UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

FELIPE TREVISAN ORTIZ

Ocorrência de infecção por *Rickettsia rickettsii* em hospedeiros do carrapato-estrela no Campus “Luiz de Queiroz”

Piracicaba
2018

FELIPE TREVISAN ORTIZ

Ocorrência de infecção por *Rickettsia rickettsii* em hospedeiros do carrapato-estrela no Campus "Luiz de Queiroz"

Dissertação apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente

Orientador: Prof. Dr. Helder Louvandini

Piracicaba
2018

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Ortiz, Felipe Trevisan
Ocorrência de infecção por *Rickettsia rickettsii* em hospedeiros do carrapato-estrela no Campus "Luiz de Queiroz" / Felipe Trevisan Ortiz; orientador Helder Louvandini. - - Piracicaba, 2018.
93 p. : il.

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Biologia na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. *Amblyomma sculptum* 2. Carrapatos 3. Equinos 4. Febre maculosa – Piracicaba (SP) 5. Gambás 6. Inquéritos epidemiológicos 7. Relação hospedeiro-parasita 8. Técnica indireta de fluorescência para anticorpos 9. Testes imunológicos 10. Zoonoses I. Título

CDU 579.881.1 : 57.083.34

Elaborada por:
Marilia Ribeiro Garcia Henyei
CRB-8/3631
Resolução CFB Nº 184 de 29 de setembro de 2017

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Helder Louvandini, por ter me recebido de braços abertos quando eu procurava um Orientador, mesmo sem nos conhecermos. Me acolheu em seu Laboratório e em sua equipe e sempre me incentivou a buscar experiências que enriquecessem meu período de Mestrado. Muito obrigado pelos exemplos, pela oportunidade e pela confiança.

A todos os demais membros do Laboratório de Nutrição Animal – LANA, que de alguma maneira colaboraram com o desenvolvimento desta pesquisa, fosse auxiliando nas coletas ou discutindo ideias durante um café, Thiago, Gabriel, Egon, Paulinho, Aline, Adibe, William, Vagner, Bia, Camilla, Paula, Murilo, Karinna, Regina, Lécio, Prof. Adibe.

Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA, pela oportunidade de cursar o Mestrado.

A Seção de Transportes do CENA, pelo apoio logístico durante as coletas, em especial ao Sr. Luiz Cláudio Paladini, pelo empenho e alegria com que me acompanhou em todos os dias que estivemos em campo.

Ao pessoal da Manutenção Predial e da Carpintaria pelo apoio durante o período de capturas de gambás.

A Prefeitura do Campus “Luiz de Queiroz”, pelo apoio logístico e fornecimento de materiais utilizados neste trabalho.

A Comissão Técnica Permanente de Prevenção e Controle da Febre Maculosa do Campus “Luiz de Queiroz”, pela disponibilização de estagiários para auxiliar nas coletas e pela oportunidade de acompanhar e colaborar com as atividades entre 2016 e 2018, abrindo espaço para que eu pudesse expor este trabalho à crítica dos demais membros.

A Secretaria da Saúde de Piracicaba, pela disponibilização de dados ainda não publicados sobre a Febre Maculosa no município.

Ao Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, por ter me recebido em seu Laboratório para realização das análises das amostras, pelo auxílio nas leituras das lâminas, identificação de ectoparasitos e discussão dos resultados.

A Carolina Serpa por ter me acompanhado em todas as etapas das análises laboratoriais, triagem e titulação das amostras, confecção a leitura das lâminas.

Ao Prof. Dr. Pedro M. Linardi, pelo auxílio na identificação de uma pulga.

A Natália Peixoto Gaiad, pela confecção das figuras e pelas várias revisões e leituras críticas do manuscrito. Por Curitiba, pelas músicas e lanches. Pela leveza, cafés-da-manhã, sorrisos e cumplicidade. Pelo companheirismo desde sempre e pela paciência no último mês. Mais dias leves e mais cafés.

A CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado.

RESUMO

ORTIZ, F. T. **Ocorrência de infecção por *Rickettsia rickettsii* em hospedeiros do carrapato-estrela no Campus "Luiz de Queiroz".** 2018. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

A Febre Maculosa Brasileira (FMB) é uma doença infecciosa causada por *Rickettsia rickettsii*, transmitida pelo carrapato-estrela *Amblyomma sculptum* no interior do estado de São Paulo, onde equinos e capivaras são utilizados como sentinelas para FMB por serem considerados hospedeiros primários deste carrapato. Objetivou-se com este trabalho verificar a ocorrência de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em sentinelas clássicos (equinos) e potenciais (ovinos, bovinos e gambás) para FMB que vivem em diferentes ambientes do Campus "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba-SP. De fevereiro de 2017 a janeiro de 2018 foram amostrados 156 hospedeiros, 48 que habitam áreas urbanas, sem a presença ou trânsito de capivaras (15 equinos e 33 gambás), 60 ovinos que frequentam pastagens sem presença de capivaras, mas adjacentes a matas ciliares ocupadas pelos roedores, e 48 que frequentam pastagens por onde transitam capivaras (31 bovinos e seis equinos) ou matas ciliares ocupadas pelos roedores (11 gambás). Quando possível, a amostragem envolveu a coleta de ectoparasitos. O soro obtido após centrifugação do sangue colhido foi analisado em duas etapas, triagem e titulação, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Na triagem todas as amostras foram testadas contra *R. rickettsii*, e consideradas positivas se apresentassem título de anticorpos ≥ 64. As amostras positivas foram diluídas na etapa de titulação e testadas contra *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. bellii*, *R. ambyommatis* e *R. rhipicephali* para determinação do título máximo de anticorpos para cada espécie. Das 156 amostras testadas, 15 estavam soropositivas, 1/60 ovinos, 1/31 bovinos, 7/21 equinos e 6/44 gambás; os títulos finais variaram de 64 a 4.096. Foi possível determinar o possível antígeno envolvido em reação homóloga (PAERH) em seis amostras, um equino (*R. bellii*) e quatro gambás e um ovino (*R. rickettsii*). Foram registrados os carrapatos *Amblyomma ovale*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens* e *Rhipicephalus microplus*, e as pulgas *Ctenocephalides felis* e *Siphonaptera: Rhopalopsyllidae* cf. *Rhopalopsyllus*

nos hospedeiros amostrados. Conclui-se que equinos e gambás podem ser utilizados como sentinelas para FMB no Campus "Luiz de Queiroz", mas os ovinos não. Não foi possível concluir se os bovinos podem ser utilizados com esta função. *R. bellii*, ou um microrganismo muito semelhante, ocorre na área urbana do Campus “Luiz de Queiroz” e é capaz de infectar cavalos. *R. rickettsii*, ou um microrganismo muito semelhante, ocorre no Campus “Luiz de Queiroz” em áreas de permanência e trânsito de capivaras.

Palavras-chave: Febre maculosa brasileira. Sentinelas. *Amblyomma sculptum*. *Rickettsia bellii*. Reação de imunofluorescência indireta.

ABSTRACT

ORTIZ, F. T. **Ocurrence of *Rickettsia rickettsii* infection in *Amblyomma sculptum* hosts on the "Luiz de Queiroz" Campus.** 2018. 93 p. Dissertação (Mestrado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2018.

Brazilian Spotted Fever (BSF) is an infectious disease caused by *Rickettsia rickettsii*, transmitted by the tick *Amblyomma sculptum* outside the metropolitan region in the State of São Paulo, where horses and capybaras are used as sentinels for BSF as they are considered primary hosts for this tick. This survey aimed to verify the occurrence of antibodies against *Rickettsia rickettsii* in sentinels (horses) and potential sentinels (sheep, cattle and opossums) for BSF that lives in different environments of the "Luiz de Queiroz" Campus, University of São Paulo, in Piracicaba, SP, Brazil. A total of 156 host were sampled between February of 2017 and January of 2018; 48 that live in urban areas, with no presence or transit of capybaras (15 horses and 33 opossums), 60 sheep that regularly graze on capybara-free pastures adjacent to a riparian forest occupied by these rodents, and 48 that occupy, cross or regularly graze on pastures (31 cows and six horses) or riparian forests (11 opossums) that are areas used by capybaras. Whenever possible, host sampling included ectoparasites collection. Sera obtained after centrifugation of the collected blood was analyzed in two steps, screening and titration, by the indirect immunofluorescence assay technique (IFA). All samples were tested against *R. rickettsii* during the screening, and those that presented antibodies titers ≥ 64 were considered positive. Positive samples were diluted during titration and tested against *R. rickettsii*, *R. parkeri*, *R. bellii*, *R. ambyommatis* and *R. rhipicephali* for determination of maximum antibodies titers for each species. Of the 156 tested samples, 15 were seropositive, 1/60 sheep, 1/31 cows, 7/21 horses and 6/44 opossums; antibodies endpoint titers ranged from 64 to 4.096. Possible antigen involved in a homologous reaction (PAIHR) was determined for six samples, one horse (*R. bellii*), four opossums and one sheep (*R. rickettsii*). The ticks *Amblyomma ovale*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma sculptum*, *Dermacentor nitens* and *Rhipicephalus microplus*, and the fleas *Ctenocephalides felis* and *Siphonaptera: Rhopalopsyllidae* cf. *Rhopalopsyllus* were collected from the sampled hosts.

Results showed that horses and opossums may be used as sentinels for BSF in the “Luiz de Queiroz” Campus, but the sheep do not. It wasn’t possible to determine if the cows may be used as sentinels. *R. bellii*, or a very closely related microorganism, occurs in the urban area of the “Luiz de Queiroz” Campus and is capable to infect horses. *R. rickettsii*, or a very closely related microorganism, occurs in capybara-transit areas of the “Luiz de Queiroz” Campus.

Keywords: Brazilian spotted fever. Sentinels. *Rickettsia bellii*. Indirect immunofluorescence assay.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição mensal dos casos de Febre Maculosa Brasileira no interior do estado e na Grande São Paulo no período de 2003 a 2008 38

Figura 2 – Localização e delimitação das áreas do campus “Luiz de Queiroz”. O local é banhado pelo rio Piracicaba e cortado pelo ribeirão Piracicamirim. Além da área principal, o campus também conta com a Fazenda Areão e com a Seção Técnica de Práticas Esportivas (SCPRAES) 48

Figura 3 – Localização dos pontos de amostragens dos potenciais hospedeiros de carrapatos-estrela no campus “Luiz de Queiroz”. Legendas: LANA: Laboratório de Nutrição Animal; SIPO: Sistema de Produção Intensiva de Ovinos; EQTRP: Equoterapia; LZT: Departamento de Zootecnia da ESALQ; URB: gambás capturados em áreas urbanas; MC: gambás capturados em áreas de mata ciliar 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Mudanças na composição da Ordem *Rickettsiales* desde sua primeira inclusão no *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* em 1948 até 2010. Legenda: Ord.: Ordem; Fam.: Família; Tr.: Tribo; Gen.: Gênero; Subg.: Subgênero 21

Tabela 2 – Crescimento do Gênero *Rickettsia* desde sua primeira inclusão no *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* em 1948 até 2018 23

Tabela 3 – Casos de Febre Maculosa Brasileira registrados em diferentes períodos no Brasil, no Sudeste e no Estado de São Paulo 31

Tabela 4 – Número de casos de Febre Maculosa Brasileira registrados no Brasil, no Sudeste, no Estado de São Paulo e em Piracicaba entre 2001 e 2017 31

Tabela 5 – Municípios paulistas afetados pela Febre Maculosa Brasileira desde 2001. O primeiro número nas colunas "Casos" indica a quantidade de casos registrados entre 2013 e 2017; o número entre parênteses indica a quantidade de casos registrados entre. 2001 e 2017 32

Tabela 6 – Lista de conjugados utilizados para triagem dos soros. Legendas: CCZ = Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de São Paulo 55

Tabela 7 – Volumes e concentrações de soros diluídos para a etapa de Titulação 57

Tabela 8 – Ectoparasitos encontrados nos 60 ovinos e 31 bovinos amostrados no campus "Luiz de Queiroz" entre fevereiro e outobro de 2017. Legenda: SIPO: Sistema Intensivo de Produção de Ovinos; LANA: Laboratório de Nutrição Animal 58

Tabela 9 – Ectoparasitos encontrados nos 21 equinos amostrados no campus "Luiz de Queiroz" entre outubro de 2017 e janeiro de 2018 58

Tabela 10 – Ectoparasitos encontrados nos 44 gambás capturados no campus “Luiz de Queiroz” entre fevereiro e dezembro de 2017. Legenda: URB: áreas sem influência direta de capivaras, como áreas urbanas e peri-urbanas; MC: áreas com influência direta de capivaras, como matas ciliares 59

Tabela 11 – Relação de soros positivos para a presença de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do Grupo da Febre Maculosa na etapa de Triagem em relação ao total de soros obtidos de hospedeiros do campus “Luiz de Queiroz”. Legenda: LANA: Laboratório de Nutrição Animal; SIPO: Sistema Intensivo de Produção de Ovinos; URB: áreas sem influência direta de capivaras, como áreas urbanas e peri-urbanas; MC: áreas com influência direta de capivaras, como matas ciliares 60

Tabela 12 – Títulos máximos de anticorpos encontrados nos soros classificados como positivos na etapa de Triagem. Títulos seguidos de “*” foram ao menos quatro vezes maiores do que para as outras *Rickettsia* spp., indicando possível resposta homóloga aos antígenos de *Rickettsia rickettsii ou Rickettsia bellii*. Legenda: Rr: *Rickettsia rickettsii;* Rp: *Rickettsia parkeri*; Ra: *Rickettsia amblyommatis;* Rb: *Rickettsia bellii*; Rrh: *Rickettsia rhipicephali*; n/r: não reagente; PAERH: possível antígeno envolvido em resposta homóloga 61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCZ	Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de São Paulo
CENA	Centro de Energia Nuclear na Agricultura
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
ESALQ	Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
FMB	Febre Maculosa Brasileira
GFM	Grupo da Febre Maculosa
GSP	Grande São Paulo
GT	Grupo do Tifo
ICMBio	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade
IgG	Imunoglobulina G
LANA	Laboratório de Nutrição Animal
LPS	antígenos lipopolissacarídeos
LQ	“Luiz de Queiroz”
LTZ	Departamento de Zootecnia
PAERH	Possível Antígeno Envolvido em Reação Homóloga
PBS	tampão fosfato salino
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RMSF	*Rocky Mountain Spotted Fever*
rRNA	RNA ribossômico
SIPO	Sistema Intensivo de Produção de Ovinos
SMA	Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo
STG	*Scrub Typhus Group*
SUCEN	Superintendência de Controle de Endemias
VPS	Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

SUMÁRIO

1. Introdução 17

2. Objetivo 18

3. Revisão da Literatura 19

3.1. Riquétsias, simbiontes e patógenos de eucariontes 19

3.2. Febre Maculosa Brasileira, panorama histórico e contemporâneo 30

3.3. Febre Maculosa cutâneo-ganglionar, riquetsiose emergente no Brasil 34

3.4. Ecologia da Febre Maculosa Brasileira no estado de São Paulo 35

3.5. Uso da Reação de Imunofluorescência Indireta e de hospedeiros sentinelas em inquéritos sorológicos de Febre Maculosa Brasileira 39

3.6. Ovinos, seus ectoparasitos e relação com *Amblyomma sculptum* 41

3.7. Bovinos, seus ectoparasitos e relação com *Amblyomma sculptum* 42

3.8. Equinos, seus ectoparasitos e relação com *Amblyomma sculptum* 44

3.9. Papel dos gambás na ecologia da Febre Maculosa Brasileira 45

4. Material e Métodos 47

4.1. Descrição da área estudada 47

4.2. Amostragem dos hospedeiros do Campus “Luiz de Queiroz” 49

4.3. Coletas de ectoparasitas dos hospedeiros amostrados 53

4.4. Análise das amostras pela Reação de Imunofluorescência Indireta 53

4.5. Análises estatísticas 57

5. Resultados 58

5.1. Ectoparasitas encontrados nos hospedeiros amostrados..... 58

5.2. Resultados da etapa de Triagem dos soros dos hospedeiros 59

5.3. Títulos máximos de anticorpos nos soros positivos 60

6. Discussão..... 62

6.1. Ovinos..... 62

6.2 Bovinos 64

6.3 Equinos..... 66

6.4 Gambás 69

7. Conclusões 72

Referências..... 73

1. INTRODUÇÃO

O município de Piracicaba é considerado área endêmica para a Febre Maculosa Brasileira (FMB), doença infectocontagiosa causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*, com 982 casos confirmados desde 2001 em São Paulo, estado mais afetado pela doença no Brasil. A principal característica compartilhada pelas áreas endêmicas do interior paulista é a presença de elevado número de capivaras, cujas populações aumentaram devido às modificações ocorridas na paisagem do estado nas últimas décadas, como redução acentuada da cobertura vegetal natural, expansão das áreas ocupadas por cultivos, e extinção funcional de grandes predadores (FERRAZ et al., 2009). Estas populações em desequilíbrio, além de serem potenciais pragas agrícolas, também representam risco à saúde pública quando próximas de populações humanas devido ao papel das capivaras como amplificadoras da bactéria causadora da FMB (SOUZA et al., 2009) e hospedeiros primários do carrapato-estrela *Amblyomma sculptum*, vetor do patógeno (LABRUNA, 2009).

Os estádios imaturos de *A. sculptum* apresentam baixa especificidade parasitária (ARAGÃO, 1936; LOPES et al., 1998), havendo registros de parasitismo em diversos vertebrados, como cobras, aves, cavalo, boi, ovelha, cabra, cão, gato, porco, tamanduás, tatus, gambá, quati, cutia, capivara, anta, humanos, entre outros.

Por se tratar de uma zoonose de severa gravidade que pode ser letal, as áreas endêmicas e de risco são alvos de vigilância epidemiológica constante, realizada por meio de inquéritos sorológicos conduzidos por órgãos públicos de saúde locais/regionais. É praxe a coleta de sangue de cães domésticos na Grande São Paulo e de cavalos no interior do estado, pela facilidade em se obter estas amostras e pelo fato destes animais – chamados sentinelas – participarem do ciclo de vida dos carrapatos-estrela, estando mais expostos do que os humanos ao parasitismo. Tão recorrente, a amostragem destes hospedeiros foi oficialmente instituída como padrão neste tipo de investigação (SÃO PAULO, 2016). Por estas razões, pouco se explorou sobre o potencial de outras espécies no cumprimento da função de sentinelas, sendo possível que outros animais domésticos, como bovinos e ovinos, e animais silvestres sinantrópicos, como gambás, também possam ser amostrados com esta finalidade.

2. OBJETIVO

Determinar a presença de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* em soros sanguíneos obtidos de sentinelas clássicos (equinos) e potenciais (ovinos, bovinos e gambás) do Campus “Luiz de Queiroz” da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, SP.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Riquétsias, simbiontes e patógenos de eucariontes

Tradicionalmente realizada com base apenas na análise fenotípica dos microrganismos (características morfológicas, metabólicas e fisiológicas), a taxonomia bacteriana passou por grandes transformações nas últimas décadas, adotando também as análises genotípicas e filogenéticas para a classificação e nomenclatura de bactérias (MADIGAN et al., 2010a). As técnicas moleculares permitiram o esclarecimento de relações filogenéticas entre espécies de bactérias, sobretudo bactérias intracelulares (RAOULT; VOUX, 1997), especialmente a análise dos genes que codificam o rRNA 16S (presentes em todos os procariotos e conservados ao longo do processo de Evolução), considerada o “padrão-ouro” para a identificação e descrição de novas espécies (MADIGAN et al., 2010a).

Dentro do domínio *Bacteria*, o filo *Proteobacteria* é constituído por microrganismos Gram-negativos que apresentam ampla variedade metabólico-energética, fisiológica e morfológica. O filo é composto por cinco classes, *Epsilon*-, *Delta*-, *Gamma*-, *Beta*- e *Alphaproteobacteria*, sendo esta a classe em que se encontram as riquétsias, bactérias pequenas (1 a 2 µm de comprimento; 0,3 a 07 µm de largura), cocoides ou bacilares, parasitas intracelulares obrigatórias, agentes etiológicos de diversas doenças em humanos (*e.g.* tifo, febre maculosa, febre Q) e outros animais (*e.g.* ehrlichiose em cães, febre Potomac em cavalos) (MADIGAN et al., 2010c).

Embora as primeiras investigações sobre estes microrganismos datem do início do século XX (RICKETTS, 1906; 1907a; 1907b) e o termo “*Rickettsias*” já fosse empregado em publicações em 1931 (INSTITUTO BUTANTAN, 1935), eles não foram reconhecidos como um grupo até o final dos anos 1930s, não figurando na principal referência sobre o assunto na época – *Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology* – até sua quinta edição (BERGEY et al., 1939). O agrupamento das riquétsias em um clado próprio ocorreu em 1939, quando o médico polonês Marian Teodor Ludwik Gieszczykiewicz propôs a criação da ordem *Rickettsiales*. Esta ordem foi incluída na sexta edição do *Bergey’s Manual of Determinative*

Bacteriology, mas em um suplemento da obra, por ainda não ser possível determinar sua relação com os outros microrganismos (BREED; MURRAY; HITCHENS, 1948). Nas edições posteriores a ordem *Rickettsiales* Gieszczykiewicz 1939 sempre esteve presente, aumentando e diminuindo de tamanho (Tabela 1) conforme novas espécies, gêneros e famílias foram descritas, incluídas, modificadas e/ou removidas (BREED; MURRAY; SMITH, 1957; MOULDER, 1974; WEISS; MOULDER, 1984; BOONE; CASTENHOLZ; GARRITY, 2001; BRENNER et al., 2005; GARRITY et al., 2007; MADIGAN et al., 2010b).

