



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA-UnICEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

JOÃO VÍTOR LIMA BARBOSA
PEDRO ARTHUR WANDERLEY PEREIRA MARINHO DINIZ

**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA FEBRE MACULOSA NO BRASIL E
DETECÇÃO MOLECULAR DE RIQUÉTSIAS COM LEVANTAMENTO
ACAROLÓGICO EM EQUINOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL.**

BRASÍLIA
2019



JOÃO VÍTOR LIMA BARBOSA
PEDRO ARTHUR WANDERLEY PEREIRA MARINHO DINIZ

**PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA FEBRE MACULOSA NO BRASIL E
DETECÇÃO MOLECULAR DE RIQUÉTSIAS COM LEVANTAMENTO
ACAROLÓGICO EM EQUINOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL.**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Bruno Silva Milagres

BRASÍLIA
2019

Agradecimentos

Ao nosso querido orientador Bruno Silva Milagres que sempre prestou completo auxílio e atenção durante o desenvolvimento do projeto.

Aos professores Andrei Antonioni Guedes Fidelis e Francisco José Gonçalves de Oliveira por auxiliarem no desenvolvimento do projeto.

Às famílias dos autores que auxiliaram no desenvolvimento de forma indireta, principalmente respeitando os momentos de dedicação ao projeto.

A todos os outros contribuintes que de forma direta ou indireta puderam auxiliar no desenvolvimento do trabalho.

PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA FEBRE MACULOSA NO BRASIL E DETECÇÃO MOLECULAR DE RIQUETSIAS COM LEVANTAMENTO ACAROLÓGICO EM EQUINOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL.

RESUMO

A Febre Maculosa Brasileira é uma doença causada por bactérias do gênero *Rickettsia*, transmitidas através de carrapatos contaminados ao hospedeiro. As riquetsias mais associadas são a *Rickettsia rickettsii* e a *Rickettsia sp.* Cepa Mata Atlântica, a primeira relacionada a casos graves da doença, mais comumente encontrado nas regiões Sul e Sudeste, e a segunda, presente no Sul, Sudeste e Nordeste, causa uma forma mais branda da doença. Os principais carrapatos vetores da Febre Maculosa Brasileira são *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma dubitatum* e *Amblyomma ovale*, mas qualquer espécie pode ser um reservatório de *Rickettsia rickettsii*. Equinos são considerados hospedeiros finais importantes para os vetores, podendo abrigar grandes colônias de carrapatos e ninfas e apresentando sintomatologia muito branda quando infectado com Riquetsias. A proximidade dos equinos com os humanos devido a seu uso como meio de transporte, ferramenta de trabalho, esporte ou até lazer aumenta o potencial zoonótico de tal doença. Também levando em conta o fato de que os locais onde tais animais trafegam, não há só a presença deles, mas também de cachorros, roedores e outros animais selvagens que podem ser possíveis reservatórios para carrapatos. O objetivo da pesquisa foi descrever a epidemiologia da Febre Maculosa no Brasil, entre os anos 2016 e 2017, e realizar um levantamento acarológico com o uso de PCR para identificar a presença de Riquetsioses em equinos do DF e entorno. Foi realizado um estudo descritivo, retrospectivo, do cenário dos casos de Febre Maculosa registrados no Brasil, os quais foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação e publicados em boletins do Ministério da Saúde e artigos da área médica. Com relação aos aspectos éticos, por se tratar de um estudo baseado em dados secundários e havendo a doação do material biológico, a aprovação no Comitê de Ética animal não foi necessário. Foram coletados oito potes com carrapatos em duas localidades diferentes do DF e feito o PCR em cada uma dessas amostras. Das oito amostras coletadas, duas delas estavam infectadas com Riquetsioses, um de cada local de coleta. Nos anos de 2016 a 2017 ocorreram 339 casos de Febre Maculosa no Brasil, onde 73,15% dos casos foram relatados na região Sudeste, 20,94% na região Sul, 2,94% na região Centro-Oeste, 2,06% na região Nordeste e 0,88% na região Norte. Acometendo principalmente homens da faixa etária de 20 a 59 anos, por estarem mais expostos a ambientes silvestres e rurais relacionados a mão de obra, tendo o pico entre junho e novembro, meses onde a temperatura se eleva, propiciando um aumento na atividade dos carrapatos relacionada ao seu ciclo. A melhor forma de prevenção está relacionada a evitar o contato com o vetor, mostrando-se necessário o uso de calças, camisas de manga comprida e botas em momentos de possível contato com os vetores, aliados ao uso de produtos repelentes de carrapatos em humanos, caninos e equinos.

Palavras chaves: Febre Maculosa. Eqüinos. Rickettsia

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	5
LISTA DE GRÁFICOS, TABELAS E IMAGENS.....	6
1.INTRODUÇÃO	7
2. METODOLOGIA.....	9
2.1. PCR	9
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	11
3.1. ESTUDO DESCRITIVO	11
3.1.1. TEMPO	11
3.1.2. PESSOA	12
3.1.3. LUGAR.....	14
3.2. COLETA DE ECTOPARASITOS	15
3.3. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DOS CARRAPATOS	16
4. CONCLUSÃO.....	19
5.REFERÊNCIAS.....	20

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.

FMB – Febre Maculosa brasileira.

PCR – Reação de cadeia polimerase.

DF – Distrito Federal

SINAN – Sistema de notificação de agravos de notificação.

gltA – proteína de membrana da bactéria.

DNA – Ácido desoxirribonucleico.

OMS – Organização mundial da saúde.

LISTA DE GRÁFICOS, TABELAS E IMAGENS.

Gráfico 1:Mês do primeiro sintoma da FMB dos casos confirmados.

Gráfico 2:Casos confirmados de homens e mulheres nos anos de 2016 e 2017.

Gráfico 3:Faixa etária dos casos confirmados de FMB em 2016.

Gráfico 4:Faixa etária dos casos confirmados de FMB em 2017.

Gráfico 5:Zona de infecção dos casos confirmados de FMB em 2016 e 2017.

Figura 1:Distribuição geográfica de casos notificados de FMB.

