

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO DA NATUREZA**

**Liliane Silva Durães**

**Biodiversidade de potenciais vetores de riquetsias e mosaico epidemiológico da Febre  
Maculosa no estado do Paraná, Brasil**

Juiz de Fora  
2020

Liliane Silva Durães

**Biodiversidade de potenciais vetores de riquetsias e mosaico epidemiológico da Febre  
Maculosa no estado do Paraná, Brasil**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biodiversidade e Conservação da Natureza. Área de concentração: Comportamento, Ecologia e Sistemática.

Orientador: Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta

Co-orientadora: Dra. Karla Bitencourth Garcia

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Durães, Liliane Silva.

Biodiversidade de potenciais vetores de riquetsias e mosaico epidemiológico da Febre Maculosa no estado do Paraná, Brasil / Liliane Silva Durães. -- 2020.

99 p. : il.

Orientador: Gilberto Salles Gazêta  
Coorientadora: Karla Bitencourth Garcia

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2020.

1. Ecoepidemiologia. 2. Saúde Pública. 3. Riquetsioses. 4. Doença transmitida por carrapatos. 5. Zoonoses. I. Gazêta, Gilberto Salles , orient. II. Garcia, Karla Bitencourth, coorient. III. Título.

Liliane Silva Durães

Biodiversidade de vetores potenciais de riquetsias e mosaico epidemiológico da Febre  
Maculosa no estado do Paraná, Brasil


Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Biodiversidade e Conservação da Natureza, da  
Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito  
parcial para obtenção do grau de Doutor em  
Biodiversidade e Conservação da Natureza.

Aprovado em: 29/07/2020

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta - Orientador  
Universidade Federal de Juiz de Fora  
Fundação Oswaldo Cruz



Dra. Karla Bitencourth Garcia – Co-orientadora  
Fundação Oswaldo Cruz



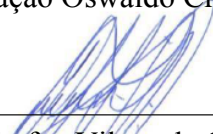
Prof. Dr. Mário Círio Nogueira  
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Ralph Maturano  
Universidade Federal de Juiz de Fora



Profa. Dra. Marinete Amorim  
Fundação Oswaldo Cruz



Prof. Dr. Stefan Vilges de Oliveira  
Universidade Federal de Uberlândia

Aos meus amigos Frederico Rodrigues Ramalho e Karla Bitencourth Garcia

## RESUMO

A Febre Maculosa (FM) é uma doença causada por bactérias do gênero *Rickettsia*, transmitidas principalmente por carrapatos. Seus cenários ecoepidemiológicos variam no espaço e podem variar no tempo em função das transformações do ambiente. É a principal doença transmitida por carrapatos para humanos no Brasil e o estado do Paraná (PR) é o sexto maior notificador do país, sem haver, contudo, informações sobre seu ciclo nos locais prováveis de infecção dos diferentes cenários do PR. Durante investigações de casos ou vigilância de ambiente para FM, foram coletados 28.517 artrópodes no PR, dentre eles espécies sabidamente ou potencialmente envolvidas no ciclo da FM, como *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma parkeri*, *Ctenocephalides felis* e *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. Foram detectadas *Rickettsia asemboensis*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica e *Candidatus Rickettsia paranaensis*. Foi confirmado que a abundância de ectoparasitos está associada aos hospedeiros específicos e ambiente de coleta. A circulação de riquetsias foi observada para 48 municípios, pertencentes a 16 Regiões de Saúde (RS). Quanto aos indicadores sociodemográficos e assistenciais, a circulação ocorreu em grande parte nas RS mais urbanizadas, com maior Produto Interno Bruto *per capita*, menor cobertura da Estratégia de Saúde da Família e com maior razão de leitos no Sistema Único de Saúde por mil habitantes. Já nas variáveis ambientais, a circulação se deu predominantemente nas RS de áreas de tipo climático subtropical com verão quente (Cfa) e com formação fitogeográfica do tipo floresta. Quanto aos usos do solo, a circulação foi em áreas com agricultura, pastagem e campo e cobertura florestal. As riquetsias circularam por quase todas as bacias hidrográficas do PR. Os resultados obtidos neste estudo nos permitiram um primeiro reconhecimento descritivo da FM no PR, bem como sua dinâmica ecoepidemiológica, que se mostrou bastante heterogênea, tendo os cenários analisados aspectos bem relacionados aos focos, com os casos variando clinicamente no espaço, ilustrando a complexidade de cenários no PR. Devido à diversidade de cenários no PR, intervenções em saúde pública são necessárias para uma melhor compreensão da dinâmica e dos fatores de vulnerabilidade da FM no estado.

Palavras-chave: Ecoepidemiologia. Pulga. Saúde Pública. Riquetsioses. Carrapatos. Doença transmitida por carrapatos. Zoonoses.

## ABSTRACT

Spotted Fever (SF) is a disease caused by bacteria of the genus *Rickettsia*, and is transmitted mainly by ticks. Its eco-epidemiological scenarios vary spatially, and may also vary over time due to environmental changes. It is the main disease transmitted by ticks to humans in Brazil, with the state of Paraná (PR) being having the sixth highest number of notified incidences in the country. However, information is lacking regarding the SF disease cycle at likely infection sites within PR. During case investigations or environmental surveillance in PR for SF, 28,517 arthropods were collected, including species known or potentially involved in the SF cycle, such as *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma parkeri*, *Ctenocephalides felis* and *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*. From these *Rickettsia asemboensis*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia parkeri* strain Atlantic Rainforest and *Candidatus Rickettsia paranaensis* were detected. Ectoparasite abundance was found to be related with specific hosts and collection environments. Rickettsiae circulation was observed for 48 municipalities, encompassing 16 Health Regions (HR). As for socio-demographic and assistance indicators, circulation occurred largely in the most urbanized HR, with a higher per capita Gross Domestic Product, lower Family Health Strategy coverage, and with a higher ratio of beds in the Unified Health System per thousand inhabitants. For environmental variables, circulation occurred predominantly in HR with a climatic classified as “subtropical with hot summers” (Cfa), and with forest type phytogeographic formations. In terms of land use, circulation was commonest in areas with agriculture, pasture and fields and forest cover. Rickettsiae were circulating in almost all hydrographic basins of PR state. The results of this study provide the first descriptive recognition of SF in PR, as well as outlining its eco-epidemiological dynamics. These proved to be quite heterogeneous, and analyzed scenarios showed characteristics strongly-associated with the outbreaks, with cases presenting clinical variation in space, so illustrating the complexity of scenarios in PR state. Due to the diversity of the circumstances surrounding SF infections in PR, public health initiatives are necessary to foster a better understanding of the dynamics and factors effecting vulnerability to SF in this Brazilian state.

Keywords: Ecoepidemiology. Flea. Public Health. Rickettsiosis. Tick. Tick-borne disease. Zoonosis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	–	Mapa do Brasil (A), destacando o estado do Paraná na região Sul do Brasil (B) e divisão do estado do Paraná segundo as Regiões de Saúde (C) .....	26
Figura 2	–	Casos notificados (A), confirmados (B) e óbitos (C) por Febre Maculosa, entre 2006 e 2017, nos municípios do estado do Paraná/Brasil .....	34
Figura 3	–	Número de notificações de casos de Febre Maculosa entre os anos de 2006 e 2017, no estado do Paraná/Brasil .....	35
Figura 4	–	Distribuição temporal das notificações de casos de Febre Maculosa entre 2006 e 2017, no estado do Paraná/Brasil .....	36
Figura 5	–	Distribuição temporal dos casos confirmados de Febre Maculosa entre 2006 e 2017, segundo o mês dos primeiros sintomas, no estado do Paraná/Brasil .....	37
Figura 6	–	Principais sinais e sintomas de Febre Maculosa relatados ao Sistema Informação de Agravos de Notificação, entre 2006 e 2017, no estado do Paraná/Brasil .....	38
Figura 7	–	Distribuição dos casos de Febre Maculosa no estado do Paraná/Brasil, de 2006 a 2017, segundo indicadores sociodemográficos e assistenciais ([A] Urbanização, [B] Produto interno bruto, [C] Cobertura da Estratégia da Saúde da Família, [D] Leitos hospitalares) .....	41
Figura 8	–	Distribuição dos casos de Febre Maculosa no estado do Paraná/Brasil, de 2006 a 2017, de acordo com indicadores ambientais ([A] Tempos climáticos, [B] Uso do solo, [C] Formação fitogeográfica e [D] Hidrografia) .....	42
Figura 9	–	Filogenia concatenada, inferida por análise de Máxima Verossimilhança com o modelo evolutivo GTR+G, de fragmentos dos genes <i>gltA</i> , <i>htrA</i> , <i>ompA</i> e <i>ompB</i> de riquétsia (1201+ 370+ 494+ 822 pb) detectados em carrapatos analisados do Paraná/Brasil. Os números nos ramos representam valores de apoio estatístico (valor de corte 70%) .....	45
Figura 10	–	Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018 no estado do Paraná/Brasil, segundo a razão de urbanização ([A] <i>Amblyomma aureolatum</i> , [B] <i>Amblyomma dubitatum</i> , [C] <i>Amblyomma</i>	



	<i>longirostre</i> , [D] <i>Amblyomma ovale</i> , [E] <i>Amblyomma parkeri</i> , [F] <i>Amblyomma sculptum</i> , [G] <i>Amblyomma sp.</i> , [H] <i>Dermacentor nitens</i> , [I] <i>Rhipicephalus microplus</i> , [J] <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e [K] <i>Ctenocephalides felis</i> ) .....	71
Figura 11 –	Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018, no estado do Paraná/Brasil, de acordo com indicadores de Tipos climáticos ([A] <i>Amblyomma aureolatum</i> , [B] <i>Amblyomma dubitatum</i> , [C] <i>Amblyomma longirostre</i> , [D] <i>Amblyomma ovale</i> , [E] <i>Amblyomma parkeri</i> , [F] <i>Amblyomma sculptum</i> , [G] <i>Amblyomma sp.</i> , [H] <i>Dermacentor nitens</i> , [I] <i>Rhipicephalus microplus</i> , [J] <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e [K] <i>Ctenocephalides felis</i> ) .....	72
Figura 12 –	Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018, no estado do Paraná/Brasil, de acordo com os Tipos de solo ([A] <i>Amblyomma aureolatum</i> , [B] <i>Amblyomma dubitatum</i> , [C] <i>Amblyomma longirostre</i> , [D] <i>Amblyomma ovale</i> , [E] <i>Amblyomma parkeri</i> , [F] <i>Amblyomma sculptum</i> , [G] <i>Amblyomma sp.</i> , [H] <i>Dermacentor nitens</i> , [I] <i>Rhipicephalus microplus</i> , [J] <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e [K] <i>Ctenocephalides felis</i> ) .....	73
Figura 13 –	Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018, no estado do Paraná/Brasil, de acordo com a Hidrografia ([A] <i>Amblyomma aureolatum</i> , [B] <i>Amblyomma dubitatum</i> , [C] <i>Amblyomma longirostre</i> , [D] <i>Amblyomma ovale</i> , [E] <i>Amblyomma parkeri</i> , [F] <i>Amblyomma sculptum</i> , [G] <i>Amblyomma sp.</i> , [H] <i>Dermacentor nitens</i> , [I] <i>Rhipicephalus microplus</i> , [J] <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e [K] <i>Ctenocephalides felis</i> ) .....	74
Figura 14 –	Distribuição de <i>Rickettsia</i> spp. da Febre Maculosa no estado do Paraná/Brasil, de 2013 a 2018, segundo as Regiões de Saúde ([A] <i>Amblyomma dubitatum/Rickettsia bellii</i> , [B] <i>Amblyomma ovale/Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica, [C] <i>Amblyomma parkeri/Candidatus Rickettsia paranaensis</i> , [D] <i>Amblyomma sculptum/Rickettsia aseboensis</i> e <i>Rickettsia felis</i> , [E] <i>Rhipicephalus microplus/Rickettsia felis</i> e [F] <i>Rhipicephalus microplus/Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica) .....	75

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Iniciadores e referências dos protocolos de amplificação utilizados nas Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) para a pesquisa de riquetsias nas amostras de ectoparasitos coletados no estado do Paraná/Brasil, no período de 2013 a 2018 .....	32
Tabela 2 – Dados sociodemográficos e assistenciais de casos de Febre Maculosa por Regiões de Saúde no estado do Paraná/Brasil, entre 2006 e 2017 .....	39
Tabela 3 – Artrópodes coletados no estado de Paraná/Brasil no período de 2013 a 2018 .....	43
Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias .....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BLASTN	<i>Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide</i>
CAVAISC	Coleção de Artrópodes Vetores Ápteros de Importância em Saúde das Comunidades
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> - Centros para Controle e Prevenção de Doenças
Cfa	Tipo climático subtropical com verão quente
Cfb	Tipo climático temperado com verão ameno
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucléico)
DNAg	<i>Genomic Desoxyribonucleic Acid</i> (Ácido Desoxirribonucléico Genômico)
DNases	Desoxirribonuclease
DATASUS	Departamento de Informática do SUS
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> (Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças)
ESF	Estratégia de Saúde da Família
e.g.	<i>exempli gratia</i> - por exemplo
<i>et al.</i>	E colaboradores
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FM	Febre Maculosa
FMB	Febre Maculosa Brasileira
GA	Grupo Ancestral
GT	Grupo Tifo
GTr	Grupo Transicional
GFM	Grupo da Febre Maculosa
hab/km <sup>2</sup>	Habitantes por quilômetro quadrado
hA	Haplótipo A
hB	Haplótipo B
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
km <sup>2</sup>	Quilômetro quadrado
LPI	Local Provável de Infecção
LIRN	Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses
MG	Minas Gerais

MS	Ministério da Saúde
NaCl	Cloreto de Sódio
n°	Número
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
pb	pares de base
PIB	Produto Interno Bruto
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PR	Paraná
P.A.	Para Análise
RGFM	Riquetsias Grupo da Febre Maculosa
RS	Regiões de Saúde
RJ	Rio de Janeiro
R\$	Símbolo monetário brasileiro- Real
RNase	Ribonuclease
SINAN	Sistema Nacional de Agravos de Notificação
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
SUS	Sistema Único de Saúde
SES	Secretaria Estadual de Saúde
SMS	Secretaria Municipal de Saúde
SP	São Paulo
SC	Santa Catarina
<i>s. l.</i>	<i>Sensu lato</i>
sp.	Espécie
spp.	Espécies
UF	Unidade Federativa

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
%	Por cento
>	Maior
±	Mais ou menos

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
1.1	AS RIQUÉTSIAS .....	18
1.2	POTENCIAIS VETORES DOS BIOAGENTES DA FEBRE MACULOSA ..	19
1.3	OS HOSPEDEIROS DAS RIQUÉTSIAS E DOS CARRAPATOS DA FEBRE MACULOSA .....	21
1.4	VIGILÂNCIA DA FEBRE MACULOSA .....	22
1.5	JUSTIFICATIVA .....	23
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>24</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	24
<b>2.1.1</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>24</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
3.1	ÁREA DE ESTUDO .....	25
3.2	DADOS EPIDEMIOLÓGICOS .....	27
3.3	DADOS DO POTENCIAIS VETORES DA FEBRE MACULOSA .....	28
<b>3.3.1</b>	<b>Coleta de potenciais vetores .....</b>	<b>28</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Identificação taxonômica dos artrópodes .....</b>	<b>28</b>
<b>3.3.3</b>	<b>Pesquisa do bioagente .....</b>	<b>29</b>
3.3.3.1	<i>Extração de DNA Genômico (DNAg) .....</i>	29
3.3.3.2	<i>Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....</i>	29
3.3.3.3	<i>Eletroforese .....</i>	30
3.3.3.4	<i>Purificação e sequenciamento de nucleotídeos .....</i>	30
<b>3.3.4</b>	<b>Análise de dados das sequências de nucleotídeos .....</b>	<b>33</b>
3.3.4.1	<i>Edição, identificação e alinhamento das sequências .....</i>	33
3.3.4.2	<i>Análises filogenéticas .....</i>	33
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>76</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>82</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>84</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Um ecossistema é constituído por componentes bióticos e abióticos com relações complementares entre suas partes, circulação de energia e de matéria (DOVER; TALBOT, 1992). Uma das principais consequências das perturbações dos ecossistemas naturais é sua fragmentação (VIANA; PINHEIRO, 1998), um importante processo de contribuição para a perda de biodiversidade (DIDHAM *et al.*, 1996). No processo de fragmentação, uma área originalmente imersa na matriz não perturbada é exposta aos efeitos da matriz simplificada, de origem antrópica. O efeito desta matriz antrópica sobre as áreas limítrofes dos fragmentos está ligado a mudanças nos fatores ambientais, físicos e biológicos, modificando a estrutura da vegetação natural (MURCIA, 1995) e, conseqüentemente, os processos demográficos das populações ali presentes (LOUZADA *et al.*, 2001).

