

**FLÁVIA DE SOUSA GEHRKE**

**DETECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE  
RIQUÉTSIAS EM HUMANOS, POTENCIAIS VETORES E ANIMAIS  
DOMÉSTICOS DA REGIÃO SUDESTE DO BRASIL**

Tese apresentada ao Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro

Orientadora: Profa. Dra. Teresinha Tizu Sato Schumaker

São Paulo

2010

## RESUMO

Gehrke, FS. Detecção e caracterização molecular de riquetsias em humanos, potenciais vetores e animais domésticos da região Sudeste do Brasil. [Tese (Doutorado em Ciências)]. São Paulo (Brasil): Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

Riquetsioses, causadas por riquetsias do grupo febre maculosa (GFM), são infecções cujos sintomas mais relatados são febre, mialgia, acompanhados ou não por exantema. Estes sintomas são comuns a várias doenças tais como gripe, dengue e meningite entre outras. Quando não tratada precocemente, a doença pode ser fatal. As riquetsias GFM são transmitidas por artrópodes e sua ocorrência é mundial. No Brasil a riquetsiose GFM é conhecida como febre maculosa brasileira (FMB). Há relatos de FMB desde o início do século passado e nas últimas décadas ocorreu um aumento na sua notificação, principalmente na região Sudeste. Entretanto, quase não há informações genéticas das espécies de riquetsias responsáveis pelos casos humanos observados no país ou detectadas em potenciais vetores e reservatórios. Por esta razão, neste projeto, foi utilizada a reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detectar genes riquetsiais (*gltA*, *ompA* e *ompB*) em material biológico de pacientes humanos, carrapatos, pulgas, cães e equinos. As amostras são originárias de áreas endêmicas dos estados de São Paulo (SP) e Rio de Janeiro (RJ). Nas amostras de *Amblyomma cajennense* e de humanos procedentes de 14 municípios do estado de SP foi diagnosticada *Rickettsia rickettsii*, através de análise de sequências nucleotídicas, sugerindo ser esta a única espécie responsável pelos casos de FMB na área considerada. Entre as amostras humanas, *Rickettsia conorii* responsável pela Febre Maculosa do Mediterrâneo foi detectada em um paciente procedente de Portugal onde a doença é endêmica. No estado do Rio de Janeiro constatou-se que as frequências mínimas de carrapatos infectados por riquetsias apresentam valores superiores em relação aos registrados em outras regiões do país. Neste estado, diagnosticou-se *R. rickettsii* infectando espécimes de *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma cajennense*, *Anocentor nitens*, *Boophilus microplus*, *Ctenocephalides felis* e *Rhipicephalus*

*sanguineus*. Este trabalho possibilitou o primeiro registro de *An. nitens*, *Bo. microplus*, *Ct. felis* e *Rh. sanguineus*, capturados em áreas endêmicas do Brasil, com infecção natural por *R. rickettsii*. Pode-se indicar pela primeira vez, no mundo, *Bo. microplus* e *Ct. felis* como possíveis participantes do ciclo enzoótico desta riquetsia. *Rickettsia felis* foi detectada em *Ct. felis* e, com menor frequência, em *Am. cajennense*. Este trabalho também registra pela primeira vez exemplares de *Ornithodoros* sp. coletados em sítio de ocorrência de casos confirmados de FMB, infectados por riquetsia GFM indicando possível participação de carrapatos argasídeos no ciclo da riquetsiose. Pela primeira vez no Brasil foi diagnosticado *R. rickettsii* em cães e equinos naturalmente infectados em foco de ocorrência da FMB, ressaltando sua importância na manutenção do ciclo em áreas peridomiciliares. Através da construção de árvores filogenética foi inferida a identidade entre os fragmentos do gene *gltA* de *R. rickettsii* detectados em humanos, potenciais vetores e animais domésticos, não sendo possível confirmar a ocorrência de diferentes linhagens da espécie na região Sudeste do Brasil.

Palavras chave: *Rickettsia rickettsii*. riquetsia grupo febre maculosa. epidemiologia molecular. humanos. carrapatos. animais domésticos.

## ABSTRACT

Gehrke, FS. Detection and molecular characterization of rickettsiae in humans, potential vectors and domestic animals of southeastern Brazil. [PhD Thesis (Philosophic Doctor in Sciences)]. São Paulo (Brasil): Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2010.

Rickettsial diseases caused by rickettsiae of the spotted fever group (SFG) are infections which usually present symptoms of fever and myalgia, with or without rash. These symptoms are common to several diseases, including influenza, dengue and meningitis. The disease can be fatal when not treated early. SFG rickettsiae are transmitted by arthropods and occur worldwide. In Brazil, SFG rickettsiosis is known as Brazilian spotted fever (BSF). There have been reports of BSF since the beginning of the last century and an increase in their notification has occurred during the last few decades, especially in the southeastern region. However, almost no genetic information exists regarding the *Rickettsia* species responsible for human cases registered in Brazil or detected in potential vectors and reservoirs. For this reason, in the current project, polymerase chain reaction (PCR) was used to detect rickettsial genes (*gltA*, *ompA* and *ompB*) in biological material of human patients, ticks, fleas, dogs and horses. The samples originated from endemic areas of the States of São Paulo (SP) and Rio de Janeiro (RJ). *Rickettsia rickettsii* was also diagnosed in samples of *Amblyomma cajennense* and in patients from 14 counties of SP, through analysis of nucleotide sequences, indicating that this is the only species responsible for BSF cases in the area studied. Among the human samples, *Rickettsia conorii*, responsible for Mediterranean spotted fever, was detected in a traveler, a patient from Portugal where the disease is endemic. The minimum frequency of ticks infected with *Rickettsia* sp determined in RJ presented higher values than those recorded in other regions of the country. In this state, *R. rickettsii* was diagnosed as infecting *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma cajennense*, *Anocentor nitens*, *Boophilus microplus*, *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus*. This is the first report of *An nitens*, *Amblyomma* sp., *Bo. microplus*, *Ct. felis* and *Rh. sanguineus* captured in endemic areas of Brazil and naturally infected

by *R. rickettsii*. This is the first publication worldwide indicating *Bo. microplus* and *Ct. felis* as potential participants in the enzootic cycle of this rickettsia species. *Rickettsia felis* was detected in *Ct. felis* and, less frequently, in *A. cajennense*. This work also reports, for the first time, *Ornithodoros* sp specimens infected with SFG rickettsiae collected at the site of occurrence of confirmed BSF cases, indicating possible participation of Argasidae ticks in the cycle of the local rickettsial disease. For the first time in Brazil, *R. rickettsii* was diagnosed in naturally infected dogs and horses, emphasizing their importance in maintaining the cycle in areas surrounding human habitation. Through the construction of phylogenetic trees, the identity of fragments of the *gltA* gene of *R. rickettsii* detected in humans, potential vectors and domestic animals was inferred, but it was not possible to confirm the occurrence of different strains of the species in southeastern Brazil.

Keywords: *Rickettsia rickettsii*. spotted fever group rickettsiae. molecular epidemiology. humans. ticks. domestic animals.

## 1 INTRODUÇÃO

Riquétsias são bactérias gram negativas, alfa-proteobactérias e pleomórficas, sendo as formas mais comuns pequenos bacilos com 0,3-0,5  $\mu\text{m}$  de diâmetro e 0,8-2,0  $\mu\text{m}$  de comprimento. Não possuem motilidade e infectam células endoteliais. Dependendo da espécie, são encontradas tanto no citoplasma das células infectadas como também no núcleo. São cultiváveis em cultura de células e também em ovos embrionados (Weiss e Moulder, 1984). Vertebrados e artrópodes podem constituir como seus reservatórios, sendo que estes últimos também atuam como vetores.

Em 2001, Dumler *et al.* propuseram a divisão da família Rickettsiaceae em dois gêneros, *Orientia* e *Rickettsia*, sendo o último composto por dois grupos: Tifo (GT) e Febre Maculosa (GFM). Um terceiro grupo composto por *Rickettsia bellii* e *Rickettsia canadensis*, grupo Ancestral (GA), foi proposto (Sekeyova *et al.*, 2001; Stothard *et al.*, 1994). A família Rickettsiaceae está em constante reorganização, tanto pelos avanços das técnicas utilizadas quanto pela elucidação do ciclo enzoótico de alguns de seus membros. Os grupos de interesse médico e veterinário são Tifo (GT) e Febre Maculosa (GFM), cujas bactérias integrantes podem causar doenças distintas ao homem.

Um importante pesquisador brasileiro, Henrique da Rocha Lima, observou a relação entre o piolho e a riquétsia causadora do tifo epidêmico, a *Rickettsia prowazekii* (Rocha Lima, 1951). A história do GT, representada pelo tifo epidêmico cujo agente é *Rickettsia prowazekii*, está associada com a das grandes guerras e catástrofes. A transmissão ocorre quando o piolho infectado por *R. prowazekii*, após se alimentar, defeca próximo à pele escarificada podendo assim o agente etiológico infectar o indivíduo. O período de incubação de 3 a 10 dias é seguido de febre alta, cefaléia, petéquias que se distribuem do tronco para os membros, artralgias, mal estar e anorexia. Nesta patologia o homem constitui o reservatório. Em alguns indivíduos há recrudescência da doença, sendo os sintomas mais brandos (Stein *et*

*al.*, 1999). No Brasil não há casos da doença relatados, bem como informações sobre seus vetores. Dentro do GT há outro representante do tifo endêmico, que é causado pela *Rickettsia typhi* e é transmitido por pulgas. Há poucos relatos sobre esta doença no Brasil, sendo o mais recente deles referente a um paciente do estado do Paraná (Silva *et al.*, 2004; Travassos *et al.*, 1949).

O advento das metodologias moleculares permitiu a descrição de novas riquetsias e riquetsioses. Atualmente, no GFM, há mais de 30 espécies descritas, distribuídas amplamente pelo mundo. Enquanto determinada espécie de bactéria for encontrada apenas em vetores é referida como de patogenicidade desconhecida. Dentre as riquetsias GFM patogênicas, a *R. rickettsii*, agente etiológico da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR), é considerada a mais severa e responsável pelo maior número de casos fatais (Walker *et al.*, 1987). Foi isolada em 1909 quando o papel do carrapato na transmissão da doença foi estabelecido (Ricketts, 1909). Outras espécies já foram descritas como causadoras de doenças no homem: *Rickettsia aeschlimannii*, *Rickettsia africae*, *Rickettsia akari*, *Rickettsia australis*, *Rickettsia conorii*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia heilongjiangensis*, *Rickettsia helvetica*, *Rickettsia honei*, *Rickettsia japonica*, *Rickettsia massiliae*, *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia sibirica* e *Rickettsia slovaca* (Parola *et al.*, 2005). Os vetores de *R. akari* e *R. felis* são pequenos ácaros e pulgas, respectivamente; as demais riquetsias são veiculadas por carrapatos (Parola *et al.*, 2005; Raoult e Roux, 1997).