Figura 2:PCR positivo para verificação de riquetsias dos potes C2 e C11, mostrando o controle positivo e o controle negativo no canto direito da tela.

Figura 3:PCR positivo para verificação do gênero *Amblyomma*, mostrando do lado direito em baixo, os pares de bases amplificados, do lado esquerdo o controle positivo.

Tabela 1:Taxas de Mortalidade, morbidade e letalidade da FMB nos anos de 2016 e 2017.

Tabela 2:Informações coletadas dos hospedeiros.

1.INTRODUÇÃO

A Febre maculosa Brasileira (FMB) é uma doença endêmica causada pela bactéria gram-negativa *Rickettsia rickettsii*, sendo intracelular em forma de cocobacilo, tendo como principal vetor os carrapatos. Nos carrapatos, o agente etiológico tem tropismo pelas glândulas salivares e ovários. O principal carrapato relacionado a enfermidade no Brasil é o *Amblyomma cajennense* sendo também o principal carrapato relacionado aos cavalos (MARTINS, 2014).

Os sintomas da FMB em humanos são em maioria não específicos, tendo seu período de incubação entre dois a catorze dias, iniciando com febre, dor de cabeça e dores musculares intensas. Estes são seguidos por petéquias e oligúria (diminuição no volume de urina). Em casos de não tratamento, surgem os sinais de infecção generalizada, complicações pulmonares e vasculares, desidratação, choque, coma e óbito. A febre maculosa é uma doença de notificação compulsória endêmica em diversas regiões do Brasil (PHILLIPS, 2017).

Atualmente o diagnóstico laboratorial de eleição segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) se dá através da sorologia pela técnica da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com amostras pareadas, e deve ser considerado confirmatório um aumento no título em uma segunda amostra a ser realizada após intervalo de quinze dias (GALVÃO et al., 2005).

Os cavalos são possíveis reservatórios para a febre maculosa devido a sua relação de hospedeiro definitivo para carrapatos como o *Amblyomma cajennense* e o *Amblyomma aureolatum* (MILAGRES, 2010). Apesar de não ser vista como uma doença clínica em cavalos existe poucos registros confirmados de cavalos infectados, que apresentaram a sintomatologia de febre, taquipneia e anorexia branda. A baixa quantidade de tais registros pode ser justificada pela baixa intensidade dos sintomas e não descarta diagnósticos diferenciais (FREESE; SHEATS, 2019).

Em equinos, levantamentos sorológicos no Brasil encontraram altas porcentagens de equinos positivos para *R. rickettsii* em regiões endêmicas, com valores comumente superiores aos observados para cães e humanos; já em regiões não endêmicas, as frequências de equinos positivos são usualmente menores. Devido a esta boa resposta humoral, o equino pode ser utilizado como

sentinela para o microrganismo, denunciando a circulação da bactéria em regiões onde o carrapato *Amblyomma cajannense* seja o vetor (UENO, 2014).

O cão, assim como os equinos, é um animal próximo ao homem, e pode ter também um importante papel na cadeia epidemiológica da FMB. De acordo com Lemos e cols. (1997), a prevalência de reações sorológicas positivas em cães de uma área geográfica põe em evidência o risco de infecção humana, pois os cães serviriam em também como hospedeiros sentinelas dessa doença.

A capivara é um dos principais hospedeiros definitivos para diversos tipos de ectoparasitos, entre eles, o carrapato. Além dos carrapatos do gênero *Amblyomma*, se destaca também a espécie *Rhipicephalus sanguineus*, que é também um possível vetor para a FMB. A capivara muitas vezes pode possuir contato com o ser humano devido ao fato de haver um possível contato entre os animais silvestres e animais domésticos. Já foram também relatados casos de domesticação de capivaras, o que amplia o potencial de disseminação e o potencial zoonótico da doença (CUNHA, et. Al. 2008; MILAGRES, 2010).

Tendo tais entendimentos em mente, é demonstrado que há uma necessidade em realizar a verificação de ectoparasitos nos possíveis equinos reservatórios, sendo feito nesse projeto junto com o perfil da febre maculosa no Brasil nos anos de 2016 e 2017.

Este trabalho teve como objetivo geral descrever as principais características taxonômicas e biológicas dos carrapatos vetores, através de coleta de ectoparasitas de vida livre e em equinos, assim como o diagnóstico molecular destes ectoparasitas quanto à presença de agentes causadores de riquetsiose. Caracterizar o perfil epidemiológico da Febre Maculosa no Brasil nos anos de 2016 e 2017.

2. METODOLOGIA

Foi realizado um estudo epidemiológico descritivo (tempo, pessoa e lugar), sobre as ocorrências de FMB e seus óbitos nos anos de 2016 e 2017. Tais informações foram encontradas do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e a tabulação de tais dados foi feita no TabNet Win32 3.0. Foi também utilizado os programas Microsoft Excel® e Microsoft Word® para elaboração de gráficos. Para o estudo tanto dos reservatórios quanto do vetor, foi utilizado artigos científicos com foco de busca no ciclo do vetor(carrapato) e os sintomas das *Rickettsia spp.* no hospedeiro em questão (equino).

Entre os materiais utilizados para coleta dos ectoparasitos estão relacionados oito potes para coleta de amostra e armazenamento dos carrapatos e tabelas feitas no Microsoft Excel® para tabular informações como idade, raça, sexo dos respectivos hospedeiros.

A coleta dos carrapatos foi feita em duas fazendas localizadas no Distrito Federal e entorno, obtendo três potes de amostra em uma fazenda e cinco de outra em localidades distintas.

Como os carrapatos foram obtidos por meio de doação de ambas as fazendas não foi necessário a aprovação do comitê de ética animal.

2.1. PCR

Para a análise dos vetores quanto à existência de Riquetsias, foi realizado o processo de PCR na Universidade Federal de Viçosa (UFV) - Minas Gerais.

Após a extração de DNA, as amostras foram submetidas a PCR convencional com a utilização dos primers CS 78 (5' - GCA AGT ATC GGT GAG GAT GTA AT - 3') e CS 323 (5' - GCT TCC TTA AAA TTC AAT AAA TCA GGA T - 3') que amplificam um fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*gltA*) para *Rickettsia spp.* pertencentes ao grupo da Febre Maculosa.

