologia da doença e no seu perfil epidemiológico. No ano de 2017, 165 casos de FMB foram confirmados no Brasil, dos quais 119 foram da região Sudeste onde 53,78% dos casos ocorreram no estado de São Paulo, registrando-se óbitos todos os anos, desde 2000 (BRASIL, 2018b).

Em Minas Gerais, no período de janeiro de 2000 a julho de 2018, ocorreu o registro de 276 casos confirmados, com taxa de letalidade de 35,50% (BRASIL, 2018b). As regiões com maior número de casos foram: Região metropolitana, Vales do Rio Doce, Mucuri e Jequitinhonha (GALVÃO et al., 2002; GALVÃO et al., 2003a; GALVÃO et al., 2003b; CARDOSO et al., 2006; SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2005; DEL FIOL et al., 2010). Além disso, a distribuição geográfica da FMB no Estado de Minas Gerais, se expandiu para a Zona da Mata e a Grande Região Metropolitana de Belo Horizonte (AMÂNCIO et al., 2011).

No Rio de Janeiro, foram confirmados 155 casos, com taxa de letalidade média de 32,25% (BRASIL, 2018b). Os casos ocorreram com maior frequência na região de Barra do Piraí e Petrópolis (BRASIL, 2010), entretanto pode-se observar registros na região de Nova Iguaçu no estado do Rio de Janeiro (GONÇALVES et al., 1981), onde ocorreu um caso fatal em 2002 (LEMONS; ROZENTAL; VILLELA, 2002).

No Espírito Santo, nesse mesmo período foram registrados 72 casos, com taxa de letalidade média de 33,33% (BRASIL, 2018b), além de surtos que ocorreram nos municípios de Pancas, Barra de São Francisco, Nova Venécia e Baixo Guandu (BRASIL, 2010; BRASIL, 2018a).

Na região Sul, registrou-se casos confirmados a partir de 2003, no estado de Santa Catarina. Nesse estado, entre os anos de 2003 a julho de 2018, foram observadas 420 notificações (BRASIL, 2018a). Santa Catarina é considerado o segundo estado com maior número de casos confirmados de FMB (KRAWCZAK et al., 2016b), perdendo apenas para o estado de São Paulo. Apesar de Santa Catarina ter registros de casos confirmados, não foram observados óbitos neste estado (AMGERAMI et al., 2009a; BARROS E SILVA et al., 2014).

Tabela 1: Casos confirmados de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2018*

| Região e UF | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017* | 2018* |
|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| Rondônia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| Pará | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Tocantins | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 |
| Maranhão | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| Paraíba | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Alagoas | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Ceará | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 4 | 2 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| Bahia | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Minas Gerais | 23 | 9 | 10 | 9 | 24 | 11 | 18 | 13 | 11 | 10 | 11 | 14 | 7 | 15 | 11 | 16 | 21 | 33 | 10 |
| Espírito Santo | 2 | 0 | 0 | 13 | 11 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 4 | 7 | 5 | 4 | 3 | 5 | 7 | 6 | 0 |
| Rio de Janeiro | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 24 | 7 | 10 | 8 | 8 | 5 | 13 | 6 | 4 | 22 | 14 | 14 | 16 | 0 |
| São Paulo | 16 | 15 | 9 | 30 | 41 | 55 | 37 | 31 | 39 | 61 | 58 | 72 | 74 | 57 | 71 | 90 | 62 | 64 | 33 |
| Paraná | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 2 | 1 | 3 | 2 | 4 | 2 | 4 | 6 | 3 | 9 | 0 |
| Santa Catarina | 0 | 0 | 0 | 6 | 8 | 36 | 21 | 31 | 25 | 38 | 24 | 25 | 37 | 32 | 51 | 20 | 26 | 28 | 12 |
| Rio Grande do Sul | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 |
| Mato Grosso do Sul | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 |
| Mato Grosso | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 |
| Goiás | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 2 | 2 | 0 |
| Distrito Federal | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Brasil | 41 | 25 | 20 | 60 | 84 | 130 | 85 | 93 | 87 | 122 | 107 | 134 | 138 | 121 | 165 | 160 | 143 | 165 | 60 |

Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) - atualizado em 01/08/2018

*Dados sujeitos à revisão

Tabela 2. Óbitos de febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 2000 a 2018*

| Região e UF | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017* | 2018* |
|----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|
| Pernambuco | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Minas Gerais | 11 | 1 | 1 | 1 | 9 | 6 | 8 | 6 | 5 | 4 | 1 | 5 | 4 | 6 | 4 | 4 | 5 | 15 | 2 |
| Espírito Santo | 2 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 2 | 0 | 3 | 3 | 4 | 0 |
| Rio de Janeiro | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 4 | 5 | 2 | 3 | 3 | 1 | 4 | 2 | 1 | 7 | 2 | 7 | 6 | 0 |
| São Paulo | 2 | 11 | 4 | 12 | 11 | 16 | 12 | 8 | 14 | 23 | 24 | 35 | 41 | 31 | 54 | 55 | 37 | 32 | 15 |
| Paraná | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 |
| Brasil | 15 | 13 | 6 | 18 | 20 | 26 | 25 | 16 | 22 | 31 | 27 | 45 | 52 | 40 | 65 | 67 | 52 | 58 | 17 |

Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) - atualizado em 01/08/2018

*Dados sujeitos à revisão

No Paraná, só ocorreram registros de casos a partir do ano de 2006 (um caso) e a partir disso foram relatados 39 casos até o ano de 2017 (BRASIL, 2018a), com taxa de letalidade média de 12,82% (BRASIL, 2018b), somente nos anos de 2009, 2010, 2015 e 2017. Em 2016 foi relatado um caso fatal de FMB no estado do Paraná (OLIVEIRA et al., 2016a). Já o estado do Rio Grande do Sul apresentou 13 casos no período de 2005 a 2017 (BRASIL, 2018a). No ano de 2011, ocorreu um caso de FMB no município de Rosário, Rio Grande do Sul onde o diagnóstico de febre maculosa foi confirmado no Laboratório Nacional de Referência (Instituto Adolfo Lutz) em São Paulo (WECK et al., 2016), apesar dos casos confirmados, não houveram óbitos nesse estado.

Na região Centro-Oeste, foram notificados 21 casos da doença no período de janeiro 2000 a julho de 2018 (BRASIL, 2018a), apesar de todos os estados já terem sido diagnosticados com a doença, existem poucos casos confirmados de FMB, como no estado do Distrito Federal onde confirmou um caso em 2005 (BRASIL, 2018a), não houve óbito em nenhum dos estados dessa região (BRASIL, 2018b).

Na região Nordeste, ocorreram nesse período 21 casos, com taxa de letalidade de 4,76%, sendo o primeiro registro de FMB foi em 2007 na Bahia e após isso foi relatado nos estados de Maranhão, Ceará, Paraíba e Alagoas (BRASIL, 2018b). Dentre esses estados, o Ceará foi o local onde obteve maior quantidade de humanos com casos confirmados de febre maculosa (12 casos). Entretanto o único óbito de FMB confirmado foi no ano de 2015 no estado de Pernambuco (OLIVEIRA et al., 2018).

Os casos confirmados de FMB na região Norte, só começaram a serem relatados a partir do ano de 2015 no estado de Rondônia, após isso, Tocantins e Pará (BRASIL, 2018a). Ao total, ocorreram oito casos, entretanto não houve taxa de letalidade nessa região (BRASIL, 2018b).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A epidemiologia das riquetsioses auxilia na compreensão da prevalência de casos confirmados e óbitos de homens, mulheres e crianças, podendo estar relacionados a dificuldades de diagnóstico clínico e falta de tratamento imediato.

Os métodos empregados neste estudo complementam o entendimento dos três perfis epidemiológicos da FMB podendo ser utilizados para prevenção e redução da morbidade e mortalidade desta doença, auxiliando a assistência médica, vigilância

epidemiológica e rede laboratorial para que haja maior percentual de isolamento das espécies circulantes nas diferentes regiões do país.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, I. D. C. L., LUZ, H. R., FACCINI-MARTÍNEZ, Á. A., MUÑOZ-LEAL, S., CERUTTI JUNIOR, C.; LABRUNA, M. B. First molecular detection of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in *Amblyomma ovale* ticks from Espírito Santo state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, n. AHEAD, 2018.

