

Soroprevalência de Rickettsias do grupo da Febre Maculosa em cães residentes em Unidade de Conservação do Rio de Janeiro**Seroprevalence of Rickettsias from the Maculosa Fever group in dogs living in the Rio de Janeiro Conservation Unit**

DOI:10.34117/bjdv6n10-524

Recebimento dos originais: 08/09/2020

Aceitação para publicação: 24/10/2020

Gabriela Lins de Albuquerque

Mestre- UFF

Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Clínica e Reprodução Animal)

Universidade Federal Fluminense, Brasil

E-mail: gabrielalins1@live.com

Nádia Regina P. Almosny

Professora Dra UFF

Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Professor Marcílio Dias do Nascimento

Faculdade de Veterinária

Universidade Federal Fluminense, Brasil

Nathalie C. da Cunha

Professora Dra UFF

Departamento de Saúde Coletiva

Faculdade de Veterinária

Universidade Federal Fluminense, Brasil

Daiana A. G. Santana

Médica Veterinária UFF

Faculdade de Veterinária

Universidade Federal Fluminense, Brasil

Matheus D. Cordeiro

Dr UFRRJ

Instituto de Veterinária

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

Adivaldo H. da Fonseca

Prof UFRRJ

Instituto de Veterinária

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil

Diego R. Inácio

Geógrafo UFF

Instituto Estadual do Ambiente

Rio de Janeiro, Brasil

Sávio F. Bruno

Prof Dr UF

Departamento de Clínica e Reprodução Animal

Faculdade de Veterinária

Universidade Federal Fluminense, Brasil

RESUMO

O monitoramento de doenças infecciosas, parasitárias e zoonóticas é fundamental para a saúde coletiva e até mesmo ecossistêmica, principalmente em Unidades de Conservação, como o Parque Estadual da Serra da Tiririca-RJ (PESET). Rickettsias do Grupo da Febre Maculosa estão associadas a artrópodes hematófagos e podem causar uma doença potencialmente letal em humanos. Nesse contexto, ações de monitoramento em prol do diagnóstico de áreas de risco são de extrema importância. O PESET está localizado nos Municípios de Niterói e Maricá e abriga rica diversidade biológica, além de remanescentes de comunidades humanas de origens diversas. A maioria dos moradores possui animais domésticos, principalmente cães, o que permite uma interação entre eles, a fauna e o homem, contribuindo para a transmissão de patógenos de importância na saúde pública. O objetivo desta pesquisa foi realizar o inquérito sorológico de Rickettsias do Grupo de Febre Maculosa utilizando a reação de imunofluorescência indireta, a fim de contribuir como ferramenta de monitoramento da Febre Maculosa e auxiliar em futuras medidas de prevenção e controle. Como resultado, encontramos em 146 cães uma prevalência de 23% de reatividade para *R. rickettsii* e 47% de reatividade para *R. parkeri*, com título máximo de 1: 512 para ambos os antígenos. O presente trabalho demonstrou que tanto *R. rickettsii* quanto *R. parkeri* circulam na área estudada, alertando para a importância dos caninos como sentinelas de ambos os antígenos e servindo como alerta para futuros casos humanos.

Palavras-chave: Carrapatos, Saúde única, Medicina da Conservação, Unidade de Conservação, Sorologia, Zoonoses.