Em ambientes naturais, a alta biodiversidade proporciona um equilíbrio ecológico na interação parasito-hospedeiro (SCHMIDT; OSTFELD, 2001). A ausência deste equilíbrio é percebida na forma de doenças infecciosas e/ou parasitárias, tanto do homem como de outros animais, em áreas que sofreram ação antrópica (QUEIROGAS, 2010). É o que acontece, por exemplo, nas riquetsioses.

Riquetsioses são doenças infecciosas emergentes e reemergentes, potencialmente fatais, causadas por espécies do gênero *Rickettsia*, bactérias Gram-negativas, intracelulares e transmitidas através da picada de ectoparasitos hematófagos e ápteros. Estão presentes em todos os continentes, com exceção da Antártida. Epidemiologicamente, a maioria quase absoluta das infecções humanas causadas por *Rickettsia* sp. são zoonoses mantidas na natureza por complexos ciclos enzoóticos, envolvendo principalmente ectoparasitos e mamíferos. Humanos são hospedeiros acidentais dentro da dinâmica de transmissão das riquetsias, não veiculando o patógeno, e o ciclo epidêmico se desenvolve de forma focal, sustentando um caráter endêmico (GRAVES *et al.*, 2003; BERNABEU-WITTEL *et al.*, 2005; CDC, 2006; UNSWORTH *et al.*, 2007; ECDC, 2013; AUNG *et al.*, 2014; FACCINI-MARTÍNEZ *et al.*, 2014; OPAS, 2015; SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS, 2020).

Na natureza, a manutenção do ciclo de riquetsias patogênicas é garantida, principalmente, pela capacidade que os carrapatos possuem de atuar como vetores, reservatórios e/ou amplificadores. O artrópode pode permanecer infectado durante toda sua vida e, através da transmissão transovariana e/ou transestadial, mantém a circulação da bactéria na sua população (PAROLA *et al.*, 2005). Durante seu repasto sanguíneo, ainda é possível que

ele transmite as riquetsias para uma grande diversidade de mamíferos (GOODMAN *et al.*, 2005), incluindo o homem.

Certas espécies de riquetsias do Grupo Febre Maculosa (RGFM) são agentes etiológicos da Febre Maculosa (FM), uma riquetsiose do grupo de enfermidades que se caracterizam como doenças febris agudas, amplamente distribuída e notificada em todas as regiões brasileiras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Assim, observa-se grande variedade clínica com desfechos diversos, desde casos graves evoluindo a óbitos em algumas áreas a casos brandos em outras, podendo levar ao confundimento clínico, sendo necessário o diagnóstico diferencial entre outras doenças febris hemorrágicas endêmicas, principalmente se considerarmos que a suspeita tardia pode impossibilitar o tratamento adequado, dificultando a reversão do prognóstico de óbito (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Igualmente, há dificuldade de diagnóstico, principalmente em áreas não endêmicas, mas onde outras doenças exantemáticas são endêmicas, como dengue ou leptospirose (MOLITERNO, 2009; ROZENTAL *et al.*, 2014, MONTEIRO *et al.*, 2014).

A FM é um problema de saúde pública no Brasil, com aumento de casos diagnosticados e expansão das áreas de ocorrência. Reemergiu nas últimas décadas com baixa/média morbidade e alta letalidade, podendo ultrapassar 80% nos casos mais graves – isso devido ao seu potencial zoonótico, que foi por muito tempo subestimado (LEMOS, 1991; PADDOCK *et al.*, 2002; ROZENTAL, 2003; BARCI *et al.*, 2005; GUEDES *et al.*, 2005; SOUZA *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2016a). O primeiro relato de FM no país se deu em 1929, no estado de São Paulo (DIAS; MARTINS, 1939), e, posteriormente, em Minas Gerais (MG) e Rio de Janeiro (RJ) (GALVÃO *et al.*, 2005). Atualmente, há casos notificados da doença em 20 das 27 unidades federativas (UF) do país, sendo 12 UF com casos confirmados. No período de 2000 a 2019, a maior parte das ocorrências foi nas regiões Sudeste (1.555/2.127) e Sul (520/2.127), compreendendo diferentes cenários ecoepidemiológicos (BARROS-SILVA *et al.*, 2014). Os óbitos concentram-se nas regiões Sudeste (675/683) e Sul (6/683); nessa última, todos os óbitos são registrados no estado do Paraná (PR) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019a, b).

Os casos de FM ocorridos no Brasil são registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), que visa coletar, reunir e disseminar dados sobre esta e demais doenças entre a rede de vigilância em saúde e demais interessados. Porém, somente no ano de 2001 a FM passou a ser considerada pelo Ministério da Saúde (MS) como doença de notificação compulsória (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). E, em 2014, o MS a incluiu na lista de doença de notificação compulsória e imediata, com obrigatoriedade de os casos suspeitos e/ou confirmados serem relatados, no prazo de até 24 horas, às três esferas do Sistema



Único de Saúde (SUS), que são: MS, Secretaria Estadual de Saúde (SES) e Secretaria Municipal de Saúde (SMS) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

No Brasil, entre as doenças produzidas por bioagentes transmitidos por carrapatos, as mais prevalentes e de interesse na saúde pública são: a Febre Maculosa Brasileira (FMB), causada pela *Rickettsia rickettsii*, bactéria que gera os casos graves que ocorrem na região Sudeste e na porção setentrional do PR, onde de maneira geral ocorre de forma esporádica, sendo o *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) o principal vetor associado ao ciclo epidêmico; e a FM ocasionada pela *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica, considerada emergente e associada com o *Amblyomma ovale* Koch, 1844 (e.g. LEMOS *et al.*, 1997a; GUEDES *et al.*, 2005; SANGIONI *et al.*, 2005; PEREZ *et al.*, 2008; NAVA *et al.*, 2014).

Entretanto, a análise da diversidade de vetores e hospedeiros de *Rickettsia* sp. nas diversas regiões do país tem permitido assinalar a importância de outras espécies no ciclo epidêmico e enzoótico da FM. Assim, *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772), *A. ovale*, *Amblyomma dubitatum* (Neumann, 1899), *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Latreille, 1806), *Ctenocephalides canis* (Curtis, 1826) e *Ctenocephalides felis* (Bouché, 1835) também são considerados transmissores ou potencialmente veiculadores dos bioagente da FM (e.g. MOREIRA *et al.*, 1937; LEMOS, 1991; PEREIRA *et al.*, 1998; ROZENTAL, 2003; LABRUNA, 2006; PINTER *et al.*, 2006; PEREZ-OSÓRIO *et al.*, 2008; HORTA *et al.*, 2010; SZABÓ *et al.*, 2013a; MOURA-MARTINIANO *et al.*, 2014), indicando a complexidade de seu ciclo enzoótico e epidêmico, bem como a diversidade de potenciais vetores envolvidos em função da variedade de cenários ecoepidemiológicos.

Segundo o MS do Brasil (2020), atualmente são reconhecidos três cenários epidemiológicos da FM no país:

1- Região Sudeste: *A. sculptum* como vetor competente de *R. rickettsii*. Cavalos e capivaras (hospedeiro amplificador natural de *R. rickettsii*) conservam as populações de carrapatos no ambiente. O risco de infecção em humanos se dá no contato com carrapatos durante atividades de lazer, de fazenda, na proximidade com capivaras, principalmente em áreas rurais. O início das manifestações clínicas se dá de forma abrupta e a sintomatologia inicial é inespecífica, com quadro febril súbito, cefaleia, mialgia intensa, mal-estar generalizado, náuseas, vômitos, com posterior erupção cutânea, manifestações icterohemorrágicas, evolução rápida e grave e alta letalidade. A maioria dos casos se dão entre junho a novembro, coincidindo com o período dos estágios imaturos de *A. sculptum*. Grande parte dos casos (>70%) tem sido notificada em homens adultos em atividades ocupacionais em áreas habitadas por capivaras;

2- Região metropolitana de SP: áreas urbanas que fazem divisa com fragmentos de Mata Atlântica, onde cães e gatos, parasitados por estádios adultos de *A. aureolatum* associado com *R. rickettsii*, têm livre acesso e podem carrear estes vetores ao domicílio e peridomicílio, com o subsequente risco de parasitismo para os humanos. Este contato estreito entre humanos e hospedeiros, principalmente cães, é um dos principais fatores de exposição ao risco. Uma vez que o bioagente é o mesmo do perfil anterior, a sintomatologia não apresenta diferenças. Quanto à sazonalidade, não existe um padrão específico. Os casos são confirmados em ambos os gêneros, contudo, percebe-se grande incidência em crianças (inclusive bebês), fato este que parecer estar relacionado à transmissão intradomiciliar. Suspeita-se que o *R. sanguineus s.l.* atue também como vetor nessas áreas, pois é frequentemente encontrado infectado por *R. rickettsii* em áreas com presença do vetor primário, *A. aureolatum*.

3- Áreas de Mata Atlântica nas regiões Sul, Sudeste e Nordeste: *A. ovale* associado a *R. parkeri* cepa Mata Atlântica. Neste perfil, o risco se dá quando o indivíduo adquire o bioagente ao entrar em áreas de mata, tendo contato com o carrapato infectado, ou quando cães entram na mata e carregam o vetor para o ambiente peridomiciliar e domiciliar. A manifestação clínica tende a ser menos severa quando comparada com a causada pela *R. rickettsii*, com sinais característicos (cicatriz de inoculação e linfadenopatia), febre e erupção cutânea. Com poucos casos confirmados, sem evolução grave e óbito associado, essa riquetsiose parece ser predominante nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina (SC), litoral de SP, RJ, PR e Ceará, não apresentando padrão de sazonalidade específico.

Um quarto provável cenário da FM ocorre onde se dão os casos brandos, cujo local provável de infecção (LPI) é o ambiente rural ou em área de mata/borda de mata, envolvendo *Amblyomma tigrinum* (Koch, 1844) infectado com *Rickettsia parkeri sensu stricto* no bioma Pampa na região Sul (SZABÓ *et al.*, 2013a; OLIVEIRA *et al.*, 2016a; WECK *et al.*, 2016).

O processo de antropização, ocorrido em todo país, vem criando uma nova relação entre humanos, animais e parasitos, com conseqüente criação de novos cenários ecológicos na cadeia de transmissão das FM (CORRÊA; PASSOS, 2001). Nesse sentido, no PR, este processo tem desencadeado profundas modificações no ambiente natural, especialmente pelo uso e ocupação do solo – seja pela ampliação das fronteiras agrícolas, seja pelo inchaço dos centros urbanos com posterior ocupação desordenada, propiciando um contato mais estreito entre homens, animais domesticados, animais silvestres e ectoparasitos com potencial de vetoração de bioagente patogênicos. Além disso, a prática de atividades de ecoturismo e esportes tem também estreitado a relação do homem com ambiente rural e silvestre, e, conseqüentemente, agregando riscos às atividades humanas. Tais interações resultam em casos de zoonoses sob

forma epidêmica por disseminação de animais susceptíveis e no aumento da propagação espacial da doença (BARLETT *et al.*, 1997; SZABÓ *et al.*, 2013a; OGRZEWALSKA, 2013).

Neste contexto, o PR foi o último estado da região Sul do Brasil a relatar a patologia. Somente em 2006 foi registrado o primeiro caso de FM (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, 2019), e até 2019 já havia 47 casos confirmados em todo o estado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019a). Desta forma, o PR pode ser considerado uma área relativamente nova no cenário de transmissão da FM no país, tendo se comportado durante anos como um hiato na “mancha” de distribuição de *Rickettsias* entre os estados das regiões Sudeste e Sul do Brasil.

Em 2011, com a formação da Rede Nacional de Vigilância de Ambientes para Febre Maculosa e outras Riquetsioses (OLIVEIRA *et al.*, 2015), o PR foi capacitado para a vigilância e investigação de casos e sensibilizado em seu sistema de saúde para a percepção do agravo, iniciando o processo de coleta e fluxo de amostras dentro da Rede de Vigilância de ambientes.

Nos últimos anos, pesquisas sobre riquetsiologia vêm sendo realizadas para preencher uma grande lacuna de conhecimento em um país de alta prevalência de artrópodes, potenciais transmissores de riquetsias tanto em área rural quanto em áreas periurbanas e de recente ocupação (ROZENTAL, 2003).

Estudos e investigações recentes realizados em diversas regiões do PR e outros estados da região Sul do Brasil em humanos, hospedeiros sentinelas e/ou amplificadores (cães [*Canis familiaris* Linnaeus, 1758], equinos [*Equus caballus* Linnaeus, 1758] e capivaras [*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766]), aves migratórias e potenciais vetores evidenciaram a circulação de riquetsias patogênicas, bem como o preocupante desconhecimento da população em geral acerca da epidemiologia da FM (e.g. BATISTA *et al.*, 2010; FORTES *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2010; OTOMURA *et al.*, 2010; TAMEKUNI *et al.*, 2010; FORTES *et al.*, 2011; TAMEKUNI *et al.*, 2011; TOLEDO *et al.*, 2011; PACHECO *et al.*, 2012; OTOMURA *et al.*, 2016; WECK *et al.*, 2016; LUZ *et al.*, 2017; WECK *et al.*, 2017; BORSOI *et al.*, 2019; SATO *et al.*, 2020; VALENTE *et al.*, 2020). Entretanto, o conhecimento sobre os aspectos ecoepidemiológicos da doença no estado ainda é incipiente, pois estes estudos avaliaram as áreas dos prováveis LPI em condições atemporais de atividade e, frequentemente, sem análise de sazonalidade, não conseguindo obter informações sobre o ciclo epidêmico e enzoótico, bem como da dinâmica de amplificação dos focos, o que dificulta o entendimento correto e a eficácia das ações em saúde pública. Assim, o reconhecimento das particularidades ecoepidemiológicas dos potenciais vetores e riquetsias, dentro dos diferentes

ambientes, torna-se de extrema importância para a caracterização do risco e tomadas de decisões voltadas à saúde coletiva.