AGUIRRE, A.A.R.; GARCIA, M.V.; COSTA, I.N.; CSORDAS, B.G.; SILVA RODRIGUES, V.; MEDEIROS, J.F.; ANDREOTTI, R. New records of tick-associated spotted fever group *Rickettsia* in an Amazon-Savannah ecotone, Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.9, n.4, p.1038-1044, 2018.

AMÂNCIO, F.F.; AMORIM, V.D.; CHAMONE, T.L.; BRITO, M.G.D.; CALIC, S.B.; LEITE, A.C., FRAGA, G.L.; FERRAZ, M. L. Epidemiological characteristics of Brazilian spotted fever in Minas Gerais State, Brazil, 2000-2008. **Cadernos de Saúde Pública**, v.27, p.1969-1976, 2011.

ANGERAMI, R.N.; RESENDE, M.R.; FELTRIN, A F.; KATZ, G.; NASCIMENTO, E. M.; STUCCHI, R. S.; SILVA, L.J. Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, n.1, p.252-254, 2006.

ANGERAMI, R.N.; NUNES, E.M.; MENDES, E.M.N; RIBAS, F.A.; KEMP, B.; FELTRIN, A.F.; PACOLA, M.R.; PERECIN, G.E.; SINKOC, V.; RESENDE, M.R.; KATZ, G.; SILVA, J.L. Clusters of Brazilian spotted fever in Sao Paulo State, southeastern Brazil. A review of official reports and the scientific literature. **Clinical Microbiology and Infection**, v.15, p.202-204, 2009a.

ANGERAMI, R.N.; DA SILVA, A.M.; NASCIMENTO, E.M.; COLOMBO, S.; WADA, M.Y.; DOS SANTOS, F.C.; MANCINI, D.M.; DE OLIVEIRA, R.C.; KATZ, G.; MARTINS, E.C.; DA SILVA, L.J. Brazilian spotted fever: two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, v.15, p.207-208, 2009b.

ANGERAMI, R.N.; CÂMARA, M.; PACOLA, M.R.; REZENDE, R.C.; UARTE, R.M.; NASCIMENTO, E.M.; COLOMBO, S.; SANTOS, F.C.; LEITE, R.M.; KATZ, G. SILVA, L.J. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.3, n. 5-6, p.346-348, 2012.

BARBIERI, A.R.M.; FILHO, J.M.; NIERI-BASTOS, F.A.; SOUZA, J.C.; SZABÓ, M.P.J.; LABRUNA, M.B. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-Borne Diseases**, v.5, n.6, p.848-853, 2014.

BARBIERI, J.M.; DA ROCHA, C.M.; BRUHN, F.R.; CARDOSO, D.L.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Altitudinal Assessment of *Amblyomma aureolatum* and *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), Vectors of Spotted Fever Group *Rickettsiosis* in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.52, n.5, p.1170-1174, 2015.

BARROS E SILVA, P.M.R.; PEREIRA, S.C.; FONSECA, L.X.; MANIGLIA, F.V.P.; OLIVEIRA, S.V.; DE CALDAS, E.P. Febre maculosa: uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. **Scientia Plena**, v.10, p.1-9, 2014.

BRASIL, 2010. Secretaria de Vigilância em Saúde/MS. **Guia de Vigilância epidemiológica**. Disponível em: <<http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/guia-de-ve-febre-maculosa-brasileira-7ed-2010.pdf>>. Acesso em: 13 de novembro de 2018.

BRASIL, 2018a. DATASUS/FEBRE MACULOSA - **Casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação** - SinanNet. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/06/caso-fmb-atualiza---o-site-01.08.2018.pdf>>. Acesso em: 13 de novembro de 2018.