Tabela 1 – Mudanças na composição da Ordem *Rickettsiales* desde sua primeira inclusão no *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* em 1948 até 2010. Legenda: Ord.: Ordem; Fam.: Família; Tr.: Tribo; Gen.: Gênero; Subg.: Subgênero

1948	1957	1974	1984	2001	2010
Ord. *Rickettsiales*	**Ordem *Rickettsiales***	**Ordem *Rickettsiales***	**Ordem *Rickettsiales***	**Ordem *Rickettsiales***	**Ordem *Rickettsiales***
Fam. *Rickettsiaceae*	**Fam. *Rickettsiaceae***	**Fam. *Rickettsiaceae***	**Fam. *Rickettsiaceae***	**Fam. *Rickettsiaceae***	**Fam. *Rickettsiaceae***
Gen. Rickettsia	Tr. Rickettsieae	Tr. Rickettsieae	Tr. Rickettsieae	*Gen. Rickettsia*	*Gen. Rickettsia*
Gen. Coxiella	*Gen. Rickettsia*	*Gen. Rickettsia*	*Gen. Rickettsia*	*Gen. Orientia*	*Gen. Orientia*
Gen. Cowdria	Subg. Rickettsia	*Gen. Rochalimaea*	*Gen. Rochalimaea*	*Gen. Wolbachia*	**Fam. *Anaplasmataceae***
Fam. *Bartonellaceae*	Subg. Zinssera	*Gen. Coxiella*	*Gen. Coxiella*	**Fam. *Ehrlichiaeae***	*Gen. Anaplasma*
Gen. Bartonella	Subg. Dermacentroxenus	Tr. Ehrlichieae	Tr. Ehrlichieae	*Gen. Ehrlichia*	*Gen. Aegyptianella*
Gen. Haemobartonella	Subg. Rochalimaea	*Gen. Ehrlichia*	*Gen. Ehrlichia*	*Gen. Aegyptianella*	*Gen. Cowdria*
Gen. Grahamella	*Gen. Coxiella*	*Gen. Cowdria*	*Gen. Cowdria*	*Gen. Anaplasma*	*Gen. Ehrlichia*
Gen. Eperythrozoon	Tr. Ehrlichieae	*Gen. Neorickettsia*	*Gen. Neorickettsia*	*Gen. Cowdria*	*Gen. Neorickettsia*
Fam. *Chlamydozoaceae*	*Gen. Ehrlichia*	Tr. Wolbachieae	Tr. Wolbachieae	*Gen. Neorickettsia*	*Gen. Wolbachia*
Gen. Chlamydozoon	*Gen. Cowdria*	*Gen. Wolbachia*	*Gen. Wolbachia*	**Fam. *Holosporaceae***	*Gen. Xenohaliotis*
Gen. Miyagawanella	*Gen. Neorickettsia*	*Gen. Symbiotes*	*Gen. Rickettsiella*	*Gen. Holospora*	**Fam. *Holosporaceae***
Gen. Colesiota	Tr. Wolbachieae	*Gen. Blattabacterium*	**Fam. *Bartonellaceae***	*Gen. Caedibacter*	*Gen. Holospora*
APÊNDICE	*Gen. Wolbachia*	*Gen. Rickettsiella*	*Gen. Bartonella*	*Gen. Lyticum*	***GÊNEROS INCERTAE SEDIS***
Gen. Caryococcus	*Gen. Symbiotes*	**Fam. *Bartonellaceae***	*Gen. Grahamella*	*Gen. Polynucleobacter*	*Gen. Caedibacter*
Gen. Drepanospira	*Gen. Rickettsiella*	*Gen. Bartonella*	**Fam. *Anaplasmataceae***	*Gen. Pseudocaedibacer*	*Gen. Lyticum*
Gen. Holospora	**Fam. *Chlamydiaceae***	*Gen. Grahamella*	*Gen. Anaplasma*	*Gen. Symbiotes*	*Gen. Odyssella*
	Gen. Chlamydia	**Fam. *Anaplasmataceae***	*Gen. Aegyptianella*	*Gen. Tectibacter*	*Gen. Pseudocaedibacer*
	Gen. Colesiota	*Gen. Anaplasma*	*Gen. Haemobartonella*		*Gen. Symbiotes*
	Gen. Ricolesa	*Gen. Paranaplasma*	*Gen. Eperythrozoon*		*Gen. Tectibacter*
	Gen. Colettsia	*Gen. Aegyptianella*			
	Gen. Miyagawanella	*Gen. Haemobartonella*			
	Fam. *Bartonellaceae*	*Gen. Eperythrozoon*			
	Gen. Bartonella				
	Gen. Grahamella				
	Gen. Haemobartonella				
	Gen. Eperythrozoon				
	Fam. *Anaplasmataceae*				
	Gen. Anaplasma				

Fonte: Breed, Murray e Hitchens (1948), Breed, Murray e Smith (1957), Moulder (1974), Weiss e Moulder (1984), Boone, Castenholz e Garrity (2001), Madigan et al. (2010b)

Esforços da comunidade científica no sentido de organizar a taxonomia de *Bacteria* levaram a elaboração de lista revisada dos nomes científicos válidos para os microrganismos em 1980 (SKERMAN; MCGOWAN; SNEATH, 1989). Adicionalmente, foi revisado em 1990 o *International Code of Nomenclature of Bacteria: Bacteriological Code* (LAPAGE et al., 1992), estabelecendo os seguintes critérios para aceitação da validade de um táxon: a) ser reconhecido por Skerman, McGowan e Sneath (1989); ou b) ter sido publicado no *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM) ou no *International Journal of Systematic Bacteriology* (IJSB); ou c) caso tenha sido publicado em outro periódico, constar em uma Lista de Validação publicada no IJSEM ou no IJSB. Desta maneira, desde a lista revisada de 1980, outras duas propostas de alteração em *Rickettsiales* foram validadas (BRENNER et al.,1993; DUMLER et al., 2001). Outras propostas foram publicadas, mas não validadas, desde 2001; como a criação de novas ordens (KUYKENDALL, 2005) e profundas reorganizações de *Rickettsiales*, com a exclusão da família *Holosporaceae* (a ser colocada na nova ordem “Holosporales”) e a criação de uma nova família “Midchloriaceae” (SZOKOLI et al., 2016).

A família *Rickettsiaceae*, no entanto, permanece inalterada desde 2001, contando com dois gêneros, *Rickettsia* da Rocha-Lima 1916 e *Orientia* Tamura et al. (1995). Ao contrário de outros gêneros de *Rickettsiales*, *Rickettsia* nunca foi posicionado em outra família e cresce em número de espécies válidas desde sua criação, passando de seis em 1948 para 30 em 2018 (EUZÉBY, 1997; PARTE, 2013, 2018)(Tabela 2).

Tabela 2 – Crescimento do Gênero *Rickettsia* desde sua primeira inclusão no *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* em 1948 até 2018

1948	**1957**	**1974**	**1984**	**2001**	**2007**	**2018**
R. prowazekii	*R. prowazekii*	*R. prowazekii*	*R. prowazekii*	*R. prowazekii*	*R. prowazekii*	*R. aeschlimannii*
R. typhi	*R. typhi*	*R. typhi*	*R. typhi*	*R. typhi*	*R. aeschlimannii*	*R. africae*
R. rickettsii	*R. rickettsii*	R. canada	R. canada	*R. aeschlimannii*	*R. africae*	*R. akari*
R. conorii	*R. conorii*	*R. rickettsii*	*R. rickettsii*	*R. africae*	*R. akari*	*R. amblyommatis*
R. akari	*R. akari*	*R. sibirica*	*R. sibirica*	*R. akari*	*R. australis*	*R. asembonensis*
R. tsutsugamushi	*R. australis*	*R. conorii*	*R. conorii*	*R. australis*	*R. bellii*	*R. asiatica*
	R. quintana	*R. akari*	*R. akari*	*R. conorii*	*R. cananadensis*	*R. australis*
	R. tsutsugamushi	*R. australis*	*R. australis*	*R. felis*	*R. conorii*	*R. bellii*
		R. parkeri	*R. parkeri*	*R. helvetica*	*R. felis*	*R. buchneri*
		R. tsutsugamushi	*R. montana*	*R. honei*	*R. heilongjiangensis*	*R. cananadensis*
			R. rhipicephali	*R. japonica*	*R. helvetica*	*R. conorii*
			R. tsutsugamushi	*R. massiliae*	*R. honei*	*R. felis*
				R. montanensis	*R. japonica*	*R. gravesii*
				R. parkeri	*R. massiliae*	*R. heilongjiangensis*
				R. peacockii	*R. montanensis*	*R. helvetica*
				R. rhipicephali	*R. parkeri*	*R. honei*
				R. rickettsii	*R. peacockii*	*R. hoogstraalii*
				R. sibirica	*R. rhipicephali*	*R. japonica*
				R. slovaca	*R. rickettsii*	*R. massiliae*
				R. bellii	*R. sibirica*	*R. montanensis*
				R. cananadensis	*R. slovaca*	*R. parkeri*
					R. tamurae	*R. peacockii*
					R. typhi	*R. prowazekii*
						R. raoultii
						R. rhipicephali
						R. rickettsii
						R. sibirica
						R. slovaca
						R. tamurae
						R. typhi

Fonte: Breed, Murray e Hitchens (1948), Breed, Murray e Smith (1957), Moulder (1974), Weiss e Moulder (1984), Euzéby (1997), Boone, Castenholz e Garrity (2001), Garrity et al. (2007), Parte (2013, 2018)

As espécies do gênero *Rickettsia* foram tradicionalmente divididas em três grupos com base em características fenotípicas, o grupo do tifo (GT), o grupo da febre maculosa (GFM) e o *scrub typhus group* (STG) (WEISS; MOULDER, 1984). Em 1995 este arranjo passou por modificações, com a proposta de se classificar *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis* em um quarto grupo – "grupo ancestral" – por terem divergido da linhagem ancestral antes da divergência do GT e do GFM (STOTHARD; FUERST, 1995), e com a reclassificação de *Rickettsia tsutsugamushi* como *Orientia tsutsugamushi* (TAMURA; OHASHI; URAKAMI, 1995), removendo o STG do gênero *Rickettsia*.

Atualmente a classificação em grupos também leva em consideração características genotípicas e antigênicas, como descrito abaixo (YU; WALKER, 2005):

- Grupo do Tifo (GT): as espécies deste grupo são transmitidas por piolhos e/ou pulgas; ocupam apenas o citoplasma da célula hospedeira; apresentam atividade hemolítica; propagam-se e se acumulam no interior da célula hospedeira até que ela se rompa, liberando os microrganismos para que infectem novas células; não apresentam a proteína *omp*A; possuem antígenos similares aos da linhagem OX19 de *Proteus vulgaris* e compartilham antígenos lipopolissacarídicos (LPS) típicos do GT.
- Grupo da Febre Maculosa (GFM): de maneira geral as espécies deste grupo são quase exclusivamente transmitidas por carrapatos; além do citoplasma podem ocupar também o núcleo da célula hospedeira; não apresentam atividade hemolítica; não se acumulam em grandes quantidades na célula hospedeira, propagam-se para outras células ao estimular a polimerização de caudas de actina; apresentam a proteína *omp*A; possuem antígenos similares aos da linhagem OX2 de *Proteus vulgaris* e compartilham LPS típicos do GFM.

As diversas espécies do GFM isoladas ao longo do século XX a partir de carrapatos infectados foram inicialmente caracterizadas como endossimbiontes ou bactérias não-patogênicas, sendo contemporânea a noção de que diversas *Rickettsia spp.* patogênicas podem circular em uma ou mais espécies de carrapatos vetores numa dada área. A classificação de uma *Rickettsia* sp. como potencial

patógeno humano depende de: a) probabilidade de ser transmitida pelo artrópode vetor (via picada ou fezes); b) se a espécie de artrópode vetor apresenta frequente parasitismo humano; c) se a espécie de artrópode vetor se encontra em níveis em que ocorra parasitismo humano; d) prevalência da *Rickettsia* sp. na população do artrópode vetor; e) existência de hospedeiros sinantrópicos dos artrópodes vetores (PAROLA; RAOULT, 2001; PAROLA; PADDOCK; RAOULT, 2005).

Na América do Sul havia registro de apenas três espécies de *Rickettsia* até 2000, *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi* (GT) e *R. rickettsii* (GFM), todas patogênicas para humanos (LABRUNA, 2009). A partir de 2000 diversas outras espécies foram registradas no continente, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia massiliae*; *Rickettsia rhipicephali*, *R. bellii, Rickettsia felis* e *Rickettsia amblyommatis* (LABRUNA et al., 2011a; PAROLA et al., 2013).

Com exceção de *R. prowazekii* e *R. massiliae*, todas as espécies citadas anteriormente ocorrem no Brasil e no Estado de São Paulo (SILVA; PAPAIORDANOU, 2004; HORTA et al., 2005; HORTA et al., 2007; PACHECO et al., 2007; LABRUNA et al., 2011a; PAROLA et al., 2013; SOARES et al., 2015; KARPATHY et al., 2016).

3.1.1. *Rickettsia typhi*

Espécie do GT, causadora do tifo murino e com importância reduzida para Saúde Pública no Brasil. Casos foram relatados com maior frequência no estado de São Paulo, especialmente no município de São Sebastião da Grama nas décadas de 1940 e 1950, com um registro isolado em Campinas em 1980, e um registro em Ubiratã, no Paraná, em 1998 (SILVA; PAPAIORDANOU, 2004). Como os laboratórios de referência brasileiros geralmente não possuem antígenos de espécies do GT disponíveis para realização de testes sorológicos e não há reação cruzada entre espécies do GT e do GFM, é possível que casos da doença ocorram no país, mas não sejam diagnosticados (LABRUNA, 2009).

3.1.2. *Rickettsia rhipicephali*

Espécie do GFM, amplamente distribuída no mundo, presente em todos os continentes, exceto Oceania e Antártida, mas de potencial patogênico desconhecido, sem casos de infecção humana registrados (PAROLA et al., 2013; SILVA et al., 2016). Descoberta e isolada nos Estados Unidos (BURGDORFER et al., 1975), o primeiro registro da ocorrência desta espécie na América do Sul foi feito a partir do isolamento do microrganismo de carrapatos *Haemaphysalis juxtakochi* coletados no estado de São Paulo (LABRUNA et al., 2007b), ocorrendo também no Amazonas (LABRUNA et al., 2007c) e em Rondônia (LABRUNA et al., 2005).

3.1.3. *Rickettsia bellii*

Rickettsia bellii pertence ao chamado “grupo ancestral” (STOTHARD; FUERST, 1995), sua ocorrência se restringe ao continente Americano, onde é amplamente distribuída, mas de potencial patogênico desconhecido, sem casos de infecção humana registrados. É a *Rickettsia* com maior variedade de carrapatos hospedeiros na América do Sul (PAROLA et al., 2013), 25 espécies (COSTA et al., 2017a), e a mais frequente em carrapatos no Brasil (LABRUNA et al., 2007b), havendo evidência de infecção em capivaras (PACHECO et al., 2007), cães e cavalos (FORTES et al., 2010; AMORIM et al., 2013) no país.

3.1.4. *Rickettsia felis*

Espécie reconhecida como patógeno humano pela primeira vez nos Estados Unidos (SCHRIEFER et al., 1994) e posteriormente no México (ZAVALA-VELASQUEZ et al., 2000), França e Brasil (RAOULT et al., 2001), sendo considerada atualmente uma causa comum de casos de febre na África subsaariana (PAROLA, 2011). Apresenta distribuição cosmopolita, assim como seu principal vetor e reservatório, a pulga *Ctenocephalides felis*, sendo também capaz de infectar outros artrópodes como mosquitos, carrapatos e outros ácaros (BROWN; MACALUSO, 2016).

A avaliação nacional conduzida por Horta et al. (2014) demonstrou a ocorrência de *R. felis* em todas as regiões e biomas brasileiros, inclusive no estado de São Paulo, indicando o risco de ocorrência de febre causada pelo patógeno em todo o país, embora os dois casos relatados por Raoult et al. (2001) sejam os únicos registrados no Brasil. Mesmo pessoas frequentemente picadas por pulgas infectadas por *R. felis* podem não desenvolver um quadro clínico de febre, ainda que tenham sido infectadas pela bactéria (HORTA et al., 2010). Apesar de o patógeno estar presente na maioria das populações destas pulgas, a escassez de casos levou a especulação da baixa competência vetorial de *Ctenocephalides* spp. (LABRUNA, 2009), visto que a bactéria primeiro coloniza o intestino e outros tecidos antes de infectar as glândulas salivares das pulgas (THEPPARIT et al., 2013). Alternativamente, o patógeno poderia ser transmitido ao hospedeiro pela ingestão de pulgas infectadas ou pelo contato de mucosas ou ferimentos na pele com fezes do artrópode contendo *R. felis* (LABRUNA, 2009). Dieme et al. (2015) demonstraram que picadas de *Anopheles gambiae*, mosquito considerado o principal vetor de malária na África subsaariana, infectados por *R. felis* foram capazes de provocar um quadro de riquetsemia em camundongos, indicando o potencial do mosquito como vetor do patógeno, o que poderia explicar a maior proporção de casos registrados naquela região.

3.1.5. *Rickettsia amblyommatis*

Espécie do GFM ocorre apenas no continente Americano (Estados Unidos, Costa Rica, Panamá, Brasil, Argentina e Guiana Francesa), onde é encontrada infectando diversas *Amblyomma* spp., além de outros carrapatos como *Rhipicephalus sanguineus* e *Dermacentor nitens* (PAROLA et al., 2013; KARPATHY et al., 2016). Embora haja evidências sorológicas de infecção em cães no Brasil (LABRUNA et al., 2007c; MELO et al., 2011), o potencial do microrganismo como patógeno é desconhecido, não havendo registro de casos de infecção humana provocadas por *R. amblyommatis*.

3.1.6. *Rickettsia rickettsii*

Espécie mais estudada do GFM, ocorre apenas no continente Americano (PAROLA et al., 2013), com registros no Canadá (DUNCAN, 1937; BOW; BROWN, 1945), Estados Unidos (BURGDORFER, 1977; YU; WALKER, 2005), México (ALVARÉZ-HERNÁNDEZ et al., 2017), Costa Rica (FUENTES, 1986; HUN-OPFER, 2008; ARGUELLO et al., 2012), Panamá (ESTRIPEAUT et al., 2007; TRIBALDOS et al., 2011), Colômbia (HIDALGO et al., 2007; 2011), Argentina (PADDOCK et al., 2008) e Brasil (MOREIRA; MAGALHÃES, 1935; ANGERAMI et al., 2009a; PINTER et al., 2011). É o agente etiológico da Febre Maculosa Brasileira (FMB) e da *Rock Mountain Spotted Fever* (RMSF), primeira febre maculosa descrita, no início do século XX na região das Montanhas Rochosas dos Estados Unidos. Os primeiros estudos sobre o microrganismo foram conduzidos por Howard Taylor Ricketts, que o descrevia como uma forma bacilar de tamanho reduzido (RICKETTS, 1909) e observou a manutenção transestadial e a passagem transovariana do patógeno em carrapatos *Dermacentor occidentalis* Marx, 1892, bem como a competência vetorial deste ixodídeo (RICKETTS, 1906; 1907a; 1907b). Ricketts morreu em 1910 em decorrência de tifo, doença que estudava no México, de maneira que não aprofundou suas investigações sobre a RMSF (BURGDORFER, 1977). A espécie foi descrita por Wolbach (1919), que homenageou o pesquisador pioneiro denominando-a *Dermacentroxenus rickettsi*. Hoje conhecida como *Rickettsia rickettsii* (Wolbach, 1919), a espécie é um dos patógenos de maior importância médico-veterinária no continente americano e o segundo mais letal para humanos, superado apenas pelo vírus rábico (LABRUNA; MACHADO, 2006). Há registro de diversos casos fatais de infecção por *R. rickettsii* associados a atividades laboratoriais de seus investigadores (PIKE, 1976), inclusive no Brasil (INSTITUTO BUTANTAN, 1935).

Recentemente foi comprovada a existência de ao menos quatro clados distintos de *R. rickettsii* no continente Americano, um deles ocorrendo na América do Sul e três ocorrendo entre México e Estados Unidos, país no qual há variantes que provocam quadros clínicos menos severos e taxas de mortalidade menores que as registradas no Brasil (PADDOCK et al., 2014). Labruna et al. (2014) demonstraram a ocorrência de elevado grau de polimorfismo entre os clados norte-americanos, contrastando com o baixo grau de polimorfismo observado entre os isolados

sul-americanos, o que os levou a especular a América do Norte como o local de origem de *R. rickettsii*, que teria sido introduzida posteriormente na América do Sul, visto que a presença do maior número de linhagens indicaria maior tempo de coexistência entre bactéria e hospedeiros ao longo do processo evolutivo, com seleção de linhagens com diferentes potenciais patogênicos de acordo com os diferentes hospedeiros que parasitavam. As elevadas taxas de letalidade registradas na América do Sul sugerem a chegada recente do parasita.

3.1.7. *Rickettsia parkeri*

Espécie do GFM, isolada nos Estados Unidos em meados do Século XX a partir de carrapatos *Amblyomma maculatum* (PARKER et al., 1939), só foi reconhecida como patógeno humano no início do Século XXI, nos Estados Unidos, causando uma forma branda de febre maculosa, com formação de escaras (PADDOCK et al., 2004). Casos de febre maculosa provocados por *R. parkeri*, erroneamente atribuídos a *Rickettsia conorii* (PACHECO et al., 2006), são conhecidos desde a década de 1990 (CONTI-DÍAZ et al., 1990; CONTI-DÍAZ, 2003) no Uruguai, onde a espécie foi registrada infectando *Amblyomma triste*, carrapato comumente envolvido em casos de parasitismo humano no país, levando a especulação de que *R. parkeri* pudesse ser o agente etiológico dos casos de febre maculosa lá registrados (VENZAL et al., 2004), hipótese confirmada posteriormente (VENZAL et al., 2012). Casos de febre maculosa causados por esta espécie também foram registrados na Argentina (ROMER et al., 2011), onde a bactéria foi encontrada infectando carrapatos *A. triste* (NAVA et al., 2008; CICUTTIN; NAVA, 2013). No Brasil o patógeno também foi registrado em carrapatos *A. triste* na divisa de São Paulo com o Mato Grosso do Sul (SILVEIRA et al., 2007), no Pantanal mato-grossense (MELO et al., 2015) e no Cerrado mineiro (BARBIERI, 2016).

A partir de 2010 *R. parkeri* foi encontrada infectando outra espécie de carrapato, *Amblyomma tigrinum*, na América do Sul; na Bolívia (TOMASSONE et al., 2010), no Uruguai (LADO et al., 2014) e em áreas endêmicas de febre maculosa na Argentina (ROMER et al., 2014) e no Brasil, no Pampa (WECK et al., 2016).

Estes registros reforçaram a hipótese de que os carrapatos do “grupo *Amblyomma maculatum*” (*A. maculatum*, *A. triste* e *A. tigrinum*) (ESTRADA-PEÑA et al., 2005) são parte importante do ciclo de *R. parkeri* na natureza (PAROLA; LABRUNA; RAOULT, 2009).

Posteriormente o patógeno foi encontrado também em carrapatos *Amblyomma ovale* na Colômbia (LONDOÑO et al., 2014), Belize (LOPES et al., 2016) e Brasil, na Mata Atlântica de São Paulo (SABATINI et al., 2010; SZABÓ et al., 2013; LUZ et al., 2016), de Santa Catarina (BARBIERI et al., 2014) e do Rio Grande do Sul (KRAWCZAK et al., 2016a). *R. parkeri* também foi registrada infectando outras espécies de carrapatos, *Rhipicephalus sanguineus* em São Paulo (SABATINI et al., 2010) e *A. aureolatum* em Santa Catarina (BARBIERI et al., 2014), mas apenas em situações em que também estavam presentes *A. ovale* infectados.