## 1.1 AS RIQUÉTSIAS

As riquetsias são pertencentes à Classe *Alphaproteobacteria*, Ordem *Rickettsiales*, Tribo *Rickettsiatae*, Família *Rickettsiaceae* e gênero *Rickettsia*, e caracterizadas como proteobactérias gram-negativas e intracelulares obrigatórias que infectam células endoteliais de animais incluindo o homem, levando às complicações sistêmicas que podem ser fatais se não houver tratamento adequado e oportuno (HACKSTADT *et al.*, 1992; DUMLER *et al.*, 2005; PAROLA *et al.*, 2005; FANG *et al.*, 2017)

Com o advento da filogenética molecular, as bactérias do gênero *Rickettsia* estão, com base em caracteres moleculares e antigênicos, atualmente classificadas entre: Grupo Ancestral (GA), com a *Rickettsia canadensis* e *Rickettsia bellii*, de patogenicidade desconhecida; Grupo Tifo (GT), composto por *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, transmitida por piolhos e pulgas respectivamente; Grupo Transicional (GTr), constituído por *Rickettsia felis*, *Rickettsia asemboensis*, *Rickettsia akari* e *Rickettsia australis*; e Grupo Febre Maculosa (GFM), formado por aproximadamente 30 espécies, ao menos 17 delas com patogenicidade comprovada e potencial para induzir a FM em humanos, apresentando características clínicas e evolução variáveis, segundo a espécie do patógeno envolvido (STOTHARD *et al.* 1994; ROUX *et al.*, 1997; ROUX *et al.*, 2000; PADDOCK *et al.*, 2004; GILLESPIE *et al.*, 2008; PAROLA *et al.*, 2013; FANG *et al.*, 2017).

O GFM é o de maior relevância epidemiológica nas Américas (PAROLA *et al.*, 2005; PAROLA *et al.*, 2009), sem, contudo, ser considerado prioridade na saúde pública na maioria destes países. A mais importante e agressiva espécie do GFM no Brasil é a *R. rickettsii*, que tem como principal hospedeiro invertebrado os carrapatos *Amblyomma* spp.; no entanto, a pulga, o piolho e outros gêneros de carrapatos, como o *Dermacentor* e *Rhipicephalus*, também podem ser hospedeiros invertebrados deste bioagente (GALVÃO *et al.*, 2006; GEHRKE *et al.*, 2009; GEHRKE, 2010).

Contudo, durante quase todo século XX, *R. rickettsii* foi considerada a única RGFM associada com doença humana nas Américas (PAROLA *et al.*, 2009). No Brasil, casos de FM que têm *R. rickettsii* como agente etiológico são atribuídos à região Sudeste e a parte da região Sul (norte do PR) (SZABÓ *et al.* 2013a; OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Porém, o permanente desenvolvimento e avanço do conhecimento, especialmente na área da biologia molecular, tem

influenciado significativamente as constantes revisões taxonômicas e filogenéticas; com isso, outras espécies de riquetsias (e.g. *Candidatus Rickettsia andeanae*; *Candidatus Rickettsia paranaensis*; *Rickettsia asemboensis*; *Rickettsia amblyommatis*; *R. bellii*; *R. parkeri* cepa Mata Atlântica; *R. felis*; *Rickettsia rhipicephali* e *R. parkeri sensu stricto*), associadas ou não com casos clínicos, foram assinaladas em áreas com casos confirmados de FM no Brasil, em diferentes espécies de vetores (e.g. HORTA *et al.*, 2007; LABRUNA *et al.* 2007; GEHRKE *et al.*, 2009; MORAES-FILHO *et al.*, 2009; SABATINI *et al.*, 2010; LABRUNA *et al.*, 2011a; MEDEIROS *et al.*, 2011; NUNES *et al.*, 2015; MOERBECK *et al.*, 2016; VIZZONI *et al.*, 2016; WECK *et al.*, 2016; DALL'AGNOL *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2018; ZERINGÓTA *et al.*, 2017; BORSOI *et al.*, 2019). Esse cenário revela a complexidade dos ciclos enzoótico e epidêmico da FM no Brasil, bem como a diversidade de potenciais vetores envolvidos em função da multiplicidade de cenários ecoepidemiológicos.

## 1.2 POTENCIAIS VETORES DOS BIOAGENTES DA FEBRE MACULOSA

Desde o início do século XX, carrapatos e pulgas têm sido implicados como vetores, reservatórios e/ou amplificadores de riquetsias reconhecidas como bioagentes de zoonoses (RAOULT *et al.*, 1996). Nas últimas décadas, diversas e significativas mudanças ocorreram nas faixas geográficas e nas relações entre hospedeiro-patógeno transmitidos por vetores e suas doenças; tais processos são fomentados por mudanças climáticas e destruição/fragmentação de habitats selvagens (AZAD *et al.*, 1997).

Depois dos culicídeos, os carrapatos constituem o segundo maior grupo de transmissores de patógenos (vírus, bactérias, protozoários e helmintos) para animais, incluindo humanos; aqueles podem ser veiculados durante o repasto sanguíneo sobre o hospedeiro (e.g.: BALASHOV, 1972; SCHWAN, 1996; JONGEJAN *et al.*, 2004; DE LA FUENTE *et al.*, 2017).

Os carrapatos são ectoparasitos de diversos hospedeiros vertebrados e obrigatoriamente hematófagos. São considerados os principais vetores de agentes infecciosos para animais e os segundos em importância na saúde pública, detendo grande importância para a saúde dos animais e para a saúde humana (JONGEJAN *et al.*, 2004; SCHOLL *et al.*, 2016).

São reconhecidas mais de 900 espécies de carrapatos ao redor do mundo, sendo que aproximadamente 10% destas têm importância na saúde pública e Medicina Veterinária. Atualmente, no Brasil, 70 espécies foram catalogadas e estão distribuídas em duas famílias: Ixodidae (47 espécies) e Argasidae (23 espécies). A grande maioria destas está relacionada, principalmente, a animais silvestres – desde mamíferos, répteis, anfíbios até aves (e.g.

JONGEJAN *et al.*, 2004; MARTINS *et al.*, 2014; MARTINS *et al.*, 2016; NAVA *et al.*, 2014; BARROS-BATTESTI *et al.*, 2015; KRAWCZAK *et al.*, 2015; LABRUNA *et al.*, 2016; WOLF *et al.*, 2016; MUÑOZ-LEAL *et al.*, 2017; MUÑOZ-LEAL *et al.*, 2018; MICHEL *et al.*, 2017; VIEIRA *et al.*, 2017; DANTAS-TORRES *et al.*, 2019).

No Brasil, os carrapatos do gênero *Amblyomma* (*A. aureolatum*, *A. dubitatum*, *A. ovale* e *A. sculptum*) são os principais responsáveis pela manutenção da *R. rickettsii* e demais RGFM na natureza, em função da alimentação simultânea de carrapatos infectados e não infectados em animais com suficiente riquetsemia, a partir da cópula e da transmissão transovariana e transtadial, admitindo que carrapato permaneça infectado durante toda sua vida e durante várias gerações após uma infecção primária, atuando, assim, como vetores, reservatórios e/ou amplificadores (PAROLA *et al.* 2005; SZABÓ *et al.*, 2013a; EREMEEVA *et al.*, 2015).

A FM é a principal doença em humanos na qual os carrapatos atuam como vetores no Brasil (SANTOS *et al.*, 2012), e riquetsias têm sido identificadas numa ampla heterogeneidade de carrapatos (HOOGSTRAAL, 1967; PAROLA *et al.*, 2013). Contudo, poucas espécies de carrapatos conseguem atuar de fato como amplificadores e vetores, especialmente da RGFM (RAOULT *et al.*, 1997; PAROLA *et al.*, 2013; ROUX *et al.*, 2000).

Atualmente, no Brasil, cinco espécies de carrapatos podem ser catalogadas no *status* de carreadores de *R. rickettsii* em áreas com casos de FM: *A. sculptum* (GUEDES *et al.*, 2005; SANGIONI *et al.*, 2005), *A. aureolatum* (PINTER *et al.*, 2006), *A. dubitatum* (MOURA-MARTINIANO *et al.*, 2014), *R. sanguineus s.l.* (CUNHA *et al.*, 2009; GEHRKE *et al.*, 2009) e *R. microplus* (MONTENEGRO *et al.*, 2017).

Outras espécies (*R. parkeri* cepa Mata Atlântica) associadas a casos, têm sido identificadas no carrapato *A. ovale* (SZABÓ *et al.*, 2013b) enquanto *R. parkeri* cepa Mata Atlântica em *A. sculptum* (SANGIONI *et al.*, 2005).

No mundo existem aproximadamente 2.000 espécies e subespécies de sifonápteros, contudo, apenas algumas destas têm capacidade de vetoração de bioagente causadores de doença para humanos, tais como a peste bubônica (popularmente conhecida como peste negra), causada pela bactéria *Yersinia pestis*, o tifo murinho, causado pela *R. typhi*, e a riquetsiose felis, causada pela *R. felis*. Estas doenças tornam-se epidêmicas quando se tem diminuição de hospedeiros naturais; com isso, pulgas buscam outras fontes de alimento, tornando o humano um hospedeiro acidental (AZAD *et al.*, 1997).

Sifonápteros do gênero *Ctenocephalides* spp. são responsáveis por transmitir *R. felis*, e este patógeno foi frequentemente relatado em *C. felis* em várias regiões do Brasil (HORTA *et*

*al.* 2014), sendo esta a pulga mais comum que infesta cães (CASTRO *et al.*, 2006; COSTA *et al.*, 2013).

Embora os potenciais vetores sejam os responsáveis diretos pela incidência da FM em humanos, sua ecologia é influenciada por fatores bióticos e também pelos fatores abióticos (LABRUNA *et al.*, 2001; LABRUNA, 2009; MILAGRES *et al.*, 2010; OGRZEWALSKA *et al.*, 2011; ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2013; EREMEEVA *et al.*, 2015). Com isso, esses fatores são fundamentais na variação espaço-tempo do risco da transmissão de bioagentes aos humanos (CUMMING, 2002; SUMILO *et al.*, 2007), incluindo a FM.

### 1.3 OS HOSPEDEIROS DAS RIQUÉTISAS E DOS CARRAPATOS DA FEBRE MACULOSA

Os carrapatos atuam não somente como vetores, mas também podem atuar como hospedeiros, amplificadores e reservatórios de riquétsias (MCDADE, 1986; PINTER *et al.*, 2011), enquanto animais sinantrópicos e/ou domésticos podem desempenhar papéis de hospedeiros primários de carrapatos, quando se infestam com carrapatos infectados com riquétsia em ambientes silvestres, introduzindo e mantendo linhagens de carrapatos infectadas em ambientes antrópicos – e, assim, podendo estabelecer, um novo foco epidêmico (PINTER *et al.*, 2004; PAROLA *et al.*, 2005; BARBIERI *et al.*, 2015). Com isso, os hospedeiros vertebrados possuem papel fundamental na manutenção deste bioagente na natureza, particularmente os hospedeiros amplificadores, que exibem alta transmissibilidade ao vetor (LABRUNA *et al.*, 2011b).

No Brasil, ao menos duas espécies da fauna silvestre são incriminadas como hospedeiros amplificadores: as capivaras (*H. hydrochaeris*) e os gambás (*Didelphis aurita* [Wied-Neuwied, 1826]). Estes últimos são abundantes em áreas endêmicas de FM, podendo ser infestados por um grande número de estádios imaturos de carrapatos vetores (HORTA *et al.*, 2009; SOUZA *et al.*, 2009).

Os cavalos e os cães domésticos são considerados animais sentinelas ao risco de infecção humana, ou seja, a detecção de anticorpos nesses animais indica a circulação de riquétsias em determinada localidade e período de tempo (LEMOS *et al.*, 1996; SOUZA *et al.*, 2016).

Logo, em um dado ecótopo, a disponibilidade de hospedeiros vertebrados e vetores, assim como sua suscetibilidade às infecções por riquétsia, podem variar no espaço e ao longo do tempo. Além desta dinâmica, RGFM envolvendo variados grupos de vetores e mamíferos

podem coexistir na mesma área, compartilhando ou não de elementos ecoepidemiológicos (RUDAKOV *et al.*, 2003, SZABÓ *et al.*, 2013a). Somando-se a isso, os diversos tipos de atividades/ocupações humanas, juntamente com a atividade sazonal dos ixodídeos, influenciam a manifestação epidêmica da FM no foco natural (SZABÓ *et al.*, 2013a). Todos estes fatores contribuem para o aumento da complexidade da ecoepidemiologia das riquetsioses.

#### 1.4 VIGILÂNCIA DA FEBRE MACULOSA

No Brasil, a doença foi reconhecida pela primeira vez no estado de SP por Piza em 1929 (PIZA *et al.*, 1931), e a partir daí foram diagnosticados casos nos estados de MG e RJ (GALVÃO *et al.*, 2005).

Contudo, na última década, a epidemiologia da FM no Brasil foi profundamente influenciada por quatro ações em saúde. A primeira se dá em 2001, quando a FM passa a ser considerada pelo MS (Portaria nº 1.943, de 18/10/2001) como doença de notificação compulsória (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). A partir desse ano até 2019 se tem notificações de casos de FM em 20 UF, com casos confirmados em, aproximadamente, 74,1% do território brasileiro (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019a). Entretanto, apesar do histórico de casos e sabida existência de áreas endêmicas para FM nos estados adjacentes ao PR, os estados de SP e SC (Figura 1A, 1B, 1C), somente cinco anos depois da publicação desta portaria foram confirmados os primeiros casos da doença no PR (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019a).

A segunda ação ocorre em 2007, com a doença sendo parte integrante do SINAN (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019c) correspondente à alteração no sistema de vigilância, e também as inserções de novas variáveis, em especial a que indica a evolução do caso, podendo, assim, indicar as taxas de letalidade e a definição clara dos critérios de diagnósticos utilizados nos casos.

A terceira ação tem início em 2011, com a capacitação na vigilância de ambiente das riquetsioses fomentada pela Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS/MS) e pelo Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, Fundação Oswaldo Cruz (LIRN/FIOCRUZ), em todo o país, evidenciando o significativo aumento da atividade de vigilância ambiental para FM (OLIVEIRA *et al.*, 2016c).

Já a quarta ação se dá com a Portaria nº 1.271, de 6/06/2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014), que define a FM e outras riquetsioses como doenças de notificação compulsória em até 24 horas a partir do conhecimento da ocorrência de doença, agravo ou



evento de saúde pública, pelo meio de comunicação mais rápido disponível às três esferas do SUS.

Com isso, segundo o Ministério da Saúde (2019c), a vigilância para FM compreende a vigilância epidemiológica e ambiental e tem como objetivos:

- detecção e tratamento precoce de casos suspeitos, buscando reduzir letalidade;
- investigação e controle de surtos, com tomadas de medidas de controle;
- conhecer a distribuição da doença, segundo lugar, tempo e pessoa;
- identificação e investigação dos locais prováveis de infecção (LPI);
- recomendação e adoção de medidas de controle e prevenção.

Como dito anteriormente, com a formação da Rede Nacional de Vigilância de Ambientes para Febre Maculosa e outras Riquetsioses (OLIVEIRA *et al.*, 2015) e a capacitação do PR, as coletas dos potenciais vetores, tanto em casos de vigilância quanto de investigação, iniciaram-se com a alimentação do fluxo de amostras dentro da Rede de Vigilância de ambientes.