BRASIL, 2018b. DATASUS/FEBRE MACULOSA - **Óbitos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação** - SinanNet. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/agosto/06/obito-fmb-01-08-2018.pdf>> Acesso em: 13 de novembro de 2018.

BRITES-NETO, J.; BRASIL, J.; DUARTE, K.M.R. Epidemiological surveillance of capybaras and ticks on warning area for Brazilian spotted fever. **Veterinary World**, v.8, n.9, p.1143-1149, 2015.

CALIC, S.B.; BARCELLOS-ROCHA, C.M.; LEITE, R.C.; MAFRA, C.L; GALVÃO, M.A.M. Old and new rickettiosis in Minas Gerais state, Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1063, p.356-357, 2005.

CARDOSO, L.D.; FREITAS, R.N.; MAFRA, C.L.; NEVES, C.V.B.; FIGUEIRA, F.C.B.; LABRUNA, M.B.; GENNARI, S.M.; WALKER, D.H.; GALVÃO, M.A.M. Caracterização de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no Município de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.22, p.495-501, 2006.

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.

CVE - GUIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. São Paulo (Estado) Secretaria da Saúde. Coordenadoria de Controle de Doenças. Centro de Vigilância Epidemiologia “Prof. Alexandre Vranjac”. **Guia de vigilância epidemiológica** – São Paulo, 1ed. 2012. Acesso em 13 de novembro de 2018. Disponível em: [ftp://ftp.cve.saude.sp.gov.br/doc_tec/outros/CVE12_GUIA_VE_ATUALIZADO.pdf]

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**, v.39, n.1, p.64-67, 2006.

DEL FIOLE, F.S.; JUNQUEIRA, F.M.; ROCHA, M.C.P.; TOLEDO, M.I.; BARBERATO FILHO, S. A febre maculosa no Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, n.6, p.461-466, 2010.

FACCINI-MARTÍNEZ, A.A.; GARCÍA-ÁLVAREZ, L.; HIDALGO, M.; OTEO, J.A. Syndromic classification of rickettsioses: An approach for clinical practice. **International Journal of Infectious Diseases**, v.28, p.126-139, 2014.

FONSECA, L.; MARTINS, A. Febre maculosa: revisão de literatura-artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**, v.2, n.1, p.1-20, 2007.

GALVÃO, M.A.M.; LAMOUNIER, J.A.; BONOMO, E.; TROPIA, M.S.; REZENDE, E.G.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; MACHADO, M.C.; ORONI, M.E.A.; LEITE, R.C.; CARAM, C.; MAFRA, C.L.; WALKER, D.H. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do estado de Minas Gerais, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.18, p.1593-1597, 2002.

GALVÃO, M.A.M.; DUMLER, J.S.; MAFRA, C.L.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; CESARINO FILHO, G.; OLANO, J.P.; WALKER, D.H. Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.9, n.11, p.1402, 2003a.

GALVÃO, M.A.M.; CALIC, S.B.; CHAMONE, C.B.; MAFRA, C.L.; CESARINO FILHO, G.; OLANO, J.P.; WALKER, D.H. Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Estado de Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.36, n.4, p.479-481, 2003b.

GALVÃO, M.A.M.; SILVA, L.J.D.; NASCIMENTO, E.M.M.; CALIC, S.B.; SOUSA, R.D.; BACELLAR, F. Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico. **Revista de Saúde Pública**, v.39, p.850-856, 2005.

GONÇALVES, A.J.R.; LOPES, P.F.; MELO, J.C.; PEREIRA, A.A.; PINTO, A.M.; LAZERA, M.S.; SOUZA, M.L.S.; TEIXEIRA, C.R.U.; OLIVEIRA, J.C.; DUARTE, F. Rickettsioses - a propósito de quatro casos diagnosticados no Rio de Janeiro de febre maculosa brasileira. **Folha Médica (BR)**, v.82, n.2, p.127-34, 1981.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. Informe técnico Febre Maculosa Brasileira. **Centro de Vigilância Epidemiológica**, p.1-7, 2002.

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.

GUGLIELMONE, A.E.A.; ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A. J.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; MARTINS, J.R.; VENZAL, J.M.; ARZUA, J.E.; KEIRANS, J.E. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**, v.113, n.3-4, p.273-288, 2003.