Os ectoparasitas coletados foram encaminhados ao Laboratório de Parasitologia e Epidemiologia Molecular do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa para identificação taxonômica que os quais foram identificados de acordo com a chave dicotômica e pictórica descrita por Aragão & Fonseca (1961) e separados segundo gênero, sexo e estágio de desenvolvimento e armazenados. As amostras positivas foram submetidas a PCR

convencional utilizando os primers A8 (5' - GAG CGA GAC TGG AAG GC - 3') e A12 (5' - TGT GCG CAG CAC AGT TTG G - 3'), os quais amplificam um fragmento de 404 pb na presença de DNA de carrapato do gênero *Amblyomma*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

3.1. ESTUDO DESCRITIVO

Após verificar os dados apresentados pelo SINAN, observou-se que nos anos de 2016 e 2017, só ouve um caso confirmado de FMB no Distrito Federal, relativo ao mês de abril de 2016. Nos outros anos, os resultados são os mesmos, havendo apenas um caso nos anos de 2005 e 2006, que no total somam 3 casos em 17 anos, confirmando uma baixa taxa de circulação da bactéria em estudos anteriores.

Verificou-se então o perfil epidemiológico da FMB no Brasil, caracterizando a doença em relação a tempo, pessoa e lugar. Foi também estabelecido as taxas de mortalidade, morbidade e letalidade dos respectivos anos (Tabela 1).

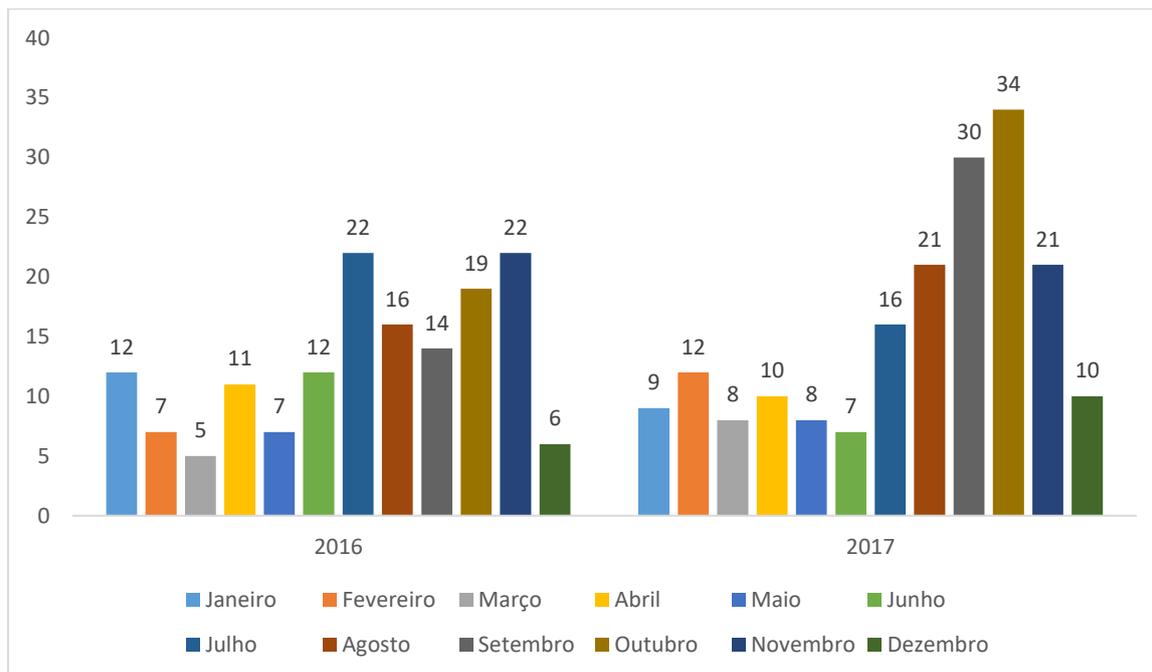
Tabela 1: Taxas de Mortalidade, morbidade e letalidade da FMB nos anos de 2016 e 2017.

	2016	2017
Mortalidade	2,7 a cada 10 mi.	3,4 a cada 10 mi.
Morbidade	7,4 a cada 10 mi.	9 a cada 10 mi.
Letalidade	3,59 a cada 10 doentes	3,76 a cada 10 doentes

Fonte: Brasil, 2019. **Legenda:** mi: milhões de habitantes;