3.2. Febre Maculosa Brasileira, panorama histórico e contemporâneo

Inicialmente chamada de “*typho exanthematico de São Paulo”*, os primeiros casos de FMB foram registrados na cidade de São Paulo em 1929 (PIZA, 1932). Moreira e Magalhães (1935) relataram a ocorrência de surtos de “*typho exanthematico*” também em Minas Gerais, em áreas rurais, sempre nos meses frios do ano e isolaram pela primeira vez no Brasil o agente patogênico a partir de carrapatos (*Amblyomma sculptum*) e gambás (*Didelphis* sp.) naturalmente infectados. O registro de casos continuou pelas décadas de 1930 e 1940, e diminuiu entre 1950 e o início da década de 1980, a partir de quando houve uma clara reemergência da FMB no Brasil (LABRUNA, 2009), fenômeno que pode ser verificado na Tabela 3, com destaque para um aumento muito pronunciado no número de casos registrados e municípios afetados a partir de 2001, quando a doença passou a ter notificação compulsória no país por recomendação do Ministério da Saúde.

Tabela 3 – Casos de Febre Maculosa Brasileira registrados em diferentes períodos no Brasil, no Sudeste e no Estado de São Paulo

Período	Casos	Municípios	Localização	Fonte
1957 - 1974	53	-	Brasil	Del Guércio et al. (1997)
1976 - 1982	10	-	Brasil	Del Guércio et al. (1997)
1985 - 1996	34	5	Estado de São Paulo	São Paulo (2018)
1997 - 2000	102	-	Região Sudeste	Brasil (2011)
2001 - 2006	500	115	Brasil	Brasil (2018)
2007 - 2012	733	194	Brasil	Brasil (2018)
2013 - 2017	737	219	Brasil	Brasil (2018)

A Tabela 4 destaca o Sudeste como a região mais afetada pela FMB no país, concentrando praticamente 75% dos casos (1453 de 1970) entre 2001 e 2017; e São Paulo como o estado mais afetado, com 2/3 dos casos do Sudeste (982 de 1453) e metade dos casos do país (982 de 1970) no referido período.

Tabela 4 – Número de casos de Febre Maculosa Brasileira registrados no Brasil, no Sudeste, no Estado de São Paulo e em Piracicaba entre 2001 e 2017

Período	Brasil	Sudeste	Estado de São Paulo	Piracicaba
2001 - 2006	500	401	249	25
2007 - 2012	733	516	367	25
2013 - 2017	737	536	366	35
Total	1970	1453	982	85

Fonte: Brasil (2018).

Os casos paulistas ocorreram em 117 municípios (Tabela 5), localizando-se na região de Campinas e Piracicaba os cinco municípios mais afetados nos últimos cinco anos (2013 a 2017), Campinas, Piracicaba, Limeira, Americana e Valinhos, com 42, 35, 22, 16 e 15 registros, respectivamente, totalizando 130 casos, 35% dos 366 casos registrados no estado no quinquênio. A exemplo do que foi descrito para Minas Gerais (MOREIRA; MAGALHÃES, 1935), a distribuição de casos de FMB ao longo do ano também segue uma variação sazonal no interior de São Paulo, ocorrendo em maior número no segundo semestre, em meses secos e frios (DIAS; MARTINS, 1939), simultaneamente ao período de maior atividade dos estádios imaturos (principalmente ninfas) de *Amblyomma sculptum* (LEMOS et al., 1997a; KATZ et al., 2009), carrapato-estrela responsável pela transmissão da doença no interior do estado.

Tabela 5 – Municípios paulistas afetados pela Febre Maculosa Brasileira desde 2001. O primeiro número nas colunas “Casos” indica a quantidade de casos registrados entre 2013 e 2017; o número entre parênteses indica a quantidade de casos registrados entre 2001 e 2017

Município	Casos	Município	Casos
Campinas	42 (162)	Louveira	1 (8)
Piracicaba	35 (85)	Mauá	1 (8)
Limeira	22 (26)	Miracatu	1 (1)
Americana	16 (36)	Mococa	1 (7)
Valinhos	15 (61)	Mogi das Cruzes	1 (14)
São Paulo	13 (57)	Mogi Guaçu	1 (4)
Jundiaí	12 (18)	Novais	1 (1)
Amparo	11 (21)	Osvaldo Cruz	1 (1)
Assis	11 (20)	Paraguaçu Paulista	1 (2)
Santo André	11 (32)	Rafard	1 (1)
São Bernardo do Campo	10 (26)	Ribeirão Preto	1 (5)
Cosmópolis	9 (15)	Rio das Pedras	1 (1)
São José dos Campos	9 (10)	Santo Antônio de Posse	1 (1)
Santa Bárbara d'Oeste	8 (20)	São Caetano do Sul	1 (1)
Araras	7 (18)	Serra Azul	1 (1)
Paulínia	7 (17)	Socorro	1 (1)
Sorocaba	7 (13)	Tambaú	1 (1)
Jaguariúna	6 (29)	Tatuí	1 (4)
Pedreira	6 (17)	Tietê	1 (1)
Indaiatuba	5 (6)	Tupi Paulista	1 (1)
Salto	5 (11)	Ubatuba	1 (4)
Santa Cruz do Rio Pardo	5 (5)	Artur Nogueira	0 (2)
Sumaré	5 (11)	Atibaia	0 (2)
Águas de Lindóia	4 (6)	Birigui	0 (1)
Itu	4 (9)	Cajati	0 (1)
Rio Claro	4 (6)	Chavantes	0 (1)
Botucatu	3 (6)	Cotia	0 (3)
Caraguatatuba	3 (10)	Cruzeiro	0 (5)
Diadema	3 (14)	Francisco Morato	0 (1)
Nova Odessa	3 (4)	Franco da Rocha	0 (1)
Porto Feliz	3 (4)	Guaíra	0 (1)
Presidente Prudente	3 (5)	Guarujá	0 (1)
Salto Grande	3 (3)	Guarulhos	0 (1)
Espírito Santo do Pinhal	2 (2)	Hortolândia	0 (2)
Leme	2 (4)	Ibirarema	0 (2)
Marília	2 (7)	Itajobi	0 (1)
Ourinhos	2 (5)	Itapetininga	0 (1)
Pirapora do Bom Jesus	2 (2)	Itariri	0 (1)
Rancharia	2 (3)	Juquiá	0 (2)
Santa Gertrudes	2 (2)	Lençóis Paulista	0 (1)
Serra Negra	2 (4)	Manduri	0 (1)
Vinhedo	2 (15)	Mogi Mirim	0 (1)

Continua

Conclusão

Município	Casos	Município	Casos
Araraquara	1 (1)	Monte Alegre do Sul	0 (4)
Avaré	1 (1)	Monte Mor	0 (1)
Barrinha	1 (1)	Morungaba	0 (3)
Batatais	1 (1)	Oriente	0 (1)
Bebedouro	1 (1)	Orlândia	0 (2)
Bragança Paulista	1 (1)	Pedro de Toledo	0 (2)
Cândido Mota	1 (3)	Pindamonhangaba	0 (1)
Capivari	1 (1)	Piraju	0 (3)
Conchal	1 (2)	Poá	0 (1)
Fernandópolis	1 (1)	Pompéia	0 (1)
Itapecerica da Serra	1 (1)	Presidente Epitácio	0 (1)
Itapira	1 (6)	Ribeirão Pires	0 (1)
Itápolis	1 (1)	Santos	0 (3)
Itatiba	1 (3)	São Roque	0 (1)
Jacareí	1 (1)	São Sebastião	0 (2)
Jarinu	1 (1)	Taubaté	0 (1)
Jaú	1 (1)	TOTAL	366 (982)

Fonte: Brasil (2018).

O município de Piracicaba, que registrou 25 casos entre 2001 e 2006 e 25 casos entre 2007 e 2012, acompanhou o aumento ocorrido no estado, já havendo registro de 35 casos entre 2013 e 2017, número que pode subir com a confirmação de casos em investigação. Após o estabelecimento da obrigatoriedade de notificação de casos suspeitos da doença, o primeiro caso em Piracicaba foi registrado em 2003, e 2005 foi o ano com mais registros, 18 casos (BRASIL, 2018). O óbito de uma criança de seis anos ocorrido em 2002 no município de Tatuí mudou o panorama da enfermidade no município de Piracicaba, pelo fato de a infecção ter ocorrido no Campus “Luiz de Queiroz” (LIMA, 2002). O reaparecimento da doença no município após um hiato de 60 anos desencadeou uma série de ações envolvendo os usuários do campus e o sistema municipal de saúde no sentido de prevenção e encaminhamento adequado de futuros casos de FMB (AGÊNCIA ESTADO, 2002). Nos anos seguintes mais casos foram registrados no local (PIRACICABA, 2018[1], informação pessoal), que foi classificado como Área de Transmissão para FMB em 2015 pela Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) (SÃO PAULO, 2015).

[1] PIRACICABA. Secretaria da Saúde. Vigilância Epidemiológica. **Informações solicitadas sobre febre maculosa.** Mensagem recebida por ftr.ortiz@usp.br em 10 de maio de 2018.

3.3. Febre Maculosa cutâneo-ganglionar, riquetsiose emergente no Brasil

Antes do reconhecimento de *R. parkeri* como patógeno humano (PADDOCK et al., 2004), *R. rickettsii* era considerada a única espécie patogênica do GFM no continente Americano (PAROLA; LABRUNA; RAOULT, 2009), de maneira que foram classificados como FMB todos os casos de febre maculosa ocorridos no Brasil. Angerami et al. (2009b) foram os primeiros a especular sobre a existência de outra febre maculosa ocorrendo no território brasileiro, devido às diferenças observadas nos quadros clínicos de pacientes diagnosticados com FMB em Santa Catarina (sem letalidade, ocorrência de linfadenopatia em 49% dos casos) e São Paulo (elevada letalidade, registro de linfadenopatia em apenas 4% dos casos); esta outra enfermidade seria provocada por *Rickettsia* sp. que não *R. rickettsii*, possivelmente *R. parkeri.*

Spolidorio et al. (2010) acompanharam um caso de febre maculosa em São Paulo e identificaram um novo agente etiológico, muito similar a *R. parkeri*, *Rickettsia africae* e *Rickettsia sibirica*, denominado "*Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica". O paciente tinha uma escara de inoculação no local onde foi picado pelo carrapato e não apresentou linfadenopatia. Outros casos provocados pelo mesmo agente foram relatados por Silva et al. (2011) na Bahia e Bonoldi et al. (2014) em São Paulo, com ocorrência de linfadenopatia e formação de uma escara no local da picada do carrapato. A presença do agente infeccioso também foi constatada em Santa Catarina, por meio de um caso clínico (KRAWCZAK et al., 2016c) e em carrapatos *A. aureolatum*, *A. ovale* e *R. sanguineus*, sendo considerado pela primeira vez como uma cepa pertencente a espécie *Rickettsia parkeri* (MEDEIROS et al., 2011), classificação não aceita por Szabó et al. (2013), que isolaram pela primeira vez o patógeno a partir de carrapatos *A. ovale* e defenderam que o agente da Mata Atlântica fosse considerado como um genótipo distinto naquele momento. Recentemente foi confirmado que a cepa Mata Atlântica de fato pertence a espécie *R. parkeri* (NIERI-BASTOS et al., 2018), demonstrando que ocorrem casos de febre maculosa causados por esta espécie no Brasil.

Raoult e Paddock (2005) demonstraram que casos registrados como RMSF nos Estados Unidos foram, na realidade, casos de febre maculosa causada por *R. parkeri*. O mesmo pode ocorrer no Brasil, sobretudo em casos registrados como

FMB (BRASIL, 2018) ocorridos em locais com Mata Atlântica conservada onde foi encontrada *R. parkeri* infectando carrapatos *A. ovale*.

3.4. Ecologia da Febre Maculosa Brasileira no estado de São Paulo

As primeiras especulações sobre a participação de vertebrados na manutenção do agente etiológico da FMB na natureza datam do início do século XX (WILSON; CHOWNING, 1904). Por ser patogênica para carrapatos (NIEBYLSKI et al., 1999), a manutenção de *Ri. rickettsii* numa área endêmica de FMB depende da participação de hospedeiros amplificadores, vertebrados em que se desenvolve um período de riquetsemia no qual carrapatos sadios podem se infectar com o patógeno durante o repasto sanguíneo (DUMLER; WALKER, 2005). *A. sculptum* e *A. aureolatum* são reconhecidos como carrapatos vetores de *Ri. rickettsii* no estado de São Paulo, e outras duas espécies são frequentemente citadas como potenciais vetoras do microrganismo, o carrapato-da-capivara *Amblyomma dubitatum* e o carrapato-do-cachorro *Rhipicephalus sanguineus* (SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013).

Rh. sanguineus foi implicado como vetor de *Ri. rickettsii* no Mexico (EREMEEVA et al., 2011; ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ et al., 2017) e nos Estados Unidos (DEMMA et al., 2005), em locais onde não se registrou nenhuma outra espécie de carrapato. Indivíduos desta espécie naturalmente infectados por *Ri. rickettsii* foram encontrados em áreas endêmicas para a doença no Brasil (CUNHA et al., 2009; GEHRKE et al., 2009; MORAES-FILHO et al., 2009); sabe-se que a espécie é altamente suscetível a infecção pelo microrganismo (LABRUNA et al., 2008) e que o cão é um hospedeiro amplificador de *Ri. rickettsii* para *Rh. sanguineus* (PIRANDA et al., 2011). No entanto, o parasitismo humano por *Rh. sanguineus* não é comum (GUGLIELMONE et al., 2006; MENTZ et al., 2016), e, apesar do registro de episódios em que seria provável o envolvimento desta espécie (ROZENTAL et al., 2015), não há nenhum caso satisfatoriamente documentado de FMB transmitida por *Rh. sanguineus* no Brasil. Esta espécie pode colaborar com a manutenção de *Ri. rickettsii* na natureza quando estão presentes hospedeiros amplificadores, sem os quais a bactéria não se manteria na população de

Rh. sanguineus devido às baixas taxas de transmissão vertical, abaixo de 50% (PIRANDA et al., 2011).

O carrapato-da-capivara, *A. dubitatum*, embora seja encontrado parasitando capivaras juntamente com *A. sculptum* no Sudeste (HEIJDEN et al., 2005; PEREZ et al., 2008; BRITES-NETO et al., 2013; KRAWCZAK et al., 2014), nunca foi registrado naturalmente infectado por *Ri. rickettsii* (SAKAI et al., 2014), o que pode estar relacionado à alta prevalência de infecção de *A. dubitatum* por *Rickettsia bellii* (PACHECO et al., 2009; SAKAI et al., 2014), que impediria o estabelecimento do agente etiológico da FMB nas populações deste carrapato-estrela (PAJUABA NETO et al., 2018) por um mecanismo de interferência (LABRUNA, 2009; SAKAI et al., 2014), influenciando a ecologia de *R. rickettsii* e da FMB. Registros de parasitismo humano envolvendo esta espécie são raros (LABRUNA et al., 2007a). Devido a diferenças ecológicas e comportamentais, há maior chance de uma pessoa ser parasitada por *A. sculptum* do que por *A. dubitatum* ao caminhar por uma área infestada pelas duas espécies (PAJUABA NETO et al., 2018).

A FMB ocorre de duas maneiras distintas no estado de São Paulo devido a diferenças ecológicas entre *A. aureolatum*, vetor do patógeno na Grande São Paulo (GSP), e *A. sculptum*, vetor de *Ri. rickettsii* no interior (LABRUNA et al., 2011b). *A. sculptum* é um carrapato originário do Cerrado, adaptado a fisionomia de Mata Atlântica degradada encontrada no interior paulista, onde tem como hospedeiros primários os equinos e, principalmente, as capivaras (PINTER et al., 2011), estas também atuando como hospedeiros amplificadores (SOUZA et al., 2009), e pode utilizar diversas outras espécies como hospedeiros secundários (LABRUNA et al., 2002b; PEREZ et al., 2008), inclusive o gambá, outro amplificador (HORTA et al., 2009). Já o carrapato *A. aureolatum* ocorre em ambientes mais úmidos, na Mata Atlântica de Altitude, tendo *Carnivora*, em especial os canídeos, como hospedeiros primários, podendo utilizar passeriformes e roedores como hospedeiros secundários (GUGLIELMONE et al., 2003; PINTER et al., 2004).

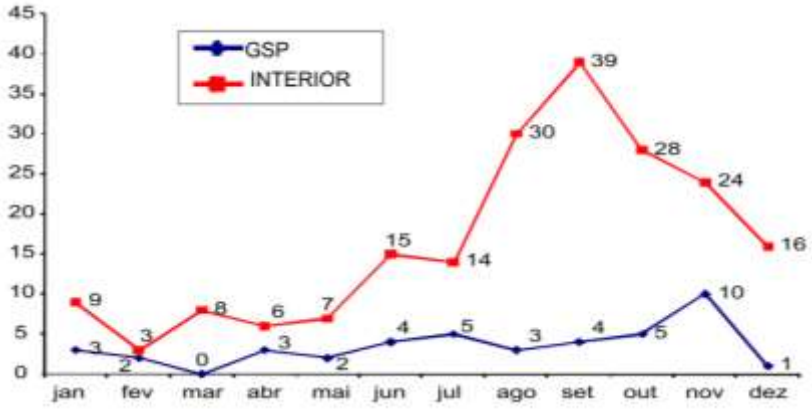
A. sculptum geralmente ocorre em elevadas densidades populacionais e apresenta elevado grau de antropofilia, sendo comuns os casos de parasitismo humano envolvendo todas as fases de vida deste carrapato, principalmente os estádios imaturos (LEMOS et al., 1997a; GUGLIELMONE et al., 2006).

O parasitismo geralmente se dá pelo trânsito de pessoas por ambientes utilizados pelos hospedeiros deste carrapato (PAJUABA NETO et al., 2018). Menos de 1% dos indivíduos *A. sculptum* encontram-se infectados por *Ri. rickettsii* no ambiente (GUEDES et al., 2005; SANGIONI et al., 2005), e todos os estádios deste carrapato são considerados refratários ao microrganismo, apresentando baixas taxas de manutenção transestadial e transmissão transovariana do patógeno, que reduz a performance reprodutiva do carrapato (LABRUNA et al., 2008; SOARES et al., 2012). Quando infectado por *Ri. rickettsii* enquanto larva, *A. sculptum* torna-se um vetor competente do patógeno nos estádios de ninfa e adulto; mas larvas e ninfas de segunda geração, infectadas por transmissão transovariana e transestadial apresentam baixa competência vetorial (SOARES, 2011).

A. aureolatum ocorre em baixas densidades populacionais e apresenta baixo grau de antropofilia, com registros de parasitismo humano envolvendo apenas carrapatos adultos (ARAGÃO; FONSECA, 1961; GUIMARÃES; TUCCI; BARROS-BATESTI, 2001; GUGLIELMONE et al., 2003). O parasitismo geralmente ocorre pelo transporte de carrapatos infectados de áreas de mata para perímetros domiciliares feito por cães (PINTER et al., 2004). A espécie é altamente suscetível à infecção por *Ri. rickettsii*, apresentando 100% de manutenção transestadial e transmissão transovariana, e alta competência vetorial do patógeno (LABRUNA et al., 2008; LABRUNA et al., 2011b), que está presente em 1-10% dos indivíduos deste carrapato no ambiente (PINTER; LABRUNA, 2006; OGRZEWALSKA et al., 2012).

Enquanto no interior paulista há concentração de casos de FMB nos meses frios (Figura 1), coincidindo com o período de maior atividade das ninfas de *A. sculptum* (LEMOS et al., 1997a; LABRUNA et al., 2002a; SOARES et al., 2012), não há picos de casos na GSP (KATZ et al., 2009), indicando que indivíduos adultos de *A. aureolatum* são encontrados parasitando cães o ano todo (PINTER et al., 2004).

Figura 1 – Distribuição mensal dos casos de Febre Maculosa Brasileira no interior do estado e na Grande São Paulo no período de 2003 a 2008



Fonte: Katz et al. (2009).

A ecologia da FMB também parece divergir quanto a estabilidade da doença nas áreas. Como o agente etiológico não é mantido de maneira eficiente nas populações de *A. sculptum* (SOARES et al., 2012), estima-se que o patógeno possa desaparecer de uma área endêmica onde é transmitido por este carrapato num prazo de dois a quatro anos, caso a população de capivaras do local seja reduzida em 90% ou 80%, respectivamente (POLO et al., 2017). Inversamente, a chegada de uma única capivara suscetível com ao menos um carrapato *A. sculptum* infectado fixado a ela numa área não-endêmica com 50 capivaras já estabelecidas é o suficiente para o estabelecimento de uma nova área endêmica (POLO et al., 2017). Este dinamismo das áreas endêmicas para FMB onde a transmissão é realizada por *A. sculptum* já foi observada em diversos locais, como a região de Ourinhos e Assis, que registraram seus primeiros casos da doença após expansão a área ocupada por cana, principal alimento das capivaras no estado de São Paulo (POLO; LABRUNA; FERREIRA, 2015). As áreas em que a transmissão de FMB é feita por *A. aureolatum* tendem a ser mais estáveis, com casos sendo registrados na GSP desde o início do século XX até a atualidade (PIZA, 1932; DIAS; MARTINS, 1939; VALLEJO-FREIRE, 1947, PINTER; LABRUNA, 2006; OGRZEWALSKA et al., 2012). Pode colaborar para esta característica o fato de *Ri. rickettsii* ser mantida de maneira mais eficiente neste carrapato (LABRUNA et al., 2011b), dependendo de hospedeiros amplificadores com menos frequência do que no interior (SOARES et al., 2012).

3.5. Uso da Reação de Imunofluorescência Indireta e de hospedeiros sentinelas em inquéritos sorológicos de Febre Maculosa Brasileira

A interação específica entre antígenos e anticorpos pode ser empregada em técnicas chamadas imunoensaios, sendo possível tornar visível esta interação por meio da marcação de um dos reagentes com fluorocromos, substâncias com capacidade de absorver energia luminosa, armazena-la por curto período e, em seguida, emiti-la como radiação de maior comprimento de onda. Ao absorver a energia dos fótons, elétrons de órbitas periféricas passam a ocupar órbitas ainda mais distantes do núcleo por um curto período, voltando a sua órbita original após a emissão de radiação luminosa, que terá maior comprimento de onda (menor energia) do que a radiação excitadora, uma vez que parte da energia luminosa absorvida é convertida em energia térmica e mecânica (SILVA, 2003).

Nas técnicas de Imunofluorescência, anticorpos conjugados com partícula fluorescente podem ser utilizados na investigação da distribuição de um antígeno num tecido ou no interior celular (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2011), sendo usados para identificação de antígenos bacterianos dentro de células pela primeira vez em 1941, por Albert Hewett Coons e seus colegas (CAMPBELL et al., 1974).