ABSTRACT

The monitoring of infectious, parasitic and zoonotic diseases is fundamental for the collective health and even ecosystem, especially in Conservation Units such as the Serra da Tiririca-RJ State Park (PESET). Rickettsias of the Maculosa Fever Group are associated with hematophagous arthropods and can cause a potentially lethal disease in humans. In this context, monitoring actions in favor of the diagnosis of risk areas are of extreme importance. PESET is located in the Municipalities of Niterói and Maricá and is home to rich biological diversity, in addition to remnants of human communities of diverse origins. Most of the residents have domestic animals, mainly dogs, which allows an interaction between them, fauna and man, contributing to the transmission of pathogens of public health importance. The objective of this research was to carry out the serological survey of Rickettsias of the Maculosa Fever Group using the indirect immunofluorescence reaction, in order to contribute as a tool to monitor Maculosa Fever and assist in future prevention and control measures. As a result, we found in 146 dogs a 23% prevalence of reactivity for *R. rickettsii* and 47% of reactivity for *R. parkeri*, with a maximum titre of 1: 512 for both antigens. The present work demonstrated that both *R. rickettsii* and *R. parkeri* circulate in the studied area, alerting to the importance of canines as sentinels of both antigens and serving as alert for future human cases.

Keywords: Tick, Single Health, Conservation Medicine, Serology, Zoonoses.

1 INTRODUÇÃO

A *Rickettsia rickettsii* é o agente transmissor da Febre Maculosa Brasileira, doença zoonótica, transmitida por vetores artrópodes, principalmente carrapatos, tendo sua distribuição em muitos países do continente americano (PAROLA et al. 2013; LEMOS et al. 2001). A patogenia é inespecífica e consiste em erupções cutâneas e manifestação febril (ANGERAMI et al., 2006) e se não tratada pode levar a óbito (PAROLA et al. 2005, NIERI-BASTOS et al., 2019). A *Rickettsia parkeri*, bactéria também pertencente ao grupo da Febre Maculosa, vem sendo estudada como agente causador de doença em humanos (PORTILLO et al., 2013, KASKAS et al., 2014) porém de patogenicidade mais branda do que a *R. rickettsii* (PADDOCK et al., 2008; WHITMAN et al., 2007).

No Brasil, o diagnóstico de triagem preconizado consiste na técnica de Imunofluorescência Indireta, devido à sua elevada praticidade, sensibilidade e especificidade (LEMOS et al., 2001; BROUQUI et al., 2004). À nível nacional, entre o período de 2007 à 2015, foram notificados 1.143 casos humanos, sendo 69,4% apenas na região sudeste, especialmente nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (BRASIL, 2015), sendo uma doença de notificação obrigatória a partir de 2001 (BRASIL, 2008). Os cães podem atuar como disseminadores dos vetores transmissores de RGFM nas habitações humanas e alguns estudos os aponta como sentinelas (CUNHA et al., 2014; CARDOSO et al., 2006).

Considerando um contexto de saúde única, em que a saúde humana, animal e ambiental estão fortemente interligadas e interdependentes (OIE, 2008) o monitoramento de doenças torna-se fundamental, principalmente em áreas de Unidade de Conservação, locais protegidos por lei que visam a conservação ambiental. Ademais existem poucos estudos sorológicos em áreas protegidas e a transmissão de patógenos entre animais silvestres, domésticos e o homem é uma possibilidade. Diante desta problemática, o objetivo do estudo foi avaliar o perfil sorológico de RGFM (*R. rickettsii* e *R. parkeri*) no Parque Estadual da Serra da Tiririca, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, sob o protocolo 675.

2.1 DESENHO DO ESTUDO

O presente estudo aconteceu em parceria com o Projeto Cães e Gatos da Serra da Tiririca (Pró-reitoria de Extensão, 2015). Este projeto, visa o controle populacional dos cães e gatos

residentes no Parque Estadual da Serra da Tiririca (PESET), Unidade de Conservação de Proteção Integral, localizada nos municípios de Niterói e Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. O tamanho da amostra foi calculado a partir de um universo de 231 cães (total estimado para as comunidades estudadas), considerando a perspectiva de inferências para proporções na população com 95% de confiança, alcançando 145 cães (MIOT, 2011).