Os sintomas mais comuns das riquetsioses do GFM são: febre aguda, cefaléia e mal estar, acompanhados ou não de manifestações cutâneas. Este quadro é comum a várias outras doenças (gripe, dengue, leptospirose, hepatite viral, salmonelose, encefalite, malária, entre outras) e o diagnóstico diferencial muitas vezes é indicado (Ministério da Saúde, 2006).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é considerada a metodologia padrão para o diagnóstico laboratorial (La Scola e Raoult, 1997). Recomenda-se, quando possível, o isolamento em cultura de células e/ou imunohistoquímica (Paddock *et al.*, 1999). Mas nenhum destes métodos possibilita o diagnóstico específico do agente infectante. A reação em cadeia pela polimerase (PCR) para detecção de DNAg riquetsial permite uma detecção rápida do agente e possibilita,

ainda, a análise de sequências de genes riquetsiais visando o diagnóstico espécie-específico.

## 1.1 Riquetsioses grupo febre maculosa no mundo

### D

O primeiro relato de riquetsiose causada por *R. aeschlimannii* foi descrito em 2002, em um paciente que retornou do Marrocos para França (Raoult *et al.*, 2002a). O agente passou, então, a ser considerado patogênico. Não há casos fatais associados a esta doença. A riquetsia foi inicialmente detectada em *Hyalomma marginatum marginatum*, no Marrocos (Beati *et al.*, 1997), e posteriormente em vários outros países: Argélia, Croácia, Portugal e Grécia (Bitam *et al.*, 2006; Psaroulaki *et al.*, 2006; Punda-Polic *et al.*, 2002; Santos-Silva *et al.*, 2006a). Na França foi detectado em *Hy. marginatum marginatum* e em *Hyalomma marginatum rufipes* coletados em aves que vieram da África. As espécies do gênero *Hyalomma* foram consideradas como reservatórios, além de vetores do agente (Matsumoto *et al.*, 2004).

Suspeita-se que os primeiros casos de Febre Africana da Picada do Carrapato (FAPC) tenham ocorrido em 1911 (Parola *et al.*, 2005). Porém a caracterização molecular do agente, *R. africae*, ocorreu somente em 1996 (Kelly *et al.*, 1996). A FACP constitui uma importante riquetsiose devido o grande número de turistas internacionais afetados todos os anos (Pretorius *et al.*, 2004). Já foi diagnosticada em pacientes na França, Taiwan, Suíça, e Itália (Bellini *et al.*, 2005; Caruso *et al.*, 2002; Jackson *et al.*, 2004; Roch *et al.*, 2008; Tsai *et al.*, 2008). Não há complicações ou casos fatais relatados. No sul da África, *Amblyomma hebraeum* atua como reservatório e vetor (Kelly *et al.*, 1991). Mas em diversas regiões daquele continente outras espécies de carrapatos foram notificadas albergando esta bactéria: *Amblyomma variegatum*, *Amblyomma lepidum*, *Hyalomma marginatum rufipes*, *Rhipicephalus decoloratus* e espécies imaturas de *Rhipicephalus* spp (Macaluso *et al.*, 2003; Mura *et al.*, 2008a; Portillo *et al.*, 2007). Casos de *Am. variegatum* (Dantas, 2008) infectados por *R. africae* foram detectados no Caribe. A dispersão de dessa



espécie de carrapato nesta região está associada ao transporte de gado e a aves migratórias (Kelly *et al.*, 2006; Robinson *et al.*, 2009).

A riquetsiose variceliforme (*rickettsialpox*), como é conhecida a doença causada por *R. akari*, foi descrita pela primeira vez em Nova Iorque na década de 50 (Paddock *et al.*, 2003). Nessa cidade a doença é endêmica e já foi diagnosticada também em outras nos Estados Unidos da América (EUA) (Koss *et al.*, 2003). Os vetores são ácaros, *Liponyssoides sanguineus*, parasitas de ratos que constituem praga de ampla distribuição mundial. Por esta razão, suspeita-se que a doença possa estar sub-diagnosticada (Brouqui *et al.*, 2007). O agente etiológico foi isolado na Croácia e a doença foi relatada em vários países da Europa e da Ásia (Brouqui *et al.*, 2006; Radulovic *et al.*, 1996). No continente americano, um estudo soro-epidemiológico demonstrou a presença de anticorpos contra *R. akari* em humanos no México (Zavala-Velazquez *et al.*, 1999). Os sintomas mais comuns são febre, dores de cabeça, mal estar sistêmico e no local da picada pode ocorrer uma escara negra (*black eschar*), quadro clínico semelhante àquele causado por *Bacillus anthracis*. Após os atentados ocorridos em outubro de 2001, ocasião em que cartas contendo *B. anthracis* liofilizada foram enviadas por terroristas para locais de grande concentração humana, a riquetsiose variceliforme passou a receber especial atenção (Koss *et al.*, 2003).

A doença causada por *R. australis* é a febre de Queensland, na costa leste da Austrália. Seu vetor *Ixodes holocyclus* se alimenta de diversos vertebrados incluindo humanos e está presente tanto na costa quanto na floresta de Queensland (Campbell e Domrow, 1974). O agente foi detectado também em *Ixodes tasmanii*, que raramente pica humanos mas pode ter função na manutenção da bactéria na natureza. Há relatos de casos fatais (Sexton *et al.*, 1990).

A Febre Maculosa Mediterrânea (FMM) ou Febre Botonosa (FB) é endêmica no Mediterrâneo, no Sudeste da Europa e no norte da África, com relatos esporádicos na Bélgica, na Suíça e no norte da França (Parola *et al.*, 2005). O período assintomático é de seis dias e os sintomas são semelhantes aos de uma gripe. Em casos mais severos pode haver complicações neurológicas. As taxas de mortalidade registradas para a doença na Argélia e na França foram 3,2% e 5,6%, respectivamente (Mouffok *et al.*, 2006; Rovey *et al.*, 2008). De forma atípica, em

Portugal no ano de 1997 a mortalidade foi de 32,3% (Sousa *et al.*, 2003). Uma das características desta doença é a presença de pápulas e de uma escara de inoculação no local da picada do vetor, conhecida como *tâche noire*. Recentemente, mais de uma escara por paciente foram observadas, fato possivelmente associado a uma mudança de comportamento do vetor (Parola *et al.*, 2008). Esta doença é causada por *R. conorii* e alguns autores propõem a identificação das subespécies *R. conorii conorii*, *R. conorii caspia*, *R. conorii israelensis* e *R. conorii indica*. Apesar de não apresentarem diferenças genéticas significativas, há diferenças sorotípicas e os agentes causam doenças com características próprias (Rovero *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2005). Na Europa, o vetor da FMM é *Rhipicephalus sanguineus*, carrapato adaptado a áreas urbanas, com 5% a 12% de infectados (Parola *et al.*, 2005). A bactéria foi detectada em *Rhipicephalus simus*, *Haemaphysalis leachi* e *Haemaphysalis punctaleachi* no continente africano (Drancourt *et al.*, 1992; Rovero *et al.*, 2008). Ainda não é conhecido o seu reservatório vertebrado. Porém sabe-se que cães desenvolvem a doença e que há uma possível associação com coelhos selvagens (Rovero *et al.*, 2008; Solano-Gallego *et al.*, 2006).

A riquetsiose causada por *R. felis* foi inicialmente descrita no Texas (Schriefer *et al.*, 1994), e posteriormente outros casos foram diagnosticados na Europa – França, Alemanha e Espanha (Perez-Arellano *et al.*, 2005; Raoult *et al.*, 2001; Richter *et al.*, 2002), na África – Tunísia (Znazen *et al.*, 2006) e na Ásia – Tailândia, Coreia do Sul e Taiwan (Choi *et al.*, 2005; Parola *et al.*, 2003; Tsai *et al.*, 2008). Nas Américas, além dos EUA, já foi observada no México (Zavala-Velazquez *et al.*, 2000) e no Brasil, no estado de Minas Gerais, onde foram registrados casos fatais (Galvão *et al.*, 2004; Raoult *et al.*, 2001). Seu principal vetor são as pulgas *Ctenocephalides felis*, que já foram detectadas em diversos locais do mundo albergando a riquetsia: EUA, México, Espanha e Reino Unido (Adams *et al.*, 1990; Kenny *et al.*, 2003; Márquez *et al.*, 2006; Zavala-Velazquez 2002), Tailândia (Parola *et al.*, 2003) e Tunísia (Znazen *et al.*, 2006). No Brasil, no estado de São Paulo, *R. felis* foi detectada em pulgas *Ct. felis felis* e *Ctenocephalides canis* (Horta *et al.*, 2006), e em Minas Gerais há relatos de *Ct. felis*, *Rh. sanguineus* e *Am. cajennense* também infectados (Cardoso *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2008).

A Febre Maculosa do Extremo Oriente (FMOR), cujo agente é *R. heilongjiangensis*, teve os primeiros casos humanos relatados na província de

Heilongjiang, na China (Parola *et al.*, 2005), onde a riquetsia foi isolada de *Dermacentor silvarum*. A FMOR foi constatada na Rússia (Mediannikov *et al.*, 2004), onde a riquetsia foi detectada em *Haemaphysalis concinna* e *Haemaphysalis japonica douglasi* (Mediannikov *et al.*, 2006). Até o momento não há relatos de morte por esta riquetsiose.

O primeiro caso de riquetsiose associado a *R. helvetica* foi relatado na Suécia em 1999 (Nilsson *et al.*, 1999). Outros casos em humanos foram notificados na França e Tailândia (Fournier *et al.*, 2004; Suttinont *et al.*, 2006). Esta bactéria foi isolada de *Ixodes ricinus* em 1979 na Suíça (Burgdorfer *et al.*, 1979) e só posteriormente foi confirmada como nova espécie (Beati *et al.*, 1993a). *Ixodes ricinus* foi encontrado albergando *R. helvetica* em diversos países da Europa (Beati *et al.*, 1994; Boretti *et al.*, 2009; Chmielewski *et al.*, 2009; Floris *et al.*, 2008; Silaghi *et al.*, 2008) e no Marrocos (Sarih *et al.*, 2008). *R. helvetica* também foi detectada em *Dermacentor reticulatus* na Croácia (Dobec *et al.*, 2009), em *Ixodes ventralloii* em Portugal (Santos-Silva *et al.*, 2006a) e em *Ixodes ovatus*, *Ixodes persulcatus* e *Ixodes monospinosus* no Japão (Fournier *et al.*, 2002). Há apenas um caso fatal associado à doença (Nilsson *et al.*, 2002).