Existem dois tipos de testes de imunofluorescência, diretos e indiretos. O método direto é empregado quando o objetivo da análise é identificar a presença de antígenos em tecidos ou células, para tanto se utilizam anticorpos conjugados com partículas fluorescentes, específicos para os antígenos do agente que se quer investigar. A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é utilizada para detecção de anticorpos no soro de um indivíduo; para isso um substrato com os antígenos para os quais se deseja verificar a ocorrência de anticorpos é tratado com o soro e, após formação do imunocomplexo e lavagem, é adicionada uma imunoglobulina conjugada com uma partícula fluorescente, que se ligará aos anticorpos do indivíduo analisado (SILVA, 2003; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2011).

A RIFI é considerada mais sensível do que o a reação direta devido a ligação de maior quantidade de partículas fluorescentes aos espécimes analisados (DELUCA, 1982), e está entre os métodos mais sensíveis para realização de diagnósticos sorológicos de infecções provocadas por parasitas (SADUN, 1976). No entanto, a técnica tem limitações, e a especificidade dos métodos de

imunofluorescência pode ser comprometida devido a ligação do anticorpo a outras moléculas com epítopos similares ou idênticos aos dos antígenos utilizados na análise, num processo chamado de reação-cruzada (MILLER; LEVINSON, 1996).

Wang e Grayston (1970) desenvolveram uma técnica de microimunofluorescência indireta para caracterização imunológica de cepas de *Chlamydia tracomatis* que foi adaptada por Philip et al. (1978) para caracterização imunológica de isolados de *Rickettsia* spp., sendo indicada para diagnóstico sorológico de riquetsioses (PHILIP et al., 1976), e considerada o padrão-ouro para este tipo de análise no mundo todo (LA SCOLA; RAOULT, 1997; BRASIL, 2009).

Uma espécie pode ser utilizada como sentinela quando sua amostragem permite a obtenção de informações sobre outras espécies ou sobre um ambiente (CARO; O'DOHERTY, 1999). Hospedeiros do carrapato-estrela podem ser utilizados como sentinelas, indicando a ocorrência de *Ri. rickettsii* num ambiente, caso sejam soropositivos para a bactéria. Há anos a RIFI é utilizada em inquéritos soroepidemiológicos para verificação da presença de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* na população humana e/ou de potenciais hospedeiros do carrapato-estrela em uma área (DEL GUÉRCIO et al., 1997; HORTA et al., 2004; SANGIONI et al., 2005; HORTA et al., 2007; PACHECO et al., 2007; LABRUNA et al., 2007c; PINTER et al., 2008; MORAES-FILHO et al., 2009; MELO et al., 2011; OGRZEWALSKA et al., 2012; KRAWCZAK et al., 2014; BARBIERI et al., 2014; ROZENTAL et al., 2015; LADO et al., 2015; COELHO et al., 2016; SOUZA et al., 2016; SCINACHI et al., 2017). Em 2016 a Resolução Conjunta SMA/SUCEN 01/2016 estabeleceu como procedimento oficial no estado de São Paulo a análise de soros de animais sentinela (cães em áreas de ocorrência de *A. aureolatum* e *A. ovale*, cavalos e capivaras em áreas de ocorrência de *A. sculptum* e *A. dubitatum*) pela RIFI para classificação de áreas quanto ao nível de risco para FMB (SÃO PAULO, 2016).

Além da utilização em inquéritos soroepidemiológicos, a RIFI também é empregada para verificação do sucesso de infecções experimentais (HORTA et al., 2009; SOUZA et al., 2009; HORTA et al., 2010; PIRANDA et al., 2011; LABRUNA et al., 2011b; SOARES et al., 2012; SAKAI et al., 2014; SARAIVA et al., 2014; KRAWCZAK et al., 2016b; UENO et al., 2016) e diagnóstico de casos clínicos (CONTI-DÍAZ et al., 1990; ZAVALA-VELÁZQUEZ et al., 2000; RAOULT et al., 2001;

PADDOCK et al., 2004; GALVÃO et al., 2005; ESTRIPEAUT et al., 2007; HIDALGO et al. 2007; SPOLIDORIO et al., 2010; TRIBALDOS et al., 2011; HIDALGO et al., 2011; SILVA et al., 2011; ARGÜELLO et al., 2012; ROMER et al., 2014; BONOLDI et al., 2014; KRAWCZAK et al., 2016c). A principal limitação da RIFI para investigações sobre a FMB são as reações cruzadas, que ocorrem entre os anticorpos presentes na amostra e os antígenos de diferentes *Rickettsia* spp. do GFM (PHILIP et al., 1976), podendo se registrar títulos de anticorpos heterólogos tão altos quanto os de anticorpos homólogos (LA SCOLA; RAOULT, 1997), sendo necessário o emprego de análises complementares para determinação da *Rickettsia* sp. responsável pela elicitação da resposta imune (RAOULT; PADDOCK, 2005), como testes de absorção cruzada (HORTA et al., 2004).

3.6. Ovinos, seus ectoparasitos e relação com *Amblyomma sculptum*

A ovelha *Ovis aries* Linnaeus, 1758 é um artiodáctilo ruminante pertencente à Família *Bovidae* (ORRELL, 2018) e foi domesticada há cerca de 12 mil anos (VAUGHAN; RYAN; CZAPLEWSKI, 2015). É uma espécie de elevada importância econômica, criada em todos os continentes para produção de leite, carne, lã e couro (VIANA, 2008). Em 2016 o rebanho ovino mundial contava com 1,17 bilhão de cabeças, sendo China, Austrália, Índia, Irã e Nigéria os principais produtores, enquanto o rebanho brasileiro contava com 18,4 milhões de cabeças (FAO, 2016), concentrando-se no Nordeste (63%) e Sul (23,9%), e apenas 3,7% no Sudeste (IBGE, 2016).

Carrapatos não figuram entre os ectoparasitos que mais causam danos a ovinocultura mundial, grupo composto principalmente pela mosca *Melophagus ovinus,* larvas de moscas da família *Calliphoridae*, ácaros causadores de sarna e piolhos (PLANT, 2006; PLANT; LEWIS, 2011), parasitas que danificam a pele e/ou o tecido muscular do hospedeiro. No estado de São Paulo os ectoparasitos mais frequentemente encontrados em rebanhos ovinos são moscas-varejeiras, moscas-berneiras, carrapatos e piolhos, presentes em, respectivamente, 72,5%, 45%, 31,3% e 13,8% dos animais amostrados por Madeira, Amarante e Padovani (2000).

Apesar do pouco destaque recebido na ovinocultura, os carrapatos são parasitas de elevada importância médico-veterinária por transmitirem patógenos aos seus hospedeiros. Carrapatos podem transmitir aos ovinos os agentes etiológicos da babebiose (carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus* e *Haemaphysalis*), teileriose (carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus* e *Hyalomma*), anaplasmose (diversos gêneros de carrapatos) e alguns vírus (carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus*, *Hyalomma*, *Amblyomma*, *Ixodes*) (DE LA FUENTE et al., 2008). Além destes, carrapatos do gênero *Dermacentor* também podem parasitar ovinos, embora não tenham sido implicados como vetores de enfermidades (CORTINAS; JONES, 2006).

Há registros de carrapatos do gênero *Amblyomma* parasitando ovinos no Quênia (MAINA et al., 2014) e na Etiópia (TESHALE et al., 2015), e registros de parasitismo por *Amblyomma sculptum* no Sudeste do Brasil (MADEIRA; AMARANTE; PADOVANI, 2000). O parasitismo por *A. sculptum* pode causar paralisia seguida de óbito em ovinos (SERRA-FREIRE, 1983). Ovelhas parecem apresentar imunidade inata ao parasitismo por larvas de *A. sculptum*, embora sejam parasitadas com sucesso por ninfas e adultos deste carrapato-estrela (PROSDOCIMI et al., 2010).

No meio rural, em propriedades de pequenos produtores, é frequente a manutenção de ovelhas em pastos também utilizados por cavalos, hospedeiros primários de *A. sculptum* (PROSDOCIMI et al., 2010), o que pode expor os ovinos ao parasitismo pelo carrapato-estrela. No entanto, provavelmente devido ao baixo número de ovinos em relação a outros rebanhos, não há estudos investigando a competência de *Ovis aries* como hospedeira de *A. sculptum* e amplificadora de *R. rickettsii*.

3.7. Bovinos, seus ectoparasitos e relação com *Amblyomma sculptum*

O boi *Bos taurus* Linnaeus, 1758 é um artiodáctilo ruminante pertencente à Família *Bovidae* (ORRELL, 2018). O ancestral teria se originado no Oriente Médio e eventos independentes de domesticação parecem ter ocorrido na Europa e no norte da África (TROY et al., 2001) há cerca de nove mil anos, sendo criados para produção de leite, carne, lã e couro (VAN VUURE, 2002).

Em 2016 o rebanho bovino mundial contava com aproximadamente 1,5 bilhão de cabeças, sendo Brasil e Índia os principais produtores, com 218 e 185 milhões de cabeças, respectivamente (FAO, 2016). O rebanho brasileiro concentra-se no Centro-Oeste (34,4%) e os principais estados produtores são Mato Grosso (13,9%), Minas Gerais (10,8%), Goiás (10,5%) e Mato Grosso do Sul (10%) (IBGE, 2016).

Os carrapatos apresentam elevada importância econômica e médico-veterinária na bovinocultura, podendo transmitir aos seus hospedeiros os agentes etiológicos da babebiose (carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus, Ixodes* e *Haemaphysalis*), teileriose (carrapatos dos gêneros *Rhipicephalus, Amblyomma* e *Hyalomma*), pericardite exsudativa (carrapatos do gênero *Amblyomma*) e anaplasmose (diversos gêneros de carrapatos) (DE LA FUENTE et al., 2008). O carrapato-do-boi *Rhipicephalus microplus* é o ectoparasito que mais causa perdas econômicas na bovinocultura brasileira (US$ 3,4 bilhões/ano), seguido pela mosca-dos-chifres *Haematobia irritans* (US$ 2,56 bilhões/ano), mosca-berneira *Dermatobia hominis* (US$ 380 milhões/ano), mosca-bicheira *Cochliomyia hominivorax* e mosca-dos-estábulos *Stomoxys calcitrans* (US$ 340 milhões/ano cada) (GRISI et al., 2014). Em 2016 *Rh. microplus* provocou perdas da ordem de US$ 5 bilhões na exportação de carne bovina brasileira de acordo com o Anuário da Pecuária Brasileira – ANUALPEC (INFORMA ECONOMICS IEG/FNP, 2017).

Há registros de carrapatos do gênero *Amblyomma* parasitando bovinos no Quênia (MAINA et al., 2014) e na Etiópia (TESHALE et al., 2015). No Brasil as infestações de bovinos por *A. sculptum* são registradas desde o início do século XX (RHOR, 1909; ARAGÃO, 1911; 1936; RAMOS, 2013; AGUIAR et al., 2014; MONTENEGRO et al., 2017), sendo comuns em locais onde hospedeiros primários do carrapato transitem pelas pastagens utilizadas pelos bovinos ou estas sejam próximas a florestas ou ambientes silvestres (AGUIAR et al., 2014). O parasitismo por *A. sculptum* pode causar paralisia seguida de óbito em bovinos (SERRA-FREIRE, 1983). Raças bovinas asiáticas e africanas desenvolvem resistência após serem parasitadas por carrapatos, apresentando desempenho melhor do que as raças europeias em áreas densamente infestadas por estes artrópodes (CORTINAS; JONES, 2006). Não há estudos investigando a competência de *Bos taurus* como amplificadora de *Ri. rickettsii*.

3.8. Equinos, seus ectoparasitos e relação com *Amblyomma sculptum*

O cavalo *Equus caballus* Linnaeus, 1758 é um perissodáctilo pertencente à Família *Equidae* (ORRELL, 2018). O ancestral se originou na América do Norte e migrou para outras regiões; os Equus foram extintos no continente americano há 8 mil anos, sendo reintroduzidos nos séculos XV e XVI durante a colonização por povos europeus (LIMA; SHIROTA; BARROS, 2006). Em 2016 o plantel equino mundial contava com aproximadamente 59 milhões de cabeças, estando nos Estados Unidos o maior efetivo de equinos, com 10,5 milhões de cabeças (FAO, 2016). No mesmo ano o Brasil contava com 5,58 milhões de equinos, relativamente bem distribuídos entre as regiões; os estados com maiores tropas foram Minas Gerais (13,7%), Rio Grande do Sul (9,6%) e Bahia (8,6%) (IBGE, 2016).

O carrapato-da-orelha-do-cavalo *Dermacentor nitens*, o carrapato-estrela *A. sculptum* e o carrapato-do-boi *Rhipicephalus microplus* são os carrapatos mais frequentes em equinos no Brasil (LABRUNA et al., 2001). Além de efeitos adversos em razão da espoliação sanguínea decorrente do parasitismo (LABRUNA et al., 2002a) estes artrópodes tem importância médico-veterinária por transmitirem aos cavalos os agentes etiológicos da piroplasmose (carrapatos dos gêneros *Dermacentor, Amblyomma* e *Rhipicephalus*), e da febre biliar equina (carrapatos dos gêneros *Dermacentor*, *Rhipicephalus* e *Hyalomma*) (DE LA FUENTE et al., 2008; KERBER et al., 2009).

No Brasil as infestações de equinos por *A. sculptum* são registradas desde o início do século XX (RHOR, 1909; ARAGÃO, 1911, 1936). Estes animais são os principais hospedeiros do carrapato-estrela nas áreas rurais do estado de São Paulo, sendo considerados hospedeiros primários deste carrapato, sustentando elevadas cargas parasitárias e sendo utilizado por carrapatos adultos para engurgitamento e cópula (SÃO PAULO, 2004; PINTER et al., 2011).

A importância dos equinos na ecologia da FMB se limita ao seu papel na manutenção das populações de carrapatos-estrela no ambiente, visto que não é um hospedeiro amplificador de *Ri. rickettsii* para *A. sculptum* (UENO et al., 2016).

Estes animais são importantes para a vigilância epidemiológica de áreas onde a FMB é transmitida por *A. sculptum* no estado de São Paulo, sendo utilizados como sentinelas para se verificar a circulação da bactéria (SÃO PAULO, 2016; SOUZA et al., 2016).

3.9. Papel dos gambás na ecologia da Febre Maculosa Brasileira

O gênero *Didelphis* apresenta a maior distribuição entre todos os marsupiais do mundo, habitando desde regiões temperadas ao sul do Canadá até o norte da Patagônia (IUCN, 2015). O gambá-de-orelha branca *Didelphis albiventris* Lund, 1840 está concentrado na América do Sul, ocorrendo nas regiões Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste (exceto regiões litorâneas) e Sul do Brasil, Paraguai, Bolívia, Uruguai e norte da Patagônia na Argentina (CERQUEIRA; TRIBE, 2007; LEMOS; CERQUEIRA, 2002; TALAMONI; DIAS, 1999; CERQUEIRA, 1985, ROSSI; BIANCONI, 2011). Toleram áreas abertas e desmatadas (CERQUEIRA, 1985), sendo capazes de viver em ambientes antropizados, próximos ou dentro de áreas urbanas (CÁCERES, 2002). São animais solitários, relativamente lentos e utilizam como esconderijos diferentes suportes em variados estratos verticais, como ocos de árvores em estratos arbóreos inferiores ou até mesmo o solo (ROSSI; BIANCONI, 2011; MONTEIRO-FILHO; GRAIPEL, 2006; CÁCERES, 2003). Apresentam hábitos crepusculares e noturnos e dieta generalista, composta majoritariamente por insetos e frutos (CÁCERES, 2003; MARES; ERNEST, 1995; TALAMONI; DIAS, 1999), embora também possa consumir sementes, pequenos vertebrados, material vegetal e crustáceos (CÁCERES, 2002).

O gambá-de-orelha-branca possui porte médio, com massa corporal variando entre 500 e 2750g em indivíduos adultos (CÁCERES; MONTEIRO-FILHO, 1999; ROSSI; BIANCONI, 2011). A estação reprodutiva vai de setembro a maio e a gestação dura de 12 a 14 dias, com média de seis filhotes (podendo variar de quatro a 14) por ninhada (SIGRIST, 2012).

O agente etiológico da FMB foi isolado a partir de gambás naturalmente infectados no Brasil (MOREIRA; MAGALHÃES, 1935; TRAVASSOS; VALLEJO, 1941) e nos Estados Unidos, onde Bozeman et al. (1967) registraram riquetsemia com duração de três a quatro semanas em animais experimentalmente infectados e

especularam sobre a possibilidade destes marsupiais desempenharem o papel de hospedeiros amplificadores de *R. rickettsii* na natureza. Esta hipótese foi confirmada por Horta et al. (2009) ao observarem em gambás a ocorrência de riquetsemia capaz de infectar novos carrapatos *A. sculptum* após os marsupiais serem picados por *A. sculptum* infectados pelo patógeno.

Adicionalmente, por serem hospedeiros secundários do carrapato-estrela (PEREZ et al., 2008) e animais generalistas sinantrópicos (ROSSI; BIANCONI, 2011), os gambás podem transportar carrapatos infectados para áreas domiciliares (BOZEMAN et al., 1967), sendo considerados hospedeiros importantes na epidemiologia de *R. rickettsii* (HORTA et al., 2009), podendo ser utilizados como sentinelas (CARO; O'DOHERTY, 1999) para a FMB.

4. MATERIAL E MÉTODOS

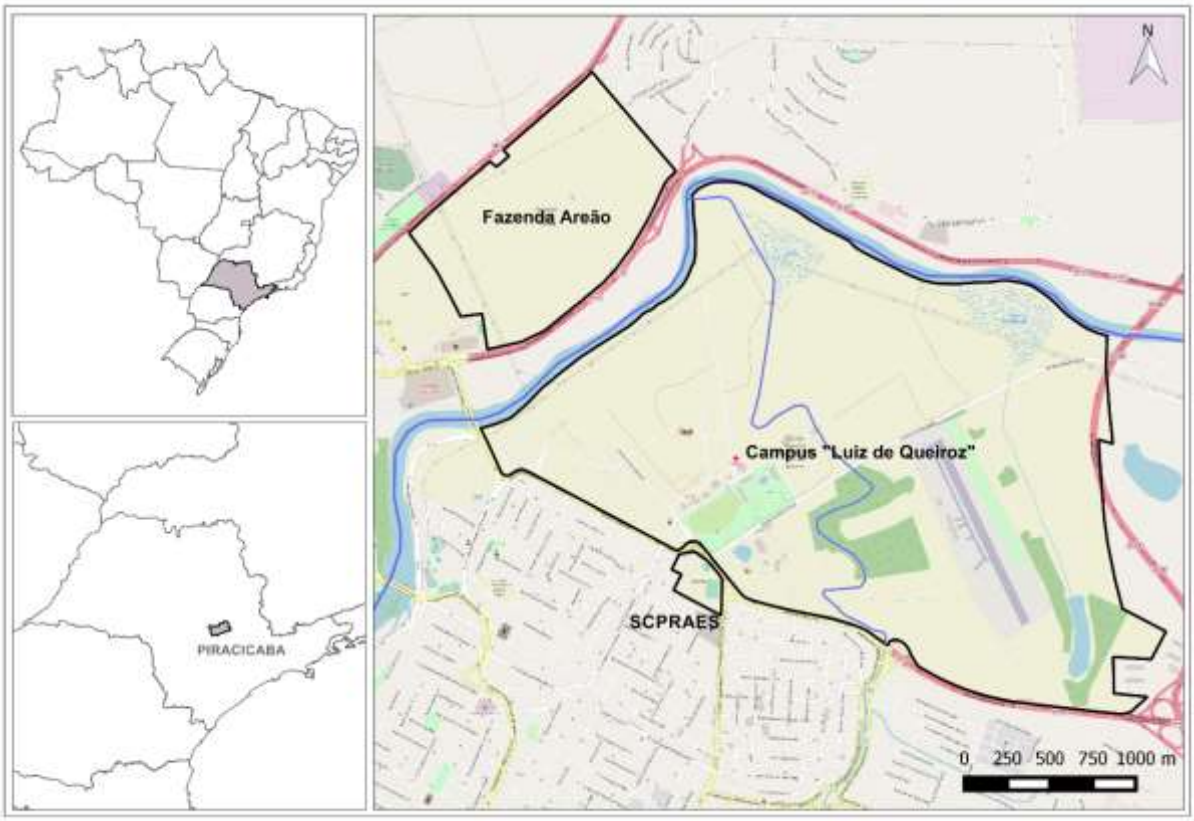
4.1. Descrição da área estudada

O Campus “Luiz de Queiroz” (LQ) localiza-se no município de Piracicaba, coordenadas 22º42’30” Sul e 47º38’30” Oeste, altitude de 546 m. O clima Köppen da região é do tipo Cwa (verão quente e inverno com estiagem; mês mais quente com temperatura superior a 22°C e inferior a 18°C no mês mais frio), a pluviosidade média anual é de aproximadamente 1200 mm, com distribuição irregular ao longo do ano (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2009). A vegetação natural da região de Piracicaba é classificada como Floresta Estacional Semidecidual (VELOSO; RANGEL FILHO; LIMA, 1991), caracterizada pela mistura de espécies vegetais caducifólias e perenifólias.

Originalmente uma fazenda, o referido campus ainda mantem suas características rurais, enquanto toda a paisagem do entorno se modificou devido ao avanço da malha urbana pelo território municipal. A natureza agrária/florestal da maioria dos Cursos de Graduação e Pós-graduação oferecidos no campus contribuiu para a manutenção dos traços rurais do local, que é composto por uma mistura de áreas naturais e antropizadas. Sparovek (1993) descreveu o campus de 821 ha como um mosaico de vegetação, com 196 ha de culturas anuais, 71 ha de culturas semi-perenes, 30 ha de culturas perenes, 109 ha de pastagens, 35 ha de reflorestamento e 67 ha de remanescentes florestais. A classe de solo predominante é “terra roxa estruturada”, ocupando 55% da superfície do campus.

O local também é cortado pelo ribeirão Piracicamirim e banhado em grande extensão pelo rio Piracicaba (Figura 2). Esta complexidade ambiental cria condições para a ocorrência, chegada e permanência de mais de 260 espécies animais no campus (MARCHINI; FERRAZ, 2014), inclusive uma grande população de capivaras.