GUGLIELMONE, A.A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D.M.; LABRUNA, M.B.; NAVA, S.; VENZAL, J.M.; MANGOLD, A.J.; SZABÓ, M.J.P.; MARTINS, J.R.; GONZÁLEZ ACUÑA, D.; ESTRADA-PEÑA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v.40, p.83-100, 2006.

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, p.93-97, 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.
- JOANNITTI, L.H.L.; SILVA, N.R.; D'AURIA, S.R.N.; CAMARGO, M.C.G.O.; VICTORIA, C.; BABBONI, S.D.; COSTA, H.F.; FERREIRA, B.L.S.; MODOLO, J.R. Estimativa de positividade da febre maculosa em cães para a vigilância e o seu monitoramento no município de Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v. 21, n. 3, p. 451-461, 2014.
- KRAWCZAK, F.S.; MUÑOZ-LEAL, S.; GUZTZAZKY, A.C.; OLIVEIRA, S.V.; SANTOS, F.C.; ANGERAMI, R.N.; MORAES-FILHO, J.; DE SOUZA, J.C.JR.; LABRUNA, M.B. *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.95, n.3, p.551-553, 2016a.
- KRAWCZAK, F.S.; BINDER, L.C.; OLIVEIRA, C.S.; COSTA, F.B.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; SPONCHIADO, J.; MELO, G.L.; GREGORI, F.; POLO, G.; OLIVEIRA, S.V.; LABRUNA, M.B. Ecology of a tick-borne spotted fever in Southern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v.70, n.2, p.219-229, 2016b.
- LABRUNA, M.B.; KAMAKURA, O.; MORAES-FILHO, J.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C. Rocky Mountain spotted fever in dogs, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, n.3, p.458-460, 2009.
- LABRUNA, M.B.; SANTOS, F.C.; OGRZEWALSKA, M.; NASCIMENTO, E.M.; COLOMBO, S.; MARCILI, A.; ANGERAMI, R.N. Genetic identification of rickettsial isolates from fatal cases of Brazilian spotted fever, and comparison with *Rickettsia rickettsii* isolates from the American continent. **Journal of Clinical Microbiology**, v.52, n.10, p.3788–3791, 2014.
- LEMOS, E.R.S. Rickettsial diseases in Brazil. **Virus Reviews & Research**, v.7, n.1, p.7-16, 2002.
- LEMOS, E.R.S.; ROZENTAL, T.; VILLELA, C.L. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, n.5, p.523-525, 2002.
- LIMA, V.L.C.D.; FIGUEIREDO, A.C.; PIGNATTI, M.G.; MODOLO, M. Febre maculosa no município de Pedreira-Estado de São Paulo-Brasil-relação entre ocorrência de casos e parasitismo humano por ixodídeos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.28, n.2, p.135-137, 1995.
- LIMA, V.L.C.D.; SOUZA, S.S.L.D.; SOUZA, C.E.D.; VILELA, M.F.G.; PAPAORDANOU, P.M.; DEL GUÉRCIO, V.M.; ROCHA, M.M. Situação da febre maculosa na região administrativa de Campinas, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.19, p.331-334, 2003.

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.

LUZ, H.R.; FACCINI, J.L.H.; MCINTOSH, D. Molecular analyses reveal an abundant diversity of ticks and rickettsial agents associated with wild birds in two regions of primary Brazilian Atlantic Rainforest. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v.8, n.4, p.657-665, 2017.

MACHADO, I.B.; BITENCOURTH, K.; CARDOSO, K.M.; OLIVEIRA, S.V.; SANTALUCIA, M.; MARQUES, S.F.F.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G.S. Diversity of rickettsiae and potential vectors of spotted fever in an area of epidemiological interest in the Cerrado biome, midwestern Brazil. **Medical and Veterinary Entomology**, v.32, n.4, p.481-489, 2018.

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.

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**, v.30, n.1, p.112-116, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE – **Situação Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira**. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/febre-maculosa/situacao-epidemiologica>>. Acesso em: 13 de novembro de 2018.