A riquetsiose da Ilha de Flinders foi descrita em 1991. Foram observados 26 casos com quadro febril acompanhado de erupções cutâneas, registrados em períodos de verão de diferentes anos (Graves *et al.*, 1991). Em 1998, *R. honei* foi caracterizada geneticamente e responsabilizada pela doença (Stenos *et al.*, 1998). Há relatos da doença em outras regiões da Austrália (Dyer *et al.*, 2005) e na Tailândia (Jiang *et al.*, 2005). *Aponomma hydrosauri*, parasita de répteis, foi detectado carregando este agente na Austrália (Whitworth *et al.*, 2003); *Ixodes granulatos*, na Tailândia (Kollars *et al.*, 2001); *Amblyomma cajennense*, no Texas (Billings *et al.*, 1998). Em 2005, Lane *et al.* identificaram uma bactéria, em *Haemaphysalis novaeguineae*, que diverge das cepas de *R. honei* conhecidas até aquele momento, tendo sido classificada como *R. honei marmionii* (Unsworth *et al.*, 2007). Recentemente esta variante genética foi detectada em pacientes que apresentaram quadro agudo e/ou crônico da doença com ocorrência no período do outono (Graves *et al.*, 2006). Não há relatos de casos fatais associados a estas duas riquetsioses.

No Japão, o agente causal da Febre Maculosa Oriental (FMO) ou Febre Maculosa Japonesa (FMJ) é a *R. japonica*, que foi isolada a partir de material biológico humano (Uchida *et al.*, 1992). Os primeiros casos relatados ocorreram em 1984, quando se imaginou que fosse uma outra riquetsiose, causada por *Orientia tsutsugamushi*. A FMO ocorre de abril a outubro. Casos graves e fatais desta doença já foram notificados (Kodama *et al.*, 2003; Seki *et al.*, 2006). Nesse país, a riquetsia foi detectada em *Dermacentor taiwanensis*, *Haemaphysalis formosensis*, *Haemaphysalis hystrix* e *Haemaphysalis longicornis* (Fournier *et al.*, 2002; Ishikura *et al.*, 2003; Seki *et al.*, 2006).

O primeiro caso relatado da riquetsiose causada por *R. massiliae* ocorreu na Itália em 1985, e somente 20 anos após o seu isolamento a bactéria foi classificada como uma nova espécie (Beati *et al.*, 1993b). Posteriormente, foi detectada em *Rh. sanguineus* e *Rh. turanius* em outros países da Europa (Bacellar *et al.*, 1995; Márquez, 2008; Mura *et al.*, 2008b). Essa bactéria foi relatada em *Rh. sanguineus* na América (Eremeeva *et al.*, 2006a) e na África em diversas espécies de *Rhipicephalus*: *Rh. sanguineus*, *Rhipicephalus lunulatus*, *Rhipicephalus muhsamae* e *Rhipicephalus sulcatus* (Babalis *et al.*, 1994; Dupont *et al.*, 1994). Na Austrália há registro de *R. massiliae* em *Ixodes tasmanii* (Vilcins *et al.*, 2009).

*R. parkeri* foi isolada pela primeira vez de humanos no século XXI nos EUA (Paddock *et al.*, 2004), e supõe-se que muitos casos outrora diagnosticados como FMMR tenham sido, na verdade, uma infecção causada por esta riquetsia. Uma análise de 12 casos confirmou que esta doença é similar mas não tão severa quanto a clássica FMMR, pois até o momento não há relatos de complicações neurológicas, falência de órgãos ou morte (Paddock *et al.*, 2008). Esta bactéria foi isolada de *Amblyomma maculatum* no Texas e posteriormente constatada em várias regiões dos EUA (Parker *et al.*, 1939; Sumner *et al.*, 2007). Na América do Sul, *R. parkeri* foi detectada em *Amblyomma triste* no Brasil, Argentina e Uruguai (Nava *et al.*, 2008; Pacheco *et al.*, 2006; Silveira *et al.*, 2007).

O Tifo do Carrapato do Norte da Ásia (TCNA) ou Tifo Siberiano (TS) tem como agente *R. sibirica*. Assim como várias outras riquetsioses, a caracterização genética do seu agente ocorreu muitos anos após seu primeiro isolamento (Balayeva *et al.*, 1996). Entre os sintomas da doença estão febre alta associada a escara de

inoculação e linfadenopatia regional. Raros são os casos com complicações severas (Parola *et al.*, 2005). A bactéria já foi detectada em *Dermacentor nuttalli*, *De. marginatus*, *Dermacentor silvarum*, *Haemaphysalis concinna* e em *Ixodes persulcatus* (Cao *et al.*, 2008; Balayeva *et al.*, 1996; Shpynov *et al.*, 2006a). Na região da Mongólia foi obtido um isolado de *Hyalomma asiaticum* (HA-91) próximo, porém distinto genética e antigenicamente de *R. sibirica* (Yu *et al.*, 1993). Posteriormente foi detectada uma bactéria geneticamente idêntica a HA-91 em um paciente na França. Tal bactéria foi classificada como *R. sibirica mongolotimoniae* (Fournier *et al.*, 2006). A riquetsiose causada por este agente também foi registrada em outros países da Europa (Aguirrebengoa *et al.*, 2008; Sousa *et al.*, 2006). No continente africano, onde esta riquetsiose também é registrada, a subespécie foi detectada em *Hyalomma anatolicum excavatum* (Psaroulaki *et al.*, 2005).

A riquetsiose causada por *R. slovaca* é na Ásia conhecida como linfadenopatia do carrapato ou TIBOLA (*Tick-borne lymphadenopathy*) e na Espanha é chamada de linfadenopatia do eritema necrosante do *Dermacentor* ou DEBONEL (*Dermacentor borne necrosis erythema lymphadenopathy*). O primeiro caso em humano ocorreu na França (Raoult *et al.*, 1997). As sequelas associadas são astenia persistente e alopecia no local da picada (Raoult *et al.*, 2002b). *R. slovaca* foi primeiramente isolada de *Dermacentor marginatus* na Eslováquia (Sekeyova *et al.*, 1998). Em outros países da Europa, *R. slovaca* foi detectada tanto em *De. marginatus* como em *Dermacentor reticulatus* (Beati *et al.*, 1994; Punda-Polic *et al.*, 2002; Santos-Silva *et al.*, 2006b; Selmi *et al.*, 2008). Na Ásia e na África foi detectada em *De. marginatus* (Sarih *et al.*, 2008; Shpynov *et al.*, 2006b).

A riquetsiose mais severa dentre as do GFM é causada por *R. rickettsii* (Parola *et al.*, 2005) e é conhecida como Febre Maculosa das Montanhas Rochosas (FMMR) nos Estados Unidos da América (EUA). O período de incubação da riquetsiose é de 3 a 10 dias, seguido de febre alta, cefaléia e artralgias. Podem aparecer petéquias que se distribuem dos membros para o corpo em 30% dos casos, mal estar e anorexia. Nas formas severas da doença, falência renal e edema pulmonar não cardiogênico são observados. Sinais digestivos e neurológicos podem também estar presentes (Walker *et al.*, 1987). A mortalidade em casos não tratados é de 10% a 25%, sendo que nos EUA o óbito ocorre até o oitavo dia da doença. Entre abril a setembro (primavera/verão) é o período em que ocorre a maioria dos casos desta

doença (*Center for Disease Control*, 2007). A FMMR também tem sido identificada em vários países das Américas: México, Panamá, Colômbia, Argentina e Brasil (Estripeaut *et al.*, 2007; Hidalgo *et al.*, 2007; Lemos *et al.*, 1994; Seijo *et al.*, 2007; Zavala-Castro *et al.*, 2006).

Um dos principais vetores, *Dermacentor andersonii* (o carrapato da madeira), é encontrado no oeste dos EUA e também no Canadá (Comer *et al.*, 1991; Gage *et al.*, 1992). Este vetor é abundante em áreas onde pequenos roedores compartilham habitações com animais selvagens e domésticos (Parola *et al.*, 2005). Na região leste dos EUA, *Dermacentor variabilis* é o principal vetor desta bactéria, sendo também relatado no Canadá (Parola *et al.*, 2005; Salgo *et al.*, 1988). Na fase adulta, este vetor se alimenta em grandes animais como equinos, gado, ovelhas, coiotes, veados e ursos, e durante as fases imaturas em diversos pequenos animais (Parola *et al.*, 2005). *R. rickettsii* já foi descrita em várias espécies de carrapatos, naturalmente infectados, como *Haemaphysalis leporispalustri* (Fuentes *et al.*, 1985; Hun *et al.*, 2008), *Rh. sanguineus* (Wikswow *et al.*, 2007), *Dermacentor occidentalis* (Wikswow *et al.*, 2008) e *Dermacentor parumapertus* (Henke *et al.*, 1990).

## 1.2 Riquetsioses grupo febre maculosa no Brasil

No Brasil, no início do século XX, foi descrita uma riquetsiose, semelhante à FMMR, que se tornou conhecida como Febre Maculosa Brasileira (FMB) (Dias e Martins, 1939) e ocorre principalmente na região Sudeste do país (Angerami *et al.*, 2006; Galvão *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 1995; Nascimento *et al.*, 2005).

Em Minas Gerais, os primeiros relatos da FMB a denominavam como pintada, febre que pinta ou febre chitada (Dias e Martins, 1939). Neste estado, as regiões com maior número de casos são os vales do Rio Doce, do Mucuri e do Jequitinhonha, localizados no nordeste de Minas Gerais (Galvão *et al.*, 2002). Já foi registrado, neste estado, letalidade de 22% (MS, 2009a). Pacientes com quadro clínico compatível com febre maculosa brasileira foram a óbito e posteriormente diagnosticou-se *R. felis* como a responsável pela doença (Galvão *et al.*, 2004). Vários estudos soro-epidemiológicos demonstram a presença de anticorpos antiriquetsia tanto na população humana quanto em animais (Cardoso *et al.*, 2006; Lemos *et al.*, 1994; Vianna *et al.*, 2008). Algumas espécies de carrapatos foram detectadas albergando riquetsias. Alguns trabalhos relataram a detecção de organismos riquetsia-like, através do teste da hemolinfa associado a coloração de Gimenez, em espécimes de *Rh. sanguineus*, *Bo. microplus*, *An. nitens* e *Am. ovale*. Organismos do GFM foram detectados através da reação da imunofluorescência indireta (RIFI) em *Am. cajennense* (Lemos *et al.*, 1997). Só recentemente, utilizando metodologia molecular, foi detectado DNAg riquetsial em alguns poucos exemplares de *Am. cajennense*, apresentando identidade de 100% com *R. rickettsii* e de 97% com *R. rickettsii* e *R. honei* (Cardoso *et al.*, 2006; Guedes *et al.*, 2005).