2.2 AMOSTRAS

As amostras de sangue foram provenientes do pré operatório dos cães do projeto supracitado e foram coletadas nas residências de seus tutores, após autorização por escrito, durante o período de abril de 2015 à abril de 2017. As amostras foram coletadas por punção da veia cefálica, acondicionadas em tubo estéril sem anticoagulante e transportadas para o Laboratório de Pesquisa Clínica e Diagnóstico Molecular Prof. Marcílio Dias do Nascimento da Faculdade de Veterinária/UFF. Para obtenção do soro, as mesmas foram centrifugadas a 5000 RPM por 10 minutos, aliquotadas e conservadas a -20°C até o momento da realização da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

2.3 REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

As lâminas utilizadas na RIFI foram preparadas com *Rickettsia rickettsii* (cepa Taiacu) e *R. parkeri* (cepa At2) infectadas em células vero (PINTER, LABRUNA, 2006; SILVEIRA et al., 2007). Para cada lâmina havia controle positivo e negativo. As amostras eram testadas quanto à sua capacidade de fluorescência na diluição de 1:64 e posteriormente visualizadas sob microscopia. Uma vez observado formas de cocos, bacilos, ou coco-bacilos fluorescentes, a amostra era considerada reativa. A técnica foi baseada no protocolo já estabelecido por Horta et al. (2004). O conjugado fluoresceína canina anti-igG foi utilizado na diluição 1:100 (Sigma-Aldrich Brasil Ltda®, Brasil). As amostras positivas foram diluídas até o resultado negativo, afim de obter a maior titulação de anticorpos.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A frequência da sororreatividade de *R. rickettsii* e *R. parkeri* foi calculada em todas as comunidades do PESET e as variáveis foram analisadas a 95% de significância de acordo com o Teste Extrato de Fisher (SPSS statistic package version 17).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Análise dos resultados da RIFI para *R. parkeri* e *R. rickettsii* por comunidade visitada do Parque Estadual da Serra da Tiririca, Niterói- RJ. Período de abril de 2015 a abril de 2017.

Comunidade	Sorologia		Total
	<i>R. parkeri</i>	<i>R. rickettsii</i>	
Mangueirão	9 (22,0 %)	12 (29,3 %)	41
Quilombo	13 (50,0 %)	7 (26,9 %)	26
Engenho do mato	11 (73,3 %)	2 (13,3 %)	15
Itaipuaçu	9 (60,0 %)	5 (33,3 %)	15
Várzea das moças	9 (60,0 %)	5 (33,3 %)	15
Jardim Fluminense	7 (50,0 %)	4 (28,6 %)	14
Andorinhas	6 (60,0 %)	4 (40,0 %)	10
Cacilda Ouro	4 (57,1 %)	1 (14,3 %)	7
Caminho de Darwin	1 (33,3 %)	1 (33,3 %)	3
Total	69 (47,3 %)	41 (28,1 %)	146

As comunidades com maior prevalência de anticorpos contra *R. rickettsii* foram: Andorinhas com 40%, seguido de Itaipuaçu, Várzea das Moças e Caminho de Darwin com 33.3% de reatividade. Enquanto que, para *R. parkeri*, as comunidades de Itaipuaçu, Várzea das Moças e Andorinhas tiveram maiores frequências com 60% de sororreagentes. Observou-se que, com exceção de Várzea das Moças, as áreas com maiores prevalências apresentam menor densidade populacional e menor grau de atividade antrópica, favorecendo o ciclo epidemiológico e manutenção dos hospedeiros e vetores de RGFM.

O resultado do presente estudo, de 28,1% de reatividade na RIFI para *R. rickettsii* se aproxima dos resultados sorológicos encontrados no estado do Rio de Janeiro em áreas endêmicas, como observado por Cordeiro et al. (2015) e Cunha et al. (2014). Assim como, em áreas endêmicas de outros estados. Como é o caso de Horta e colaboradores (2004), em São Paulo e Saito et al. (2008) no Rio Grande do Sul.

Os resultados encontrados são condizentes com os de áreas endêmicas, apesar de não ter tido caso de notificação humana de FMB na área do PESET. Deve-se ressaltar que o fato da não notificação pode não refletir a realidade epidemiológica, uma vez que a área do Parque possui condições favoráveis para o ciclo da doença, além de ser uma doença ainda subnotificada e subdiagnosticada.