MOERBECK, L.; VIZZONI, V.F.; MACHADO-FERREIRA, E.; CAVALCANTE, R.C.; OLIVEIRA, S.V.; SOARES, C.A.G.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G.S. Rickettsia (Rickettsiales: Rickettsiaceae) vector biodiversity in high altitude Atlantic forest fragments within a semiarid climate: a new endemic area of spotted-fever in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.53, n.6, p.1458-1466, 2016.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira. Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP. São Paulo: **Conselho Regional de Medicina Veterinária**, v.15, n.1, p.38-45, 2017.

NASSER, J.T.; LANA, R.C.; SILVA, C.M.D.S.; LOURENÇO, R.W.; SILVA, D.C.D.C.; DONALÍSIO, M.R. Urbanization of Brazilian spotted fever in a municipality of the southeastern region: epidemiology and spatial distribution. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.18, p.299-312, 2015

NIERI-BASTOS, F.A.; LOPES, M.G.; CANÇADO, P.H.D.; ROSSA, G.A.R.; FACCINI, J.L.H.; GENNARI, S.M. *Candidatus* Rickettsia andeanae, a spotted fever group agent infecting *Amblyomma parvum* ticks in two Brazilian biomes. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, v.109, p.259-261, 2014.

NIERI-BASTOS, F.A.; HORTA, M.C.; BARROS-BATTESTI, D.M.; MORAES-FILHO, J.; RAMIREZ, D.G.; MARTINS, T.F.; LABRUNA, M.B. Isolation of the

pathogen *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest from its presumed tick vector, *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), from two areas of Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v.53, n.4, p.977-981, 2016.

OGRZEWALSKA, M.; UEZU, A.; JENKINS, C.N.; LABRUNA, M.B. Effect of forest fragmentation on tick infestations of birds and tick infection rates by *Rickettsia* in the Atlantic forest of Brazil. **EcoHealth**, v.8, n.3, p.320-331, 2011.

OGRZEWALSKA, M.; SARAIVA, D.G.; MORAES-FILHO, J.; MARTINS, T.F.; COSTA, F.B.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, v.139, n.10, p.1283-1300, 2012.

OLIVEIRA, S.V.D.; CALDAS, E.P.D.; COLOMBO, S.; GAZETA, G.S.; LABRUNA, M.B.; SANTOS, F.C.P.D.; ANGERAMI, R.N. A fatal case of Brazilian spotted fever in a non-endemic area in Brazil: the importance of having health professionals who understand the disease and its areas of transmission. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.49, n.5, p.653-655, 2016a.

OLIVEIRA, S.V.; GUIMARÃES, J.N.; RECKZIEGEL, G.C.; NEVES, B.M.; ARAÚJO-VILGES, K.M.; FONSECA, L.X.; PINNA, F.V.; PEREIRA, S.V.; DE CALDAS, E.P.; GAZETA, G.S.; GURGEL-GONÇALVES, R. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.22, n.1, p.22, 2016b.

OLIVEIRA, S.V.; WILLEMANN, M.C.A.; GAZETA, G.S.; ANGERAMI, R.N.; GURGEL-GONÇALVES, R. Predictive Factors for Fatal Tick-Borne Spotted Fever in Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v.64, e44-e50, 2017.

OLIVEIRA, S.V.D.; COSTA, R.M.F.; FERREIRA, G.; PEREIRA, S.V.C.; AMORIM, M.; MONTEIRO, M.F.M.; ALVES, L.C.; GAZETA, G. S. Fatal case of spotted fever in a patient from Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, 2018.

PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; GUEDES, E.; SILVEIRA, I.; RICHTZENHAIN, L.J.; LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B. Rickettsial infections of dogs, horses and ticks in Juiz de Fora, southeastern Brazil, and isolation of *Rickettsia rickettsii* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks. **Medical and Veterinary Entomology**, v.25, n.2, p.148-155, 2011.

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. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.66, n.2, p.197-199, 2002.

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-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, p.657-702, 2013.