No Espírito Santo, desde a década de 90, casos humanos compatíveis com febre maculosa são relatados, alguns dos quais foram laboratorialmente confirmados (Sexton *et al.*, 1993; MS 2009b). Em estudos recentes, DNAg riquetsial foi detectado nas seguintes espécies de potenciais vetores: *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma dubitatum* (*A. cooperi*), *Rhipicephalus sanguineus*, *Anocentor nitens* e *Ctenocephalides felis*. Nesta última espécie foi diagnosticado *R. felis* após análises de sequências (Oliveira *et al.*, 2008).

No estado do Rio de Janeiro, casos esporádicos de FMB foram diagnosticados (Gonçalves *et al.*, 1981; Lemos *et al.*, 2002). A partir de 2001, casos anuais têm sido registrados de forma sistemática, com uma ou duas ocorrências no máximo por ano e letalidade de 24% (MS, 2009a). Em 2005 ocorreu um aumento abrupto, registrando-se 25 casos. Em dois pacientes foi encontrado *R. rickettsii* por métodos moleculares (Lamas *et al.*, 2008; Rozental *et al.*, 2006). Neste estado há poucas informações sobre os potenciais vetores da doença. Foi evidenciada a presença de organismos riquetsia-like, através da coloração de Gimenez, em *Amblyomma* sp e em *Rh. sanguineus*. Mas somente nesta última espécie foi detectada a presença de riquetsias do GFM através da RIFI (Rozental *et al.*, 2002). O conhecimento sobre doenças vetoradas por carrapatos a humanos permanece incipiente.

Tifo Exantemático de São Paulo era o nome pelo qual a riquetsiose ficou conhecida nos idos da década de 30 na cidade de São Paulo (Piza *et al.*, 1932). De 1929 a 1933, 88 casos foram relatados, sendo que 76 ocorreram na capital e 12 pelo interior (Dias e Martins, 1939). No estado de São Paulo, o município de Pedreira começa a se firmar como região endêmica a partir de 1985, e durante os 20 anos subsequentes foram diagnosticados 34 casos (Lima *et al.*, 1995; Centro de Vigilância Epidemiológica, 2009). Em outros municípios circunvizinhos têm sido observadas áreas endêmicas para FMB. Por exemplo, Campinas onde 44 casos foram registrados entre 1998 e 2009 (CVE, 2009). Em uma análise de 23 casos humanos constatou-se uma letalidade de 30%, com os óbitos ocorrendo até o sexto dia da doença (Angerami *et al.*, 2006). Segundo os autores, a clínica da BSF parece ser mais severa que FMMR, e a elevada letalidade pode ser explicada pelo atraso no início do tratamento, pela ausência de doxiciclina parenteral ou pelo fato de a cepa de *R. rickettsii* presente no Brasil ser mais virulenta. No estado, apesar do elevado número de casos diagnosticados laboratorialmente, há apenas um com diagnóstico espécie-específico, com base na análise de um pequeno fragmento de gene riquetsial (Nascimento *et al.*, 2005). Quanto aos potenciais vetores, reservatórios e/ou sentinelas, há vários estudos realizados por todo o estado. O primeiro isolado de bactérias do GFM em *Amblyomma cooperi* foi proveniente de Pedreira (Lemos *et al.*, 1996). Neste mesmo município, posteriormente, obteve-se isolados de *R. bellii* do GA e de uma outra cepa *Rickettsia* sp. COOPERI que está relacionada geneticamente com *R. parkeri*, *R. africae* e *R. sibirica* (Labruna *et al.*,



2004a). Foi isolado *R. rickettsii* a partir de *Amblyomma aureolatum* coletado em cães em Taiapuê, onde a FMB é endêmica (Pinter e Labruna, 2006). Em *Am. cajennense* e *Am. cooperi* foi detectada a presença de *R. bellii* no município de Campinas (Estrada *et al.*, 2006). *Rickettsia parkeri* foi isolado de *Amblyomma triste* do município de Paulicéia, onde casos de riquetsioses não são relatados (Silveira *et al.*, 2007). No estado de São Paulo também foram isolados *R. bellii* do GA e *R. rhipicephali* do GFM, de patogenicidade desconhecida, de *Haemaphysalis juxtakochi* (Labruna *et al.*, 2007). O *Am. cajennense* é incriminado como principal vetor da doença, pois são abundantes em áreas onde anticorpos antiriquetsias foram detectados em capivaras, cães, gambás, equinos e humanos (Horta *et al.*, 2004; Pacheco *et al.*, 2007; Pinter *et al.*, 2008; Sangione *et al.*, 2005). Nesta espécie de carrapato foram detectadas riquetsias do GFM (Nascimento *et al.*, 2003) através da reação em cadeia pela polimerase (PCR). Entretanto, no estado, não há ainda nenhuma confirmação através de análises de sequências de nucleotídeos da espécie *R. rickettsii* infectando *Am. cajennense*.

Entre 1997 e 2008 foram registrados 641 casos da doença, tendo a sua maioria ocorrido na região Sudeste (515) seguido pela região Sul (121). Os casos da região Sul ocorreram principalmente em Santa Catarina (113), onde a riquetsiose tem evolução branda e tem como principal manifestação linfadenopatia (MS, 2009c). É possível que o agente seja distinto daquele responsável pela FMB presente em outros estados. Há registros de poucos casos nas regiões Norte (02), Nordeste (01) e Centro-Oeste (02) (MS, 2009c). Apesar dos esforços dos laboratórios de referência do país, o diagnóstico laboratorial preconizado pelo MS (RIFI e/ou isolamento em cultura de células) não possibilita a identificação da(s) espécie(s) circulante(s) no Território Nacional.

O conhecimento em relação à(s) espécie(s) de riquetsia circulantes em pacientes humanos e em *Am. cajennense* no estado de São Paulo, assim como em potenciais vetores e em animais domésticos no estado do Rio de Janeiro, ainda é incipiente. O presente estudo foi elaborado no sentido de buscar novas informações e trazer subsídios para o melhor entendimento da epidemiologia da febre maculosa brasileira.

## 6 CONCLUSÕES

A análise de material biológico procedente de áreas com casos suspeitos ou confirmados de Febre Maculosa (FM) dos estados do Rio de Janeiro e de São Paulo, através de metodologia molecular, possibilitou:

Detectar DNAg de riquetsias GFM em vetores e/ou animais domésticos de municípios das Regiões Metropolitana, Médio Paraíba e Serrana do estado do Rio de Janeiro.

Constatar Frequências Mínimas de Carrapatos Infectados por riquetsias GFM no estado do Rio de Janeiro com valores superiores em relação aos registrados em trabalhos realizados em áreas de risco no Brasil.

Demonstrar pela primeira vez *Rickettsia rickettsii* infectando naturalmente exemplares das espécies *Boophilus microplus* e *Ctenocephalides felis*, indicando-os como possíveis participantes do ciclo enzoótico desta riquetsia.

Demonstrar pela primeira vez no Brasil *Rickettsia rickettsii* infectando naturalmente exemplares de *Anocentor nitens*.

Demonstrar pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro *Rickettsia rickettsii* infectando carrapatos ixodídeos *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* e em pulgas *Ctenocephalides felis*.

Demonstrar pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro *Rickettsia felis* infectando *Ctenocephalides felis* e *Amblyomma cajennense*.

Detectar riquetsias GFM em exemplares de *Ornithodoros* spp coletados em sítio de ocorrência de casos confirmados de FM indicando possível participação de carrapatos argasídeos no ciclo enzoótico da riquetsiose.

Demonstrar pela primeira vez no Brasil *Rickettsia rickettsii* infectando naturalmente cães e equinos residentes em áreas com ocorrência de casos de Febre Maculosa.

Diagnosticar pela primeira vez no estado de São Paulo, através da análise de sequência de genes riquetsiais (*gltA* e *ompA*), *Rickettsia rickettsii* infectando *Amblyomma cajennense* incriminado como principal vetor da FM no Brasil

Identificar *Rickettsia rickettsii*, através da análise de sequências nucleotídicas de genes riquetsiais (*gltA*, *ompA* e *ompB*), como único agente da FMB em pacientes residentes na região metropolitana da cidade de São Paulo e em municípios localizados nas bacias hidrográficas dos rios Atibaia, Camanducaia, Jaguari, e Piracicaba do Estado de São Paulo.

Demonstrar, através da construção de árvores filogenética, a identidade entre os fragmentos do gene *gltA* de *Rickettsia rickettsii* detectados em humanos, potenciais vetores e animais domésticos, não tendo sido possível confirmar a ocorrência de diferentes linhagens da espécie na região Sudeste do país.

## REFERÊNCIAS\*

Adams JR, Schmidtmann ET, Azad AF. Infection of colonized cat fleas, *Ctenocephalides felis* (Bouché), with a rickettsia-like microorganism. *Am J Trop Med Hyg.* 1990;43(4):400-09.

Aguirrebengoa K, Portillo A, Santibáñez S, Marín JJ, Montejo M, Oteo JA. Human *Rickettsia sibirica mongolitimonae* infection, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(3):528-29.

Angerami RN, Resende MR, Feltrin AF, Katz G, Nascimento EM, Stucchi RS, Silva LJ. Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil: clinical aspects. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:252-54. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Babalís T, Tselentis Y, Roux V, Psaroulaki A, Raoult D. Isolation and identification of a rickettsial strain related to *Rickettsia massiliae* in Greek ticks. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50(3):365-72.

Bacellar F, Regnery RL, Nuncio MS, Filipe AR. Genotypic evaluation of rickettsial isolates recovered from various species of ticks in Portugal. *Epidemiol Infect.* 1995;114(1):169-78.

Balayeva NM, Ereemeeva ME, Ignatovich VF, Rudakov NV, Reschetnikova TA, Samoilenko IE, Yastrebov VK, Raoult D. Biological and genetic characterization of *Rickettsia sibirica* strains isolated in the endemic area of the north Asian tick typhus. *Am J Trop Med Hyg.* 1996;55(6):685-92.

Beati L, Péter O, Burgdorfer W, Aeschlimann A, Raoult D. Confirmation that *Rickettsia helvetica* sp. nov. is a distinct species of the spotted fever group of rickettsiae. *Int J Syst Bacteriol.* 1993a;43(3):521-26.

Beati L, Raoult D. *Rickettsia massiliae* sp. nov., a new spotted fever group *Rickettsia*. *Int J Syst Bacteriol.* 1993b;43(4):839-40.

Beati L, Humair PF, Aeschlimann A, Raoult D. Identification of spotted fever group rickettsiae isolated from *Dermacentor marginatus* and *Ixodes ricinus* ticks collected in Switzerland. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;51(2):138-48.

\*De acordo com:

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to Biomedical Journal: sample references. Available from: <http://www.icmje.org> [2004 May 06].