Outra ação em vigilância mais ampla se deu no âmbito de comunicação em saúde, a partir da divulgação do *flyer* alertando e conscientizando a população dos riscos que o contato com carrapato pode acarretar, uma vez que a FM pode ser letal (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, 2019).

## 1.5 JUSTIFICATIVA

A FM é uma doença infecciosa aguda, potencialmente fatal, reconhecida como um problema emergente e reemergente de saúde pública no Brasil, principalmente em se tratando das áreas onde ocorrem os óbitos (estados da região Sudeste e Paraná).

Como o conhecimento da história natural da FM no PR era ainda incipiente, e este estado, até o ano de 2005, havia se comportado como um hiato na mancha de distribuição da FM entre os estados da região Sudeste e Sul, fez-se necessária uma análise dos aspectos epidemiológicos relacionados ao tempo, pessoa e lugar, como fatores sociodemográficos, assistenciais e ambientais associados aos casos de FM no estado. Esses fatores poderiam ter utilidade para o entendimento do seu comportamento e, assim, se tornarem úteis ao serviço de saúde nas estratégias de intervenção (prevenção, controle e conscientização) com vistas à prevenção da mesma.

## **2 OBJETIVOS**

Os objetivos desta tese consistem em analisar fatores ecoepidemiológicos dos potenciais vetores e riquetsias dentro dos diferentes ambientes. Seguem eles discriminados a seguir.

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar os fatores ecoepidemiológicos da FM no PR no período de 2006 – 2018.

#### **2.1.1 Objetivos específicos**

- Identificar e mapear a composição da fauna de ectoparasitos potenciais vetores de riquetsias presentes durante investigação e vigilância de casos de FM no PR;
- Identificar e mapear os fatores epidemiológicos da FM no PR;
- Pesquisar e identificar, molecularmente, riquetsias presentes nos artrópodes coletados;
- Analisar a extensão da área de circulação de riquetsias no PR;
- Descrever os fatores sociodemográficos, assistenciais e ambientais associados aos casos de FM no estado.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados dados epidemiológicos dos casos notificados no estado do Paraná entre os anos de 2006 e 2017, bem como dados dos potenciais vetores de riquetsias coletados nesse estado de 2013 a 2018.

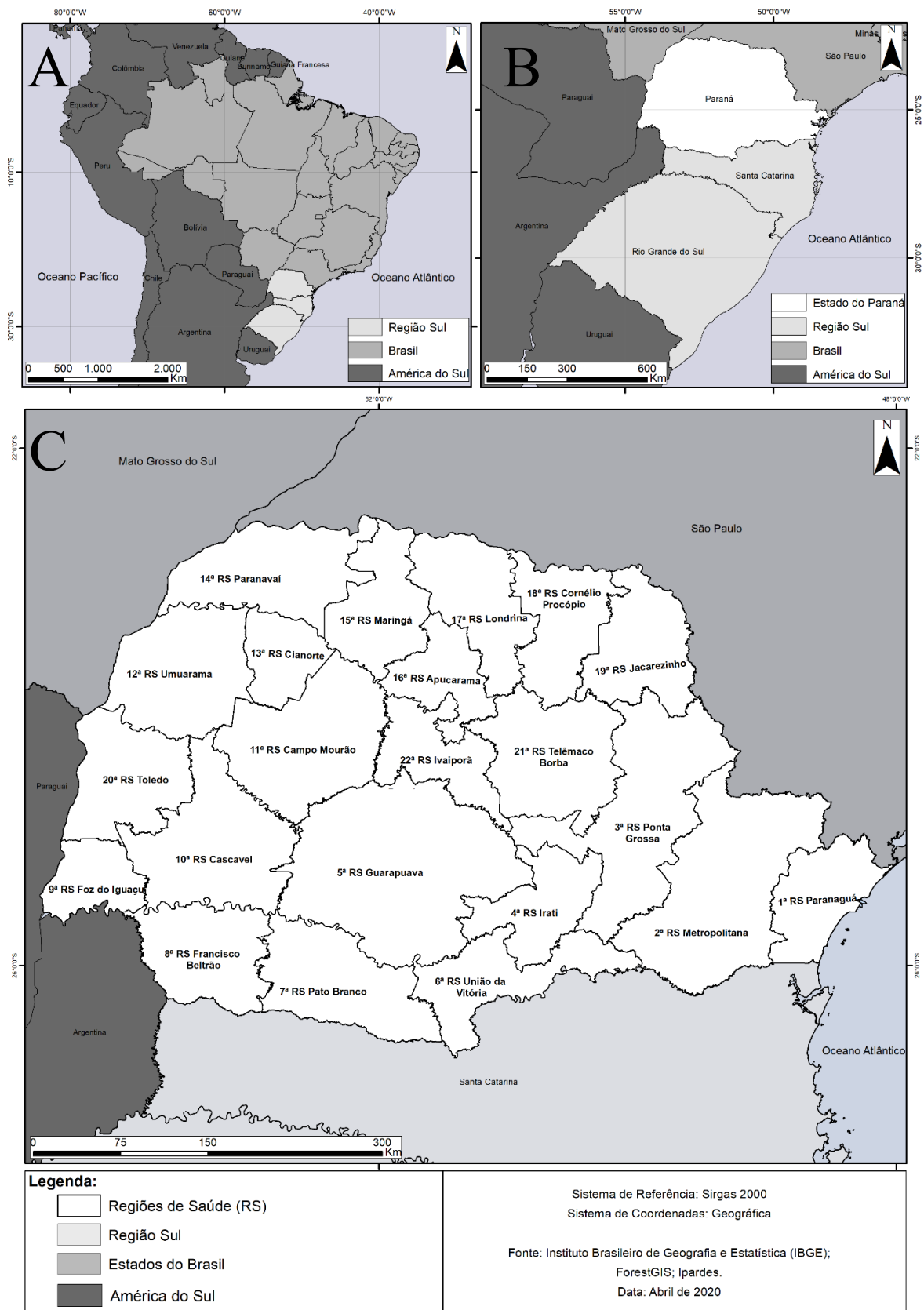
#### 3.1 ÁREA DE ESTUDO

O Paraná é uma das 27 unidades federativas do Brasil (Figura 1A), está localizado na porção setentrional da região Sul (Figura 1B), tem extensão de 199.305,236 km<sup>2</sup> e é composto por 399 municípios; sendo estes assistidos por 22 Regiões de Saúde (RS) (Figura 1C) (IBGE, 2020).

Devido ao seu posicionamento geográfico, encontra-se na interseção entre o clima subtropical com verão quente (Cfa) e clima temperado com verão ameno (Cfb) (IBGE, 2020).

Segundo estimativa para 2019, o PR apresenta população de 11.433.957 habitantes, com densidade demográfica de 52,40 hab/km<sup>2</sup>. Possui o quinto melhor Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de 0,749, quando comparado a outros estados brasileiros (IBGE, 2020).

Figura 1 – Mapa do Brasil (A), destacando o estado do Paraná na região Sul do Brasil (B) e divisão do estado do Paraná segundo as Regiões de Saúde (C)



Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2020).

### 3.2 DADOS EPIDEMIOLÓGICOS

Trata-se de estudo ecoepidemiológico descritivo e exploratório do tipo ecológico dos casos notificados e confirmados para relação entre exposição e desfecho de FM, e teve como unidades de análise os municípios e as RS do PR, com horizonte temporal de 11 anos e casos admitidos no período de janeiro/2006 a dezembro/2017.

Os dados foram obtidos junto ao SINAN, por meio da ficha individual de notificação e investigação epidemiológica, e englobam notificações de casos suspeitos de FM (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020), disponibilizados com a proteção da identidade dos pacientes; portanto, informações como nomes ou endereços não podem ser exibidos a qualquer momento para cumprir as exigências éticas nacionais regulamentadas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Os dados foram depurados para identificar duplicidades, inconsistências e erros de digitação da ficha epidemiológica, com posterior exclusão dos mesmos.

Cada caso confirmado foi georreferenciado para o LPI, a partir dos códigos de municípios presentes no banco de dados de notificações. A variável de desfecho foram os casos de FM notificados e confirmados no período analisado. Subsequentemente os dados foram agrupados em casos notificados e confirmados com FM, sendo este último separado por critérios como: casos brandos (sem hospitalização e óbito), hospitalizações e óbitos. Foram estimadas taxas médias anuais de incidência da FM nas populações das RS.

Como variáveis de exposição foram selecionadas características ambientais (tipo climático, uso e cobertura do solo e bacias hidrográficas) e sociodemográficas e assistenciais (grau de urbanização, Produto Interno Bruto [PIB] *per capita*, cobertura da Estratégia de Saúde da Família [ESF] e razão de leitos cadastrados no SUS [Sistema Único de Saúde] por 1.000 habitantes). Essas variáveis foram descritas por meio de mapas temáticos, e os casos de FM foram sobrepostos como pontos localizados nos centroides dos municípios, com o diâmetro dos pontos proporcional ao número de casos do município. Para as variáveis sociodemográficas e assistenciais, os mapas foram elaborados com a distribuição por quintis e obtidos da página do Departamento de Informática do SUS - DATASUS na internet (<http://tabnet.datasus.gov.br>); no caso das variáveis ambientais, foram utilizadas as categorias disponibilizadas nos dados obtidos na página da internet do Instituto de Terras, Cartografia e Geologia do Paraná (<http://www.itcg.pr.gov.br>).

Essas análises foram realizadas no programa R v. 3.6.1 utilizando os pacotes *Spdep*, *ClassInt* e *RColorBrewer* (<https://www.r-project.org/>) por meio da interface gráfica *RStudio* v. 1.1.463 (<https://rstudio.com/>).

As variáveis (data de notificação, data do início dos sintomas, data de óbito) foram descritas em frequências absolutas (n) e relativas (%) e suas diferenças foram comparadas por meio de média, mediana e medidas de variabilidade (desvio padrão/intervalo de confiança).

### 3.3 DADOS DOS POTENCIAIS VETORES DA FEBRE MACULOSA

Essas informações foram obtidas do banco de dados do LIRN/FIOCRUZ, construído a partir de amostras recebidas pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) do estado ou pela Secretaria da Saúde do Estado (SESA) e via fluxo da Rede Nacional de Vigilância de Ambientes para Febre Maculosa e outras Riquetsioses, do Ministério da Saúde (*e.g.* OLIVEIRA *et al.*, 2015), onde há registro de ectoparasitos potenciais vetores coletados em 67 municípios do PR, entre os anos de 2013 e 2018, pelas equipes de Vigilância das Secretarias de Saúde durante investigações de casos e vigilância de ambiente para FM.

#### 3.3.1 Coleta de potenciais vetores

As coletas foram realizadas no ambiente através de arrasto de flanela (OLIVEIRA, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2000) e nos vertebrados, por catação; elas ocorreram em locais com casos suspeitos ou confirmados de FM, durante investigação de casos e vigilância de ambientes. As unidades amostrais de coleta dos potenciais ectoparasitos vetores foram constituídas por espécimes oriundos de um mesmo hospedeiro ou ambiente. Os municípios de coleta foram georreferenciados a partir das RS às quais os municípios de coleta pertenciam.

Todo o material coletado foi imediatamente fixado em álcool isopropílico P.A. e encaminhado, via LACEN, SESA e fluxo da Rede Nacional de Vigilância de Ambientes para Febre Maculosa e Outras Riquetsioses, para o LIRN, onde foi mantido em temperatura ambiente até o processamento.

#### 3.3.2 Identificação taxonômica dos artrópodes

Os ectoparasitos foram triados e submetidos à identificação taxonômica, através das características morfológicas, em estereomicroscópio usando chaves dicotômicas (FERRIS, 1951; FURMAN, 1972; BICHO *et al.*, 1998; LINARDI *et al.*, 2000; PRICE *et al.*, 2004; KRANTZ *et al.*, 2009; DANTAS-TORRES *et al.*, 2019). Espécimes testemunhos foram

depositados na Coleção de Artrópodes Vetores Ápteros de Importância em Saúde das Comunidades - CAVAISC/FIOCRUZ.

### 3.3.3 Pesquisa do bioagente

Os demais exemplares de ectoparasitos (28.276/28.517) foram submetidos às análises moleculares, onde as 953 alíquotas foram definidas por espécime único (ninfas e adultos) ou reunidos em *pool*, segundo o estágio e sexo (3-50 larvas, 2-20 ninfas, 2 machos, 2 fêmeas).

As alíquotas foram elaboradas de acordo com o cenário de envolvimento das amostras LIRN oriunda de investigação de caso de FM) dos exemplares de cada amostra foram selecionados para os estudos de biologia molecular. Todas as alíquotas elaboradas foram submetidas à extração do DNA.

#### 3.3.3.1 Extração de DNA Genômico (DNAg)

A etapa da extração do DNAg dos potenciais vetores foi realizada no LIRN e o mesmo foi obtido através da técnica de extração por NaCl (ALJANABI *et al.*, 1997), com posterior armazenamento a -20 °C até a amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*).

Os artrópodes foram triturados em banho de N<sub>2</sub> e submetidos a extração total de DNA utilizando a técnica de extração por sal NaCl (ALJANABI *et al.*, 1997).

Após a extração, amostras escolhidas randomicamente foram encaminhadas à quantificação do DNAg em espectrofotômetro GeneQuant (Amersham Pharmacia Biotech, Cambrige, Londres) para avaliar a qualidade do DNA extraído.

#### 3.3.3.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A pesquisa de riquetsias foi feita em todas as alíquotas de DNAg. Inicialmente, para uma triagem quanto à presença de riquetsia, todas as alíquotas foram submetidas à busca de fragmento dos genes Citrato Sintase (*gltA*), utilizando os iniciadores CS2-78 e CS2-323 (LABRUNA *et al.*, 2004a), e do gene da proteína de membrana externa A (*ompA*- *outer membrane protein A*), com os iniciadores 190.70p e 190.602n (REGNERY *et al.*, 1991). Posteriormente, as amostras que amplificaram para algum destes marcadores foram submetidas a novas PCRs para fragmento dos genes: *htrA* (*High-temperature requirement A*) que codifica

a proteína estrutural de membrana de 17 kDa [PCR *nested*, 1º *round* iniciadores 17k-5/ 17k-3 (LABRUNA *et al.*, 2004b), 2º *round* iniciadores 17Kd1/17Kd2 (WEBB *et al.*, 1990)]; da proteína de membrana externa B (*ompB*- *outer membrane protein B*) com os iniciadores 120-M59 e 120-807 (ROUX; RAOULT, 2000); *gltA* com os iniciadores CS4-239 e CS4-1069 (LABRUNA *et al.*, 2004b); e o *Gene D*/ antígeno de superfície celular 4 (*sca4*- *surface cell antigen 4*), com os iniciadores D1738F- D2482R (SEKEYOVA *et al.*, 2001). Nessas ampliações foram empregados oligonucleotídeos e os respectivos protocolos de amplificação disponíveis na literatura (Tabela 1). Em todas as reações foi utilizado como controle positivo DNA de *R. rickettsii* e água Milli-Q livre de DNases e RNases como controle negativo.