PINTER, A.; DIAS, R.A.; GENNARI, S.M.; LABRUNA, M.B. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.41, n.3, p.324-332, 2004.

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, n.1, p.523-529, 2006.

PINTER, A.; HORTA, M.C.; PACHECO, R.C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M.B. Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24, n.2, p.247-252, 2008.

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.

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.

SARAIVA, D.G.; SOARES, H.S.; SOARES, J.F.; LABRUNA, M.B. Feeding period required by *Amblyomma aureolatum* ticks for transmission of *Rickettsia rickettsii* to vertebrate hosts. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 9, p. 1504, 2014.

Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6ª Ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2005.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE / MS. **Guia de Vigilância Epidemiológica**, Caderno 12, 7 ed., 2010. Disponível em: <<http://www.sgc.goias.gov.br/upload/arquivos/2012-05/guia-de-ve-febre-maculosa-brasileira-7ed-2010.pdf>>. Acesso em: 16 mar de 2018.

SERRA-FREIRE, N.M. Occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on human hosts, in three municipalities in the State of Pará, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.3, p.141-147, 2010.

SEXTON, D.J.; MUNIZ, M.; COREY, G.R.; BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; DUMLER, S.; WALKER, 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 Medicine and 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.; 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.D.; 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.

SOUZA, C.E.; CAMARGO, L.B.; PINTER, A.; DONALISIO, M.R. High seroprevalence for *Rickettsia rickettsii* in equines suggests risk of human infection in silent areas for the brazilian spotted fever. **PloS One**, v.11, n.4, p.e0153303, 2016.

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, 2010.

SZABÓ, M.P.; LABRUNA, M.B.; CASTAGNOLLI, K.C.; GARCIA, M.V.; PINTER, A.; VERONEZ, V.A.; MAGALHÃES, G.M.; CASTRO, M.B.; VOGLIOTTI, A. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing humans in an Atlantic rainforest reserve of Southeastern Brazil with notes on host suitability. **Experimental & Applied Acarology**, v.39, n.3-4, p.339, 2006.

SZABÓ, M.P.J.; PINTER, A.; LABRUNA, M.B.; SZABÓ, 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, p.27, 2013.

VOIZZONI, V. F., SILVA, A. B., CARDOSO, K. M., DOS SANTOS, F. B., STENZEL, B., AMORIM, M., OLIVEIRA, S.V.; GAZETA, G. S. Genetic identification of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in an endemic area of a mild spotted fever in Rio Grande do Sul state, Southern Brazil. **Acta Tropica**, v.162, p.142-145, 2016.

WALKER, D.H. Rocky Mountain spotted fever: a disease in need of microbiological concern. **Clinical Microbiology Reviews**, v.2, p.227-240, 1989.

WECK, B.; DALL'AGNOL, B.; SOUZA, U.; WEBSTER, A.; STENZEL, B.; KLAFKE, G.; RECK, J. Spotted fever group *Rickettsia* in the Pampa biome, Brazil, 2015–2016. **Emerging Infectious Diseases**, v.22, n.11, p.2014, 2016.

5. CONCLUSÕES GERAIS

- Os resultados obtidos sugerem que pequenos mamíferos, principalmente algumas espécies predominantes (por exemplo, *R. norvegicus*, *R. rattus*, *Trichomys* spp. e *C. aperea*), podem desempenhar um papel importante na manutenção, circulação e disseminação de riquetsias dentro e fora dos focos naturais;
- Este é o primeiro registro da ocorrência de *Rickettsia* sp. em roedores silvestres e sinantrópicos no Brasil;
- Este é o primeiro relato de *R. amblyommatis* infectando *A. pseudoconcolor*;
- O primeiro caso de Febre Maculosa é relatado no estado de Pernambuco, sendo o primeiro óbito no Nordeste do Brasil associado a *Rickettsia* sp.;
- No Brasil existem três perfis epidemiológicos da FMB podendo ser utilizados para prevenção e redução da morbidade e mortalidade da doença, auxiliando a assistência médica, vigilância epidemiológica e rede laboratorial para que haja maior percentual de isolamento das espécies circulantes nas diferentes regiões do país.