Figura 2 – Localização e delimitação das áreas do Campus “Luiz de Queiroz”. O local é banhado pelo rio Piracicaba e cortado pelo ribeirão Piracicamirim. Além da área principal, o Campus “Luiz de Queiroz” também conta com a Fazenda Areão e com a Seção Técnica de Práticas Esportivas (SCPRAES)



Desde que foi classificado como Área de Transmissão para FMB em 2015 pela SUCEN, uma série de medidas foram implantadas no Campus "Luiz de Queiroz" para redução do risco de parasitismo por carrapatos-estrela nos frequentadores, como vigilância acarológica mensal em áreas de intenso uso humano, monitoramento e recenseamento dos grupos de capivara, reforma de alambrados para impedir que estes roedores se desloquem das matas ciliares para áreas de frequência humana e instalação de logradouros (passagens unidirecionais) nos alambrados, permitindo o retorno de animais de áreas urbanas para as matas ciliares.

4.2. Amostragem dos hospedeiros do Campus “Luiz de Queiroz”

4.2.1. Obtenção de Licenças e Autorizações

O ICMBio emitiu em 26 de agosto de 2016 a “Autorização para atividades com finalidade científica 55119-1”, com permissão para coleta de carrapatos-estrela e captura, coleta e transporte de amostras biológicas e marcação de gambás. Em 19 de setembro de 2016 a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Campus "Luiz de Queiroz" emitiu o Certificado de aprovação deste projeto de pesquisa (registrado como Proposta 2016-17). Os responsáveis pelos rebanhos ovinos, bovinos e equinos de interesse no Campus "Luiz de Queiroz" foram contatados e autorizaram a colheita de amostras biológicas dos animais.

4.2.2. Amostragem de ovinos

Em fevereiro de 2017 foram amostrados 30 ovinos do rebanho do Laboratório de Nutrição Animal (LANA) do Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA), que utilizam pastos contíguos a trecho da mata ciliar do rio Piracicaba, separados por cerca de tela destes ambientes ripários, que são área de influência direta de capivaras que por ali transitam.

Outros 30 ovinos, pertencentes ao rebanho do Sistema Intensivo de Produção de Ovinos (SIPO), do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (LZT-ESALQ), foram amostrados em outubro de 2017. Estes animais pastejam em áreas adjacentes ao ribeirão Piracicamirim, outro local com influência direta de capivaras.

No total foram amostrados 60 ovinos, priorizando-se a amostragem dos indivíduos mais velhos de cada rebanho (LANA: três a sete anos, com média de 4; SIPO: um a sete anos, com média de 3), por haver maior chance de terem sido expostos ao parasitismo por carrapatos-estrela. A localização das pastagens do LANA e do SIPO estão indicadas pelos círculos vermelho na Figura 3.

4.2.3. Amostragem de bovinos

Em março de 2017 foram amostradas 31 vacas de raças europeias (Holandês preto e branco e Jersey) pertencentes ao rebanho leiteiro do LZT-ESALQ. Estes animais foram incluídos na amostragem por ter se registrado maior proporção de parasitismo por carrapatos-estrela *Amblyomma sculptum* do que por carrapatos-do-boi *Rhipicephalus microplus* nos indivíduos do rebanho (PEREZ, 2017[2]). Os pastos utilizados por estes bovinos são áreas de passagem de capivaras, que os atravessam ao transitar de um fragmento de mata para outro. Priorizou-se a amostragem dos indivíduos mais velhos (três a sete anos, com média de 4,5), por haver maior chance de terem sido expostos ao parasitismo por carrapatos-estrela. O local de permanência do rebanho leiteiro está indicado pelo círculo laranja na Figura 3.

4.2.4. Amostragem de equinos

Pelo fato de os equinos serem hospedeiros primários do carrapato-estrela e serem considerados sentinelas clássicos para FMB, todos os 21 animais disponíveis foram amostrados. Os equinos do Projeto Equoterapia ESALQ-USP (cavalos 01 a 15), são utilizados em aulas de equitação e tratamentos de pessoas com diversos tipos de necessidades especiais e foram amostrados em outubro de 2017. Os equinos do LZT-ESALQ (cavalos 16 a 21) são utilizados na lida diária com os rebanhos de bovinos de corte (gado nelore), transitando frequentemente por áreas de passagem e permanência de capivaras; foram amostrados em janeiro de 2018.

Os equinos 04 e 09 haviam sido integrados à tropa da Equoterapia há menos de um ano, os equinos 11, 12 e 13 estavam há menos de um mês no Campus "Luiz de Queiroz". A localização das tropas da Equoterapia e do LZT-ESALQ estão indicadas pelos círculos lilases na Figura 3.

---

[2] Informação fornecida por Perez durante reunião da Comissão Técnica Permanente de Prevenção e Controle da Febre Maculosa Brasileira da ESALQ, Piracicaba, 2017.

4.2.5. Amostragem de gambás

As capturas de gambás ocorreram entre fevereiro e dezembro de 2017 e foram divididas em áreas sem influência direta de capivaras (áreas urbanas e peri-urbanas, distantes de ambientes ocupados e/ou utilizados por capivaras) e com influência direta dos roedores (matas ciliares, locais ocupados e/ou utilizados por capivaras). Foram utilizadas armadilhas de captura viva do tipo *tomahawk* iscadas com pedaços de laranja.

Foram amostrados 44 gambás-de-orelha branca *Didelphis albiventris*, sendo 33 provenientes de áreas urbanas, sem influência direta de capivaras e 11 de áreas com influência direta dos roedores (matas ciliares do rio Piracicaba, ribeirão Piracicamirim e da lagoa do aeroporto). Os locais de captura dos gambás estão indicados por círculos com diferentes tons de verde na Figura 3.

Figura 3 – Localização dos pontos de amostragens dos potenciais hospedeiros de carrapatos-estrela no Campus “Luiz de Queiroz”. Legendas: LANA: Laboratório de Nutrição Animal; SIPO: Sistema de Produção Intensiva de Ovinos; EQTRP: Equoterapia; LZT: Departamento de Zootecnia da ESALQ; URB: gambás capturados em áreas urbanas; MC: gambás capturados em áreas de mata ciliar

4.2.6. Coletas de sangue e processamento de amostras

Os gambás foram sedados com o uso da associação de Cloridrato de Quetamina (58 mg/kg) e Cloridrato de Xilazina (12 mg/kg) na proporção 1:1, na dosagem de 0,5 mL/Kg de peso vivo. Os ovinos e os gambás foram contidos manualmente, os bovinos e equinos foram segurados por seus tratadores e/ou contidos em tronco, quando necessário. As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular em ovinos e equinos e da veia caudal em bovinos e gambás. Usou-se tubos a vácuo com ativador de coágulo em ovinos, bovinos e equinos e seringa e agulha em gambás, sendo posteriormente transferidas para tubos de polietileno. Os tubos foram identificados e centrifugados a 2000 rotações por minuto (rpm) por 10 minutos para separação do soro. Os soros foram armazenados em tubos de polietileno identificados e mantidos em freezer a -20ºC até o momento das análises.

4.3. Coletas de ectoparasitas dos hospedeiros amostrados

Quando possível, os ectoparasitas encontrados sobre ou fixados nos hospedeiros amostrados foram coletados manualmente ou com auxílio de pinça e armazenados em tubos de polietileno identificados contendo álcool 70%. As espécies de carrapatos e pulgas foram determinadas com o auxílio de chaves de identificação (LINARDI; GUIMARÃES, 2000; ONOFRIO et al., 2006; MARTINS, 2009).

4.4. Análise das amostras pela Reação de Imunofluorescência Indireta

A análise das amostras de soros sanguíneos pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) se deu em duas etapas, triagem e titulação. Como o Campus "Luiz de Queiroz" é área endêmica para a FMB, apenas a presença de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* foi analisada na etapa de triagem. Somente as amostras positivas para *R. rickettsii* foram selecionadas para a etapa seguinte (titulação), para verificação do título máximo de anticorpos encontrados para cinco espécies de *Rickettsia*: *R. rickettsii* cepa Taiaçu, *R. parkeri* cepa At24, *R. bellii* cepa Mogi, *R. amblyommatis* cepa Ac37 e *R. rhipicephali* cepa HJ5, conforme descrito por

Labruna et al. (2007c). As análises foram realizadas no Laboratório de Doenças Parasitárias, do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS), da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, sob supervisão do Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna.

4.4.1. Triagem

Passo 1 – Descongelamento de lâminas e amostras

As amostras de soro foram retiradas do congelador (-20ºC) e deixadas em temperatura ambiente. Lâminas preparadas com *R. rickettsii* conforme descrito em Horta et al. (2004) foram retiradas do congelador (-20ºC) e incubadas com tampão fosfato/salina pH 7,4 (PBS) por 10 minutos; em seguida foram colocadas em uma bandeja de isopor em estufa para secar a 37ºC por 10 minutos.

Passo 2 – Diluição do soro e aplicação nas lâminas

Para cada amostra foi pipetado numa cavidade de uma microplaca de diluição 189 µL de tampão fosfato salino (PBS) + 3 µL de soro da amostra previamente homogeneizada em vórtex ([soro] = 1:64). De cada cavidade da placa foram retirados 20 µL, e cada amostra diluída foi pipetada em uma cavidade da lâmina, promovendo o encontro entre eventuais anticorpos presentes nas amostra e os antígenos de *R. rickettsii*.

Passo 3 – Incubação e secagem

As lâminas foram acondicionadas em câmara úmida e incubadas em estufa a 37ºC por 30 minutos. Passado este período foram retiradas da estufa, lavadas individualmente com uma pisseta contendo a solução tampão de lavagem (PBS+Triton) e colocadas em cuba contendo o tampão de lavagem por 10 minutos. Em seguida a solução foi descartada e o último procedimento foi repetido, imergindo as lâminas em tampão de lavagem por mais 10 minutos, após os quais a solução foi novamente descartada e as lâminas colocadas para secar em estufa a 37ºC por 10 minutos.

Passo 4 – Diluição e adição de “conjugado”, incubação e coloração

Em tubos de vidro, os conjugados (anticorpos anti-IgG de ovinos, bovinos, equinos e gambás, conjugados com Isotiocianato de fluoresceína) foram diluídos em PBS conforme a orientação de seus fabricantes (Tabela 6). Em cada cavidade de cada lâmina foi pipetado 20 µL de PBS+conjugado da respectiva espécie animal. Em seguida as lâminas foram acondicionadas em câmara úmida e levadas a estufa para incubação a 37ºC por 30 minutos. Passado este período foram retiradas da estufa, lavadas individualmente com uma pisseta contendo a solução tampão de lavagem, colocadas em cuba contendo 1,5 mL de Azul de Evans+tampão de lavagem e cobertas por uma redoma de alumínio por 10 minutos. Na sequência a solução foi descartada e o último procedimento foi repetido, imergindo as lâminas em 1,5 mL de Azul de Evans+tampão de lavagem numa cuba coberta por uma redoma de alumínio por mais 10 minutos, após os quais a solução foi novamente descartada e as lâminas colocadas em uma bandeja de isopor para secar em local abrigado de luz.

Tabela 6 – Lista de conjugados utilizados para triagem dos soros. Legendas: CCZ = Centro de Controle de Zoonoses da Prefeitura de São Paulo

Soro	Conjugado utilizado	Fornecedor
Ovino	Anti-IgG ovino conjugado com Isotiocianato de fluoresceína produzido em coelho	Sigma-Aldrich®
Bovino	Anti-IgG bovino conjugado com Isotiocianato de fluoresceína produzido em coelho	Sigma-Aldrich®
Equino	Anti-IgG equino conjugado com Isotiocianato de fluoresceína produzido em coelho	Sigma-Aldrich®
Gambá	Anti-IgG de gambá conjugado com Isotiocianato de fluoresceína produzido em ovelha	CCZ

Passo 5 – Montagem e leitura das lâminas

Duas gotas de glicerina tamponada foram aplicadas sobre cada lâmina antes de serem cobertas com lamínula. As lâminas foram lidas em microscópio equipado com luz ultravioleta (Olympus BX60, Japan) com objetiva de 40x.

4.4.2. Titulação

Os passos 1, 3, 4 e 5 da etapa de Titulação são idênticos aos da etapa de Triagem, mas com descongelamento de lâminas não só preparadas com *R. rickettsii*, mas também *R. parkeri*, *R. bellii*, *R. amblyommatis* e *R. rhipicephali*. O passo 2 se encontra descrito abaixo. Nas leituras das lâminas se uma *Rickettsia* sp. apresentava título máximo de anticorpos ao menos quatro vezes maior do que para as outras *Rickettsia* spp.; aquela *Rickettsia* sp. era considerada como o Possível Antígeno Envolvido em Reação Homóloga (PAERH).

Passo 2 – Diluição do soro e aplicação nas lâminas

Cada amostra positiva para *R. rickettsii* foi diluída em uma fileira de uma microplaca de diluição. Na primeira cavidade da fileira o soro foi diluído a concentração 1:64 pela adição de 189 µL de PBS + 3 µL de soro da amostra previamente homogeneizada em vórtex; nas demais cavidades da fileira foi pipetado apenas 100 µL de PBS. O conteúdo da primeira cavidade foi homogeneizado com uma pipeta, puxando e liberando 100 µL por seis vezes. Em seguida 100 µL foram retirados da primeira cavidade e adicionados na segunda cavidade, onde se reduziu à metade a concentração do soro (1:64 → 1:128). O processo de homogeneização e transferência de 100 µL para a cavidade subsequente foi feito até o final da fileira, deixando as cavidades com os volumes e concentrações de soro mostrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Volumes e concentrações de soros diluídos para a etapa de Titulação

Cavidade	Volume (µL)	Concentração
1	89	1:64
2	100	1:128
3	100	1:256
4	100	1:512
5	100	1:1024
6	100	1:2048
7	100	1:4096
8	200	1:8192

Cada cavidade da lâmina recebeu 15 µL do soro diluído em cada concentração. Este procedimento promoveu o encontro dos anticorpos com os antígenos das espécies de *Rickettsia* presentes nas lâminas.

4.5. Análises estatísticas

Os resultados das coletas de ectoparasitas e dos exames sorológicos foram analisados com estatística descritiva, sendo apresentados em tabelas.

5. RESULTADOS

5.1. Ectoparasitas encontrados nos hospedeiros amostrados

Durante a amostragem dos hospedeiros do Campus "Luiz de Queiroz" foram encontrados os carrapatos *Amblyomma* spp (larvas), *Amblyomma ovale* (larva), *Amblyomma dubitatum* (ninfas), *Amblyomma sculptum* (ninfas, fêmeas e machos), *Dermacentor nitens* (ninfas, fêmeas e machos), *Rhipicephalus microplus* (ninfas, fêmeas e machos) e pulgas (*Ctenocephalides felis* e *Siphonaptera: Rhopalopsyllidae* cf. *Rhopalopsyllus*). As Tabelas 8, 9 e 10 especificam quais ectoparasitos foram registrados nos ovinos e bovinos, equinos, e gambás, respectivamente.

Tabela 8 – Ectoparasitos encontrados nos 60 ovinos e 31 bovinos amostrados no Campus "Luiz de Queiroz" entre fevereiro e outobro de 2017. Legenda: SIPO: Sistema Intensivo de Produção de Ovinos; LANA: Laboratório de Nutrição Animal

Ectoparasitos		**Código da amostra**					
		Ovelhas				**Vacas**	
		SIPO			**LANA**	**Zootecnia**	
		3953	**4016**	**4027**	**10026**	**2165**	**2336**
A. sculptum	Ninfas	-	1	-	-	-	-
	Fêmeas	-	-	-	-	-	-
	Machos	-	-	-	1	2	6
R. microplus	Ninfas	-	-	-	-	-	4
	Fêmeas	1	-	1	-	-	4
	Machos	-	-	-	-	-	3

Tabela 9 – Ectoparasitos encontrados nos 21 equinos amostrados no Campus "Luiz de Queiroz" entre outubro de 2017 e janeiro de 2018

Ectoparasitos		**Código da amostra**												
		Equoterapia							**Zootecnia**					
		02	**03**	**04**	**05**	**06**	**09**	**10**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**	**21**
A. sculptum	Ninfas	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fêmeas	-	-	-	-	-	1	1	1	1	3	1	3	7
	Machos	-	-	-	-	-	-	-	2	1	2	5	1	5
D. nitens	Ninfas	3	-	1	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-
	Fêmeas	1	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Machos	1	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabela 10 – Ectoparasitos encontrados nos 44 gambás capturados no Campus “Luiz de Queiroz” entre fevereiro e dezembro de 2017. Legenda: URB: áreas sem influência direta de capivaras, como áreas urbanas e peri-urbanas; MC: áreas com influência direta de capivaras, como matas ciliares

Ectoparasitos		**Código da amostra**																
		URB									**MC**							
		05	**12**	**17**	**20**	**21**	**23**	**24**	**27**	**30**	**01**	**02**	**03**	**06**	**07**	**09**	**10**	**11**
Amblyomma spp.	Larvas	-	4	-	-	-	-	-	1	-	6	35	50	-	-	4	1	-
A. ovale	Larvas	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A. dubitatum	Ninfas	1	-	-	-	-	2	-	1	1	-	-	-	-	5	2	1	-
A. sculptum	Ninfas	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	14	21	13	3
C. felis	Adulto	-	-	-	1	5	-	2	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Siphonaptera: Rhopalopsyllidae, cf. *Rhopalopsyllus*	Adulto	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-

5.2. Resultados da etapa de Triagem dos soros dos hospedeiros

Na Tabela 11 encontram-se quais soros foram reagentes quando analisadas na concentração 1:64, utilizada na etapa de Triagem. Aproximadamente 10% (15/156) dos hospedeiros foram soropositivos, um (1) ovino, um (1) bovino, sete (7) equinos e seis (6) gambás. Dentre os equinos soropositivos, apenas dois pertencem ao plantel da Equoterapia, os demais integram a tropa do LZT-ESALQ. Dentre os seis gambás soropositivos, nenhum estava entre os 33 capturados em áreas urbanas e peri-urbanas (locais sem influência direta de capivaras), mas entre os 11 capturados nas matas ciliares e locais frequentados por capivaras (áreas com influência direta do roedor).

Tabela 11 – Relação de soros positivos para a presença de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do Grupo da Febre Maculosa na etapa de Triagem em relação ao total de soros obtidos de hospedeiros do Campus “Luiz de Queiroz”. Legenda: LANA: Laboratório de Nutrição Animal; SIPO: Sistema Intensivo de Produção de Ovinos; URB: áreas sem influência direta de capivaras, como áreas urbanas e peri-urbanas; MC: áreas com influência direta de capivaras, como matas ciliares

Hospedeiro	**Origem**	**Indivíduos amostrados**	**Soros positivos**	**Código da amostra**
Bovinos	Zootecnia	31	1 (3,2%)	VACA 2297
Ovinos	LANA	30	1 (3,3%)	OVELHA 1329
	SIPO	30	0 (0%)	-
Equinos	Equoterapia	15	2 (13,3%)	EQ 01 EQ 13
	Zootecnia	6	5 (83,3%)	EQ 16 EQ 17 EQ 18 EQ 19 EQ 20
Gambás	URB	33	0 (0%)	-
	MC	11	6 (54,5%)	G MC 01 G MC 02 G MC 03 G MC 05 G MC 20 G MC 21
TOTAL		156	15 (9,6%)	

5.3. Títulos máximos de anticorpos nos soros positivos

Na Tabela 12 verifica-se os títulos máximos de anticorpos anti-*R. rickettsii*, anti-*R. parkeri*, anti-*R. amblyommatis,* anti-*R. bellii* e anti-*R. rhipicephali* encontrados nos soros classificados como positivos na etapa de Triagem. Cinco soros de gambás e um ovino apresentaram concentração de anticorpos anti-*R. rickettsii* ao menos quatro vezes maior do que para outras *Rickettsia* spp., indicando esta espécie como possível antígeno envolvido em resposta homóloga. O mesmo ocorreu com *R. bellii* em um soro equino.

Tabela 12 – Títulos máximos de anticorpos encontrados nos soros classificados como positivos na etapa de Triagem. Títulos seguidos de "*" foram ao menos quatro vezes maiores do que para as outras *Rickettsia* spp., indicando possível resposta homóloga aos antígenos de *Rickettsia rickettsii ou Rickettsia bellii*. Legenda: Rr: *Rickettsia rickettsii;* Rp: *Rickettsia parkeri*; Ra: *Rickettsia amblyommatis;* Rb: *Rickettsia bellii*; Rrh: *Rickettsia rhipicephali*; n/r: não reagente; PAERH: possível antígeno envolvido em resposta homóloga

Hospedeiro	**Código da amostra**	**Títulos máximos de anticorpos por *Rickettsia* sp.**					**PAERH**
		Rr	**Rp**	**Ra**	**Rb**	**Rrh**	
Bovino	VACA 2297	512	256	64	64	128	-
Ovino	OVELHA 1329	64 *	n/r	n/r	n/r	n/r	*R. rickettsii*
Equinos	EQ 01	n/r	n/r	n/r	128 *	n/r	*R. bellii*
	EQ 13	64	64	n/r	128	64	-
	EQ 16	1024	1024	64	128	1024	-
	EQ 17	512	1024	128	64	1024	-
	EQ 18	256	128	n/r	n/r	64	-
	EQ 19	256	1024	64	64	512	-
	EQ 20	256	256	128	64	512	-
Gambás	G MC 01	2048 *	256	256	n/r	512	*R. rickettsii*
	G MC 02	256 *	64	n/r	n/r	64	*R. rickettsii*
	G MC 03	128 *	n/r	n/r	n/r	n/r	*R. rickettsii*
	G MC 05	4096 *	1024	512	256	1024	*R. rickettsii*
	G MC 06	256 *	64	n/r	64	64	*R. rickettsii*
	G MC 07	4096	2048	512	512	1024	-

6. DISCUSSÃO

Cabe ressaltar antes do início da discussão que o levantamento de ectoparasitos foi conduzido de acordo com a conveniência em cada amostragem, e nunca constituiu um objetivo do trabalho; quando possível os hospedeiros foram vistoriados com este fim. O nível de detalhamento e a duração de cada busca dependeu da metodologia de contenção e do tempo que os responsáveis pelos rebanhos domésticos disponibilizaram para a amostragem de cada indivíduo, sendo raras as ocasiões em que um hospedeiro foi vistoriado à exaustão para coleta de seus ectoparasitos, o que ocorreu apenas em algumas amostragens de gambás. Desta maneira, por não ter sido adotada uma metodologia padronizada para estas amostragens, os resultados referentes a este tema não devem ser tomados como base para qualquer projeção, mas interpretados como um relato oportunista da fauna de ectoparasitos encontrados em hospedeiros e potenciais hospedeiros do carrapato-estrela no Campus "Luiz de Queiroz". O fato de se ter registrado apenas um carrapato ou uma pulga num hospedeiro não significa, necessariamente, que o mesmo estivesse pouco parasitado, em muitos casos havia alta carga parasitária, mas apenas por um tipo de parasita (*e.g.* pulgas em gambás da área urbana), sendo coletado apenas um indivíduo, a título de amostragem. Estas limitações e suas implicações serão detalhadas caso a caso.