Beati L, Meskini M, Thiers B, Raoult D. *Rickettsia aeschlimannii* sp. nov., a new spotted fever group rickettsia associated with *Hyalomma marginatum* ticks. *Int J Syst Bacteriol.* 1997;47(2):548-54

Bellini C, Monti M, Potin M, Dalle Ave A, Bille J, Greub G. Cardiac involvement in a patient with clinical and serological evidence of African tick-bite fever. *BMC Infect Dis.* 2005;5:90.

Bermúdez SE, Eremeeva ME, Karpathy SE, Samudio F, Zambrano ML, Zaldivar Y, Motta JA, Dasch GA. Detection and identification of rickettsial agents in ticks from domestic mammals in eastern Panama. *J Med Entomol.* 2009;46(4):856-61.

Billings AN, Yu XJ, Teel PD, Walker DH. Detection of a spotted fever group rickettsia in *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in south Texas. *J Med Entomol.* 1998;35(4):474-78.

Bitam I, Parola P, Matsumoto K, Rolain JM, Baziz B, Boubidi SC, Harrat Z, Belkaid M, Raoult D. First molecular detection of *R. conorii*, *R. aeschlimannii*, and *R. massiliae* in ticks from Algeria. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:368-72. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Boretti FS, Perreten A, Meli ML, Cattori V, Willi B, Wengi N, Hornok S, Honegger H, Hegglin D, Woelfel R, Reusch CE, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. Molecular Investigations of *Rickettsia helvetica* infection in dogs, foxes, humans, and Ixodes ticks. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75(10):3230-37.

Brouqui P, Raoult D. Arthropod-borne diseases in homeless. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:223-35. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Brouqui P, Parola P, Fournier PE, Raoult D. Spotted fever rickettsioses in southern and eastern Europe. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007;49(1):2-12.

Burgdorfer W, Aeschlimann A, Peter O, Hayes SF, Philip RN. *Ixodes ricinus*: vector of a hitherto undescribed spotted fever group agent in Switzerland. *Acta Trop.* 1979;36(4):357-67.

Burket CT, Vann CN, Pinger RR, Chatot CL, Steiner FE. Minimum infection rate of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) by *Ehrlichia chaffeensis* (Rickettsiales: Ehrlichieae) in southern Indiana. *J Med Entomol* 1998;35:653-59.

Campbell RW, Domrow R. Rickettsioses in Australia: isolation of *Rickettsia tsutsugamushi* and *R. australis* from naturally infected arthropods. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1974;68:397–402.

Cao WC, Zhan L, De Vlas SJ, Wen BH, Yang H, Richardus JH, Habbema JD. Molecular detection of spotted fever group *Rickettsia* in *Dermacentor silvarum* from a forest area of northeastern China. *J Med Entomol.* 2008;45(4):741-44.

Cardoso LD, Freitas RN, Mafra CL, Neves CV, Figueira FC, Labruna MB, Gennari SM, Walker DH, Galvão MA. Characterization of *Rickettsia* spp. circulating in a silent peri-urban focus for Brazilian spotted fever in Caratinga, Minas Gerais, Brazil. *Cad Saúde Pública.* 2006;22(3):495-501.

Caruso G, Zasio C, Guzzo F, Granata C, Mondardini V, Guerra E, Macrì E, Benedetti P. Outbreak of African tick-bite fever in six Italian tourists returning from South Africa. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2002;21(2):133-36.

Center for Disease Control. Seasonal Distribution of Rocky Mountain Spotted Fever. [homepage on the internet]. Disponível em: [http://www.cdc.gov/ticks/diseases/rocky\\_mountain\\_spotted\\_fever/statistics.html](http://www.cdc.gov/ticks/diseases/rocky_mountain_spotted_fever/statistics.html). [ 2007 fev 01]

Centro de Vigilância Epidemiológica. Distribuição dos casos de Febre Maculosa segundo município provável de infecção no Estado de São Paulo - 1985 – 1997. Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/fm\\_d8597.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/fm_d8597.htm). [2009 jun 11].

Centro de Vigilância Epidemiológica (CVE): Distribuição dos casos confirmados de febre maculosa, segundo município de infecção no estado de São Paulo [homepage on the internet]. São Paulo. Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br /htm/zoo/fm\\_d9803.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br /htm/zoo/fm_d9803.htm). [2009 dez 20].

Chmielewski T, Podsiadly E, Karbowski G, Tylewska-Wierzbanowska S. *Rickettsia* spp. in ticks, Poland. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(3):486-88.

Choi YJ, Jang WJ, Ryu JS, Lee SH, Park KH, Paik HS, Koh YS, Choi MS, Kim IS. Spotted fever group and typhus group rickettsioses in humans, South Korea. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(2):237-44.

Comer KM. Rocky Mountain spotted fever. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 1991;21:27-44.

Cutler SJ, Browning P, Scott JC. *Ornithodoros moubata*, a soft tick vector for *Rickettsia* in east Africa? *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:373-77. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Dantas-Torres F. Towards the standardization of the abbreviations of genus names of ticks (Acari: Parasitiformes: Ixodida). *Vet Parasitol.* 2008;154(1-2):94-7.

Dias E; Martins, AV. Spotted Fever in Brazil. *Am J Trop Med.*1939;19:103-08.

Dobec M, Golubic D, Punda-Polic V, Kaeppli F, Sievers M. *Rickettsia helvetica* in *Dermacentor reticulatus* ticks. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(1):98-100.

Drancourt M, Beati L, Tarasevich I, Raoult D. Astrakhan fever rickettsia is identical to Israel tick typhus rickettsia, a genotype of the *Rickettsia conorii* complex. *J Infect Dis.* 1992;165:1167–68.

Dupont HT, Cornet JP, Raoult D. Identification of rickettsiae from ticks collected in the Central African Republic using the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg.* 1994;50(3):373-80.

Dyer JR, Einsiedel L, Ferguson PE, Lee AS, Unsworth NB, Graves SR, Gordon DL. A new focus of *Rickettsia honei* spotted fever in South Australia. *Med J Aust.* 2005;182(5):231-34.

Eremeeva M, Yu X, Raoult D. Differentiation among spotted fever group rickettsiae species by analysis of restriction fragment length polymorphism of PCR-amplified DNA. *J Clin Microbiol.* 1994;32(3):803-10.

Eremeeva M; Dasch GA. *RICKETTSIA*. IN: LEDERBERG, J. *Encyclopedia of Microbiology* 2 ed., New York: Academic Press, 2000. v. 4, p. 140-180.

Eremeeva ME, Bosserman EA, Demma LJ, Zambrano ML, Blau DM, Dasch GA. Isolation and identification of *Rickettsia massiliae* from *Rhipicephalus sanguineus* ticks collected in Arizona. *Appl Environ Microbiol.* 2006a;72(8):5569-77.

Eremeeva ME, Bosserman E, Zambrano M, Demma L, Dasch GA. Molecular typing of novel *Rickettsia rickettsii* isolates from Arizona. *Ann N Y Acad Sci.* 2006b;1078:573-7. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Estrada DA, Schumaker TT, Souza CE, Rodrigues Neto EJ, Linhares AX. Rickettsiae detection in Amblyomma ticks (Acari: Ixodidae) collected in the urban area of Campinas City, SP. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39(1):68-71.

Estripeaut D, Aramburú MG, Sáez-Llorens X, Thompson HA, Dasch GA, Paddock CD, Zaki S, Ereemeeva ME. Rocky Mountain spotted fever, Panama. Emerg Infect Dis. 2007;13(11):1763-65.

Floris R, Yurtman AN, Margoni EF, Mignozzi K, Boemo B, Altobelli A, Cinco M. Detection and identification of Rickettsia species in the northeast of Italy. Vector Borne Zoonotic Dis. 2008;8(6):777-82.

Fournier PE, Fujita H, Takada N, Raoult D. Genetic identification of rickettsiae isolated from ticks in Japan. J Clin Microbiol. 2002;40(6):2176-81.

Fournier PE, Allombert C, Supputamongkol Y, Caruso G, Brouqui P, Raoult D. Aneruptive fever associated with antibodies to Rickettsia helvetica in Europe and Thailand. J Clin Microbiol. 2004;42(2):816-18.

Fournier PE, Zhu Y, Yu X, Raoult D. Proposal to create subspecies of Rickettsia sibirica and an emended description of Rickettsia sibirica. Ann N Y Acad Sci. 2006;1078:597-606. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Fuentes L, Calderón A, Hun L. Isolation and identification of Rickettsia rickettsii from the rabbit tick (Haemaphysalis leporispalustris) in the Atlantic zone of Costa Rica. Am J Trop Med Hyg. 1985;34(3):564-67.

Gage KL, Gilmore RD, Karsterns RH, Schwan T. Detection of *Rickettsia rickettsii* in saliva, hemolymph and triturated tissues of infected *Dermacentor andersoni* ticks by polymerase chain reaction. Mol Cell Prob. 1992;6:333-41.

Galvão MA, Lamounier JA, Bonomo E, Tropic MS, Rezende EG, Calic SB, Chamone CB, Machado MC, Otoni ME, Leite RC, Caram C, Mafra CL, Walker DH. Emerging and reemerging rickettsiosis in an endemic area of Minas Gerais State, Brazil. Cad Saude Publica. 2002;18(6):1593-97.

Galvão MA, Calic SB, Chamone CB, Mafra S CL, Cesarino Filho G, Olano JP, Walker DH. Spotted fever rickettsiosis in Coronel Fabriciano, Minas Gerais State. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36(4):479-81.



Galvão MA, Mafra C, Chamone CB, Calic SB, Zavala-Velazquez JE, Walker DH. Clinical and laboratorial evidence of *Rickettsia felis* infections in Latin America. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2004;37(3):238-40.

Gehrke, FS. Estudo da prevalência de *Borrelia* spp, *Ehrlichia* spp e *Rickettsia* spp em carrapatos coletados no estado de Rondônia, Amazônia Ocidental. [dissertação(Mestrado em Ciências)]. São Paulo (Brasil): Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 2002.

Gehrke FS, Mendes do Nascimento EM, Rodrigues de Souza E, Colombo S, Jacintho da Silva L, Schumaker TT. Detection of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia* sp. in blood clots in 24 patients from different municipalities of the State of Sao Paulo, Brazil. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:260-62. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Gehrke FS, Gazeta GS, Souza ER, Ribeiro A, Marrelli MT, Schumaker TT. *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. *Clin Microbiol Infect*. 2009;15:267-68. [5<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases, 2008, Marseille].

Gonçalves AJR, Lopes, PFA, Melo JPC, Pereira AA, Pinto AMM, Lazera MS, Souza MLS, Teixeira CRU, Oliveira JC, Duarte F. Rickettsioses: a propósito de quatro casos diagnosticados no Rio de Janeiro de febre maculosa brasileira. *F Méd (Br)*. 1981;82:127-34.