3.1.1. TEMPO

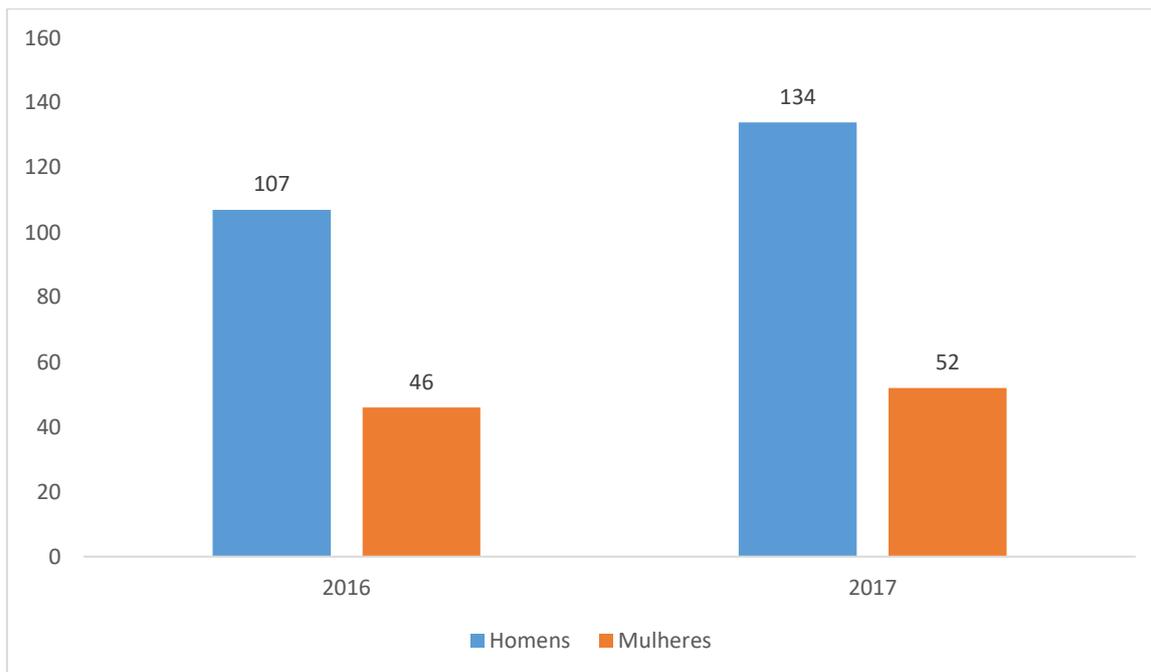
No ano de 2016 e 2017, foi possível perceber um aumento no número de casos nos meses de junho a novembro (Gráfico 1), sendo justificado pelo fato de que o ciclo reprodutivo do carrapato ocorre o ano todo, mas tem seu auge de desenvolvimento em meses quentes, encontrando assim uma maior quantidade de carrapatos adultos nos meses de julho em diante. Nos meses mais frios os processos de desenvolvimento de cada fase podem ser retardados ou até pausados momentaneamente (MONTEIRO, 2010). O ciclo do *Amblyomma cajennense* é trioxeno (três fases) podendo ocorrer cada fase em um hospedeiro dizente devido a saída do mesmo a cada troca. Tais fases são: larval, ninfa e adulta, possuindo um período de ecdise em cada troca (MARTINS, 2014).

Gráfico 1: Mês do primeiro sintoma da FMB dos casos confirmados.

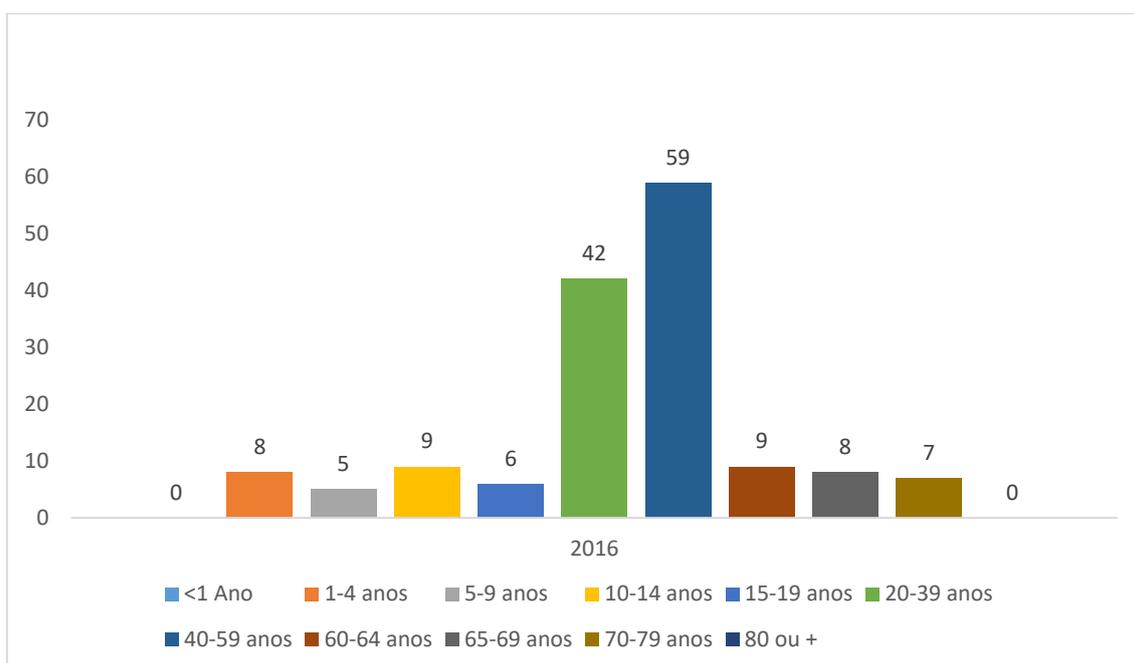
Fonte: BRASIL, 2019.

3.1.2. PESSOA

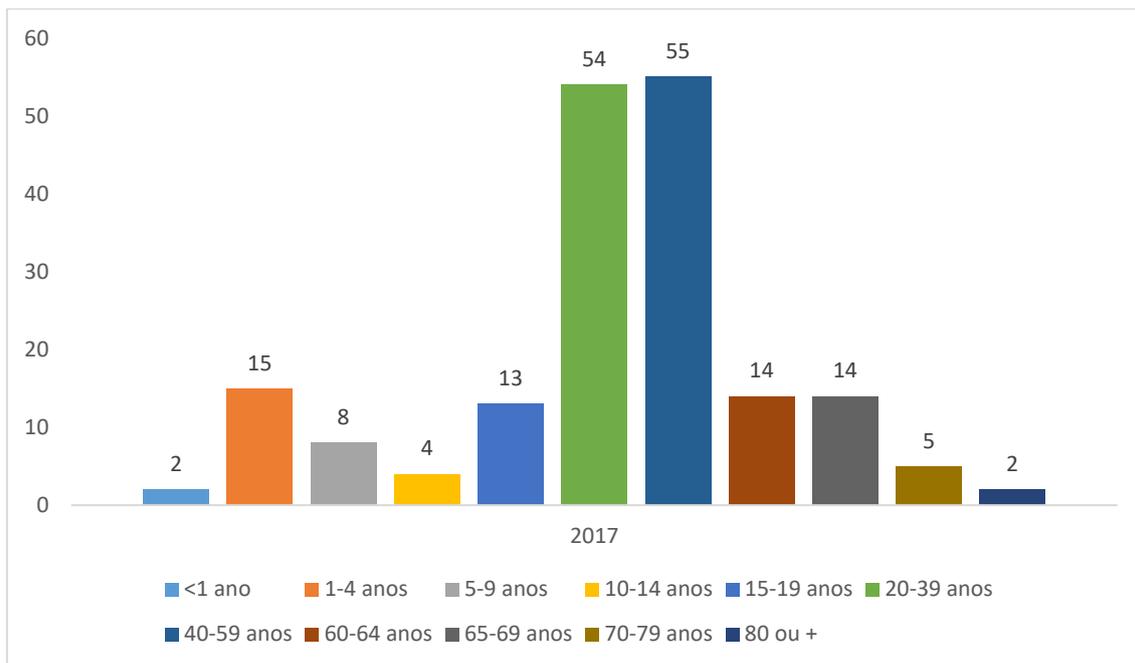
Entre os dados fornecidos pelo SINAN para os agravos relacionado a cada indivíduo, estão relacionados o sexo e a idade. O que é evidente quando se observa essas variáveis é o fato de que homens na faixa etária entre 20 a 59 anos são os mais afetados (Gráficos 2, 3 e 4), gerando a hipótese de que no ambiente rural e perirural a mão de obra predominante de homens nessa faixa etária, fazendo com que os mesmos entrem mais em contato com o vetor. Outro fator que corrobora com essa hipótese é o fato de haver mais casos de infecção em pessoas residentes de tais áreas (Gráfico 5).