### 3.3.3.3 Eletroforese

Para visualização dos produtos amplificados, os *amplicons* foram submetidos à eletroforese (89 volts por 90 minutos) em gel de agarose a 2% e corados com Brometo de Etídio (SAMBROOK; RUSSELL, 2001). Posteriormente, os géis foram observados em *scanner* de gel MiniBis Pro (DNR *Bio- Imaging Systems Ltd.*, Jerusalém, Israel) com luz ultravioleta. Imagens digitais de cada gel foram geradas e arquivadas.

Todos os produtos da PCR que corresponderam ao tamanho de DNA esperado, para cada marcador, foram selecionados para purificação e sequenciamento.

### 3.3.3.4 Purificação e sequenciamento de nucleotídeos

As amostras foram purificadas a partir do *amplicon* utilizando o kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean up System* (Promega, Corp., Madison, WI, EUA), seguindo as recomendações do fabricante.

Posteriormente, os *amplicons* purificados foram encaminhados para o sequenciamento do DNA, cujas reações foram executadas utilizando os mesmos iniciadores empregados na PCR e o BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Califórnia, EUA), de acordo com o manual do fabricante. Em seguida, as amostras foram precipitadas, ressuspendidas em formamida e aplicadas em sequenciador automático ABI 3730 xl (Applied Biosystems, Califórnia, EUA) na Plataforma de Sequenciamento de DNA (PDTIS) da FIOCRUZ/RJ para determinação das sequências em ambas as direções (3' - 5' e 5' - 3').

Todas as sequências de riquétsias detectadas nos ectoparasitos do PR foram depositadas no *GenBank* (MF175766, MF175773-4, MH194354, MH194360, MK252665-6, MK252669,



MK252671-2, MK252676, MK252678-9, MK252682, MT311216-7, BITENCOURTH *et al.*, 2019; BORSOI *et al.*, 2019; SATO *et al.*, 2020).

Tabela 1 – Iniciadores e referências dos protocolos de amplificação utilizados nas Reações em Cadeia da Polimerase (PCR) para a pesquisa de riquetsias nas amostras de ectoparasitos coletados no estado do Paraná/Brasil, no período de 2013 a 2018

Alvo da detecção	Gene	Técnica utilizada	Iniciador	Sequência de nucleotídeo (5'-3')	Fragmento (pb)	Referência		
<b><i>Rickettsia</i> sp. (Gênero específico)</b>	<i>gltA</i>	PCR	CS2-78	5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3'	401	LABRUNA <i>et al.</i> , 2004a		
			CS2-323	5'-GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT-3'				
			CS4-239	5'-GCTCTTCTCATCCTATGGCTATTAT-3'	834		LABRUNA <i>et al.</i> , 2004b	
			CS4-1069	5'-CAGGGTCTTCGTGCATTTCTT-3'				
	<i>htrA</i>	PCR <i>nested</i>	1º <i>roud</i>	17k-5	5'-GCTTACAAAATTCTAAAAACCATATA-3'	549	LABRUNA <i>et al.</i> , 2004b	
				17k-3	5'-TGTCTATCAATTCACAACCTTGCC-3'			
			2º <i>roud</i>	17Kd1	5'-GCTCTTGCAACTTCTATGTT-3'	434		WEBB <i>et al.</i> , 1990
				17Kd2	5'-CATTGTTTCGTCAGGTTGGCG-3'			
	<i>ompB</i>	PCR		120-M59	5'-CCGCAGGGTTGGTAACTGC-3'	862	ROUX; RAOULT, 2000	
				120-807	5'-CCTTTTAGATTACCGCTAA-3'			
gene D			D1738F	5'-GTATCTGAATTAAGCAATGCG-3'	744	SEKEYOVA <i>et al.</i> , 2001		
			D2482R	5'-CTATAACAGGATTAACAGCG-3'				
			<i>Rr</i> 190.70p	5'ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3'			532	REGNERY <i>et al.</i> , 1991
<i>Rr</i> 190.602n	5'AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT-3'							
<b>GFM, Grupo Febre Maculosa.</b>								

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

### 3.3.4 Análise de dados das sequências de nucleotídeos

Todas as sequências obtidas para cada gene foram editadas, identificadas e alinhadas para posteriores análises filogenéticas, que se encontram descritas a seguir.

#### 3.3.4.1 Edição, identificação e alinhamento das sequências

As sequências obtidas foram editadas manualmente e as sequências-consenso foram geradas no programa ChromasPro 1.5 (Techbhnelysium, Queensland, Australia). Inicialmente, essas sequências foram identificadas por avaliação de similaridade, através de análise comparativa com as sequências depositadas no *GenBank*, com auxílio do BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*).

As sequências obtidas e sequências disponíveis no *GenBank*, para cada gene analisado, foram automaticamente alinhadas através do algoritmo de alinhamento múltiplo ClustalW (THOMPSON *et al.*, 1994), disponível no programa MEGA 6.0 (TAMURA *et al.*, 2013). Todos os alinhamentos foram inspecionados manualmente e os genes codificantes de proteínas foram traduzidos para aminoácidos para verificar a presença de pseudogenes e confirmar a existência de homologia, onde nenhum códon de parada foi observado.

#### 3.3.4.2 Análises filogenéticas

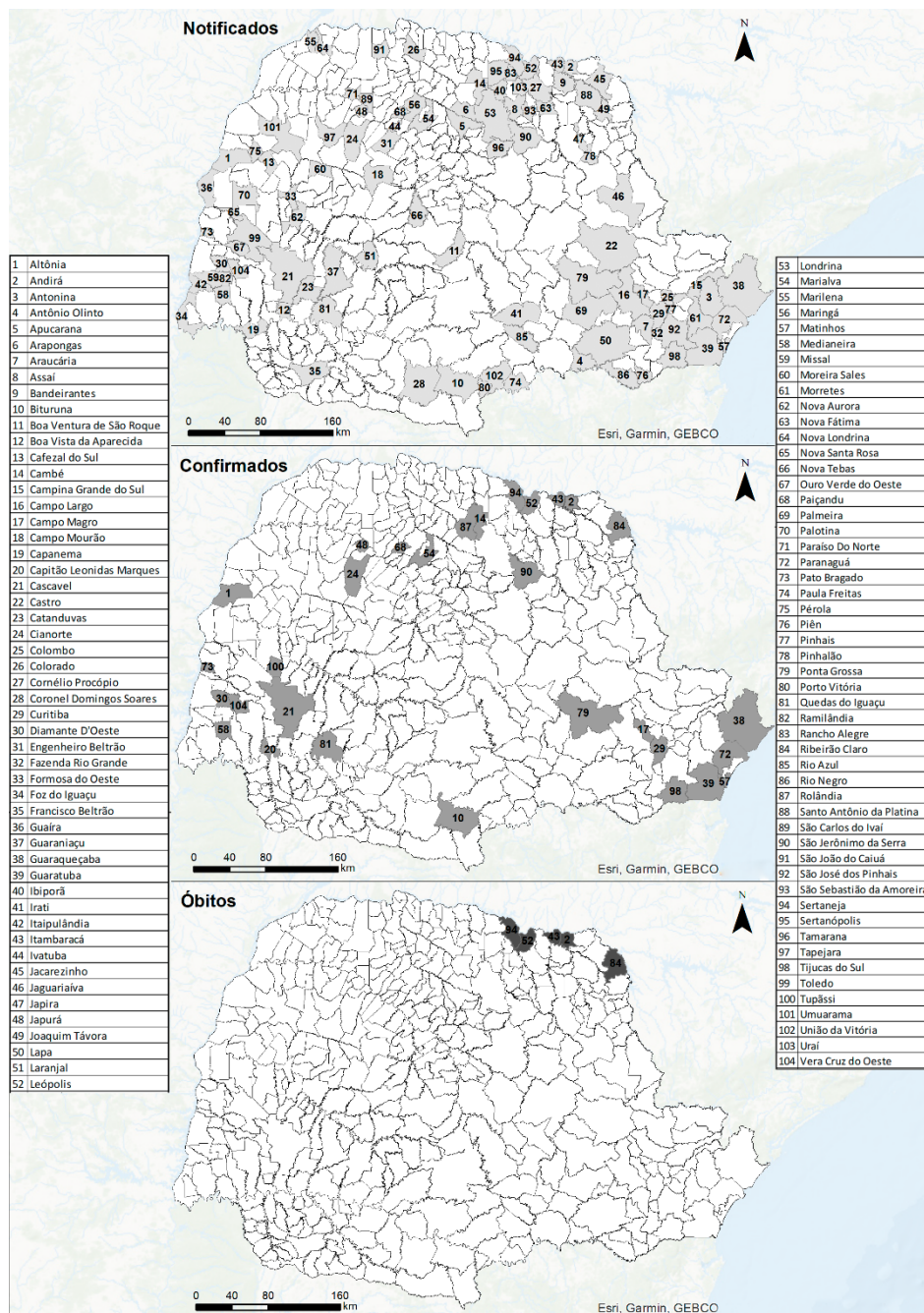
Para investigar as relações evolutivas entre as amostras de riquetsias detectadas, foram realizadas análises filogenéticas para as sequências dos marcadores obtidos das riquetsias. Para isso, foram utilizadas sequências geradas no atual trabalho e sequências disponíveis no *GenBank*.

Nas análises concatenadas, o programa SeaView (GOUY *et al.*, 2010) foi utilizado para concatenar os alinhamentos dos genes investigados das riquetsias. As inferências filogenéticas, através de análise de máxima verossimilhança, foram realizadas no programa PhyML 3.0 (GUINDON *et al.*, 2010) utilizando o modelo evolutivo (através do *Bayesian Information Criterion*) GTR+G indicado pelo programa MEGA 6.0 (TAMURA *et al.*, 2013), que melhor se ajustava ao conjunto de dados analisados para o alinhamento dos marcadores *gltA+ htrA+ ompA+ ompB* das riquetsias. Valores de apoio estatístico dos ramos internos foram estimados com o teste *aLRT* (*approximate likelihood ratio test*) com 1000 réplicas (ANISIMOVA; GASCUEL, 2006).

## 4 RESULTADOS

Ao longo dos anos de 2006 a 2017, 437 casos suspeitos de FM foram notificados, dentre eles duas duplicidades. Os casos encontram-se distribuídos em 25,10% (100/399) dos municípios do PR (Figura 2A).

Figura 2 – Casos notificados (A), confirmados (B) e óbitos (C) por Febre Maculosa, entre 2006 e 2017, nos municípios do estado do Paraná/Brasil



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Do total de notificações válidas, 98,20% (427/435) foram de residentes no PR, enquanto que 0,90% (4/435) foram do estado de SC, 0,45% (2/435) no Mato Grosso e 0,45% (2/435) em outro país (Paraguai).

As notificações flutuaram com três padrões de frequência, (Figura 3):

- Primeiro padrão de frequência – 2006 a 2009: entre 10 – 15 casos;
- Segundo padrão de frequência – 2010 a 2014: entre 20 – 35 casos;
- Terceiro padrão de frequência – 2015 a 2017: entre 70 – 95 casos.

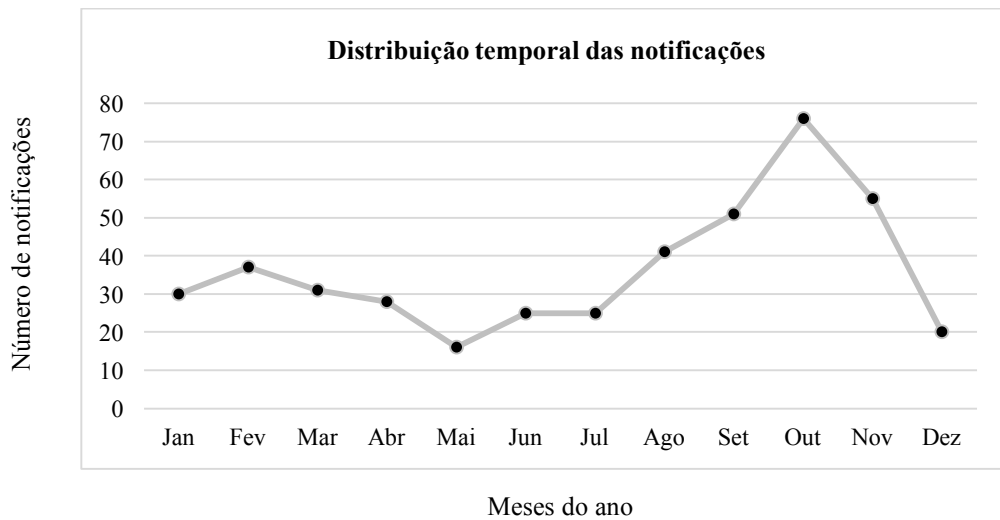
Figura 3 – Número de notificações de casos de Febre Maculosa entre os anos de 2006 e 2017, no estado do Paraná/Brasil



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

As notificações também apresentam oscilações entre os meses do ano: nos períodos de janeiro a abril há uma constante de notificações, com queda em maio, seguido de aumento em junho, com pico em outubro e, nos meses posteriores, queda até dezembro (Figura 4). O intervalo de tempo do aparecimento dos primeiros sintomas até a notificação foi de sete dias para a maior parte dos indivíduos.

Figura 4 – Distribuição temporal das notificações de Febre Maculosa entre 2006 e 2017, no estado do Paraná/Brasil



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

A 2ªRS - Metropolitana deteve o maior número de notificações com 23,90% (104/435), seguido da 18ªRS - Cornélio Procópio, com 9,65% (42/435) (Figura 1C). A população notificada teve média de idade de  $30,31 \pm 19,67$  anos, sendo 62,99% (274/435) dos indivíduos do sexo masculino e 37,01% (161/435) do sexo feminino; destas, 2,48% (4/161) estavam gestantes. Com relação à raça declarada pelos indivíduos, a amostra possuiu predominância de brancos, com 78,62% (342/435), e 14,94% (65/435) eram pretos e pardos. Dentre os notificados, a maioria de 32,88% (143/435) tinha ensino fundamental (incompleto/completo), 20,92% (91/435) o ensino médio (incompleto/completo), 13,10% (57/435) o ensino superior (incompleto/completo), 1,38% (6/435) eram analfabetos e em 31,72% (138/435) dos casos esse campo não foi preenchido.

Das notificações válidas (435), 38 casos foram confirmados. Destes, um caso foi excluído da análise porque o LPI foi localizado em outro estado (SP), sendo então analisados 37 casos (23 do sexo masculino e 14 do sexo feminino, nenhum deles gestante). As taxas de notificações confirmadas variaram de 0,23 por 100.000 habitantes na 13ª RS Cianorte a zero em nove RS (Tabela 2).

Em relação ao critério de confirmação, 81,08% (30/37) dos casos foi confirmado por testes laboratoriais, 13,51% (5/37) por critério clínico-epidemiológico e, em 5,41% (2/37) dos casos, esse campo não foi preenchido.