6.1. Ovinos

Os 60 animais amostrados frequentam regularmente pastagens adjacentes à matas ciliares ocupadas por capivaras, separadas destas zonas ripárias apenas por cercas de tela. Em situação ideal, estas pastagens deveriam ser sempre áreas sem influência direta de capivaras, mas cercas de tela são facilmente danificadas pela queda de galhos, vendavais, ação da água e animais como tatus, que podem derrubar ou criar buracos na estrutura, criando pontos de acesso para as capivaras, como já foi registrado diversas vezes pela equipe do LANA.

Estes episódios, no entanto, constituem situações excepcionais, e as baixas prevalências e intensidades de parasitismo registradas nos rebanhos do LANA e do SIPO já eram esperadas por algumas razões, a) pode se assumir que as pastagens dos ovinos não constituem áreas de trânsito e permanência de capivaras; b) o carrapato-estrela *A. sculptum* apresenta capacidade limitada de deslocamento horizontal (PAJUABA NETO et al., 2018); c) ovinos são refratários ao parasitismo por larvas e suscetíveis a repetidas infestações por ninfas e adultos de *A. sculptum* (PROSDOCIMI et al., 2010), mas não são considerados hospedeiros primários deste carrapato (PINTER et al., 2011); d) as amostragens foram realizadas em fevereiro (LANA) e outubro (SIPO), períodos em que predominam no ambiente as formas adultas do carrapato-estrela *A. sculptum* (LABRUNA et al., 2002a).

A. sculptum apresenta comportamento de emboscada (escala a vegetação e fica à espera de hospedeiros que eventualmente passem por ali) e caça (desloca-se horizontalmente para atacar hospedeiros ao detectar atrativos químicos como CO_2) (PAJUABA NETO et al., 2018). Desta maneira, o carrapato-estrela *A. sculptum* adulto encontrado parasitando a ovelha 10026 (LANA, Tabela 8) podia estar parado na cerca de tela e passado para o ovino quando o ruminante encostou na estrutura; pode ter vindo de fora da área das pastagens, deslocando-se por alguns metros e subindo na ovelha, ou mesmo ter sido trazido para as pastagens por outro hospedeiro, como os quatis frequentemente avistados nas proximidades. Ainda, o fato de ter se fixado no hospedeiro não garante que o carrapato conseguiria realizar o repasto adequadamente (LOPES et al., 1998).

Embora o parasitismo de ovinos por *R. microplus* seja conhecido no Brasil (MADEIRA; AMARANTE; PADOVANI, 2000; BRITO; SANTOS; GUERRA, 2005; PEREIRA et al., 2012; GARCIA et al., 2014), o registro de duas fêmeas deste carrapato nas ovelhas 3953 e 4027 (SIPO) foi inesperado. Devido à ausência de bovinos nas pastagens do SIPO e proximidade com matas ciliares ocupadas por capivaras, havia se cogitado somente eventual parasitismo por *A. sculptum*. As ovelhas não são hospedeiros adequados para o carrapato-do-boi (MA et al., 2016), pois embora sejam capazes de manter infestações de *R. microplus*, os níveis populacionais deste carrapato diminuem a cada geração quando os ovinos são os únicos hospedeiros disponíveis (GARCIA et al., 2014).

Teoricamente, o local com níveis mais elevados de infestação por *R. microplus* no Campus "Luiz de Queiroz" são as pastagens do Centro de Treinamento do LZT-ESALQ (Figura 3, círculo laranja), onde permanece o gado leiteiro (raças europeias, Holandês preto e branco e Jersey). Estas pastagens são separadas das pastagens dos ovinos do SIPO (Figura 3, círculo vermelho) pelo ribeirão Piracicamirim. É possível, mas não provável, que estes carrapatos tenham sido dispersados de um local para o outro por animais silvestres, pois este cenário envolveria a travessia de corpo d'água por estes hospedeiros acidentais. Também é possível que estes carrapatos tenham sido dispersados para as pastagens do SIPO de maneira acidental por pessoas que tenham transitado pelos dois locais devido a compromissos profissionais ou acadêmicos.

Conforme pontuado antes no início da Discussão, os baixos níveis de parasitismo registrados não representam, necessariamente, a realidade dos rebanhos, havendo possibilidade de ocorrerem elevadas infestações nos animais, simplesmente não registradas durante a amostragem. No entanto, os resultados das análises sorológicas sugerem que, de fato, o parasitismo por carrapatos é muito reduzido nos rebanhos ovinos do Campus "Luiz de Queiroz"; apenas a ovelha 1329 (LANA) foi soropositiva (Tabela 11), seus anticorpos reagiram apenas com os antígenos de *R. rickettsii* (título máximo de 64, Tabela 12), considerando-se, portanto, esta espécie como a possível responsável pela sensibilização do indivíduo, o que, pelo baixo título de anticorpos, não deve ter ocorrido recentemente. A baixa soroprevalência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do GFM nos ovinos não implica, necessariamente, a não ocorrência destes microrganismos no ambiente, mas associada aos baixos níveis de parasitismo por carrapatos, impede a utilização dos ovinos como sentinelas para a FMB no Campus "Luiz de Queiroz".

6.2. Bovinos

Apesar de apenas a vaca 2297 ser soropositiva (Tabela 12), a situação dos bovinos difere da dos ovinos. A amostragem destes animais envolveu contenção em tronco de todos os indivíduos, com imediata liberação após a coleta de sangue, de modo que não houve tempo suficiente para a coleta de ectoparasitos. Embora tenha

se registrado parasitismo por carrapatos em apenas dois animais, vacas 2165 e 2336 (Tabela 8), provavelmente todos os bovinos se encontravam parasitados.

Mesmo com as dificuldades durante a amostragem, os registros de ectoparasitos confirmaram a ocorrência de *A. sculptum* e de *Rh. microplus* no rebanho de bovinos leiteiros do Campus "Luiz de Queiroz". A presença do carrapato-do-boi já era esperada, por sua especificidade parasitária e por este rebanho ser composto por vacas de raças europeias, com capacidade reduzida de desenvolver resistência ao parasitismo por carrapatos (CORTINAS; JONES, 2006). O parasitismo pelo carrapato-estrela era esperado por haver trânsito de capivaras pelas pastagens utilizadas pelos bovinos.

Caso tivesse ocorrido, o registro de elevada soroprevalência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do GFM entre os bovinos leiteiros do LZT-ESALQ confirmaria indiretamente a ocorrência destes microrganismos no local e o parasitismo por carrapatos-estrela nos animais, mas apenas uma vaca foi soropositiva, e os anticorpos presentes em seu soro reagiram com as cinco *Rickettsia* spp., apresentando títulos máximos de 512 para *R. rickettsii*, 256 para *R. parkeri*, 128 para *R. rhipicephali* e 64 para *R. amblyommatis* e *R. bellii*, resultado que não permite determinar o PAERH. Permite, no entanto, confirmar a ocorrência de alguma *Rickettsia* sp. do GFM no local, provavelmente *R. rickettsii*, visto que a presença deste microrganismo é reconhecida no Campus "Luiz de Queiroz" (SÃO PAULO, 2015).

Como a transmissão de *R. rickettsii* é feita quase exclusivamente por *A. sculptum*, os bovinos só poderiam ser utilizados como sentinelas para FMB caso houvesse elevada prevalência de parasitismo por este carrapato-estrela no rebanho. Neste cenário, a baixa soroprevalência registrada (Tabela 11) indicaria baixa ocorrência de uma *Rickettsia* sp. do GFM naquele ambiente, mas como a amostragem conduzida não permite nenhuma afirmação sobre a prevalência de *A. sculptum* nas vacas, não é possível concluir se os bovinos do Centro de Treinamento da Zootecnia podem ser utilizados como sentinelas para FMB no Campus "Luiz de Queiroz" ou não.

6.3. Equinos

Por serem hospedeiros primários e por transitarem diariamente pelas pastagens infestadas por *A. sculptum* de uma área de transmissão de FMB, era esperado que os equinos do LZT-ESALQ apresentassem elevada prevalência de parasitismo por carrapatos-estrela e altos títulos de anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii*, o que se confirmou parcialmente. Todos os seis cavalos estavam parasitados por *A. sculptum* (Tabela 9) e cinco deles estavam soropositivos, apresentando altos títulos de anticorpos reagentes a mais de uma *Rickettsia* sp. do GFM (*R. rickettsii*, *R. parkeri* e *R. rhipicephali*, Tabela 12), não sendo possível determinar o PAERH em cada caso, embora muito provavelmente *R. rickettsii* tenha sido o microrganismo responsável pela sensibilização de alguns ou todos os animais, visto que sua presença na área é tradicionalmente reconhecida. Há possibilidade de que estas respostas imunológicas tenham sido desencadeadas por *R. parkeri*, como registrado em cavalos no Campus "Luiz de Queiroz" por Horta et al. (2007). Embora contribuam para a replicação dos carrapatos-estrela, permitindo o repasto e cópula de carrapatos adultos, a infecção de cavalos por *R. rickettsii* não impactaria diretamente na manutenção do microrganismo no ambiente, visto que estes equinos não amplificam a bactéria para *A. sculptum* (UENO et al., 2016). O único equino do LZT-ESALQ não reagente (cavalo 21) não é mais utilizado na lida de gado há anos, exercendo apenas a função de reprodutor. Por não percorrer grandes distâncias nos pastos infestados a probabilidade de contato com carrapatos portadores de *Rickettsia rickettsii* é menor do que para os outros cinco equinos, podendo ter se tornado soronegativo devido à ausência de desafio imunológico por antígenos de *Rickettsia* spp. do GFM.

A situação dos cavalos da Equoterapia foi oposta, com apenas dois animais soropositivos (equinos 01 e 13, Tabela 11), o que era esperado, visto que estes animais não transitam por áreas de influência direta das capivaras ou pastagens infestadas por carrapatos-estrela. Os anticorpos do equino 01 reagiram somente com os antígenos de *R. bellii* (título máximo de 128), considerando-se portanto esta espécie como PAERH. O soro do equino 13, embora tenha apresentado o mesmo título máximo de anticorpos para *R. belli* (128), também reagiu com *R. rickettsii*, *R. parkeri* e *R. rhipicephali* (títulos máximos de 64), não se podendo determinar a espécie responsável pelo desencadeamento da resposta imune, e, ainda que fosse

possível, não haveria segurança para se afirmar que a infecção ocorreu no Campus "Luiz de Queiroz", visto que este cavalo era recém-chegado à tropa da Equoterapia. A Resolução Conjunta SMA/SUCEN 01/2016 (SÃO PAULO, 2016) determina que equinos amostrados em estudos de soroprevalência para classificação do nível de risco de uma área para FMB, além de terem no mínimo dois e no máximo 20 anos de idade, devem estar vivendo no local há pelo menos três anos, condição não atendida por cinco dos 15 cavalos da Equoterapia (equinos 04 e 09 haviam chegado ao Campus "Luiz de Queiroz" há menos de um ano; equinos 11, 12 e 13 há menos de um mês).

A ocorrência de *R. bellii* no Campus "Luiz de Queiroz" já havia sido registrada por Horta et al. (2007), mas apenas em carrapatos-estrela infectados (uma ninfa de *Amblyomma dubitatum* e três larvas e uma ninfa de *Amblyomma* spp.). O primeiro registro de infecção natural de hospedeiros vertebrados por *R. bellii* foi feito por Pacheco et al. (2007) em capivaras nos municípios de São Paulo, Cordeirópolis, Andradina, Valparaíso e Cosmorama. *R. bellii* também foi determinada como PAERH para cães (FORTES et al., 2010; AMORIM et al., 2013; COSTA et al., 2017b) e equinos (AMORIM et al., 2013). O presente estudo apresenta o segundo registro de evidência de infecção por *R. bellii* em cavalos, é o quinto registro para hospedeiros vertebrados em geral e o primeiro no Campus "Luiz de Queiroz" e no município de Piracicaba. Esta *Rickettsia* sp. é a mais frequente em carrapatos no Brasil (LABRUNA et al., 2007b) e não pertence ao GFM, mas ao “grupo ancestral” (STOTHARD; FUERST, 1995), sendo desconhecido seu potencial patogênico, não havendo registro de casos de infecção humana.

Foi possível conduzir amostragem detalhada de ectoparasitos nos cavalos da Equoterapia, e nenhum carrapato foi encontrado nos indivíduos soropositivos. Em contrapartida três animais estavam parasitados por poucos *A. sculptum*, três por *D. nitens* e um apresentou infestação pelas duas espécies. O carrapato-da-orelha-do-cavalo *D. nitens* é muito comum no estado de São Paulo e está associado à transmissão de *Babesia caballi*, agente etiológico da piroplasmose equina (KERBER et al., 2009). Apresenta alta especificidade parasitária em relação aos cavalos (RODRIGUES et al., 2017), sendo o principal carrapato a parasitar estes animais no Brasil (LABRUNA et al., 2001; KOLLER et al., 2017). No Panamá registrou-se *R. rickettsii* num indivíduo de *D. nitens* coletado em um equino (BERMÚDEZ et al.,

2009), o que levantou a possibilidade de transmissão do patógeno por este carrapato. Apesar da especulação, não há informações sobre a competência vetorial da espécie (RODRIGUES et al., 2017) e, embora microrganismos similares a riquétsias tenham sido encontrados em *D.nitens* no Brasil (LEMOS et al., 1997b), aspectos comportamentais deste carrapato tornam a chance de transmissão pequena, visto que *D. nitens* raramente apresenta parasitismo humano, havendo poucos casos registrados (GUGLIELMONE et al., 2006).

Os cavalos da Equoterapia são expostos com frequência a medidas de controle de ectoparasitas por serem utilizados em atividades de recuperação, reabilitação e desenvolvimento psicomotor de crianças e jovens com necessidades especiais. Adicionalmente, interessada em evitar a ocorrência de novos casos de FMB no local, a administração do Campus "Luiz de Queiroz" promove regularmente a pulverização do espaço destinado à Equoterapia com produtos carrapaticidas a fim de reduzir ao máximo a chance de parasitismo humano por carrapatos-estrela durante o desenvolvimento das atividades. Este conjunto de medidas preventivas pode explicar os baixos níveis de parasitismo registrados nestes animais (Tabela 9).

Chamou a atenção o fato de não ter se registrado parasitismo por *D. nitens* nem *R. microplus* nos cavalos do LZT-ESALQ. Como a amostragem foi conduzida exclusivamente enquanto o sangue era colhido, não se pode afirmar que o não-registro destas espécies implique em não-ocorrência das mesmas. Por outro lado, a ausência de *R. microplus* pode indicar baixos níveis de infestação por este carrapato no ambiente, o que poderia ser explicado pela presença exclusiva de gado nelore nas pastagens frequentadas pelos cavalos do LZT-ESALQ, mais resistente a infestação por carrapatos do que as raças de gado europeias (CORTINAS; JONES, 2006).

A alta soroprevalência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do GFM registrada nos cavalos do LZT-ESALQ demonstrou que os equinos podem ser utilizados como sentinelas pra FMB no Campus "Luiz de Queiroz", reiterando a conclusão de Horta et al. (2007). Os resultados encontrados para os equinos sugerem que ao menos uma *Rickettsia* sp. do GFM ocorre no local de permanência e trânsito dos cavalos do LZT-ESALQ (áreas com presença e trânsito de grupos de capivaras), mas não da Equoterapia (áreas urbanas, sem trânsito de capivaras).

6.4. Gambás

Os gambás foram os hospedeiros em que se pôde conduzir as amostragens mais detalhadas de ectoparasitos devido ao tamanho reduzido dos animais e a contenção por sedação, que permitia o livre manuseio dos indivíduos. Dessa maneira, há segurança para interpretar não-registros como ausência de ectoparasitos ao invés de falha na amostragem. Assim como nas Tabelas 11 e 12, serão adotadas as terminologias “gambás URB” e “gambás MC” para fazer referência aos animais capturados em áreas urbanas (sem trânsito ou permanência de capivaras) e em matas ciliares (locais com trânsito e permanência dos roedores), respectivamente.

Foi registrada alta prevalência de parasitismo por estádios imaturos de *Amblyoma* spp. nos gambás MC (8/11 = 72,7%; Tabela 10). O oposto foi observado para os gambás URB, com apenas 18,2% dos indivíduos parasitados por *Amblyomma* spp. (6/33; gambás URB 05, 12, 17, 23, 27, 30; Tabela 10). O mesmo padrão foi observado quanto a soroprevalência de anticorpos anti-*Rickettsia* spp. do GFM, elevada para os gambás MC (6/11 = 54,5%; Tabela 12) e nula para os gambás URB. A intensidade média de parasitismo também diferiu entre os ambientes, com infestação média de 2 carrapatos/gambá parasitado nas áreas urbanas e 22,75 carrapatos/gambá parasitado nas matas ciliares. Estes resultados já eram esperados, visto que os gambás MC dividem o ambiente com capivaras, enquanto não há sobreposição entre o habitat dos gambás URB e dos roedores.

Poucos carrapatos foram encontrados nos gambás URB, com predominância de ninfas de *A. dubitatum*, além do registro de uma larva de *Amblyomma ovale*, espécie comumente encontrada em roedores e cães, não sendo comum em gambás (GUGLIELMONE, et al., 2003) e suspeita de transmitir *R. parkeri* no Brasil (SABATINI et al., 2010; SZABÓ; PINTER; LABRUNA, 2013; BARBIERI et al., 2014; KRAWCZAK et al., 2016a; LUZ et al., 2016). Nos gambás MC houve predominância de larvas de *Amblyomma* spp. e ninfas de *A. sculptum*.

Observou-se também diferença em relação às pulgas encontradas nos gambás de acordo com o ambiente onde foram capturados. Apenas a pulga-do-gato *C. felis* foi registrada nos animais da área urbana (gambás URB 20, 21, 24 e 30), em elevados níveis de infestação. Os gambás URB 20, 21, 24 e 30 foram

capturados no Centro de Convivência Infantil (20), Prédio das Ciências Humanas (21 e 24) e Seção de Manutenção Predial (30), locais próximos a pontos em que alguns frequentadores do campus disponibilizam água e ração diariamente para a numerosa população de gatos asselvajados existente no Campus "Luiz de Queiroz". A presença deste parasita pode ser explicada pela sobreposição da área ocupada pelos gambás URB com a área ocupada pelos felinos. Por outro lado, *C. felis* não foi observada nos gambás MC, havendo registro de uma única pulga (*Siphonaptera: Rhopalopsyllidae* cf. *Rhopalopsyllus*) no gambá MC 07 (Tabela 10). A identificação desta pulga como possível membro do gênero *Rhopalopsyllus* foi realizada pelo Prof. Dr. Pedro Marcos Linardi[3] por meio de fotos (informação pessoal), não sendo possível fazer inferências quanto a espécie. Se for confirmado o pertencimento ao referido gênero, estes resultados estarão de acordo com as observações de Horta et al. (2007), que registraram a ocorrência de *C. felis* e de duas *Rhopalopsyllus* spp. em gambás do Campus "Luiz de Queiroz".

Nenhum dos gambás URB estava soropositivo para as *Rickettsia* spp. utilizadas nas análises, mas poderiam estar para *Rickettsia felis*, considerando a elevada prevalência de *R. felis* na pulga *C. felis* (LABRUNA, 2009) e as densas infestações por *C. felis* nos gambás URB. Quanto aos gambás MC, seis dos 11 indivíduos foram soropositivos, e para cinco deles (gambás MC 01, 02, 03, 05 e 06) o título máximo de anticorpos para *R. rickettsii* estava ao menos quatro vezes maior que para as outras espécies, sendo possível indicar o agente etiológico da FMB como PAERH. O gambá MC 05 apresentou título máximo de 4096 para *R. rickettsii*, o que indica infecção recente, durante a qual novos carrapatos podem ter se infectado, visto que os gambás são hospedeiros amplificadores deste microrganismo para *A. sculptum* (HORTA et al., 2009). O gambá MC 07 apresentou título máximo de 4096 para *R. rickettsii* e 2048 para *R. parkeri*, valores que, mesmo sem permitir a determinação do PAERH, indicam infecção recente, havendo possibilidade de envolvimento tanto de *R. rickettsii* como de *R. parkeri*, visto que evidências sorológicas de infecção de gambás por este segundo microrganismo foram encontradas no Campus "Luiz de Queiroz" por Horta et al. (2007).

---

[3] LINARDI, P.M. **Consulta identificador pulga.** Mensagem recebida por ftr.ortiz@usp.br em 25 de mai. 2018.

A alta prevalência de parasitismo por carrapatos-estrela e os elevados títulos de anticorpos anti-*R. rickettsii* registrados nos gambás MC, mas não nos gambás URB, evidencia a existência de diferenças ambientais entre os habitats destes marsupiais. Muito provavelmente o principal fator que diferencia os ambientes é a presença/ausência de capivaras. Os resultados também demonstram que os gambás podem ser utilizados como sentinelas para a FMB no Campus "Luiz de Queiroz", e coincidiram com o que foi observado para os equinos, concluindo-se que *R. rickettsii* continua ocorrendo no Campus "Luiz de Queiroz", mas parece estar restrita às áreas de influência direta das capivaras, locais de trânsito e permanência destes hospedeiros amplificadores, sobretudo a mata ciliar da lagoa do aeroporto (onde foi capturado o gambá MC 05, Tabela 12), e trechos da mata ciliar do rio Piracicaba (próximos ao LANA, onde foram capturados os gambás MC 01, 02 e 03; e próximos às pastagens do gado de corte, onde foram capturados os gambás MC 06 e 07; Tabela 12).

Os resultados das análises sorológicas dos gambás MC reforçam a conclusão de que os equinos podem ser utilizados como sentinelas para FMB no Campus "Luiz de Queiroz". A soropositividade dos gambás MC 06 e 07 e dos cavalos 16, 17, 18, 19 e 20 (LZT-ESALQ) fornece evidências de infecção em dois tipos diferentes de hospedeiro que ocupam áreas contíguas (pastagens e mata ciliar) e sem sobreposição; nem os cavalos adentram as matas ciliares, nem os gambás vão para as pastagens, mas as capivaras transitam pelos dois locais, multiplicando carrapatos-estrela e amplificando *R. rickettsii*, criando condições para a infecção de novos carrapatos.

De maneira similar, os gambás MC 01, 02 e 03 foram capturados em armadilhas instaladas na área externa do Biotério do CENA, local separado da mata ciliar do rio Piracicaba por uma faixa ocupada pelas pastagens onde são mantidas as ovelhas do LANA. Mesmo sendo amostrados em trechos contíguos do mesmo ambiente, os três gambás ali capturados tiveram *R. rickettsii* como PAERH, enquanto apenas uma das 30 ovelhas amostradas apresentou este resultado, com título de anticorpos muito baixo, reforçando a conclusão de que os ovinos não podem ser utilizados como sentinelas para FMB no Campus "Luiz de Queiroz".