Gráfico 2: Casos confirmados de homens e mulheres nos anos de 2016 e 2017.

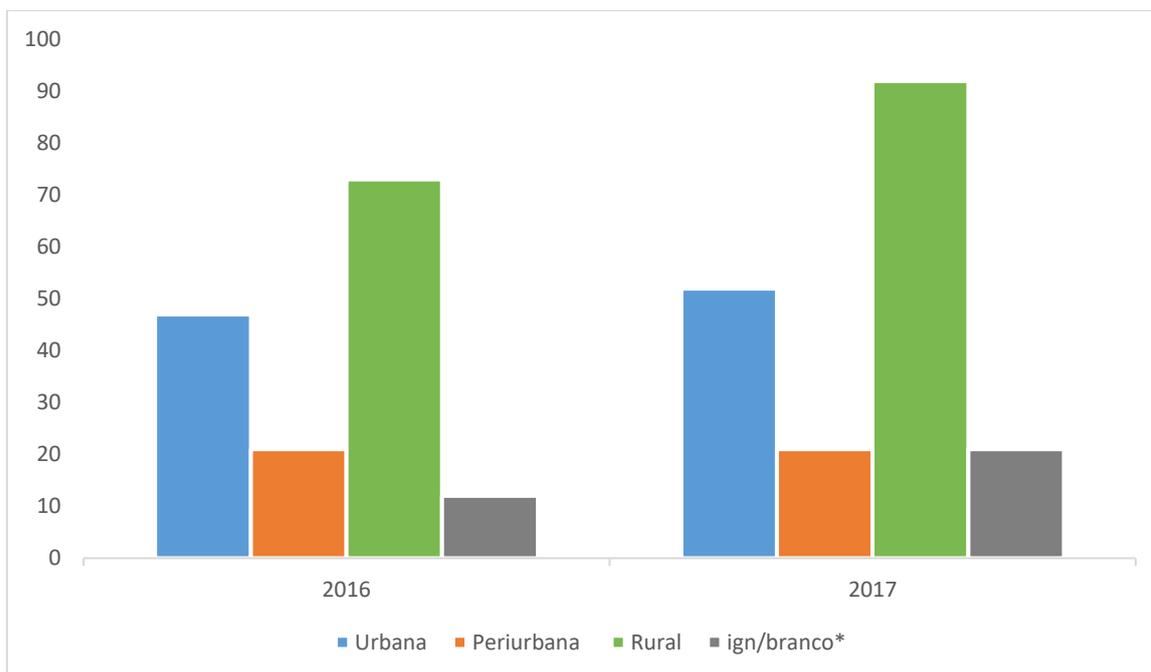
Fonte: BRASIL, 2019.

Gráfico 3: Faixa etária dos casos confirmados de FMB em 2016.

Fonte: BRASIL, 2019.

Gráfico 4: Faixa etária dos casos confirmados de FMB em 2017.

Fonte: BRASIL, 2019.

Gráfico 5: Zona de infecção dos casos confirmados de FMB em 2016 e 2017.