Graves SR, Dwyer BW, McColl D, McDade JE. Flinders Island spotted fever: a newly recognised endemic focus of tick typhus in Bass Strait. Part 2. Serological investigations. *Med J Aust*. 1991;154(2):99-104.

Graves S, Unsworth N, Stenos J. Rickettsioses in Australia. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:74-9. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Guedes E, Leite RC, Prata MC, Pacheco RC, Walker DH, Labruna MB. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100(8):841-45.

Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM. Ectoparasitas de Importância Veterinária. São Paulo: Plêiade, 2001. p. 218.

Felsenstein, J 2005. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.

Henke SE, Pence DB, Demarais S, Johnson JR. Serologic survey of selected zoonotic disease agents in black-tailed jack rabbits from western Texas. J Wildl Dis. 1990;26(1):107-11.

Horta MC, Labruna MB, Sangioni LA, Vianna MC, Gennari SM, Galvão MA, Mafra CL, Vidotto O, Schumaker TT, Walker DH. Prevalence of antibodies to spotted fever group rickettsiae in humans and domestic animals in a Brazilian spotted fever-endemic area in the state of São Paulo, Brazil: serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*. Am J Trop Med Hyg. 2004;71(1):93-7.

Horta MC, Chiebao DP, de Souza DB, Ferreira F, Pinheiro SR, Labruna MB, Schumaker TT. Prevalence of *Rickettsia felis* in the fleas *Ctenocephalides felis felis* and *Ctenocephalides canis* from two Indian villages in Sao Paulo Municipality, Brazil. Ann N Y Acad Sci. 2006;1078:361-63. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Hidalgo M, Orejuela L, Fuya P, Carrillo P, Hernandez J, Parra E, Keng C, Small M, Olano JP, Bouyer D, Castaneda E, Walker D, Valbuena G. Rocky Mountain spotted fever, Colombia. Emerg Infect Dis. 2007;13(7):1058-60.

Hua CM, Cheminade Y, Perret JL, Weynants V, Lobet Y, Gern L. Early detection of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection in Balb/c mice by co-feeding *Ixodes ricinus* ticks. Int J Med Microbiol. 2003;293(6):421-26.

Hun L, Cortés X, Taylor L. Molecular characterization of *Rickettsia rickettsii* isolated from human clinical samples and from the rabbit tick *Haemaphysalis leporispalustris* collected at different geographic zones in Costa Rica. Am J Trop Med Hyg. 2008;79(6):899-902.

Ishikura M, Ando S, Shinagawa Y, Matsuura K, Hasegawa S, Nakayama T, Fujita H, Watanabe M. Phylogenetic analysis of spotted fever group rickettsiae based on *gltA*, 17-kDa, and rOmpA genes amplified by nested PCR from ticks in Japan Microbiol Immunol. 2003;47(11):823-32.

Jackson Y, Chappuis F, Loutan L. African tick-bite fever: four cases among Swiss travelers returning from South Africa. *J Travel Med.* 2004;11(4):225-28.

Jiang J, Sangkasuwan V, Lerthusnee K, Sukwit S, Chuenchitra T, Rozmajzl PJ, Eamsila C, Jones JW, Richards AL. Human Infection with *Rickettsia honei*, Thailand. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(9):1473-75.

Kelly PJ, Mason P. Transmission of a spotted fever group rickettsia by *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 1991;28:596–600.

Kelly PJ, Beati L, Mason PR, Matthewman LA, Roux V, Raoult D. *Rickettsia africae* sp. nov., the etiological agent of African tick bite fever. *Int J Syst Bacteriol.* 1996;46(2):611-14.

Kelly PJ. *Rickettsia africae* in the West Indies. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(2):224-26.

Kenny MJ, Birtles RJ, Day MJ, Shaw SE. *Rickettsia felis* in the United Kingdom. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(8):1023-24.

Kidd L, Hegarty B, Sexton D, Breitschwerdt E. Molecular characterization of *Rickettsia rickettsii* infecting dogs and people in North Carolina. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:400-09. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Kodama K, Senba T, Yamauchi H, Nomura T, Chikahira Y. Clinical study of Japanese spotted fever and its aggravating factors. *J Infect Chemother.* 2003;9(1):83-7.

Kollars TM Jr, Tippayachai B, Bodhidatta D. Short report: Thai tick typhus, *Rickettsia honei*, and a unique rickettsia detected in *Ixodes granulatus* (Ixodidae: Acari) from Thailand. *Am J Trop Med Hyg.* 2001;65(5):535-37.

Koss T, Carter EL, Grossman ME, Silvers DN, Rabinowitz AD, Singleton J Jr, Zaki SR, Paddock CD. Increased detection of rickettsialpox in a New York City hospital following the anthrax outbreak of 2001: use of immunohistochemistry for the rapid confirmation of cases in an era of bioterrorism. *Arch Dermatol.* 2003;139(12):1545-52.

La Scola B, Raoult D. Laboratory diagnosis of Rickettsioses: current approaches to diagnosis of old and new Rickettsial diseases. *J Clin Microbiol.* 1997;35:2715–27.

Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A, Popov V, Gennari SM, Walker DH. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol.* 2004a;42(1):90-8.

Labruna MB, McBride JW, Bouyer DH, Camargo LM, Camargo EP, Walker DH. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. *J Med Entomol.* 2004b;41(3):533-37.

Labruna MB, Whitworth T, Bouyer DH, McBride J, Camargo LM, Camargo EP, Popov V, Walker DH. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. *J Med Entomol.* 2004c;41(6):1073-81.

Labruna MB, Pacheco RC, Richtzenhain LJ, Szabó MP. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* ticks in the state of São Paulo, Brazil. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73(3):869-73.

Labruna MB, Kamakura O, Moraes-Filho J, Horta MC, Pacheco RC. Rocky Mountain spotted fever in dogs, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2009;15(3):458-60.

Lamas C, Favacho A, Rozental T, Bóia MN, Kirsten AH, Guterres A, Barreira J, de Lemos ER. Characterization of *rickettsia rickettsii* in a case of fatal Brazilian spotted fever in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2008;12(2):149-51.

Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ and Higgins DG. ClustalW and ClustalX version 2. *Bioinformatics.* 2007;23(21):2947-48.

Lane AM, Shaw MD, McGraw EA, O'Neill SL. Evidence of a spotted fever-like *rickettsia* and a potential new vector from northeastern Australia. *J Med Entomol.* 2005;42:918-21.

Lemos ER, Machado RD, Coura JR. Rocky Mountain spotted fever in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1994;89(4):497-501.

Lemos ER, Melles HH, Colombo S, Machado RD, Coura JR, Guimarães MA, Sanseverino SR, Moura A. Primary isolation of spotted fever group *rickettsiae* from *Amblyomma cooperi* collected from *Hydrochaeris hydrochaeris* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1996;91(3):273-75.

Lemos ER, Machado RD, Pires FD, Machado SL, da Costa LM, Coura JR. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997;92(4):477-81.

Lemos ER, Rozental T, Villela CL. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35(5):523-25.

Lima VLC, Figueiredo AC, Pignatti MG, Modolo M. Febre Maculosa no município de Pedreira – Estado de São Paulo – Brasil – Relação entre ocorrências de casos e parasitismo humano por Ixodídeos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1995;(28):135-37.

Macaluso KR, Davis J, Alam U, Korman A, Rutherford JS, Rosenberg R, Azad AF. Spotted fever group rickettsiae in ticks from the Masai Mara region of Kenya. *Am J Trop Med Hyg*. 2003;68(5):551-53.

Márquez FJ, Muniain MA, Rodríguez-Liebana JJ, Del Toro MD, Bernabeu-Wittel M, Pachón AJ. Incidence and distribution pattern of *Rickettsia felis* in peridomestic fleas from Andalusia, Southeast Spain. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;(1078):344-46. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Márquez FJ. Spotted fever group *Rickettsia* in ticks from southeastern Spain natural parks. *Exp Appl Acarol*. 2008;45(3-4):185-94.

Matsumoto K, Parola P, Brouqui P, Raoult D. *Rickettsia aeschlimannii* in *Hyalomma* ticks from Corsica. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23(9):732-34.

Matsumoto K, Ogawa M, Brouqui P, Raoult D, Parola P. Transmission of *Rickettsia massiliae* in the tick, *Rhipicephalus turanicus*. *Med Vet Entomol*. 2005;19(3):263-70.

Mediannikov OY, Sidelnikov Y, Ivanov L, Mokretsova E, Fournier PE, Tarasevich I, Raoult D. Acute tick-borne rickettsiosis caused by *Rickettsia heilongjiangensis* in Russian Far East. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(5):810-17.

Mediannikov O, Sidelnikov Y, Ivanov L, Fournier PE, Tarasevich I, Raoult D. Far eastern tick-borne rickettsiosis: identification of two new cases and tick vector. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;(1078):80-8. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Ministério da Saúde (MS). Guia de Vigilância Epidemiológico [homepage on the internet]. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/febremaculosa\\_gve.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/febremaculosa_gve.pdf). [2006 mar 10].

Ministério da Saúde. Surto de Febre Maculosa no município de Petrópolis. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/febremaculosa\\_1311.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/febremaculosa_1311.pdf). [2009a jun 11].

Ministério da Saúde. Programa Nacional de Vigilância da Febre Maculosa Brasileira e Outras Rickettsioses. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/Maculosa%20A%20a%20Z%202.pdf>. [2009b jun 11].

Ministério da Saúde (MS). Casos confirmados de Febre maculosa. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1997 a 2008\*. [homepage on the internet] Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos\\_conf\\_febre\\_maculosa.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/casos_conf_febre_maculosa.pdf). [2009c jun 11]

Moraes-Filho J, Pinter A, Pacheco RC, Gutmann TB, Barbosa SO, Gonzáles MA, Muraro MA, Cecílio SR, Labruna MB. New Epidemiological Data on Brazilian Spotted Fever in an Endemic Area of the State of São Paulo, Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2008;10:73-78.

Mouffok N, Benabdellah A, Richet H, Rolain JM, Razik F, Belamadani D, Abidi S, Bellal R, Gouriet F, Midoun N, Brouqui P, Raoult D. Reemergence of rickettsiosis in Oran, Algeria. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:180-84. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Mura A, Socolovschi C, Ginesta J, Lafrance B, Magnan S, Rolain JM, Davoust B, Raoult D, Parola P. Molecular detection of spotted fever group rickettsiae in ticks from Ethiopia and Chad. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2008a;102(9):945-49.

Mura A, Masala G, Tola S, Satta G, Fois F, Piras P, Rolain JM, Raoult D, Parola P. First direct detection of rickettsial pathogens and a new rickettsia, 'Candidatus Rickettsia barbariae', in ticks from Sardinia, Italy. *Clin Microbiol Infect.* 2008b;14(11):1028-33.