7. CONCLUSÕES

Os ovinos do Campus “Luiz de Queiroz” não reúnem as características necessárias para serem utilizados como hospedeiros sentinelas para Febre Maculosa Brasileira no local.

Não foi possível concluir sobre a possibilidade de utilização dos bovinos leiteiros do Campus “Luiz de Queiroz” como sentinelas para Febre Maculosa Brasileira no local.

Os equinos e os gambás do Campus “Luiz de Queiroz” podem ser utilizados como hospedeiros sentinelas para Febre Maculosa Brasileira no local.

Rickettsia bellii, ou um microrganismo muito semelhante, ocorre na área urbana do Campus “Luiz de Queiroz” e é capaz de infectar cavalos.

Rickettsia rickettsii, ou um microrganismo muito semelhante, ocorre no Campus “Luiz de Queiroz” em áreas de permanência e trânsito de capivaras, como a mata ciliar da lagoa do aeroporto e trechos da mata ciliar do rio Piracicaba.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. Técnicas de laboratório comumente usadas em imunologia. In: ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, S. (Ed.). **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2011. p. 513-525.

AGÊNCIA ESTADO. Criança de 6 anos morre de febre maculosa em Piracicaba. **O Estado de São Paulo**, São Paulo, 15 set. 2002. Disponível em: <http://brasil.estadao.com.br/noticias/geral,crianca-de-6-anos-morre-de-febre-maculosa-em-piracicaba,20020915p19792>. Acesso em: 08 maio 2018.

AGUIAR, D. M. et al. A novel Ehrlichia genotype strain distinguished by the TRP36 gene naturally infects cattle in Brazil and causes clinical manifestations associated with ehrlichiosis. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 5, p. 537–544, 1 set. 2014.

ÁLVAREZ-HERNÁNDEZ, G. et al. Rocky Mountain spotted fever in Mexico: past, present, and future. **The Lancet. Infectious Diseases**, New York, v. 17, n. 6, e189-e196, 2017. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30173-1.

AMORIM, M. V. de et al. Detecção de anticorpos anti-Rickettsia spp. em cães e equinos no estado de Mato Grosso, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3755–3766, 2013. Supl. 2.

ANGERAMI, R. N. et al. Clusters of Brazilian spotted fever in São Paulo State, southeastern Brazil. A review of official reports and the scientific literature. **Clinical Microbiology and Infection**, Paris, v. 15, p. 202–204, 2009a.

ANGERAMI, R. N. et al. 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**, Paris, v. 15, n. 2, p. 207–208, 2009b.

ARAGÃO, H. de B. Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 31, n. 4, p. 759–843, 1936.

ARAGÃO, H. de B. Notas sobre ixódidas brasileiros. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 2, p. 145–195, 1911.

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. da. Notas de Ixodologia. IX. O complexo Ovale do genero Amblyomma. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 59, n. 2, p. 131-148, 1961. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/mioc/v59n2/tomo59(f2)_071-095.pdf. Acesso em: 15 maio. 2018.

ARGÜELLO, A. P. et al. Case report: A fatal urban case of Rocky Mountain spotted fever presenting an eschar in San José, Costa Rica. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 87, n. 2, p. 345–348, 2012.

BARBIERI, A. R. M. **Ecologia de carrapatos e riquétsias transmitidas por carrapatos em uma reserva natural de Cerrado brasileiro**. 2016. 103 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2016.

BARBIERI, A. R. M. et al. Epidemiology of Rickettsia sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever-endemic area of southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 848–853, 2014.

BERGEY, D. H. et al. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.** A key for the identification of organisms of the class Schizomycetes. 5. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1939.

BERMÚDEZ, S. E. et al. Detection and Identification of Rickettsial Agents in Ticks From Domestic Mammals in Eastern Panama. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 46, n. 4, p. 856-861, 2009.

BONOLDI, V. L. N. et al. Primeiro caso de febre maculosa brasileira branda associada à artrite. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 54, n. 3, p. 237-240, 2014.

BOONE, D. R.; CASTENHOLZ, R. W.; GARRITY, G. M. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer-Verlag, 2001. v. 1.

BOW, M. R.; BROWN, J. H. Tick-Borne diseases of man in Alberta. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v. 53, n. 5, p. 459-465, 1945.

BOZEMAN, F. M. et al. Ecology of Rocky Mountain Spotted Fever. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 16, n. 1, p. 48–59, 1967.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica.** 7. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica, 2009. 816 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sistema Nacional de Agravos de Notificação** – SINAM. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_maculosa_br_unidades1997_2011.pdf>. Acesso em: 16 set. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sistema Nacional de Agravos de Notificação** – SINAM. Brasília, DF, 2018. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinannet/cnv/febremaculosabr.def>. Acesso em: 10 abr. 2018.

BREED, R. S.; MURRAY, E.; HITCHENS, A. P. **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 6. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1948.

BREED, R. S.; MURRAY, E.; SMITH, N. R. **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 7. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1957.

BRENNER, D. et al. Proposals to unify the Genera Bartonella and Rochalimaea, with Descriptions of Bartonella quintana comb. nov., Bartonella vinsonii comb. nov., Bartonella henselae comb. nov., and Bartonella elizabethae comb. nov., and to remove the Family Bartonellaceae f. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 43, n. 4, p. 777–786, 1993.

BRENNER, D. J. et al. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer, 2005. 324 p.

BRITES-NETO, J. et al. Environmental infestation and rickettsial infection in ticks in an area endemic for Brazilian spotted fever. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 22, n. 3, p. 367–372, 2013.

BRITO, D. R. B.; SANTOS, A. C. G.; GUERRA, R. M. S. N. C. Ectoparasitos em rebanhos de caprinos e ovinos na microrregião do Alto Mearim e Grajaú, no estado do Maranhão. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 14, n. 2, p. 59–63, 2005.

BROWN, L. D.; MACALUSO, K. R. Rickettsia felis, an Emerging Flea-Borne Rickettsiosis. **Current Tropical Medicine Reports**, Cham, v. 3, p. 27–39, 2016.

BURGDORFER, W. et al. Rhipicephalus sanguineus: vector of a new spotted fever group rickettsia in the United States. **Infection and Immunity**, Bethesda, v. 12, n. 1, p. 205–210, 1975.

BURGDORFER, W. Tick-borne diseases in the United States: Rocky Mountain spotted fever and Colorado tick fever. A review. **Acta Tropica**, Base, v. 34, n. 2, p. 103–126, 1977.

CÁCERES, N. C. Food habits and seed dispersal by the White-Eared opossum Didelphis albiventris in Southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, Amsterdam, v. 37, n. 2, p. 97–104, 2002.

CÁCERES, N. C. Use of the space by the opossum Didelphis aurita Wied-Newied (Mammalia, Marsupialia) in a mixed forest fragment of southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 315–322, 2003.

CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Tamanho corporal em populações naturais de Didelphis (Mammalia: Marsupialia) do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, São Carlos, v. 59, n. 3, p. 461–469, 1999.

CAMPBELL, D. H.et al. Detection of antigen by fluorescein-labeled antibody. In: CAMPBELL, D. H. et al. (ed.). **Methods in immunology** - a laboratory text for instruction and research. 2. ed. New York: W. A. Benjamin, 1974. p. 349-356.

CARO, T. M.; O'DOHERTY, G. On the use of surrogate species in conservation biology. **Conservation Biology**, Boston, v. 13, n. 4, p. 805–814, 1999.

CERQUEIRA, R. The Distribution of Didelphis in South America (Polyprotodontia, Didelphidae). **Journal of Biogeography**, Oxford, v. 12, n. 2, p. 135, 1985.

CERQUEIRA, R.; TRIBE, C. J. Genus Didelphis. In: GARDNER, A. L. (Ed.). **Mammals of South America**. Chicago: The University of Chicago Press, 2007. v. 1, p. 17–24.

CICUTTIN, G.; NAVA, S. Molecular identification of Rickettsia parkeri infecting Amblyomma triste ticks in an area of Argentina where cases of rickettsiosis were diagnosed. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 1, p. 123–125, 2013.

COELHO, M. G. et al. Serologic evidence of the exposure of small mammals to spotted-fever Rickettsia and Rickettsia bellii in Minas Gerais, Brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, Milano, v. 10, n. 3, p. 275–282, 2016.

CONTI-DÍAZ, I. A. et al. Rickettsiosis cutáneo ganglionar por Rickettsia conorii en el Uruguay. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 32, n. 5, p. 313–318, 1990.

CONTI-DÍAZ, I. A. Rickettsiosis Caused by Rickettsia conorii in Uruguay. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 990, n. 1, p. 264–266, 2003.

CORTINAS, R.; JONES, C. J. **Ectoparasites of cattle and small ruminantsveterinary clinics of North America -** Food animal practice. Amsterdam: Elsevier, 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17071359>. Acesso em: 24 maio 2018

COSTA, F. B. et al. New records of Rickettsia bellii-infected ticks in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 54, n. 1, p. 92–95, 2017a.

COSTA, F. B. 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**, San Francisco, v. 12, n. 6, e. 0179163, 2017b.

CUNHA, N. 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, v. 29, n. 2, p. 105–108, 2009.

DE LA FUENTE, J. et al. Overview: Ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. **Frontiers in Bioscience**, Tampa, v. 13, p. 6938-6946, 2008.

DEL GUERCIO, V. M. F. et al. Febre Maculosa no município de Pedreira, SP, Brasil. Inquérito Sorológico. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 30, n. 1, p. 47–52, 1997.

DELUCA, D. Immunofluorescence analysis. In: MARCHALONIS, J. J.; WARR, G. W. (Ed.). **Antibody as a tool**: the applications of Immunochemistry. New York: John Wiley & Sons, 1982. chap. 7, p.189-231.

DEMMA, L. J. et al. Rocky Mountain Spotted Fever from an Unexpected Tick Vector in Arizona. **New England Journal of Medicine**, Melbourn, v. 353, n. 6, p. 587–594, 2005.

DIAS, E.; MARTINS, A. V. Spotted Fever in Brazil: a summary. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 19, p. 103–108, 1939.

DIEME, C. et al. Transmission potential of Rickettsia felis infection by Anopheles gambiae mosquitoes. **Proceedings of the National Academy of Science of the USA**, Washington, DC, v. 112, n. 26, p. 8088-8093, 2015.

DUMLER, J. S. et al. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and “HGE agent” as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 51, n. 6, p. 2145–2165, 2001.

DUMLER, J. S.; WALKER, D. H. Rocky Mountain Spotted Fever - Changing Ecology and Persisting Virulence. **New England Journal of Medicine**, Melbourn, v. 353, n. 6, p. 551–553, 2005.

DUNCAN, J. H. Rocky Mountain Spotted Fever in Canada. **Canadian Medical Association Journal**, Ottawa, v. 37, n. 6, p. 575–577, 1937.

EREMEEVA, M. E. et al. Rickettsia rickettsii in Rhipicephalus Ticks, Mexicali, Mexico. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 48, n. 2, p. 418-421, 2011.

ESTRADA-PEÑA, A. et al. The Amblyomma maculatum Koch, 1844 (Acari: Ixodidae: Amblyomminae) tick group: diagnostic characters, description of the larva of A. parvitarsum Neumann, 1901, 16S rDNA sequences, distribution and hosts. **Systematic Parasitology**, The Hague, v. 60, n. 2, p. 99–112, 2005.

ESTRIPEAUT, D. et al. Rocky Mountain spotted fever, Panama. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, n. 11, p. 1763–1765, 2007.

EUZÉBY, J. P. List of Bacterial Names with Standing in Nomenclature: a folder available on the internet. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 47, p. 590-592, 1997.

FAO. **FAOSTAT**. Rome: FAO, Statistics Division, 2016. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QA/E>. Acesso em: 28 maio 2018.

FERRAZ, K. M. P. M. B. et al. Distribution of Capybaras in an Agroecosystem, Southeastern Brazil, Based on Ecological Niche Modeling. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 90, n. 1, p. 189–194, 2009.

FORTES, F. S. et al. Seroprevalence of Rickettsia bellii and Rickettsia felis in dogs, São José dos Pinhais, State of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 19, n. 4, p. 222–227, 2010.

FUENTES, L. Ecological study of Rocky Mountain spotted fever in Costa Rica. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 35, n. 1, p. 192–196, 1986.

GALVÃO, M. A. M. et al. Rickettsial diseases in Brazil and Portugal: occurrence, distribution and diagnosis. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 5, p. 850–856, 2005.

GARCIA, M. V. et al. Contributions of the hair sheep breed santa ines as a maintenance host for rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae) in Brazil. **Parasites and Vectors**, London, v. 7, n. 1, p. 515, 2014.

GARRITY, G. et al. **Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7**. East Lansing: Michigan State University, Board of Trustees, 2007. Disponível em: <http://www.taxonomicoutline.org/content/7/7/>. Acesso em: 28 maio 2018.

GEHRKE, F. S. et al. Rickettsia rickettsii, Rickettsia felis and Rickettsia sp. TwKM03 infecting Rhipicephalus sanguineus and Ctenocephalides felis collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the State of Rio De Janeiro/Brazil. **Clinical Microbiology and Infection**, Paris, v. 15, p. 267–268, 2009. Suppl 2.

GRISI, L. et al. Reassessment of the potential economic impact of cattle parasites in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 23, n. 2, p. 150–156, 2014.

GUEDES, E. et al. Detection of Rickettsia rickettsii in the tick Amblyomma cajennense in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 100, n. 8, p. 841-845, 2005.

GUGLIELMONE, A. A. et al. Amblyomma aureolatum (Pallas, 1772) and Amblyomma ovale Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): hosts, distribution and 16S rDNA sequences. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 113, n. 3–4, p. 273–288, 2003.

GUGLIELMONE, A. A. et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 40, p. 83–100, 2006.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTTESTI, D. M. (Ed.). **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Editora Plêiade, 2001.

HEIJDEN, K. M. VAN DER et al. Histopathology of Tick-Bite Lesions in Naturally Infested Capybaras (Hydrochoerus hydrochaeris) in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 37, n. 3–4, p. 245–255, 2005.

HIDALGO, M. et al. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, n. 7, p. 1058–1060, 2007.

HIDALGO, M. et al. Outbreak of Rocky Mountain spotted fever in Córdoba, Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 1, p. 117–118, 2011.

HORTA, M. C. et al. Experimental Infection of Opossums Didelphis aurita by Rickettsia rickettsii and Evaluation of the Transmission of the Infection to Ticks Amblyomma cajennense. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 9, n. 1, p. 109–118, 2009.

HORTA, M. C. et al. Experimental Infection of the Opossum Didelphis aurita by Rickettsia felis, Rickettsia bellii, and Rickettsia parkeri and Evaluation of the Transmission of the Infection to Ticks Amblyomma cajennense and Amblyomma dubitatum. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 10, n. 10, p. 959–967, 2010.

HORTA, M. C. et al. 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 gr. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 71, n. 1, p. 93–97, 2004.

HORTA, M. C. et al. Rickettsia felis (Rickettsiales: Rickettsiaceae) in Ctenocephalides felis felis (Siphonaptera: Pulicidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p. 321–325, 2005.

HORTA, M. C. et al. Rickettsia infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n. 7, p. 793–801, 2007.

HORTA, M. C. et al. Rickettsia felis in Ctenocephalides felis felis from five geographic regions of Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 91, n. 1, p. 96–100, 2014.

HUN-OPFER, L. Las fiebres manchadas y su importancia en Costa Rica. **Acta Médica Costarricense**, San José, v. 50, n. 2, p. 77–86, 2008.

INFORMA ECONOMICS IEG/FNP. **Anuário da Pecuária Brasileira** – ANUALPEC - 2017. 24. ed. São Paulo, 2017. Disponível em: <http://anualpec.com.br/>. Acesso em: 17 ago. 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Produção da Pecuária Municipal**, Rio de Janeiro, v. 42, p. 1-39, 2014.

INSTITUTO BUTANTAN. Necrológio - Dr. José Lemos Monteiro. **Memórias do Instituto Butantan**, tomo 10, p. 1-7, 1935.

INTERNATIONAL UNION FOR CONSERVATION OF NATURE AND NATURAL RESOURCES - IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2015-4. Cambridge, 2015. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 05 jun. 2016.

KARPATHY, S. E. et al. 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**, Reading, v. 66, n. 12, p. 5236–5243, 2016.

KATZ, G. et al. Situação epidemiológica e importância da febre maculosa no Estado de São Paulo. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 6, p. 4–13, 2009.

KERBER, C. E. et al. Prevalence of equine Piroplasmosis and its association with tick infestation in the State of São Paulo, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 4, p. 1–8, 2009.

KOLLER, W. W. et al. **Biologia e controle de Dermacentor nitens**: o carrapato-da-orelha-do-cavalo. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2017. 32 p. (Documentos, 231).

KRAWCZAK, F. S. et al. Ecology of a tick-borne spotted fever in southern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 70, n. 2, p. 219–229, 2016a.

KRAWCZAK, F. S. et al. Comparative evaluation of Amblyomma ovale ticks infected and noninfected by Rickettsia sp. strain Atlantic rainforest, the agent of an emerging rickettsiosis in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 7, n. 3, p. 502–507, 2016b.

KRAWCZAK, F. S. et al. Rickettsia sp. strain Atlantic Rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in Southern Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 95, n. 3, p. 551–553, 2016c.

KRAWCZAK, F. S. et al. Rickettsial infection in Amblyomma cajennense ticks and capybaras (Hydrochoerus hydrochaeris) in a Brazilian spotted fever-endemic area. **Parasites and Vectors**, London, v. 7, n. 1, p. 7, 2014.

KUYKENDALL, L. D. Order VI. Rhizobiales ord. nov. In: BRENNER, D. J. et al. (Ed.). **Bergey's manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer, 2005. 324 p. v. 2. The Proteobacteria, part C. The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria.

LABRUNA, M. B. Ecology of Rickettsia in South America. **Annals of the New York Academy of Sciences**, New York, v. 1166, n. 1, p. 156–166, 2009.

LABRUNA, M. B.; MACHADO, R. Z. Agentes transmitidos por carrapatos na região Neotropical. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Ed.). **Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical**. São Paulo: ICTTD - Instituto Butantan, 2006. p. 155–163.

LABRUNA, M. B. et al. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 1–14, 2001.

LABRUNA, M. B. et al. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 105, n. 1, p. 65–77, 2002a.

LABRUNA, M. B. et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild animals from the Porto-Primavera Hydroelectric power station area, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 97, n. 8, p. 1133–1136, 2002b.

LABRUNA, M. B. et al. Detection of a spotted fever group Rickettsia in the tick Haemaphysalis juxtakochi in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 169–174, 2005.

LABRUNA, M. B. et al. Human Parasitism by the Capybara Tick, Amblyomma dubitatum (Acari: Ixodidae). **Entomological News**, Lancster, v. 118, n. 1, p. 77–80, 2007a.

LABRUNA, M. B. et al. Isolation of Rickettsia rhipicephali and Rickettsia bellii from Haemaphysalis juxtakochi ticks in the state of São Paulo, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 73, n. 3, p. 869–873, 2007b.

LABRUNA, M. B. et al. Prevalence of Rickettsia Infection in Dogs from the Urban and Rural Areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 7, n. 2, p. 249–255, 2007c.

LABRUNA, M. B. et al. Comparative susceptibility of larval stages of *Amblyomma aureolatum, Amblyomma cajennense*, and *Rhipicephalus sanguineus* to infection by *Rickettsia rickettsii*. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 45, n. 6, p. 1156-1159, 2008.

LABRUNA, M. B. et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista MVZ Córdoba**, Córdoba, v. 16, n. 2, p. 2435–2457, 2011a.

LABRUNA, M. B. et al. Experimental Infection of Amblyomma aureolatum Ticks with Rickettsia rickettsii. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 5, p. 829–834, 2011b.

LABRUNA, M. B. et al. 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**, Washington, DC, v. 52, n. 10, p. 3788–3791, 2014.

LADO, P. et al. First molecular detection of Rickettsia parkeri in Amblyomma tigrinum and Amblyomma dubitatum ticks from Uruguay. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 660–662, 2014.

LADO, P. et al. Seroepidemiological survey of Rickettsia spp. in dogs from the endemic area of Rickettsia parkeri rickettsiosis in Uruguay. **Acta Tropica**, Basel, v. 146, p. 7–10, 2015.

LAPAGE, S. et al. **International Code of Nomenclature of Bacteria:** Bacteriological Code, 1990 Revision. Washington, DC: ASM Press, 1992.

LEMOS, B.; CERQUEIRA, R. Morphological differentiation in the white-eared opossum group (Didelphidae: Didelphis). **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 83, n. 2, p. 354–369, 2002.

LEMOS, E. R. S. DE et al. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever, seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 30, n. 3, p. 181–185, 1997a.

LEMOS, E. R. S. de et al. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 4, p. 477-481, 1997b.

LIMA, R. Exame verifica febre maculosa em campus. **Folha de São Paulo,** São Paulo, 21 set. 2002. Cotidiano, Caderna Saúde. Disponível em: <http://www1.folha.uol.com.br/fsp/cotidian/ff2109200220.htm>. Acesso em: 08 maio 2018.

LIMA, R. A. de S.; SHIROTA, R.; BARROS, G. S. de C. **Estudo do Complexo do Agronegócio do Cavalo.** Relatório Final. Piracicaba: CEPEA, ESALQ, USP, 2006.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Sifonápteros do Brasil**. São Paulo: FAPESP, 2000.

LONDOÑO, A. F. et al. Infection of Amblyomma ovale by Rickettsia sp. strain Atlantic rainforest, Colombia. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 672–675, 2014.

LOPES, C. M. L. et al. Host specificity of Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari Ixodidae) with Comments on the Drop-off Rhythm. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 347–351, 1998.

LOPES, M. G. et al. Ticks and rickettsiae from wildlife in Belize, Central America. **Parasites and Vectors**, London, v. 9, n. 1, p. 62, 2016.

LUZ, H. R. et al. Infection of Amblyomma ovale with Rickettsia species Atlantic rainforest in Serra do Mar, São Paulo State, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 7, n. 6, p. 1265–1267, 2016.

MA, M. et al. Biological parameters of Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari:Ixodidae) fed on rabbits, sheep, and cattle. **Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v. 54, n. 3, p. 301–305, 2016.

MADEIRA, N. G.; AMARANTE, A. F. T.; PADOVANI, C. R. Diversity of Ectoparasites in Sheep Flocks in São Paulo, Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 32, n. 4, p. 225–232, 2000.

MADIGAN, M. T. et al. Evolução e Sistemática Microbianas. In: MADIGAN, M. T. et al. (Ed.). **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010a. p. 367–397.