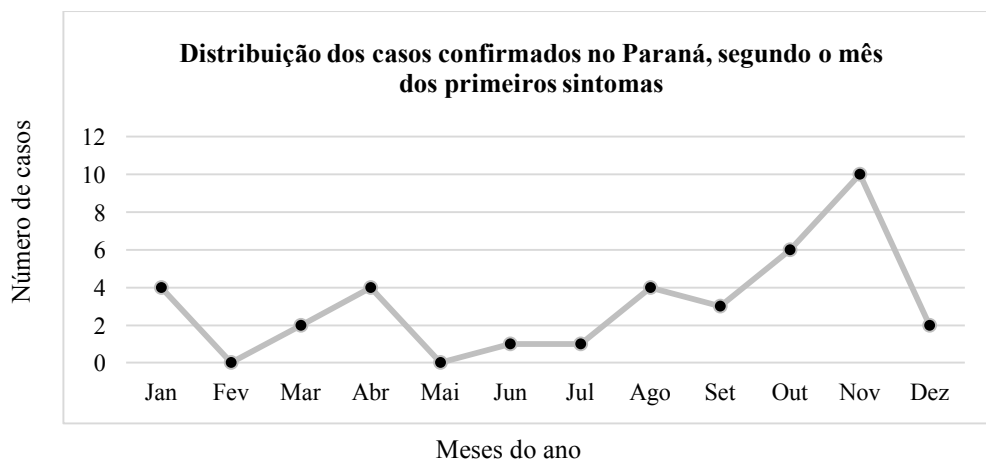
Quanto ao LPI, 78,38% (29/37) eram autóctones ao município de residência. Com relação à zona do LPI, 70,27% (26/37) dos indivíduos se infectaram na rural, 16,22% (6/37) na

urbana, 10,81% (4/37) na periurbana e 2,70% (1/37) essa informação não foi preenchida na ficha. Já com relação ao ambiente, 35,13% (13/37) foi infectado no ambiente domiciliar, 35,13% (13/37) em ambiente de lazer, 18,92% (7/37) no local de trabalho, 2,71% (1/37) em outros ambientes, 5,40% (2/37) em ambiente ignorado e em 2,71% (1/37) esse campo não foi preenchido.

Entre as situações/exposições de risco dos casos confirmados, os que relataram contato com carrapatos foram 86,49% (32/37), seguidos dos casos que tiveram contato com cães e gatos, 54,05% (20/37); equinos, 24,32% (9/37); bovinos, 21,62% (8/37); e capivaras, 5,40% (2/37). Já os que visitaram ambientes com mata, floresta, rios e cachoeiras e tiveram diagnóstico confirmado, foi de 75,67% (28/37).

De acordo com a distribuição dos 37 casos confirmados, segundo o mês da detecção dos primeiros sintomas, exhibe variada oscilação no decorrer do ano, a saber: queda em fevereiro, com posterior aumento até abril, seguindo de ausência de caso em maio, e de junho a outubro percebe-se um período de aumento, com pico em novembro, e a partir deste, um decréscimo (Figura 5).

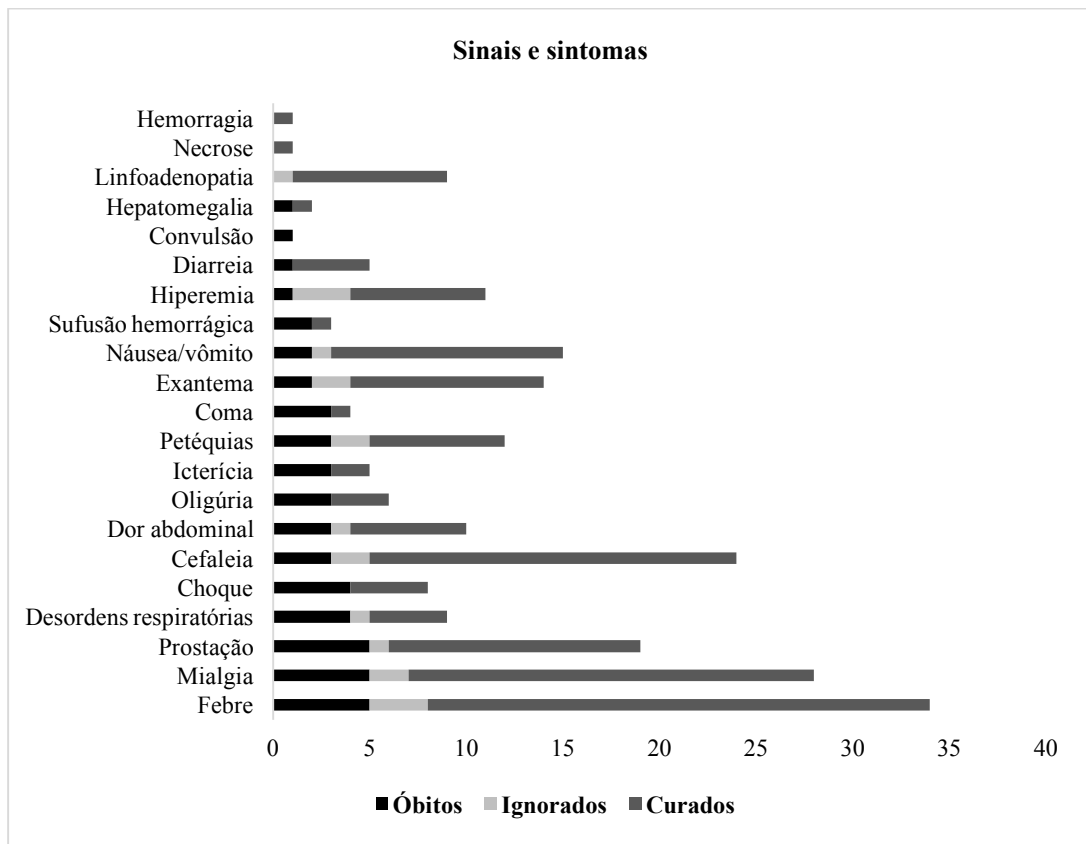
Figura 5 – Distribuição temporal dos casos confirmados de Febre Maculosa entre 2006 e 2017, segundo o mês dos primeiros sintomas, no estado do Paraná/Brasil



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Os sinais e sintomas apresentados com maior frequência nos 37 casos confirmados são febre, 91,89% (34/37); mialgia, 75,67% (28/37); e cefaleia, 64,86% (24/37) (Figura 6).

Figura 6 – Principais sinais e sintomas de Febre Maculosa relatados ao Sistema Informação de Agravos de Notificação, entre 2006 e 2017, no estado do Paraná/Brasil



Fonte: Elaborado pela autora (2020).



Tabela 2 – Dados sociodemográficos e assistenciais de casos de Febre Maculosa por Regiões de Saúde no estado do Paraná/Brasil, entre 2006 e 2017

Região de Saúde	População	Urbanização	PIB <i>per capita</i>	Cob, ESF	Razão de Leitos	Casos	Taxa	Brandos	Hospitalizações	Óbitos
1ª RS Paranaguá	265.392	90,50%	20.518,04	57,60%	1,2	7	0,22	5	2	0
2ª RS Metropolitana	3.223.836	91,70%	31.319,16	53,60%	1,9	4	0,01	1	3	0
3ª RS Ponta Grossa	575.463	84,30%	20.349,23	60,50%	1,9	1	0,01	0	1	0
4ª RS Irati	160.962	61,10%	13.646,17	83,70%	1,7	0	0,00	0	0	0
5ª RS Guarapuava	441.070	65,20%	13.187,97	100,00%	2,3	0	0,00	0	0	0
6ª RS União da Vitória	165.299	66,00%	13.736,50	64,00%	1,6	1	0,05	0	1	0
7ª RS Pato Branco	249.793	76,20%	20.809,61	64,10%	2,0	0	0,00	0	0	0
8ª RS Francisco Beltrão	337.703	65,80%	14.457,78	81,50%	2,2	0	0,00	0	0	0
9ª RS Foz do Iguaçu	388.795	90,70%	22.565,17	66,00%	1,6	1	0,02	0	1	0
10ª RS Cascavel	507.385	82,90%	19.229,81	77,00%	1,9	4	0,07	3	1	0
11ª RS Campo Mourão	334.125	80,30%	15.142,62	82,30%	1,9	0	0,00	0	0	0
12ª RS Umuarama	265.092	80,20%	13.444,74	100,00%	2,0	1	0,03	0	1	0
13ª RS Cianorte	142.433	85,20%	16.051,92	76,20%	1,5	4	0,23	4	0	0
14ª RS Paranavaí	260.544	85,30%	11.925,39	82,60%	2,2	0	0,00	0	0	0
15ª RS Maringá	733.404	95,00%	18.204,90	72,80%	1,9	2	0,02	2	0	0
16ª RS Apucarana	346.972	89,20%	17.460,67	79,40%	2,6	0	0,00	0	0	0
17ª RS Londrina	871.267	94,30%	19.775,07	60,90%	2,1	2	0,02	1	1	0
18ª RS Cornélio Procopio	225.961	81,60%	12.408,22	72,20%	2,8	6	0,22	1	5	4
19ª RS Jacarezinho	278.111	78,50%	12.619,91	100,00%	2,8	1	0,03	0	1	1
20ª RS Toledo	358.660	81,70%	19.318,51	34,70%	2,6	3	0,07	1	2	0
21ª RS Telêmaco Borba	172.922	72,30%	18.056,43	75,40%	1,4	0	0,00	0	0	0
22ª RS Ivaiporã	139.337	55,00%	9.563,26	100,00%	3,0	0	0,00	0	0	0
<b>Paraná</b>	<b>1.0444.526</b>	<b>85,30%</b>	<b>21.572,72</b>	<b>69,9</b>	<b>2,0</b>	<b>37</b>	<b>0,03</b>	<b>18</b>	<b>19</b>	<b>5</b>

PIB: produto interno bruto em R\$. Cob. ESF: cobertura da Estratégia de Saúde da Família. Razão de Leitos: número de leitos cadastrados no SUS por mil habitantes. Casos: casos confirmados de Febre Maculosa. Taxa: taxa de incidência por 100.000 habitantes. Brandos: casos de Febre Maculosa que não evoluíram com hospitalização nem óbito. Óbitos: óbitos por Febre Maculosa.

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

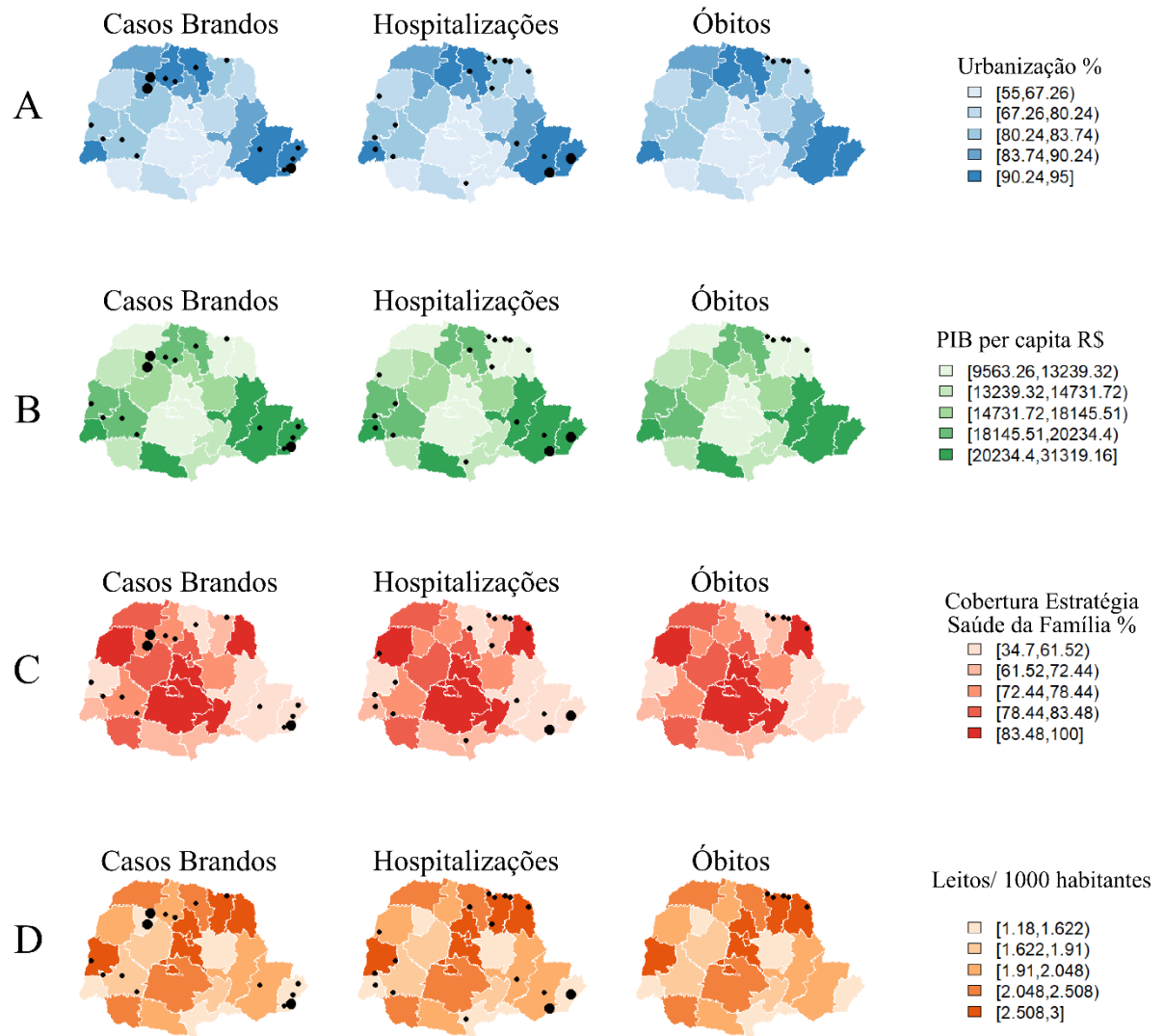
Os casos brandos (sem hospitalização e óbito) corresponderam a 48,65% (18/37) e com hospitalizações a 51,35% (19/37). A respeito da evolução (desfecho) dos casos confirmados, 75,67% (28/37) resultaram em cura, 13,51% (5/37) culminaram em óbito por FM e 10,82% (4/37) dos casos foram ignorados.

Quanto aos cinco óbitos, três eram mulheres e dois eram homens, todos residentes de zonas urbanas. Quanto às características do LPI, um relatou a zona periurbana em ambiente domiciliar e quatro em zona rural, sendo que dois estariam relacionados às atividades de lazer, um à rotina de trabalho e um ignorado. Quanto à sintomatologia, observa-se que todos relataram febre, mialgia e prostração; quatro indivíduos tiveram choque e distúrbios respiratórios; somente dois apresentaram exantema. A mediana de tempo de evolução da doença (data de início dos primeiros sintomas até óbito) foi de 13 dias (variando de 6 a 16 dias) e a oportunidade de notificação dos óbitos (data de início dos sintomas e notificação) apresentou média de 15,6 dias (variando de 8 a 28 dias).

Em relação aos indicadores sociodemográficos e assistenciais, os casos brandos de FM predominaram nas RS mais urbanizadas, com maior PIB *per capita* e cobertura da ESF variando de 34,7% até 77,0% (Figura 7; Tabela 2). Os casos mais graves, que evoluíram para óbito, se concentraram em duas RS localizadas no nordeste do estado, 18ª RS - Cornélio Procópio (4 óbitos) e 19ª RS - Jacarezinho (1 óbito), na mesorregião Norte Pioneira, que estão entre as RS menos urbanizadas, com menor PIB *per capita* e com maior razão de leitos do SUS por 1.000 habitantes (Figura 7; Tabela 2). Os demais casos de hospitalização que não evoluíram para o óbito tiveram uma distribuição mais esparsa no estado (Figura 7).