Nascimento EM, Gehrke Fde S, Maldonado RA, Colombo S, Silva LJ, Schumaker TT. Detection of Brazilian spotted fever infection by polymerase chain reaction in a patient from the state of São Paulo. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2005;100(3):277-79.

Nascimento EMM. Isolamento e detecção molecular de riquetsias do Grupo Febre Maculosa, a partir de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e espécimens biológicos humanos, provenientes de áreas endêmicas do Estado de São Paulo [dissertação (Mestrado em Ciências)]. São Paulo (Brasil): Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2003.

Nava S, Elshenawy Y, Eremeeva ME, Sumner JW, Mastropaolo M, Paddock CD. *Rickettsia parkeri* in Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(12):1894-97.

Nilsson K, Lindquist O, Pahlson C. Association of *Rickettsia helvetica* with chronic perimyocarditis in sudden cardiac death. *Lancet*. 1999;354(9185):1169-73.

Nilsson K, Pahlson C, Lukinius A, Eriksson L, Nilsson L, Lindquist O. Presence of *Rickettsia helvetica* in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis. *J Infect Dis*. 2002;185(8):1128-38.

Oliveira PR. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae): Avaliação de técnicas para o estudo de dinâmica populacional e biotecnologia. [tese]. Belo Horizonte(Brasil): Universidade Federal de Minas Gerais;1998.

Oliveira KA, Oliveira LS, Dias CC, Silva A Jr, Almeida MR, Almada G, Bouyer DH, Galvão MA, Mafra C. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian Spotted Fever. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(2):191-94.

Pacheco RC, Venzal JM, Richtzenhain LJ, Labruna MB. *Rickettsia parkeri* in Uruguay. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(11):1804-05.

Pacheco RC, Horta MC, Moraes-Filho J, Ataliba AC, Pinter A, Labruna MB. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from São Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. *Biomedica*. 2007;27(3):364-71.

Pacheco RC, Horta MC, Pinter A, Moraes-Filho J, Martins TF, Nardi MS, Souza SS, Souza CE, Szabó MP, Richtzenhain LJ, Labruna MB. Survey of *Rickettsia* spp in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum* in the State of São Paulo *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42(3):351-53.

Paddock CD, Greer PW, Ferebee TL, Singleton J Jr, McKechnie DB, Treadwell TA, Krebs JW, Clarke MJ, Holman RC, Olson JG, Childs JE, Zaki SR. Hidden mortality attributable to Rocky Mountain spotted fever: immunohistochemical detection of fatal, serologically unconfirmed disease. *J Infect Dis.* 1999;179(6):1469-76.

Paddock CD, Zaki SR, Koss T, Singleton J Jr, Sumner JW, Comer JA, Ereemeeva ME, Dasch GA, Cherry B, Childs JE. Rickettsialpox in New York City: a persistent urban zoonosis. *Ann N Y Acad Sci.* 2003;990:36-44. [International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; Slovenia; 2002].

Paddock CD, Sumner JW, Comer JA, Zaki SR, Goldsmith CS, Goddard J, McLellan SL, Tamminga CL, Ohl CA. *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. *Clin Infect Dis.* 2004;38(6):805-11.

Paddock CD, Finley RW, Wright CS, Robinson HN, Schrodt BJ, Lane CC, Ekenna O, Blass MA, Tamminga CL, Ohl CA, McLellan SL, Goddard J, Holman RC, Openshaw JJ, Sumner JW, Zaki SR, Ereemeeva ME. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain spotted fever. *Clin Infect Dis.* 2008;47(9):1188-96.

Parker RR, Kohls GM, Cox GW, Davis GE. Observations on an infectious agent from *Amblyomma maculatum*. *Public Health Rep.* 1939;54:1482-84.

Parola P, Miller RS, McDaniel P, Telford SR 3rd, Rolain JM, Wongsrichanalai C, Raoult D. Emerging rickettsioses of the Thai-Myanmar border. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(5):592-95.

Parola P, Paddock CD, Raoult D. Tick-Borne Rickettsioses around the World: Emerging Diseases Challenging Old Concepts *Clinical Microbiology Reviews.* 2005;4(18):719-56.

Parola P. Rickettsioses in sub-Saharan Africa. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:42-7. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Parola P, Socolovschi C, Jeanjean L, Bitam I, Fournier PE, Sotto A, Labe P, Raoult D. Warmer weather linked to tick attack and emergence of severe rickettsioses. *PLoS Negl Trop Dis.* 2008;2(11):e338.

Pérez-Arellano JL, Fenollar F, Angel-Moreno A, Bolaños M, Hernández M, Santana E, Hemmersbach-Miller M, Martín AM, Raoult D. Human *Rickettsia felis* infection, Canary Islands, Spain. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(12):1961-64.



Philip RN, Casper EA, Anacker RI, Cory J, Hayes SF, Burgdorfer W., Yunker CE. *Rickettsia bellii* sp. nov.: a Tick-Borne Rickettsia, Widely Distributed in the United States, That Is Distinct from the Spotted Fever and Typhus Biogroups. *International Journal Of Systematica Bacteriologia*. 1983;33(1):94-106.

Pinter A, Labruna MB. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:523-29. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Pinter A, Horta MC, Pacheco RC, Moraes-Filho J, Labruna MB. Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian potted fever in the State of São Paulo, Brazil. *Cad Saude Publica*. 2008;24(2):247-52.

Piza, JT; Meyer, JR; Gomes, LS. *Tipho exanthematico em São Paulo*. Soc. Impress. Paulista, 1932.

Portillo A, Pérez-Martínez L, Santibáñez S, Blanco JR, Ibarra V, Oteo JA. Detection of *Rickettsia africae* in *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *decoloratus* ticks from the Republic of Botswana, South Africa. *Am J Trop Med Hyg*. 2007;77(2):376-77.

Pretorius AM, Jensenius M, Birtles RJ. Update on spotted fever group Rickettsiae in South Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2004;4(3):249-60.

Psaroulaki A, Germanakis A, Gikas A, Scoulica E, Tselentis Y. Simultaneous detection of "*Rickettsia mongolotimonae*" in a patient and in a tick in Greece. *J Clin Microbiol*. 2005;43(7):3558-59.

Psaroulaki A, Ragiadakou D, Kouris G, Papadopoulos B, Chaniotis B, Tselentis Y. Ticks, tick-borne rickettsiae, and *Coxiella burnetii* in the Greek Island of Cephalonia. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1078:389-99. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Punda-Polic V, Petrovec M, Trilar T, Duh D, Bradaric N, Klismanic Z, Avsic-Zupanc T. Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in ticks collected in southern Croatia. *Exp Appl Acarol*. 2002;28(1-4):169-76.

Radulovic S, Feng HM, Morovic M, Djelalija B, Popov V, Crocquet-Valdes P, Walker DH. Isolation of *Rickettsia akari* from a patient in a region where Mediterranean spotted fever is endemic. *Clin Infect Dis*. 1996;22(2):216-20.

Radulovic S, Price PW, Beier MS, Gaywee J, Macaluso JA, Azad A. Rickettsia-macrophage interactions: host cell responses to Rickettsia akari and Rickettsia typhi. Infect Immun. 2002;70(5):2576-82.

Raoult D, P. Brouqui, and V. Roux. A new spotted-fever-group rickettsiosis. Lancet. 1996;348:412.

Raoult D, Roux V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. Clin Microbiol Rev. 1997; 10:694-719.

Raoult D, Berbis P, Roux V, Xu W, Maurin M. A new tick-transmitted disease due to Rickettsia slovaca. Lancet. 1997;350(9071):112-13.

Raoult D, La Scola B, Enea M, Fournier PE, Roux V, Fenollar F, Galvao MA, de Lamballerie X. A flea-associated Rickettsia pathogenic for humans. Emerg Infect Dis. 2001; 7(1):73-81.

Raoult D, Fournier PE, Abboud P, Caron F. First documented human Rickettsia aeschlimannii infection. Emerg Infect Dis. 2002a;8(7):748-49.

Raoult D, Lakos A, Fenollar F, Beytout J, Brouqui P, Fournier PE. Spotless rickettsiosis caused by Rickettsia slovaca and associated with Dermacentor ticks. Clin Infect Dis. 2002b;34(10):1331-36.

Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis, BD. Genotypic identification of Rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two Rickettsial genes. J Bacteriol. 1991;(173):1576-89.

Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press 2 ed, v. 3 1989.

Richter J, Fournier PE, Petridou J, Häussinger D, Raoult D. Rickettsia felis infection acquired in Europe and documented by polymerase chain reaction. Emerg Infect Dis. 2002; 8(2):207-08.

Ricketts, HT. Some aspects of Rocky Mountain Spotted Fever as shown by recent investigations. Medical Record. 1909;76:843-55.

Robinson JB, Eremeeva ME, Olson PE, Thornton SA, Medina MJ, Sumner JW, Daschi GA. New approaches to detection and identification of *Rickettsia africae* and *Ehrlichia ruminantium* in *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) ticks from the Caribbean. *J Med Entomol.* 2009;46(4):942-51.

Roch N, Epaulard O, Pelloux I, Pavese P, Brion JP, Raoult D, Maurin M. African tick bite fever in elderly patients: 8 cases in French tourists returning from South Africa. *Clin Infect Dis.* 2008;47(3):28-35.

Rocha Lima H. *Rickettsia prowazeki*; its discovery and characterization constituting a new group of microorganisms. *Rev Bras Med.* 1951;8(5):311-20.

Rovero C, Brouqui P, Raoult D. Questions on Mediterranean spotted fever a century after its discovery. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(9):1360-67.

Rozental T, Bustamante MC, Amorim M, Serra-Freire NM, Lemos ER. Evidence of spotted fever group rickettsiae in state of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2002;44(3):155-58.

Rozental T, Eremeeva ME, Paddock CD, Zaki SR, Dasch GA, Lemos ER. Fatal case of Brazilian spotted fever confirmed by immunohistochemical staining and sequencing methods on fixed tissues. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;(1078):257-59. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Salgo, MP, Telzak EE, Currie B, Perlman DC, Litman N, Levi M, Nathenson G, Benach JL, Alhafidh R, Casey J. A focus of Rocky Mountain spotted fever within New York City. *N Engl J Med.* 1988;318:1345-48.

Sangioni LA, Horta MC, Vianna MC, Gennari SM, Soares RM, Galvão MA, Schumaker TT, Ferreira F, Vidotto O, Labruna MB. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. 2005;11(2):265-70.

Santos-Silva MM, Sousa R, Santos AS, Melo P, Encarnação V, Bacellar F. Ticks parasitizing wild birds in Portugal: detection of *Rickettsia aeschlimannii*, *R. helvetica* and *R. massiliae*. *Exp Appl Acarol.* 2006a;39(3-4):331-38.