MADIGAN, M. T. et al. (Ed.). **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010b.

MADIGAN, M. T. et al. Bacteria: as proteobacteria. In: MADIGAN, M. T. et al. (Ed.). **Microbiologia de Brock**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010c. p. 398–444.

MAINA, A. N. et al. High prevalence of Rickettsia africae variants in Amblyomma variegatum ticks from domestic mammals in rural western Kenya: implications for human health. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 14, n. 10, p. 693–702, 2014.

MARCHINI, S.; FERRAZ, K. M. P. M. B. **Bichos da ESALQ**: quais são, como vivem e como lidar com os animais silvestres do campus. Piracicaba: ESALQ/USP, 2014. 39 p.

MARES, M. A.; ERNEST, K. A. Population and Community Ecology of Small Mammals in a Gallery Forest of Central Brazil. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 76, n. 3, p. 750, 1995.

MARTINS, T. F. **Descrição e redescrição morfológica do estágio ninfal e chave taxonômica para ninfas de carrapatos do gênero Amblyomma (Acari: Ixodidae) que ocorrem no Brasil**. 2009. 101 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

MEDEIROS, A. P. et al. Spotted fever group Rickettsia infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 106, n. 8, p. 926–930, 2011.

MELO, A. L. T. et al. Rickettsia parkeri infecting free-living Amblyomma triste ticks in the Brazilian Pantanal. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 6, n. 3, p. 237–241, 2015.

MELO, A. L. T. et al. Seroprevalence and risk factors to Ehrlichia spp. and Rickettsia spp. in dogs from the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 2, n. 4, p. 213–218, 2011.

MENTZ, M. B. et al. Rhipicephalus sanguineus (ACARI: IXODIDAE) biting a human being in Porto Alegre City, Rio Grande do Sul, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 58, p. 35-37, 2016.

MILLER, J. J.; LEVINSON, S. S. Interferences in immunoassays. In: DIAMANDIS, E. P.; CHRISTOPOULOS, T. K. (Ed.). **Immunoassay**. San Diego: Academic Press, 1996. chap. 7, p. 165-190.

MONTEIRO-FILHO, E. L. A.; GRAIPEL, M. E. Captura e marcação. In: CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. (Ed.). **Os Marsupiais do Brasil**: biologia, ecologia e evolução. 1. ed. Campo Grande: Editora UFMS, 2006.

MONTENEGRO, D. C. et al. Spotted fever: Epidemiology and vector-rickettsia-host relationship in Rio de Janeiro state. **Frontiers in Microbiology**, Lausanne, v. 8, p. 505, 2017. doi: 10.3389/fmicb.2017.00505.

MORAES-FILHO, J. et al. New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the State of São New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of São Paulo, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 9, n. 1, p. 73–78, 2009.

MOREIRA, J. A.; MAGALHÃES, O. Typho Exanthematico em Minas Geraes. **Brasil Médico**, Rio de Janeiro, n. 21, p. 465-470, 1935.

MOULDER, J. W. The Rickettsias. In: BUCHANAN, R. E.; GIBBONS, N. E. (Ed.). **Bergey's manual of determinative bacteriology**. 8. ed. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1974. p. 882–928.

NAVA, S. et al. Rickettsia parkeri in Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 14, n. 12, p. 1894–1897, 2008.

NIEBYLSKI, M. L.; PEACOCK, M. G.; SCHWAN, T. G. Lethal effect of Rickettsia rickettsii on its tick vector (Dermacentor andersoni). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 65, n. 2, p. 773–8, 1999.

NIERI-BASTOS, F. A. et al. Phylogenetic evidence for the existence of multiple strains of Rickettsia parkeri in the New World. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 84, n. 8, 2018. doi: 10.1128/AEM.02872-17.

OGRZEWALSKA, M. et al. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. **Parasitology**, London, v. 139, n. 10, p. 1283–1300, 2012.

ONOFRIO, V. C. et al. Comentários e chaves para as espécies do gênero Amblyomma. In: BARROS-BATESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Ed.). **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical**: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. p. 53–114.

ORRELL, T. (Curador). ITIS Global: The Integrated Taxonomic Information System (version Sep 2015). In: ROSKOV, Y. et al. (Ed.). **Catalogue of Life, 2016 Annual Checklist.** Leiden, Netherlands: Species 2000, 2018. Disponível em: www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2016. Acesso em: 24 maio 2018.

PACHECO, R. C. et al. Pesquisa de Rickettsia spp em carrapatos Amblyomma cajennense e Amblyomma dubitatum no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 3, p. 351–353, 2009.

PACHECO, R. C. et al. Rickettsia parkeri in Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 12, n. 11, p. 1804-1805, 2006. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17283648>. Acesso em: 11 maio 2018.

PACHECO, R. C. et al. Rickettsial infection in capybaras (Hydrochoerus hydrochaeris) from São Paulo, Brazil: serological evidence for infection by Rickettsia bellii and Rickettsia parkeri. **Biomédica**, Bogotá, v. 27, n. 3, p. 364–371, 2007.

PADDOCK, C. D. et al. Phylogeography of Rickettsia rickettsii genotypes associated with fatal rocky mountain spotted fever. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 91, n. 3, p. 589–597, 2014.

PADDOCK, C. D. et al. Rickettsia parkeri: A Newly Recognized Cause of Spotted Fever Rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 38, n. 6, p. 805–811, 2004.

PADDOCK, C. D. et al. Rocky Mountain spotted fever in Argentina. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 78, n. 4, p. 687-692, 2008.

PAJUABA NETO, A. A. et al. Influence of microhabitat use and behavior of Amblyomma sculptum and Amblyomma dubitatum nymphs (Acari: Ixodidae) on human risk for tick exposure, with notes on Rickettsia infection. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 9, n. 1, p. 67–71, 2018.

PARKER, R. R. et al. Observations of an infectious agent from Amblyomma maculatum. **Public Health Reports**, Thousand Oaks, v. 54, n. 32, p. 1482–1484, 1939.

PAROLA, P. Rickettsia felis: from a rare disease in the USA to a common cause of fever in sub-Saharan Africa. **Clinical Microbiology and Infection**, Paris, v. 17, n. 7, p. 996–1000, 2011.

PAROLA, P.; RAOULT, D. Ticks and tickborne bacterial diseases in humans: an emerging infectious threat. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v. 32, n. 6, p. 897–928, 2001.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 18, n. 4, p. 719–756, 2005.

PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: Unanswered questions and emerging diseases. **Current Infectious Disease Reports**, Philadelphia, v. 11, n. 1, p. 40-50, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19094824>. Acesso em: 12 maio 2018.

PAROLA, P. et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 26, n. 4, p. 657-702, 2013.

PARTE, A. C. List of prokaryotic names with standing in nomenclature - LPSN. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v. 42, n. D1, p. D613–D616, 2013. doi: 10.1093/nar/gkt1111.

PARTE, A. C. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature - LPSN (bacterio.net), 20 years on. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, v. 68, p. 1825-1829, 2018.

PEREIRA, M. R. et al. Comunicação Ctenocephalides Felis Felis (Bouché , 1835) e Rhipicephalus (Boophilus) Microplus (Canestrini , 1887) em caprinos e ovinos no Município de Sinop, Mato Grosso, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 79, n. 4, p. 607–609, 2012.

PEREZ, C. A. et al. Carrapatos do gênero Amblyomma (Acari: Ixodidae) e suas relações com os hospedeiros em área endêmica para febre maculosa no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 17, n. 4, p. 210–217, 2008.

PHILIP, R. N. et al. Microimmunofluorescence test for the serological study of Rocky Mountain spotted fever and typhus. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 3, n. 1, p. 51–61, 1976.

PHILIP, R. N. et al. Serologic typing of rickettsiae of the spotted fever group by microimmunofluorescence. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 121, n. 5, p. 1961–1968, 1978.

PIKE, R. M. Laboratory-associated Infections: summary and analysis of 3921 cases. **Health Laboratory Science**, Washington, Dc, v. 13, n. 2, p. 105–114, 1976.

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**, New York, v. 1078, p. 523–530, 2006.

PINTER, A. et al. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 41, n. 3, p. 324-332, 2004.

PINTER, A. et al. 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**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 247–252, 2008.

PINTER, A. et al. Febre Maculosa Brasileira. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 1-31, 2011.

PIRANDA, E. M. et al. Experimental Infection of Rhipicephalus sanguineus Ticks with the Bacterium Rickettsia rickettsii, Using Experimentally Infected Dogs. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 11, n. 1, p. 29–36, 2011.

PIZA, J. de T. Considerações epidemiologicas e clinicas sobre o Typho Exanthematico de S. Paulo. In: PIZA, J. de T.; MEYER, J. R.; GOMES, L. S. (Ed.). **Typho Exanthematico de São Paulo**. São Paulo: Sociedade Impressora Paulista, 1932. p. 9–119.

PLANT, J. W. Sheep ectoparasite control and animal welfare. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 62, n. 1–2, p. 109–112, 2006.

PLANT, J. W.; LEWIS, C. J. Treatment and control of ectoparasites in sheep. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, v. 27, n. 1, p. 203–212, 2011.

POLO, G. et al. Transmission dynamics and control of Rickettsia rickettsii in populations of Hydrochoerus hydrochaeris and Amblyomma sculptum. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 11, n. 6, e. 0005613, 2017.

POLO, G.; BAHIA LABRUNA, M.; FERREIRA, F. Satellite Hyperspectral Imagery to Support Tick-Borne Infectious Diseases Surveillance. **PLoS One**, San Francisco, v. 10, n. 11, p. 1–12, 2015.

PROSDOCIMI, C. C. et al. Innate immunity in wooless lamb to larvae of Amblyomma cajennense tick (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Transboundary and Emerging Diseases**, Berlin, v. 57, n. 1–2, p. 75–76, 2010.

RAMOS, V. do N. **Ecologia da interação entre carrapatos e hospedeiros no Pantanal:** o papel do porco monteiro, do gado Nelore e de pequenos mamíferos para a ixodofauna na sub-região da Nhecolândia, MS. 2013. Tese (Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2013.

RAOULT, D. et al. A flea-associated Rickettsia pathogenic for humans. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 7, n. 1, p. 73–81, 2001.

RAOULT, D.; PADDOCK, C. D. Rickettsia parkeri Infection and Other Spotted Fevers in the United States. **The New England Journal of Medicine**, Melbourn, v. 353, n. 6, p. 626–627, 2005.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, DC, v. 10, n. 4, p. 694–719, 1997.

RHOR, C. J. **Estudos sobre ixódidas do Brasil**. Rio de Janeiro: Gomes, Irmão & C., 1909.

RICKETTS, H. T. A Micro-organism which apparently has a specific relationship to Rocky Mountain Spotted Fever. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 52, n. 5, p. 379–380, 1909.

RICKETTS, H. T. Further experiments with the woodtick in relation to Rocky Mountain Spotted Fever. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 49, n. 15, p. 1278–1281, 12 out. 1907b.

RICKETTS, H. T. Observations on the Virus and Means of Transmission of Rocky Mountain Spotted Fever. **Journal of Infectious Diseases**, Oxford, v. 4, n. 1, p. 141–153, 1907a.

RODRIGUES, V. da S. et al. Life cycle and parasitic competence of Dermacentor nitens Neumann, 1897 (Acari: Ixodidae) on different animal species. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 379–384, 2017.

ROMER, Y. et al. Rickettsia parkeri Rickettsiosis in different ecological regions of argentina and its association with amblyomma tigrinum as a potential vector. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 91, n. 6, p. 1156–1160, 2014.

ROMER, Y. et al. Rickettsia parkeri rickettsiosis, Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 7, p. 1169–1173, 2011.

ROSSI, R. V.; BIANCONI, G. V. Oderm Didelphimorphia. In: REIS, N. R. de et al. (Ed.). **Mamíferos do Brasil**. 2. ed. Londrina: UEL, 2011. p. 31–69.

ROZENTAL, T. et al. A cluster of Rickettsia rickettsii infection at an animal shelter in an urban area of Brazil. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 143, n. 11, p. 2446–2450, 2015.

SABATINI, G. S. et al. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the State of Sao Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Honolulu, v. 47, n. 5, p. 913–916, 2010.

SADUN, E. H. Application of Immunodiagnostic tests. In: COHEN, S.; SADUN, E. H. (Ed.). **Immunodiagnosis of parasitic infections**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1976. chap. 4, p. 47-57.

SAKAI, R. K. et al. Experimental infection with Rickettsia rickettsii in an Amblyomma dubitatum tick colony, naturally infected by Rickettsia bellii. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 917–923, 2014.

SANGIONI, L. A. et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 2, p. 265–270, 2005.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Meio Ambiente e Superintendência de Controles de Endemias. Resolução Conjunta SMA/SUCEN 01/2016. Dispõe sobre a aprovação das “Diretrizes técnicas para a vigilância e controle da Febre Maculosa Brasileira no Estado de São Paulo – classificação de áreas e medidas preconizadas”, e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 25 mar. 2016. Seção I, p. 56-57.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica/Serviço de Vigilância Epidemiológica. **Febre maculosa** - Distribuição dos casos de Febre Maculosa segundo município provável de infecção no Estado de São Paulo - 1985 – 1997. São Paulo, Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-de-vigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-e-zoonoses/dados/fmaculosa/fm8597_dir_lpi.pdf >. Acesso em: 10 abr. 2018.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde. Superintendência de Controles de Endemias. **Manual de vigilância acarológica**. São Paulo, 2004.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Saúde. Superintendência de Controles de Endemias. **Laudo de classificação de área quanto ao risco de febre maculosa brasileira** / emitido por Adriano Pinter em 18 de março de 2015. São Paulo, 2015.

SARAIVA, D. G. et al. Feeding Period Required by Amblyomma aureolatum Ticks for Transmission of Rickettsia rickettsii to Vertebrate Hosts. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 20, n. 9, p. 1504–1510, 2014.

SCHRIEFER, M. E. et al. Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnosed with murine typhus. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 32, n. 4, p. 949–954, 1994.

SCINACHI, C. A. et al. Association of the occurrence of Brazilian spotted fever and Atlantic rain forest fragmentation in the São Paulo metropolitan region, Brazil. **Acta Tropica**, Basel, v. 166, p. 225–233, 2017.

SCOLA, B. La; RAOULT, D. Laboratory diagnosis of rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new rickettsial diseases. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 35, n. 11, p. 2715–2727, 1997.

SERRA FREIRE, N. M. Tick paralysis in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v. 15, n. 2, p. 124–126, 1983.

SIGRIST, T. Gambás, cuícas, guaiquicas. In: _____. (Ed.). **Mamíferos do Brasil.** Uma visão artística. 1. ed. Vinhedo: Avis Brasilis Editora, 2012. p. 209–250.

SILVA, A. B. et al. Comparative growth of spotted fever group Rickettsia spp. strains in Vero cells. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 111, n. 8, p. 528–531, 2016.

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

SILVA, N. et al. Eschar-associated Spotted Fever Rickettsiosis, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 17, n. 2, p. 275–278, 2011.

SILVA, W. D. A Interação antígeno-anticorpo. In: SILVA, W. D.; MOTA, I.; BIER, O. G. **Imunologia básica e aplicada**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 98-138.

SILVEIRA, I. et al. Rickettsia parkeri in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 13, n. 7, p. 1111–1113, 2007.

SKERMAN, V.; MCGOWAN, V.; SNEATH, P. **Approved Lists of Bacterial Names (Amended)**. Washington, DC: ASM Press, 1989.

SOARES, H. S. et al. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, v. 65, n. 1, p. 125–140, 2015.

SOARES, J. F. et al. Experimental infection of the tick Amblyomma cajennense, Cayenne tick, with Rickettsia rickettsii, the agent of Rocky Mountain spotted fever. **Medical and Veterinary Entomology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 139–151, 2012.

SOARES, J. F. **Infecção experimental do carrapato Amblyomma cajennense pela bactéria Rickettsia rickettsii, agente etiológico da febre maculosa brasileira**: avaliação das transmissões transovariana e transestadial, efeito da infecção nos parâmetros biológicos do carrapato. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SOUZA, C. E. de et al. Experimental infection of capybaras Hydrochoerus hydrochaeris by Rickettsia rickettsii and evaluation of the transmission of the infection to ticks Amblyomma cajennense. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 161, n. 1–2, p. 116–121, 2009.

SOUZA, C. E. et al. High seroprevalence for Rickettsia rickettsii in equines suggests risk of human infection in silent areas for the Brazilian spotted fever. **PLoS One**, San Francisco, v. 11, n. 4, e. 0153303, 2016.

SPAROVEK, G. **Avaliação das terras do campus "Luiz de Queiroz"**: aspectos físicos, capacidade de uso, uso da terra, adequação de uso e aptidão. Piracicaba: Departamento de Solos, ESALQ/USP, 1993. 40 p.

SPOLIDORIO, M. G. et al. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 16, n. 3, p. 521–523, 2010.

STOTHARD, D. R.; FUERST, P. A. Evolutionary Analysis of the Spotted Fever and Thyphus Groups of Rickettsia Using 16S rRNA Gene Sequences. **Systematic and Applied Microbiology**, Stuttgart, v. 18, n. 1, p. 52–61, 1995.

SZABÓ, M. P. J. et al. 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**, London, v. 140, n. 6, p. 719–728, 2013.

SZABÓ, M. P. J.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, Lausanne, v. 3, p. 27, 2013.

SZOKOLI, F. et al. Disentangling the Taxonomy of Rickettsiales and Description of Two Novel Symbionts ("Candidatus Bealeia paramacronuclearis" and "Candidatus Fokinia cryptica") Sharing the Cytoplasm of the Ciliate Protist Paramecium biaurelia. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, DC, v. 82, n. 24, p. 7236–7247, 2016.

TALAMONI, S. A.; DIAS, M. M. Population and community ecology of small mammals in southeastern Brazil. **Mammalia**, Berlin, v. 63, n. 2, p. 167–181, 1999.

TAMURA, A. et al. Classification of Rickettsia tsutsugamushi in a New Genus, Orientia gen. nov., as Orientia tsutsugamushi comb. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, Ames, v. 45, n. 3, p. 589–591, 1995.

TESHALE, S. et al. Improved molecular detection of Ehrlichia and Anaplasma species applied to Amblyomma ticks collected from cattle and sheep in Ethiopia. **Ticks and Tick-borne Diseases**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2015.

THEPPARIT, C. et al. Dissemination of bloodmeal acquired Rickettsia felis in cat fleas, Ctenocephalides felis. **Parasites and Vectors**, London, v. 6, p. 149, 2013.

TOMASSONE, L. et al. Rickettsia Infection in Dogs and Rickettsia parkeri in Amblyomma tigrinum Ticks, Cochabamba Department, Bolivia. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Phoenix, v. 10, n. 10, p. 953–958, 2010.

TRAVASSOS, J.; VALLEJO, A. Comportamento de alguns cavídeos (*Cavia aperea* e *Hydrochoerus capybara*) às inoculações experimentais do vírus da febre maculosa. Possibilidade desses cavídeos representarem o papel de depositários transitórios do vírus na natureza. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 15, p. 73–86, 1941.

TRIBALDOS, M. et al. Rocky Mountain spotted fever in Panama: a cluster description. **Journal of Infection in Developing Countries**, Milano, v. 5, n. 10, p. 737–741, 2011.

TROY, C. S. et al. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. **Nature**, London, v. 410, n. 6832, p. 1088–1091, 2001.

UENO, T. E. H. et al. Experimental infection of horses with Rickettsia rickettsii. **Parasites and Vectors**, London, v. 9, n. 499, p. 1–11, 2016.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Prefeitura do Campus “Luiz de Queiroz” - PUSP-LQ. **Plano Diretor Socioambiental Participativo do Campus “Luiz de Queiroz”.** Piracicaba, 2009. 409 p.

VALLEJO, A. Transmissão do virus da febre maculosa mexicana por Amblyommastriatum Koch, 1944. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 20, p. 107–112, 1947.

VAN VUURE, T. **History, morphology and ecology of the Aurochs (Bos primigenius)**. Wageningen, 2002. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.534.6285&rep=rep1&type=pdf>. Acesso em: 28 maio 2018

VAUGHAN, T. A.; RYAN, J. M.; CZAPLEWSKI, N. J. Mammalian domestication. In: VAUGHAN, T. A.; RYAN, J. M.; CZAPLEWSKI, N. J. (Ed.). **Mammalogy**. 6. ed. Burlington: Jonas & Bartlett Learning, 2015. p. 750.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE, 1991. 123 p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS%20-%20RJ/classificacaovegetal.pdf>. Acesso em: 10 jun. 2018.

VENZAL, J. M. et al. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 10, n. 8, p. 1493–1495, 2004.

VENZAL, J. M. et al. *Rickettsia parkeri*: Patógeno rickettsial transmitido por garrapatas en áreas endémicas de rickettsiosis por fiebre manchada en el sur de Uruguay. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 54, n. 3, p. 131–134, 2012.

VIANA, J. G. A. Panorama geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, v. 4, n. 12, p. 1-9, 2008.

WANG, S.-P.; GRAYSTON, J. T. Immunologic relationship between genital TRIC, *Lymphogranuloma venereum*, and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test. **American Journal of Ophtalmology**, Philadelphia, v. 70, n. 3, p. 367–374, 1970.

WECK, B. et al. Spotted fever group Rickettsia in the Pampa Biome, Brazil, 2015–2016. **Emerging Infectious Diseases**, Atalnta, v. 22, n. 11, p. 2014-2016, 2016. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27767913>. Acesso em: 11 maio 2018.

WEISS, E.; MOULDER, J. W. Order I. Rickettsiales Gieszczkiewicz 1939. In: HOLT, J. G.; KRIEG, N. R. (Ed.). **Bergey’s manual of systematic bacteriology.** 1. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984. v. 1, p. 687–703.

WILSON, L. B.; CHOWNING, W. M. Studies in pyroplasmosis hominis. (“spotted fever” or “tick fever” of the rocky mountains.) (with map, charts, and plates i, ii). **Journal of Infectious Diseases**, Oxford, v. 1, n. 1, p. 31–57, 1904.

WOLBACH, S. B. Studies on Rocky Mountain Spotted Fever. **The Journal of Medical Research**, Boston, v. 61, n. 1, p. 1–70, 1919.

YU, X.-J.; WALKER, D. H. Genus I. Rickettsia da Rocha-Lima 1916, 567. In: BRENNER, D. J. et al. (Ed.). **Bergey’s manual of systematic bacteriology**. 2. ed. New York: Springer, 2005. p. 96-114. v. 2. The Proteobacteria, part C. The Alpha-, Beta-, Delta-, and Epsilonproteobacteria.

ZAVALA-VELÁZQUEZ, J. E. et al. Rickettsia felis rickettsiosis in Yucatán. **The Lancet**, London, v. 356, n. 9235, p. 1079–10802000.