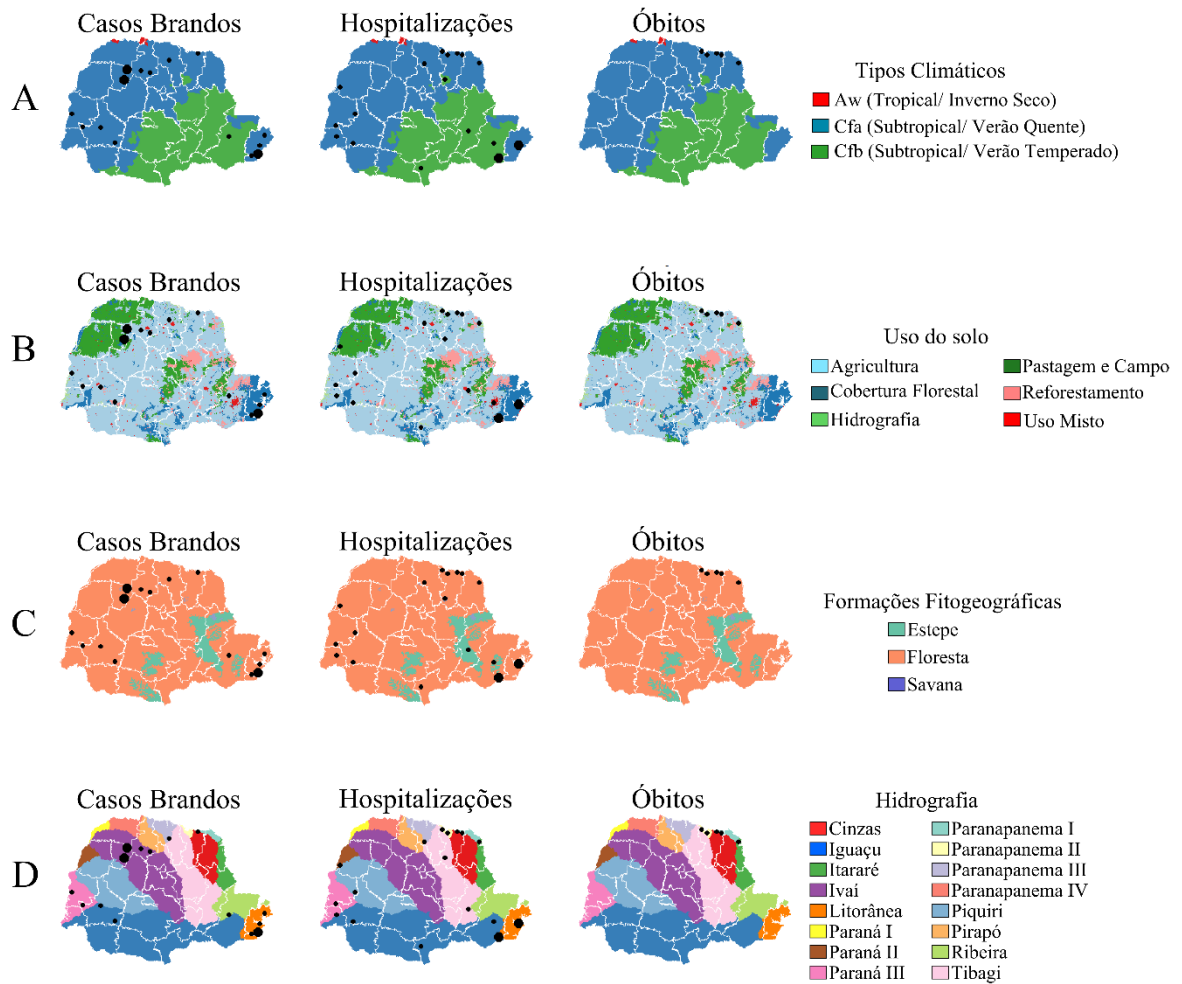
As áreas de tipo climático Cfa e com formação fitogeográfica do tipo floresta tiveram predominância dos casos de FM (Figuras 8A, C). Quanto ao uso do solo, os casos brandos e as hospitalizações se localizaram em áreas com agricultura, pastagem e campo e cobertura florestal, mas todos os óbitos ocorreram em áreas de agricultura (Figura 8B). As bacias do Paranapanema I e II concentraram os casos de óbitos, enquanto os casos brandos e as hospitalizações ocorreram em diversas bacias hidrográficas do estado (Figura 8D).

Figura 7 – Distribuição dos casos de Febre Maculosa no estado do Paraná/Brasil, de 2006 a 2017, segundo indicadores sociodemográficos e assistenciais ([A] Urbanização, [B] Produto interno bruto, [C] Cobertura da Estratégia da Saúde da Família, [D] Leitos hospitalares)



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Figura 8 – Distribuição dos casos de Febre Maculosa no estado do Paraná/Brasil, de 2006 a 2017, de acordo com indicadores ambientais ([A] Tipos climáticos, [B] Uso do solo, [C] Formação fitogeográfica e [D] Hidrografia)



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Foram coletados 28.517 artrópodes, incluindo amostras de carrapatos, pulgas, ácaros e piolhos. Dentre os carrapatos, foram identificados exemplares de *A. aureolatum*, *A. dubitatum*, *Amblyomma incisum* (Neumann, 1906), *Amblyomma longirostre* (Koch, 1844), *A. ovale*, *Amblyomma parkeri* (Fonseca e Aragão, 1952), *A. sculptum*, *Amblyomma* sp., *Amblyomma varium* (Koch, 1844), *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897), *Ixodes auritulus* (Neumann, 1904), *Ixodes* sp., *Rhipicephalus microplus* (Canestrini, 1887) e *R. sanguineus s.l.* Três espécies de sifonápteros, *C. felis*, *Polygenis roberti* (Fox, 1947) e *Pulex irritans* (Linnaeus, 1758); os ácaros *Androlaelaps rotundus* (Fonseca, 1935); *Gigantolaelaps* sp. e *Gigantolaelaps wolffsohni* (Oudemans, 1910) e o piolho *Haematopinus suis* (Linnaeus, 1758) também foram coletados. Contudo, alguns espécimes imaturos só foram identificados até gênero (*Amblyomma*, *Gigantolaelaps* e *Ixodes*) devido à inviabilidade de identificação morfológica específica (Tabela 3).

Tabela 3 – Artrópodes coletados no estado do Paraná/Brasil no período de 2013 a 2018

Artrópodes	Larva	Ninfa	Macho	Fêmea	Total
<i>Amblyomma aureolatum</i>		2	27	52	81
<i>Amblyomma dubitatum</i>		7.741	669	555	8.965
<i>Amblyomma incisum</i>		7			7
<i>Amblyomma longirostre</i>		1		3	4
<i>Amblyomma ovale</i>		1	27	8	36
<i>Amblyomma parkeri</i>		9			9
<i>Amblyomma sculptum</i>		608	84	91	783
<i>Amblyomma</i> sp.	12.748	16		7	12.771
<i>Amblyomma varium</i>		20			20
<i>Dermacentor nitens</i>	638	128	118	254	1.138
<i>Ixodes auritulus</i>		6			6
<i>Ixodes</i> sp.	31				31
<i>Rhipicephalus microplus</i>	2.929	74	126	374	3.503
<i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i>	234	266	264	254	1.018
<i>Ctenocephalides felis</i>			40	90	130
<i>Polygenis roberti</i>				1	1
<i>Pulex irritans</i>			2		2
<i>Androlaelaps rotundus</i>				4	4
<i>Gigantolaelaps</i> sp.				4	4
<i>Gigantolaelaps wolffsohni</i>				3	3
<i>Haematopinus suis</i>				1	1
<b>Total</b>	<b>16.580</b>	<b>8.879</b>	<b>1.357</b>	<b>1.701</b>	<b>28.517</b>

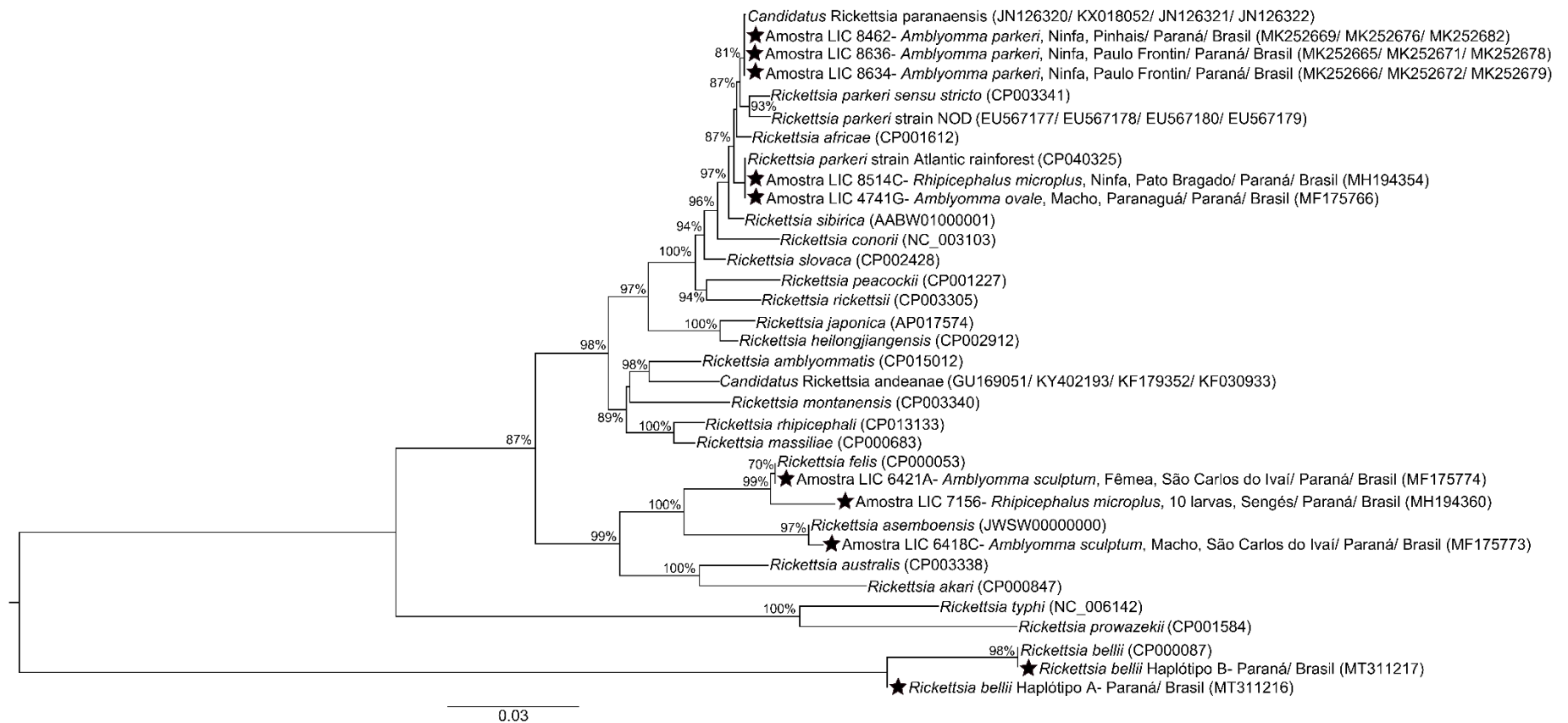
Fonte: Elaborado pela autora (2020).

As coletas dos ectoparasitos ocorreram prevalentemente no ambiente, enquanto que nos hospedeiros foram amostrados asino (*Equus assinus* [Linnaeus, 1758]), bovino (*Bos taurus* [Linnaeus, 1758]), cães, cavalos, felino (*Felis catus* [Linnaeus, 1758]), humano (*Homo sapiens* [Linnaeus, 1758]), roedores (*Akodon* spp. [Neyen, 1833]), *H. Hydrochaeris* e *Oxymycterus nasutus* (Waterhouse, 1837) e o suíno *Sus scrofa* (Linnaeus, 1758).

Do total de amostras de carrapatos (930), pulgas (20) e ácaros (3) submetidas a PCR, foram detectados fragmentos de: 1- *gltA* em 172 amostras de carrapatos (*A. aureolatum*, *A. dubitatum*, *A. longirostre*, *A. ovale*, *A. parkeri*, *A. sculptum*, *Amblyomma* sp., *D. nitens*, *R. microplus* e *R. sanguineus s.l.*) e em 7 amostras de *C. felis*; 2- *ompA* em 4 amostras de carrapatos (*A. parkeri*, *A. sculptum*, *Ixodes* sp. e *R. microplus*) e em 4 amostras de *C. felis*; 3- *ompB* em 4 amostras de carrapatos (*A. parkeri* e *R. microplus*) e 4- *htrA* em 4 amostras de carrapatos (*A. parkeri* e *A. sculptum*).

Dessas amostras, 91 foram processadas para investigar a espécie de riquetsia responsável pela infecção nos ixodídeos, onde foram identificadas dois haplótipos para o gene *gltA*, de *R. bellii* (hA em 70 amostras e hB em 13) infectando *Amblyomma* sp. (larvas) e *A. dubitatum* (ninfas, fêmeas e machos) nos municípios de Andirá, Cambará, Itambaracá, Jacarezinho, Leópolis, Ribeirão Claro, Sertaneja e Santa Mariana; *R. parkeri* cepa Mata Atlântica infectando *A. ovale* (*gltA*, macho) no município de Paranaguá e *R. microplus* (*gltA*, *ompA*; ninfa) em Pato Bragado; *Ca. R. paranaensis* (*gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB*) em três amostras de ninfas de *A. parkeri* dos municípios de Pinhais e Paulo de Frontin; *R. felis* em *A. sculptum* (*htrA*, fêmea) e *R. microplus* (*ompB*, larvas) nos municípios de São Carlos do Ivaí e Sengés, respectivamente; e *R. asemboensis* infectando *A. sculptum* (*htrA*, macho) em São Carlos do Ivaí (Figura 9; Tabela 4).