Santos-Silva M, Sousa R, Santos AS, Lopes D, Queijo E, Doreta A, Vitorino L, Bacellar F. Ticks and tick-borne Rickettsiae surveillance in Montesinho Natural Park, Portugal. *Ann N Y Acad Sci.* 2006b;1078:137-42. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; 2005; Logroño].

Sarih M, Socolovschi C, Boudebouch N, Hassar M, Raoult D, Parola P. Spotted fever group rickettsiae in ticks, Morocco. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(7):1067-73.

Schriefer ME, Sacci JB Jr, Dumler JS, Bullen MG, Azad AF. Identification of a novel rickettsial infection in a patient diagnosed with murine typhus. *J Clin Microbiol.* 1994;32(4):949-54.

Sekeyova Z, Roux V, Xu W, Reháček J, Raoult D. *Rickettsia slovaca* sp. nov., a member of the spotted fever group rickettsiae. *Int J Syst Bacteriol.* 1998;48(4):1455-62.

Sekeyova Z, Roux V, Raoult D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001;51(4):1353-60.

Seijo A, Picollo M, Nicholson W, Paddock C. Rickettsial spotted fever in the Paraná Delta. An emerging disease *Medicina (B Aires).* 2007;67(2):723-26.

Seki M, Ikari N, Yamamoto S, Yamagata Y, Kosai K, Yanagihara K, Kakugawa T, Kurihara S, Izumikawa K, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Hirakata Y, Tashiro T, Kohno S. Severe Japanese spotted fever successfully treated with fluoroquinolone. *Intern Med.* 2006;45(22):1323-26.

Selmi M, Bertolotti L, Tomassone L, Mannelli A. *Rickettsia slovaca* in *Dermacentor marginatus* and tick-borne lymphadenopathy, Tuscany, Italy. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(5):817-20.

Sexton DJ, Dwyer B. Fatal Queensland tick typhus. *J. Infect. Dis.* 1990;62:779–80.

Sexton DJ, Muniz M, Corey GR, Breitschwerdt EB, Hegarty BC, Dumler S, Walker DH, Pecanha PM, Dietze R. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;49(2):222-26.

Shpynov S, Fournier PE, Rudakov N, Tarasevich I, Raoult D. Detection of members of the genera *Rickettsia*, *Anaplasma*, and *Ehrlichia* in ticks collected in the Asiatic part of Russia. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1078:378-83. [4<sup>th</sup> International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases;2005; Logroño].

Shpynov SN, Fournier PE, Rudakov NV, Samoilenko IE, Reshetnikova TA, Yastrebov VK, Schaiman MS, Tarasevich IV, Raoult D. Molecular identification of a collection of spotted Fever group rickettsiae obtained from patients and ticks from Russia. *Am J Trop Med Hyg.* 2006;74(3):440-43.

Silaghi C, Gilles J, Höhle M, Pradel I, Just FT, Fingerle V, Küchenhoff H, Pfister K. Prevalence of spotted fever group rickettsiae in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in southern Germany. *J Med Entomol.* 2008;45(5):948-55.

Silva LJ, Papaiordanou PM. Murine (endemic) typhus in Brazil: case report and review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2004;46(5):283-85.

Silveira I, Pacheco RC, Szabó MP, Ramos HG, Labruna MB. *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(7):1111-13.

Solano-Gallego L, Kidd L, Trotta M, Di Marco M, Caldin M, Furnanello T, et al. Febrile illness associated with *Rickettsia conorii* infection in dogs in Sicily. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:1985–88.

Sousa R, Nobrega SD, Bacellar F, Torgal J. Mediterranean spotted fever in Portugal: risk factors for fatal outcome in 105 hospitalized patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 990:285-94. [International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; Slovenia; 2002]

Sousa R, Barata C, Vitorino L, Santos-Silva M, Carrapato C, Torgal J, Walker D, Bacellar F. *Rickettsia sibirica* isolation from a patient and detection in ticks, Portugal. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(7):1103-08.

Sousa R, Duque L, Anes M, Poças J, Torgal J, Bacellar F, Olano JP, Walker DH. Lymphangitis in a Portuguese patient infected with *Rickettsia sibirica*. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(3):529-30.

Souza ER, Gazeta GS, Barbosa PRA, Gonçalves PC, Nascimento EMM, Schumaker TTS Detecção de riquetsias e erliquias através de PCR em animais domésticos do Município de Valença/RJ. In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia;34. Porto Alegre/RS. *Rev. Patol. Trop.*, 34(Supl). 2005

Stein A, Purgus R, Olmer M, Raoult D. Brill-Zinsser disease in France. *Lancet*, 1999;5:353.

Stenos J, Roux V, Walker D, Raoult D. *Rickettsia honei* sp. nov., the aetiological agent of Flinders Island spotted fever in Australia. *Int J Syst Bacteriol.* 1998;48(4):1399-404.

Stothard, DR; Clark, JB; Fuerst, PA. Ancestral divergence of *Rickettsia bellii* from the spotted fever and typhus groups of *Rickettsia* and antiquity of the genus *Rickettsia*. *Int J Syst Bacteriol.* 1994(44):798-804.

Sumner JW, Durden LA, Goddard J, Stromdahl EY, Clark KL, Reeves WK, Paddock CD. Gulf Coast ticks (*Amblyomma maculatum*) and *Rickettsia parkeri*, United States. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(5):751-53.

Suttinont C, Losuwanaluk K, Niwatayakul K, Hoontrakul S, Intaranongpai W, Silpasakorn S, Suwanchaoen D, Panlar P, Saisongkorh W, Rolain JM, Raoult D, Suputtamongkol Y. Causes of acute, undifferentiated, febrile illness in rural Thailand: results of a prospective observational study. *Ann Trop Med Parasitol.* 2006;100(4):363-70.

Tamura K, Dudley J, Nei M & Kumar S (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* 24:1596-99.

Travassos J; Rodrigues PM, Carrijo LN. Tifo murino em São Paulo. Identificação da *Rickettsia mooseri* isolada de um caso humano. *Mem. Inst. Butantã.* 1949;(21):77-106.

Tsai YS, Wu YH, Kao PT, Lin YC. African tick bite fever. *J Formos Med Assoc.* 2008;107(1):73-76.

Tsai KH, Lu HY, Huang JH, Wang PJ, Wang HC, Huang CG, Wu WJ, Shu PY. *Rickettsia felis* in cat fleas in Taiwan. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009;9(5):561-63.

Uchida T, Uchiyama T, Kumano K, Walker DH. *Rickettsia japonica* sp. nov., the etiological agent of spotted fever group rickettsiosis in Japan. *Int J Syst Bacteriol.* 1992;42(2):303-05.

Unsworth NB, Stenos J, Graves SR, Faa AG, Cox GE, Dyer JR, Boutlis CS, Lane AM, Shaw MD, Robson J, Nissen MD. Flinders Island spotted fever rickettsioses caused by "marmionii" strain of *Rickettsia honei*, Eastern Australia. *Emerg Infect Dis.* 2007;13(4):566-73.

Vianna MC, Horta MC, Sangioni LA, Cortez A, Soares RM, Mafra CL, Galvão MA, Labruna MB, Gennari SM. Rickettsial spotted fever in capoeirão village, Itabira, Minas Gerais, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2008;50(5):297-301.

Vilcins IM, Old JM, Deane E. Detection of a Hepatozoon and spotted fever group Rickettsia species in the common marsupial tick (*Ixodes tasmani*) collected from wild Tasmanian devils (*Sarcophilus harrisii*), Tasmania. *Vet Parasitol*. 2009;162(1-2):23-31.

Walker DH, Herrero JIH, Beltràn RR, Sopelana AB, Hidalgo AR. The pathology of fatal Mediterranean spotted fever. *Am J Clin Path*. 1987;(37):669-72.

Whitman TJ, Richards AL, Paddock CD, Tamminga CL, Sniezek PJ, Jiang J, Byers DK, Sanders JW. Rickettsia parkeri infection after tick bite, Virginia. *Emerg Infect Dis*. 2007;13(2):334-36.

Whitworth T, Popov V, Han V, Bouyer D, Stenos J, Graves S, Ndip L, Walker D. Ultrastructural and genetic evidence of a reptilian tick, *Aponomma hydrosauri*, as a host of Rickettsia honei in Australia: possible transovarial transmission. *Ann N Y Acad Sci*. 2003; 990:67-74. [International Conference on Rickettsiae and Rickettsial Diseases; Slovenia; 2002].

Weiss E; Moulder JW. Order I. Rickettsiales. In: Krieg MN. and Holt J, G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1984(1): 687-03.

Wikswa ME, Hu R, Metzger ME, Eremeeva ME. Detection of Rickettsia rickettsii and Bartonella henselae in Rhipicephalus sanguineus ticks from California. *J Med Entomol*. 2007;44(1):158-62.

Wikswa ME, Hu R, Dasch GA, Krueger L, Arugay A, Jones K, Hess B, Bennett S, Kramer V, Eremeeva ME. Detection and identification of spotted fever group rickettsiae in Dermacentor species from southern California. *J Med Entomol*. 2008;45(3):509-16.

Yu X, Jin Y, Fan M, Xu G, Liu Q, Raoult D. Genotypic and antigenic identification of two new strains of spotted fever group rickettsiae isolated from China. *J Clin Microbiol*. 1993;31(1):83-8.

Zavala-Velazquez JE, Ruiz-Sosa J, Vado-Solis I, Billings AN, Walker DH. Serologic study of the prevalence of rickettsiosis in Yucatán: evidence for a prevalent spotted fever group rickettsiosis. *Am J Trop Med Hyg*. 1999;61(3):405-08.

Zavala-Velazquez JE, Ruiz-Sosa JA, Sanchez-Elias RA, Becerra-Carmona G, Walker DH. *Rickettsia felis* rickettsiosis in Yucatan. *Lancet*. 2000;356(9235):1079-80.

Zavala-Velazquez JE, Zavala-Castro JE, Vado-Solís I, Ruiz-Sosa JA, Moron CG, Bouyer DH, Walker DH. Identification of *Ctenocephalides felis* fleas as a host of *Rickettsia felis*, the agent of a spotted fever rickettsiosis in Yucatañ, Mexico. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2002;(2):69-75.

Zavala-Castro JE, Zavala-Velázquez JE, Walker DH, Ruiz Arcila EE, Laviada-Molina H, Olano JP, Ruiz-Sosa JA, Small MA, Dzul-Rosado KR. Fatal human infection with *Rickettsia rickettsii*, Yucatán, Mexico. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(4):672-74.

Zhu, Y., P. E. Fournier, M. Ereemeeva, D. Raoult. Proposal to create subspecies of *Rickettsia conorii* based on multi-locus sequence typing and an emended description of *Rickettsia conorii*. *BMC Microbiol*. 2005;14:5-11.

Znazen A, Rolain JM, Hammami A, Jemaa MB, Raoult D. *Rickettsia felis* infection, Tunisia. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(1):138-40.