Em contrapartida, Emmerick et al. (2016) e Campos et al. (2020a) que também pesquisaram em Unidade de conservação do Rio de Janeiro, obtiveram frequência baixas para anticorpos anti-*Rickettsia rickettsii* (9,7%) e (0,87%), respectivamente.

A frequência de sororreatividade para anticorpos contra *R. rickettsii*, foi extremamente menor quando comparados com os achados sorológicos dos seguintes autores: Campos et al. (2020b,

no prelo), Poubel et al. (2016), Pinter et al. (2008), Moraes-Filho et al. (2009), Horta et al. (2007), Lemos et al. (1996) e Gazeta et al. (2009). Esta diferença significativa pode ser explicada pelo momento epidemiológico no qual as amostras dos autores foram obtidas, sendo coletadas em áreas sabidamente endêmicas, ou seja, após confirmação de casos humanos de FMB, época de ampla circulação de *R. rickettsii* na área.

A prevalência de sororreatividade para *R. parkeri* no presente estudo foi de 47,3%, concordando com Saito e colaboradores (2008), e Pinter e colaboradores (2008) e divergindo dos resultados encontrados por Batista e colaboradores (2010) e Emmerick et al. (2016), onde as frequências encontradas foram mais baixas. A patogenia da FMB por *R. parkeri*, tende a ser mais branda, fato que favorece a subnotificação dos casos humanos.

Tabela 2: Análise para as variáveis estudadas com os resultados reativos na sorologia para *Rickettsia rickettsii* e *R. parkeri* em 146 cães domésticos avaliados no Parque Estadual da Serra da Tiririca, Niterói, RJ. Abril de 2015 à abril de 2017.

			<i>R. parkeri</i>		<i>R. rickettsii</i>	
			Positivo	valor-p	Positivo	valor-p
Gênero	Macho	73	37 (50,7%)	0,507	19 (26,0%)	0,713
	Fêmea	73	32 (43,8%)		22 (30,1%)	
Carrapato	Presença	62	28 (45,2%)	0,738	13 (21,0%)	0,136
	Ausência	84	41 (48,8%)		28(33,3%)	
Controle de carrapato	Sim	65	27 (42,5%)	0,245	15 (23,1%)	0,268
	Não	81	42 (51,9%)		26(32,1%)	
Acesso à mata	Sim	105	54 (51,4%)	0,140	29 (26,7%)	0,840
	Não	41	15 (36,6%)		12 (29,3%)	
Predação	Sim	50	18 (40,9%)	0,368	11 (25,0%)	0,690
	Não	96	51 (50,0%)		30 (29,4%)	

O teste exato de Fisher indica inexistência de diferença estatisticamente significativa entre os gêneros, tanto para a RIFI de *R. parkeri* quanto para *R. rickettsii*, corroborando os achados de Cunha (2009), que sugere não haver predileção sexual para as rickettsioses.

O resultado dos animais que, após inspeção, foi evidenciado presença de carrapatos foi de 42,4% demonstrando alta exposição ao vetor. Dentre os cães infestados, 45,2% foram reativos na RIFI para *R. parkeri* e 21,0% para *R. rickettsii*. Apesar da alta frequência, o teste exato de Fisher indica inexistência de diferença estatisticamente significativa entre a presença e a ausência de carrapatos tanto para *R. parkeri* quanto para a *R. rickettsii*.