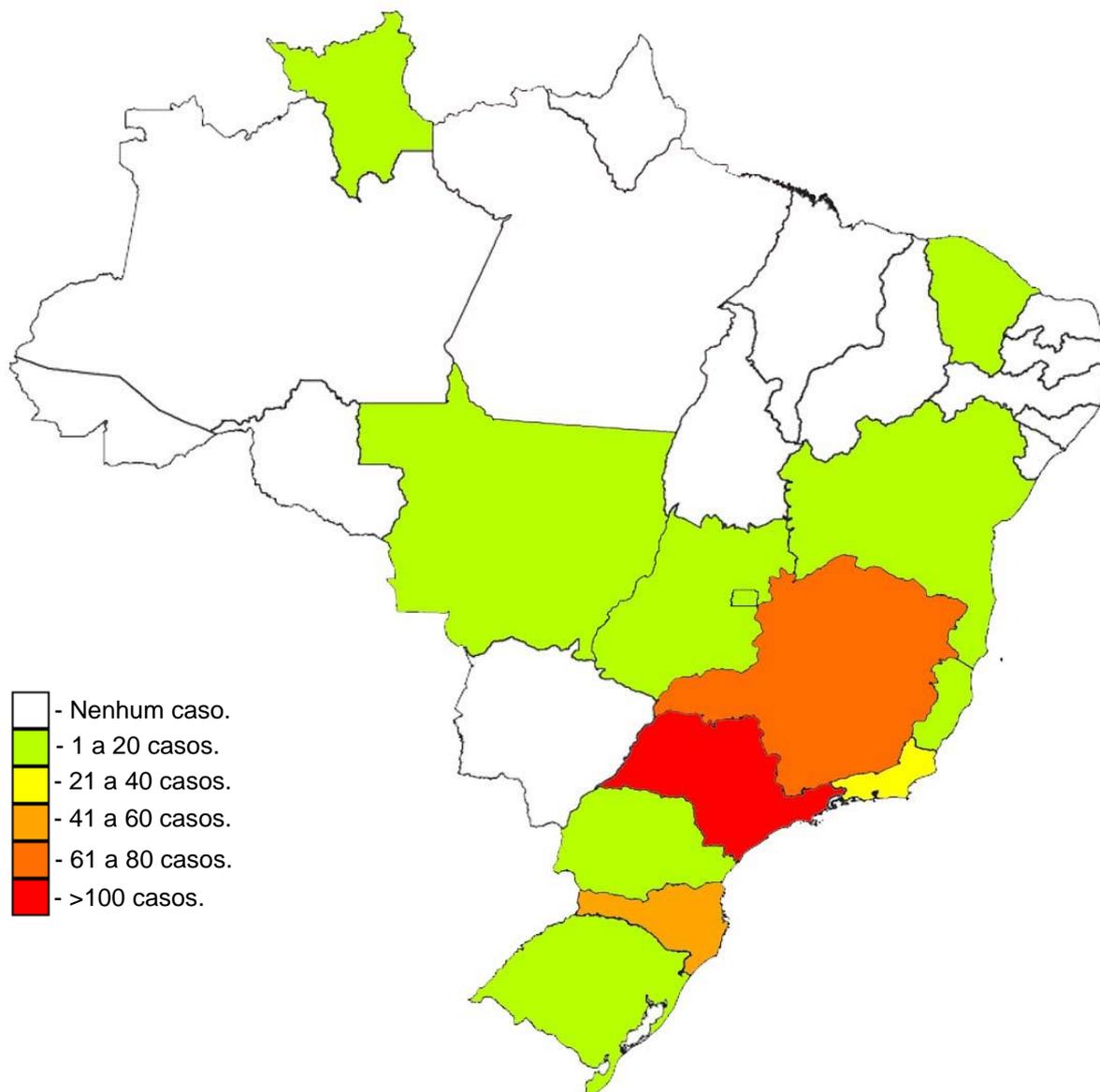
Fonte: BRASIL, 2019.

3.1.3. LUGAR

Observando o mapa relativo à unidade federal de notificação, é possível perceber que a região sudeste é a mais acometida. Além de uma alta densidade de vetores e reservatórios, a alta ocorrência de casos em São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, pode ser explicada também pela proximidade entre tais estados, sua

alta densidade demográfica, expansão da atividade agrícola e desmatamento em função da mesma e o tipo de solo, que propicia o crescimento de plantas que servem de alimento para reservatórios nativos da mata atlântica, tendo como exemplo a capivara (RIBEIRO et, al. 2013).

Figura 1: Distribuição geográfica de casos notificados de FMB.



Fonte: Brasil, 2019.

3.2. COLETA DE ECTOPARASITOS

Foi feita a coleta em ambas as fazendas de diferentes localizações do distrito federal. Os ectoparasitos foram coletados em equinos de diferentes raças, sexo e idade.

Cavalos estão entre os hospedeiros principais dos carrapatos do gênero *Amblyomma* em todos os seus estágios de vida. O trânsito de tais animais nos locais

de coleta está relacionado ao uso do animal para fins de locomoção, recreativos, esportivos e como instrumento de trabalho. Carrapatos desse gênero são os mais comumente encontrados parasitando equinos nas regiões de estudo, incluindo as espécies *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma brasiliense*, *Amblyomma dubitatum* e *Amblyomma rotundatum* (FILHO, et. al. 2008; MARTINS, 2014).

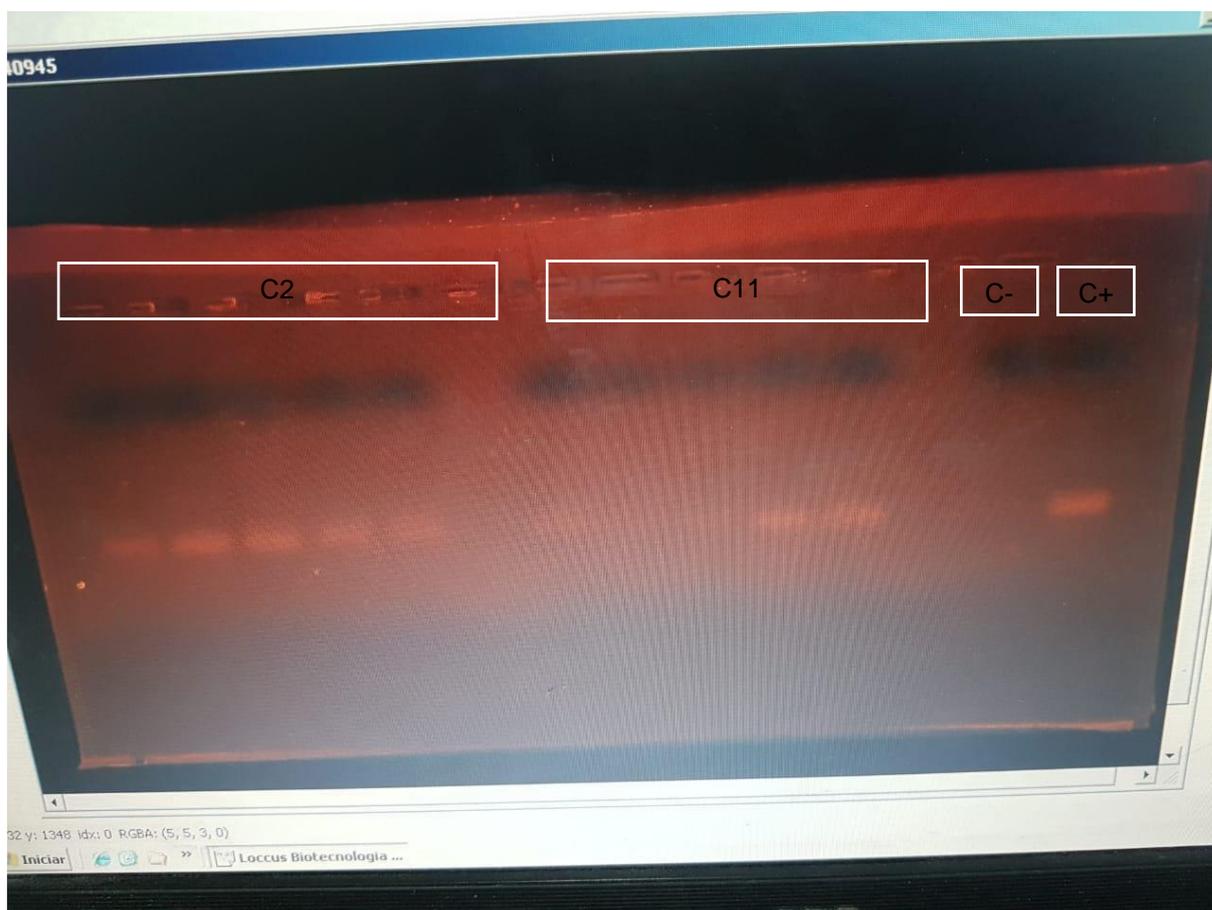
Em cães e equinos do DF já foram obtidos resultados positivos para análises sorológicas de Imunofluorescência, sempre demonstrando uma baixa taxa de circulação da bactéria. Um fator importante é a presença de hospedeiros para os ectoparasitas transitando pela região, incluindo não só equinos, mas também capivaras, cães, pequenos roedores, entre outros (ROCHA, 2013; MARTINS, 2014).