Em relação ao controle de carrapatos nos cães avaliados, a maioria dos tutores (55,4%) afirmou não fazer a prevenção de ectoparasitas nos animais, contribuindo assim para a transmissão de RGFM entre os cães e os moradores. Deve-se ponderar que a maioria dos moradores do PESET não possui assistência e orientação Médico-Veterinária por motivos socio-econômicos. O teste exato de Fisher também indica inexistência de diferença estatisticamente significativa quanto ao controle ou não de carrapatos tanto para a RIFI de *R. parkeri* quanto para *R. rickettsii*. Além disso, deve-se considerar que a presença de carrapatos no momento da coleta pode não retratar a realidade, uma vez que a não visualização não indica inexistência e, ainda, a soroconversão não necessariamente significa uma infecção recente, portanto os carrapatos encontrados no momento da coleta não são os que induziram a produção de anticorpos contra RGFM (Piranda et al., 2008). Apesar do teste estatístico não indicar significância, os resultados foram altos e podem inferir que haja uma condição propícia para a transmissão de RGFM.

Dentre os cães avaliados, a maioria possui acesso a mata, 71,9%. Apesar do resultado demonstrar a possibilidade de exposição dos cães aos vetores e possíveis reservatórios silvestres, o teste exato de Fisher indica inexistência de diferença estatisticamente significativa relacionando a variável acesso a mata e sororreatividade para *R. parkeri* e *R. rickettsii*. Divergindo, portanto, dos resultados encontrados por Saito et al (2008), Cunha et al. (2014) e Emmerick et al. (2016) em que, observaram que cães que tinham contato com área florestal tinham mais chances de serem sororreativos para RGFM. Considerando que os cães do presente estudo já se encontram em área de mata, pode-se sugerir uma relação hospedeiro-vetor com tendência harmônica.

Segundo os tutores, a predação de animais silvestres foi observada em 30,1% dos cães. Apesar do resultado demonstrar a possibilidade de exposição dos cães aos vetores e possíveis reservatórios silvestres, o teste exato de Fisher indica inexistência de diferença estatisticamente significativa relacionando a variável predação e sororreatividade para *R. parkeri* e *R. rickettsii*. Porém, esta frequência de predação de animais silvestres, exemplifica um impacto real que os animais domésticos podem trazer para a fauna nativa e possibilidade de transmissão de patógenos e vetores entre animais domésticos e silvestres.

Nossos resultados e as condições avaliadas indicam que a área estudada apresenta risco para a transmissão de RGFM para seres humanos. Uma vez que a maioria dos cães possui acesso irrestrito à mata e pouco controle de ectoparasitos, se tornam assim, possíveis de transmitir os mesmos nas habitações humanas.

4 CONCLUSÕES

Os resultados sorológicos obtidos indicam circulação de *Rickettsia rickettsii* e *Rickettsia parkeri* em todas as comunidades do PESET, sugerindo que ambos patógenos tenham possibilidade de infectar os carrapatos e conseqüentemente os cães domésticos residentes dessa Unidade de Conservação, deixando o ser humano vulnerável á essa zoonose. Considerando o contexto de saúde única, é de suma importância o monitoramento Médico-veterinário em Unidades de Conservação, assim como medidas de controle populacional de animais domésticos e Educação em Saúde dos tutores.

AGRADECIMENTOS

Nós gostaríamos de agradecer às Instituições: Fiocruz, Pesagro e UFRRJ pela cooperação com o estudo.