3.3. DIAGNÓSTICO MOLECULAR DOS CARRAPATOS

Foi feita uma análise prévia dos carrapatos com lupa para observar as características fisionômicas. Assim observou-se as características que se encaixavam segundo a chave dicotômica e pictórica descrita por Aragão & Fonseca (1961) e seu estado de ingurgitação, as amostras foram definidas como fêmeas do gênero *Amblyomma*.

Assim previamente definidas, foi feito o PCR em todas as amostras. Todos os carrapatos presentes no pote 2 (C2) estavam infectados com Riquetsia do grupo da febre maculosa. No pote 11 (C11), quatro das amostras presentes apresentaram-se positivas para a presença de Riquetsia (Figura 2). Em ambos os casos foi amplificado o fragmento de 401 pb do gene citrato sintase (*gltA*) para *Rickettsia* spp. pertencentes ao grupo da FMB (LABRUNA et al., 2004).

Figura 2: PCR positivo para verificação de riquetsias dos potes C2 e C11, mostrando o controle positivo e o controle negativo no canto direito da tela.

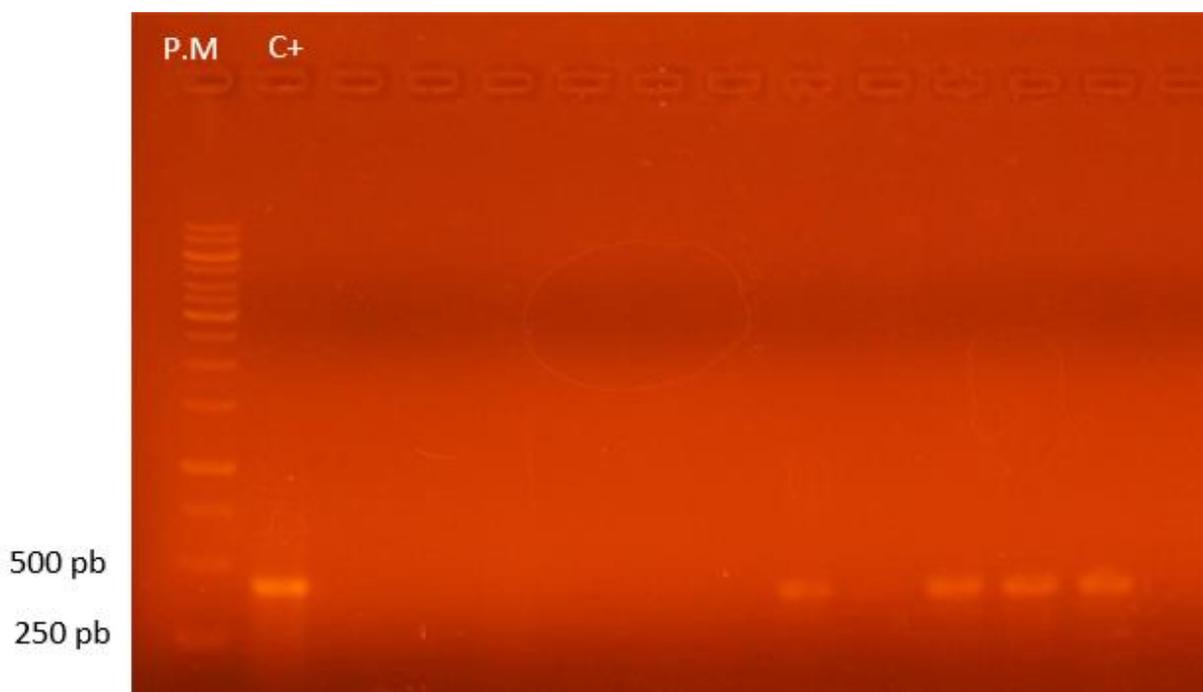


Fonte:UFV – Universidade federal de Viçosa (MG), 2019.

A análise da sequência de nucleotídeos de determinados genes constitui um método bastante apropriado para identificação e análise filogenética de diferentes espécies de riquetsias (REGNERY et al., 1991). A aplicação da PCR oferece um ensaio rápido, sensível e altamente específico para detecção de riquetsias (AZAD et al., 1990). Além disso, o PCR permite, em uma etapa posterior, o sequenciamento de nucleotídeos do gene amplificado. A identificação molecular de organismos do gênero *Rickettsia* através da PCR associada ao sequenciamento é, atualmente, o método padrão para identificação e análise filogenética das diferentes espécies de riquetsias (REGNERY et al., 1991; LA SCOLA & RAOULT, 1997).