REFERÊNCIAS

- ANGERAMI, R. N.; RESENDE, M. R.; FELTRIN, A. F.; KATZ, G.; NASCIMENTO, E. M.; STUCCHI, R. S.; SILVA, L. J. Brazilian spotted fever: a case series from an endemic area in southeastern Brazil. Epidemiological aspects. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 1078, p. 170-172, 2006.
- BATISTA, F. G.; SILVA, D. M.; GREEN, K. T.; TEZZA, L. B. L.; VASCONCELOS, S. P.; CARVALHO, S. G. S.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B.; FORTES, F. S.; MOLENTO, M. B. Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in a non-endemic area in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, n.4, p. 205-209, 2010.
- BRASIL. Ministério da saúde. 2008. [Capturado em jan. 2015] Disponível em:<<http://www.saude.gov.br>>
- Brasil. Ministerio da Saude. Secretaria de Vigilancia em Saude. 2015. Sistema de Informacao de Agravos de Notificacao, SINANWEB. Disponível em <www.saude.gov.br/sinan>. Acesso em 21 abril 2017.
- Brouqui P., Bacelar F., Baranton G., Birtles R.J., Bjoersdorff A., Blanco J.R., Caruso G., Cinco M., Fournier P.E., Francavilla E., Jensenius M., Kazar J., Laferl H., Lakos A., Lotric Furlan S., Maurin M., Oteo J.A., Parola P., Perez- Eid C., Peter O., Postic D., Raoult D., Tellez A., Tselentis Y. & Wilske B. 2004. Guidelines for the diagnosis of tick-borne bacterial diseases in Europe. *Clin. Microbiol. Infect.* 10(12):1108-1132.
- Campos SDE, Cunha NC, Machado CSC, Nadal NV, Seabra Junior ES, Telleria EL, et al. Spotted fever group rickettsial infection in dogs and their ticks from domestic–wildlife interface areas in southeastern Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2020a; 29(1): e020219. <http://doi.org/10.1590/S1984-29612020012>
- Campos SDE, Cunha NC, Machado CSC, Telleria EL, Cordeiro MD, Fonseca AH, et al. Rickettsial pathogens circulating in urban districts of Rio de Janeiro, without report of human Brazilian Spotted Fever. *Braz J Vet Parasitol* 2020b; 29(4): e014220. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020082>. No prelo.
- Cardoso L.D., Freitas R.N., Mafra C.L., Neves C.V.B., Figueira F.C.B., Labruna M.B., Gennari S.M., Walker D.H. & Galvao M.A.M. 2006. Caracterizacao de *Rickettsia* spp. circulante em foco silencioso de febre maculosa brasileira no municipio de Caratinga, Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saude Publica*. 22(3):495-501.
- CORDEIRO, M. D. D.; RAIÁ, V.A; PINTER, A.; CUNHA, N.C.; SOUZA, C.E.; FONSECA, A.H. Seroprevalence of rickettsia spp. and a study of the tick fauna in dogs from the municipality of Seropédica, State of Rio de Janeiro. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 36, n. 6, p. 3787-3794, nov./dez. 2015.
- CUNHA, N. C.; FONSECA, A. H.; REZENDE, J.; ROZENTAL, T.; FAVACHO, A. R. M.; BARREIRA, J. D.; MASSARD, C. L.; LEMOS, E. R. S. First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 29, n. 2, p. 105-108, 2009.

Cunha, N. C. Lemos, E. R. S. Rozental T. et al., "Rickettsiae of the Spotted Fever group in dogs, horses and ticks: an epidemiological study in an endemic region of the State of Rio de Janeiro, Brazil," *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, vol. 36, no. 3, pp. 294–300, 2014.

EMMERICK, S.D.C; CUNHA, N.C.; MACHADO, C.S.C.; SOUZA, T.V.T.; FONSECA, B.M., PINTER A.; FONSECA A.H. & Almosny N.R.P. Circulação de Rickettsias do Grupo da Febre Maculosa em cães no entorno de Unidades de Conservação Federais do estado do Rio de Janeiro: evidência sorológica e fatores associados. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2016.

GAZETA, G.S.; SOUZA, E.R.; ABOUD-DUTRA, A.E.; AMORIM, M.; BARBOSA, P.R.; ALMEIDA, A.B.; GOMES, V.; GEHRKE, M.T.; MARRELLI, M.T.; SCHUMAKER, T.T.S. Potential vectors and hosts of Rickettsia spp.: epidemiological studies in the Vale do Paraíba, state of Rio de Janeiro/ Brasil. *Clinical Microbiology and Infection*, v.15, Suppl. 2, p.269-70, 2009.