Para a verificação do gênero do carrapato, as amostras do pote 2 foram analisadas (as amostras do pote 11 possuíam as mesmas características visualizadas na lupa). Como resultado, as amostras amplificaram em aproximadamente 404 pb como esperado para o gênero *Amblyomma* (Figura 3), confirmando a análise previamente feita.

Figura 3: PCR para verificação do gênero *Amblyomma*, mostrando do lado direito em baixo, os pares de bases amplificados, do lado esquerdo o controle positivo.



Fonte:UFV – Universidade federal de Viçosa (MG), 2019.

O achado comprovado pelo teste molecular para o gene *gltA* em dois locais (Tabela 2) diferentes com um pequeno número amostral pode significar um aumento na circulação de bactérias causadoras da FMB no DF e entorno.

Tabela 2: Informações coletadas dos hospedeiros.

ID do pote	C1	C2	C4	C5	C8	C9	C11	C16
Idade	D	D	D	D	18	20	1	D
Sexo	F	F	M	F	M	F	M	F
Fazenda	B	A	B	A	B	B	B	A

Legenda: ID: Identificação; D: desconhecido; F: fêmea; M: macho; A: fazenda A; B: fazenda B; Em verde, os potes que continham carrapatos infectados.

Os potes C1, C4, C5, C8, C9 e C16 foram negativos para a reação de PCR convencional para *Riquetsia*.

4. CONCLUSÃO

Diante dos dados observados, é possível observar um possível aumento na circulação de bactérias do gênero *Rickettsia* que possivelmente pode chegar a se disseminar em populações rurais, mostrando-se necessário mais estudos na área do DF e entorno para determinar a veracidade e amplitude desse aumento.

A maneira mais eficaz de evitar a FMB é evitando qualquer contato com o vetor. Assim, é necessário o uso de roupas protetoras por parte de pessoas que possuem contato com a natureza. Calças, blusas de manga comprida, botas e luvas são a melhor maneira de evitar com que o vetor entre em contato com a pele do hospedeiro. Outra medida a ser adotada é o uso de produtos repelentes, o que já é feito em cães. No caso dos equinos, o uso de shampoos repelentes é uma medida benéfica no combate de tais vetores.

Todas as medidas a serem tomadas têm como função evitar o contato do vetor com possíveis hospedeiros finais, fazendo com que assim seu ciclo fique incompleto, evitando o crescimento de tais populações.

5.REFERÊNCIAS

- AGOSTINI, M. DA MATTA. **Marcadores moleculares para identificação de carrapatos vetores de agentes rickettsiais**. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) – Programa de Pós-graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2008.
- AZAD, A. F.; WEEB, L.; CARL, M.; DASCH, G. A. **Detection of rickettsiae in arthropod vectors by DNA amplification using the polymerase chain reaction**. *Annals of New York Academy Science*, v.590, p.557-563. 1990.
- CUNHA, Nathalie C *et al.* **First identification of natural infection of Rickettsia rickettsii in the Rhipicephalus sanguineus tick, in the State of Rio de Janeiro**. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro, 18 July 2008.
- FILHO, J. M. *et al.* **Pesquisa de anticorpos anti-Rickettsia rickettsii em equinos do Centro de Controle de Zoonoses do município de São Paulo (CCZ/SP)**. Revistasusp, São Paulo, 2008.
- FREESE, S.; SHEATS, M. Katie. **A Suspected Case of Rocky Mountain Spotted Fever in an Adult Horse in the Southeastern United States**. *Journal of Equine Veterinary Science*, Raleigh, 7 May 2019.
- GALVÃO, M.A. M.; SILVA, L. J., DA; NASCIMENTO, E. M. M.; CALIC, S. B.; SOUZA, R., DE; BACELLAR, F. **Riquetsioses no Brasil e Portugal: ocorrência, distribuição e diagnóstico**. *Revista de Saúde Pública*, v. 39, p. 850-856, 2005.
- LABRUNA M.B., WHITWORTH T., BOUYER D.H., MCBRIDE J., CAMARGO L.M., CAMARGO E.P., *et al.* **Rickettsia bellii and Rickettsia amblyommii in Amblyomma ticks from State of Rondônia Western Amazon, Brazil**. *J Med Entomol*; 41(6): 1073-1081. Brazil, 2004.
- LEMO, E. R. S.; MACHADO, R. D.; PIRES, F. D. A.; MACHADO, S. L.; COSTA, L. M. C.; COURA, J. R. **Rickettsiae-infected ticks in a endemic area of spotted fever in state of Minas Gerais, Brazil**. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 4, p. 477-481, 1997.
- MARTINS, G.P. **DETECÇÃO SOROLÓGICA DE RIQUÉTSIAS DO GRUPO DA FEBRE MACULOSA E LEVANTAMENTO ACAROLÓGICO EM EQUINOS NO DISTRITO FEDERAL, BRASIL**. Unb, Brasília, 2014.
- MILAGRES, B.S. *et al.* **Investigation of rickettsia in synanthropic and domestic animals and in their host from two areas of low endemicity for Brazilian spotted fever, in the east region of Minas Gerais state, Brazil**. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 83, p. 1305-1307, 2010.
- MONTEIRO, S.G., **Parasitologia na medicina veterinária**. Ed. 1 ed., São Paulo: ROCA 2010, p. 8-12.
- PHILLIPS, J. **Rocky Mountain Spotted Fever**. Current Topics, Alabama, 2017.
- REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. **Genotypic identification of Rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two Rickettsial genes**. *Journal of Bacteriology*, v. 173, n. 5, p. 1576-1589, 1991.
- RIBEIRO, M.D. *et al.* **FATORES AMBIENTAIS ENVOLVIDOS NA EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE MACULOSA NO ESTADO DE SÃO PAULO**. *Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde*, São Paulo, 13 maio 2013.

ROCHA, G.C. et al. **Primeiros registros da circulação de riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, em ciclo enzoótico canino, no Planalto Central, Brasil.** In: Encontro Nacional de Vigilância das Zoonoses II. Gramado, 2013.

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

UENO, T.E.H. **Infecção experimental em equinos por *Rickettsia rickettsii* e avaliação da transmissão para carrapatos *Amblyomma cajennense*.** Tese Doutorado em Ciências)±Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.