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

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

Kaskas N.M., Ledet J.J., Wong A., Muzny C.A., Elope L. & Hughey L. 2014. Rickettsia parkeri: Eschar diagnosis. *J Am Acad Dermatol*. 71(3):e87-e89.

LEMONS, E.R.S.; MACHADO, R.D.; COURA, J.R.; GUIMARÃES, M.A.A.M.; CHAGASI, N. Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: Serological survey of dogs and horses in an endemic area in the state of São Paulo, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, v.38, n.6, p.427-430, 1996.

Lemos E.R.S., Alvarenga F.B., Cintra M.L., Ramos M.C., Paddock C.D., Ferebee T.L., Zaki S.R., Ferreira F.C., Ravagnani R.C., Machado R.D., Guimaraes M.A. & Coura J.R. 2001. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in a endemic area in the state of Sao Paulo. *Am J Trop Med Hyg*. 65(4):329-334.

MIOT, H. A. Tamanho da amostra em estudos clínicos e experimentais. *Jornal Vascular Brasileiro*, vol. 10, no.4, p.275-278, 2011.

MORAES-FILHO, J.; PINTER, A.; PACHECO, R.C.; GUTMANN, T.B.; BARBOSA, S.O.; GONZÁLES, M.A.R.M.; MURARO, M.A.; CECÍLIO, S.R.M.; LABRUNA, M.B. New epidemiological data on Brazilian Spotted Fever in na endemic area of the state of São Paulo, Brazil. *Vector-borne and Zoonotic Diseases*, v.8, n.1, p.1-8, 2009.

NIERI-BASTOS, F. A.; MORAES-FILHO, J.; CASTELLI, G. S. N.; SOUZA, Z. E. S.; SILVA, R. E.; MARCILI, A. Estudo de eficácia in vitro de doxiciclina frente à cultura de Rickettsia rickettsii.

Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 5, n. 12, p.32580-32596 dec 2019.

OIE - Organização Internacional de Saúde Animal. Editorial: one world, one health. ISSN168-3770. 2008.

Paddock C.D., Finley R.W., Wright C.S., Robinson H.N., Schrodt B.J., Lane C.C., Ekenna O., Blass M.A.; Tamminga C.L., Ohl C.A., Mclellan S.L., Goddard, J.; Holman R.C., Openshaw J.J. Sumner J.W., Zaki, S.R., Ereemeeva M.E. 2008. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain spotted fever. Clin. Infect. Dis. 47:1188–1196.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tickborne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. Clinical Microbiology Reviews, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.

Parola P., Paddock C.D., Socolovschi C.; Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J.; Bitam I., Fournier P.E. & Raoult D. 2013. Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a Geographic Approach Clin. Microbiol. Rev. 26(4):657–702.

PINTER, A.; LABRUNA, M.B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. Annals of New York Academy of Sciences, v.1078, p.523-29, 2006.

Pinter, A.; Horta, M. C.; Pacheco, R. C.; Moraes-Filho, J.; Labruna, M. B. “Serosurvey of *Rickettsia* spp. in dogs and humans from an endemic area for Brazilian spotted fever in the State of São Paulo, Brazil,” *Cadernos de Saúde Pública*, vol. 24, no. 2, pp. 247–252, 2008.

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

Portillo A., Garcia-Garcia C., Mercedes Sanz M., Santibanez S., Venzal J.M. & Oteo J.A. 2013. Case Report: A Confirmed Case of *Rickettsia parkeri* Infection in a Traveler from Uruguay. *Am J Trop Med Hyg.* 89:1203-1205

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

Silveira I, Pacheco RC, Szabó MPJ, Ramos HGC, Labruna MB. *Rickettsia parkeri* in Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:1111-3.

Whitman T.J., Richards A.L., Paddock C.D., Tamminga C.L., Snieszek P.J., Jiang J., Byers D.K. & Sanders J.W. 2007. *Rickettsia parkeri* infection after tick bite, Virginia. *Emerg. Infect. Dis.* 13(2):334-336.