Figura 9 – Filogenia concatenada, inferida por análise de Máxima Verossimilhança com o modelo evolutivo GTR+G, de fragmentos dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB* de riquetsia (1201+ 370+ 494+ 822 pb) detectados em carrapatos analisados do Paraná/Brasil. Os números nos ramos representam valores de apoio estatístico (valor de corte 70%)



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados entre 2013 e 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
Paranaguá	Paranaguá	<i>Homo sapiens</i>	<i>Amblyomma sculptum</i>		1		1	2		
		<i>Canis familiaris</i>	<i>Amblyomma ovale</i>			14	7	21	<i>Rickettsia</i> sp. - pool 2F <i>Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica - 1M	
		<i>C. familiaris</i> /Ambiente	<i>Rhipicephalus sanguineus sensu lato</i>		1	14	9	24	<i>Rickettsia</i> sp. - 1M e 2F	
Metropolitana	Curitiba	<i>H. sapiens</i>	<i>A. sculptum</i>				1	1		
		<i>H. sapiens</i>	<i>Amblyomma parkeri</i>		1			1		
	Adrianópolis	<i>Equus caballus</i> / Ambiente	<i>A. sculptum</i>			4	4	8		



Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		<i>Bos taurus</i> / Ambiente	<i>Rhipicephalus microplus</i>		14			14	
	Pinhais	<i>H. sapiens</i>	<i>A. parkeri</i>		1			1	<i>Candidatus Rickettsia paranaensis</i> - 1N
		<i>H. sapiens</i> / <i>C. familiaris</i> / Ambiente	<i>R. sanguineus s.l.</i>		1	17	24	42	
	Colombo	<i>H. sapiens</i>	<i>Amblyomma longirostre</i>				1	1	
	Campo Largo	<i>H. sapiens</i>	<i>Amblyomma aureolatum</i>			1		1	
		Ambiente	<i>Ixodes auritulus</i>		6			6	
		Ambiente	<i>Ixodes</i> sp.		31			31	<i>Rickettsia</i> do Grupo da Febre Maculosa - pool de 5L

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
	Araucária	<i>H. sapiens/ C. familiaris</i>	<i>A. aureolatum</i>			1	1	2	<i>Rickettsia</i> sp. - 1F
	São José dos Pinhais	<i>Hydrochoerus hydrochaeris</i>	<i>Amblyomma dubitatum</i>			2	5	7	
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. aureolatum</i>			2	1	3	
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. parkeri</i>		2			2	<i>Rickettsia</i> sp. - 1N
		<i>H. sapiens/ C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>	1	23	12	20	56	
	Lapa	<i>H. sapiens/ C. familiaris</i>	<i>A. aureolatum</i>			2		2	
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. parkeri</i>		1			1	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>	
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
	Mandirituba	<i>H. sapiens</i>	<i>A. aureolatum</i>			1		1		
		<i>H. sapiens</i>	<i>Amblyomma varium gugleomoni</i>		1			1		
	Rio Negro	<i>H. sapiens</i>	<i>A. longirostre</i>				1	1		
	Tijucas do Sul	Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		12				12	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	277					277	
		<i>H. sapiens/ C. familiaris</i>	<i>A. aureolatum</i>			10	6		16	
Ponta Grossa	Ponta Grossa	Não informado	<i>A. sculptum</i>		84			84		

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		Não informado	<i>Amblyomma</i> sp.	12				12	
	Jaguariaíva	Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		971	3	1	975	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	683				683	
	Sengés	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	1,326				<b>1,326</b>	<i>Rickettsia</i> sp. - 2 pools de 5L
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		65	3	5	73	<i>Rickettsia</i> sp. - 3 pools de N (1/1/2)
		<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>				1	1	
		Ambiente	<i>R. microplus</i>	313				313	<i>Rickettsia felis</i> - pool de 10L

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		<i>E. caballus</i>	<i>Dermacentor nitens</i>		1	3	9	13	
	Piraí do Sul	Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		22		1	23	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	465				465	
	Castro	Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		11			11	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	150				150	
	Arapoti	Ambiente	<i>R. sanguineus s.l.</i>			4	15	19	
	Porto Amazonas	<i>C. familiaris</i>	<i>A. ovale</i>			10		10	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
		<i>B. taurus</i>	<i>R. microplus</i>				1	1		
Irati	Irati	<i>H. sapiens</i>	<i>A. aureolatum</i>				1	1		
	Fernandes Pinheiro	<i>H. sapiens</i>	<i>A. longirostre</i>				1	1		
	Rebouças	<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>			2	6	8		
	Rio Azul	<i>C. familiaris</i>	<i>A. aureolatum</i>				1	1		
União da Vitória	União da Vitória	<i>H. sapiens</i>	<i>A. sculptum</i>		1			1		
		<i>C. familiaris/ Felis catus</i>	<i>A. aureolatum</i>			1	4	5		

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
		<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>			5	3	8		
	Bituruna	Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		1			1		
		<i>B. taurus</i> / Ambiente	<i>R. microplus</i>				57	57		
	General Carneiro	<i>C. familiaris</i> / <i>F. catus</i> / Ambiente	<i>A. aureolatum</i>			3	11	14		
		<i>C. familiaris</i>	<i>A. parkeri</i>		1			1		
	Paula Freitas	<i>H. hydrochaeris</i>	<i>A. dubitatum</i>			1	3	4		
		<i>C. familiaris</i> / Ambiente	<i>A. aureolatum</i>				4	4		

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
		<i>H. sapiens</i>	<i>Pulex irritans</i>			1		1		
	Paulo Frontin	<i>H. sapiens/ C. familiaris/ F. catus</i>	<i>A. aureolatum</i>		2	2	9	13		
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. parkeri</i>		2			2	<i>Candidatus Rickettsia paranaensis</i> - 2N	
	São Mateus do Sul	<i>C. familiaris/ F. catus/ Ambiente</i>	<i>A. aureolatum</i>			3	4	7		
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. parkeri</i>		1			1		
		Ambiente	<i>R. sanguineus s.l.</i>		6			6		
		<i>C. familiaris/ F. catus</i>	<i>Ctenocephalides felis</i>			21	38	59		



Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
	Porto Vitória	<i>H. sapiens</i>	<i>A. longirostre</i>		1			1	<i>Rickettsia</i> sp. - 1N
	Antônio Olinto	<i>C. familiaris</i>	<i>A. aureolatum</i>			1	1	2	
		<i>B. taurus</i>	<i>R. microplus</i>		1	3	14	18	
Cascavel	Vera Cruz do Oeste	<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>			3	2	5	
	Espigão Alto do Iguaçu	<i>B. taurus</i>	<i>R. microplus</i>		11	1	4	16	<i>Rickettsia</i> sp. - 2F
	Céu Azul	Não informado	<i>R. sanguineus s.l.</i>				1	1	
	Quedas do Iguaçu	<i>B. taurus</i>	<i>R. microplus</i>		6	26	54	86	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
Campo Mourão	Campo Mourão	Ambiente	<i>A. sculptum</i>		42			42	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	29				29	
	Moreira Sales	<i>H. sapiens</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>			3	2	5	
	Ubiratã	<i>C. familiaris</i>	<i>C. felis</i>			4	18	22	<i>Rickettsia</i> sp. - 2F
Cianorte	Cianorte	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	48				48	
		<i>H. sapiens</i> / Ambiente	<i>A. sculptum</i>		4			4	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> <i>incisum</i>		5			5	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
	Japurá	<i>B. taurus/ E. caballus/ Ambiente</i>	<i>R. microplus</i>	20	1	2	8	31	
		Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	21				21	
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. sculptum</i>		2			2	
		<i>H. sapiens/ Ambiente</i>	<i>Amblyomma incisum</i>		2			2	
Paranavaí	Inajá	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	395	5		7	407	<i>Rickettsia</i> sp. - 2 pools de 10L e 1N
		Ambiente	<i>A. sculptum</i>		5	1		6	
		<i>H. sapiens/ Ambiente</i>	<i>A. dubitatum</i>			1		1	<i>Rickettsia</i> sp. - 1M

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		<i>C. familiaris</i> / Ambiente	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>			22	14	<b>36</b>	
		<i>B. taurus</i> / <i>Equus assinus</i> / <i>E. caballus</i> / <i>C. familiaris</i> / Ambiente	<i>R. microplus</i>	1,159	5	14	45	<b>1,223</b>	<i>Rickettsia</i> sp. - 1N/1M/1F
		<i>E. caballus</i> / Ambiente	<i>D. nitens</i>	95	10	16	49	<b>170</b>	<i>Rickettsia</i> sp. - 11 pools de L (5/5/5/10/10/10/10/10/10/10)
		<i>C. familiaris</i>	<i>C. felis</i>			1	6	<b>7</b>	<i>Rickettsia</i> sp.- 1M e 3F
	Porto Rico	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	156				<b>156</b>	
		Ambiente	<i>A. sculptum</i>		32	14	14	<b>60</b>	<i>Rickettsia</i> do Grupo da Febre Maculosa - 1F

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
		<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>		3	1	6	<b>10</b>		
		<i>E. caballus</i>	<i>R. microplus</i>			3	22	<b>25</b>		
		<i>E. caballus</i>	<i>D. nitens</i>	1	24	7	32	<b>64</b>		
	Querência do Norte	<i>E. caballus</i>	<i>A. sculptum</i>			6	1	<b>7</b>		
		<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>		6	1	4	<b>11</b>		
		<i>B. taurus/ E. caballus/ Ambiente</i>	<i>R. microplus</i>	116		3	5	<b>124</b>		
		<i>E. caballus</i>	<i>D. nitens</i>			1	2	<b>3</b>		

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
	Santa Mônica	<i>B. taurus</i> / <i>E. caballus</i> / Ambiente	<i>R. microplus</i>	20	7	8	16	<b>51</b>		
	Santa Isabel do Ivaí	<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>			1	1	<b>2</b>		
		<i>B. taurus</i> / Ambiente	<i>R. microplus</i>			1	4	<b>5</b>		
	Santa Cruz do Monte Castelo	<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>			2	1	<b>3</b>		
	São Carlos do Ivaí	<i>E. caballus</i> / Ambiente	<i>A. sculptum</i>			9	8	<b>17</b>	<i>Rickettsia</i> sp. - 1M e 1F <i>Rickettsia asemoensis</i> - 1M <i>Rickettsia felis</i> - 1F	
		<i>E. caballus</i> / Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	52				<b>52</b>		
		<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus</i> <i>s.l.</i>		7	3	5	<b>15</b>		

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		<i>B. taurus/ E. caballus/ C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>R. microplus</i>	1,276	13	6	40	<b>1,335</b>	
		<i>E. caballus/ Ambiente</i>	<i>D. nitens</i>	611	79	71	156	<b>917</b>	
		<i>C. familiaris</i>	<i>C. felis</i>			5	6	<b>11</b>	
Maringá	Maringá	<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>	163	37	39	10	<b>249</b>	
		<i>E. caballus</i>	<i>D. nitens</i>		5	18		<b>23</b>	
		<i>C. familiaris</i>	<i>C. felis</i>			6	20	<b>26</b>	<i>Rickettsia</i> do Grupo da Febre Maculosa - 4 pools de F (3/3/2/2)
	Paiçandu	<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>			1	1	<b>2</b>	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
	Doutor Camargo	<i>H. sapiens</i>	<i>A. sculptum</i>		1			1	
Apucarana	Rio Bom	<i>H. sapiens</i>	<i>A. sculptum</i>		6			6	<i>Rickettsia</i> sp. - 1N
		<i>H. sapiens</i>	<i>A. dubitatum</i>		1			1	
		Ambiente	<i>R. sanguineus s.l.</i>		4		1	5	
		<i>H. sapiens/ B. taurus/ Ambiente</i>	<i>R. microplus</i>	10			11	21	<i>Rickettsia</i> sp. - 4F
		<i>C. familiaris</i>	<i>C. felis</i>			1	2	3	<i>Rickettsia</i> sp. - 1F
Cornélio Procópio	Sertaneja	<i>Oxymycterus nasutus/ Ambiente</i>	<i>Amblyomma</i> sp	1,323				1,323	<i>Rickettsia</i> sp. - 3 pools de L (1/10/10) <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - pool de 5L



Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		<i>Oxymycterus nasutus</i> / Ambiente	<i>A. sculptum</i>		15	2		17	
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		290	12	11	313	<i>Rickettsia</i> sp. - 2 pools de N (5/2) e 1M <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 3 pools de 5N
	Leópolis	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	1,504	1			1,505	<i>Rickettsia</i> sp. - 3 pools de 10L <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - pool de 10L
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		1,257	322	242	1,821	<i>Rickettsia</i> sp. - 3 pools de 2N, 1M e 1F <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 3 pools de N (5/5/3) <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo B - 2 pools de 10N e 2F
	Itambaracá	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	485				485	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 2 pools de L (6/3)
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		422	59	50	531	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 12 pools de 12 N (4/4/4/3/3/3/3/3/2/2), 2M e 7F <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo B - 3 pools de 3N
	Andirá	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	1,051				1,051	<i>Rickettsia</i> sp. - 9 pools de L (15/12/6/10/10/10/10/10/10)



Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
	Santa Mariana	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	642				<b>642</b>	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 4 pools de L (5/5/5/7)
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		268	85	73	<b>426</b>	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 2M e 2F
Jacarezinho	Jacarezinho	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	206				<b>206</b>	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - pool de 4L
		Ambiente	<i>A. sculptum</i>		9	6	14	<b>29</b>	
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		753	34	32	<b>819</b>	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 2 pools de 5N <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo B - pool de 5N
	Ribeirão Claro	<i>H. sapiens/ C. familiaris/ E. caballus/ Ambiente</i>	<i>Amblyomma</i> sp	1,251	2			<b>1,253</b>	<i>Rickettsia</i> sp. - 9 pools de L (9/20/20/20/25/25/25/30/30) <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 1L <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo B - 2 pools de 6L
	Ribeirão Claro	<i>H. sapiens/ C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>A. sculptum</i>		30	4		<b>34</b>	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
		<i>E. caballus/ Ambiente</i>	<i>A. dubitatum</i>		570	20	19	<b>609</b>	<i>Rickettsia</i> sp. - 2N e 1F <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 1N e 1F <i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo B - pool de 5N e 1M
		<i>C. familiaris</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>		1	4		<b>5</b>	
		<i>E. caballus/ Ambiente</i>	<i>R. microplus</i>		3	11	16	<b>30</b>	
	Carlópolis	<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>Amblyomma</i> sp	336				336	<i>Rickettsia</i> sp. - 3 pools de L (10/16/17)
		<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>A. sculptum</i>		2	3	6	<b>11</b>	
		<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>A. dubitatum</i>		224	8	14	246	
		<i>C. familiaris/ Ambiente</i>	<i>R. sanguineus s.l.</i>		30	9	15	54	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes					Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea			
	Santana do Itararé	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	458				458		
		Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		262	10	9	281		
	Pinhalão	<i>E. caballus</i>	<i>A. sculptum</i>			3	7	<b>10</b>		
		<i>E. caballus</i>	<i>D. nitens</i>		1		1	<b>2</b>		
	Tomazina	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp.	608	6			614		
		Ambiente	<i>A. sculptum</i>		322	30	25	<b>377</b>		
Ambiente		<i>A. dubitatum</i>		812	33	29	874			

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (continua)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninfa	Macho	Fêmea		
	Cambará	Ambiente	<i>Amblyomma</i> sp	562	1			563	<i>Rickettsia</i> sp. - pool de 2L
		<i>C. familiaris</i>	<i>A. sculptum</i>				1	1	
		<i>C. familiaris</i> / Ambiente	<i>A. dubitatum</i>		227	2		229	<i>Rickettsia bellii</i> Haplótipo A - 3 pools de 5N
		<i>E. caballus</i> / <i>C. familiaris</i> / Ambiente	<i>R. sanguineus</i> s.l.	70	129	103	75	377	<i>Rickettsia</i> sp. - 1N e 1F
Toledo	Pato Bragado	<i>B. taurus</i>	<i>R. microplus</i>		13	48	77	138	<i>Rickettsia</i> sp. - 1M <i>Rickettsia parkeri</i> cepa Mata Atlântica - 1N
Telêmaco Borba	Ortigueira	<i>Akodon</i> spp.	<i>Gigantolaelaps</i> sp	4	5			9	
		<i>Akodon</i> spp.	<i>Gigantolaelaps</i> <i>wolffsohni</i>			3	3	6	

Tabela 4 – Dados de amostras de artrópodes coletados de 2013 a 2018 no estado do Paraná/Brasil, submetidos a detecção e identificação de riquetsias (conclusão)

Região de Saúde	Município	Hospedeiro/ Ambiente	Espécies	Artrópodes				Total	<i>Rickettsia</i>
				Larva	Ninf a	Macho	Fême a		
		<i>Akodon</i> spp.	<i>Androlaelaps rotundus</i>				4	4	
<b>Total</b>				<b>16,554</b>	<b>8,287</b>	<b>1,336</b>	<b>1,604</b>	<b>28,276</b>	

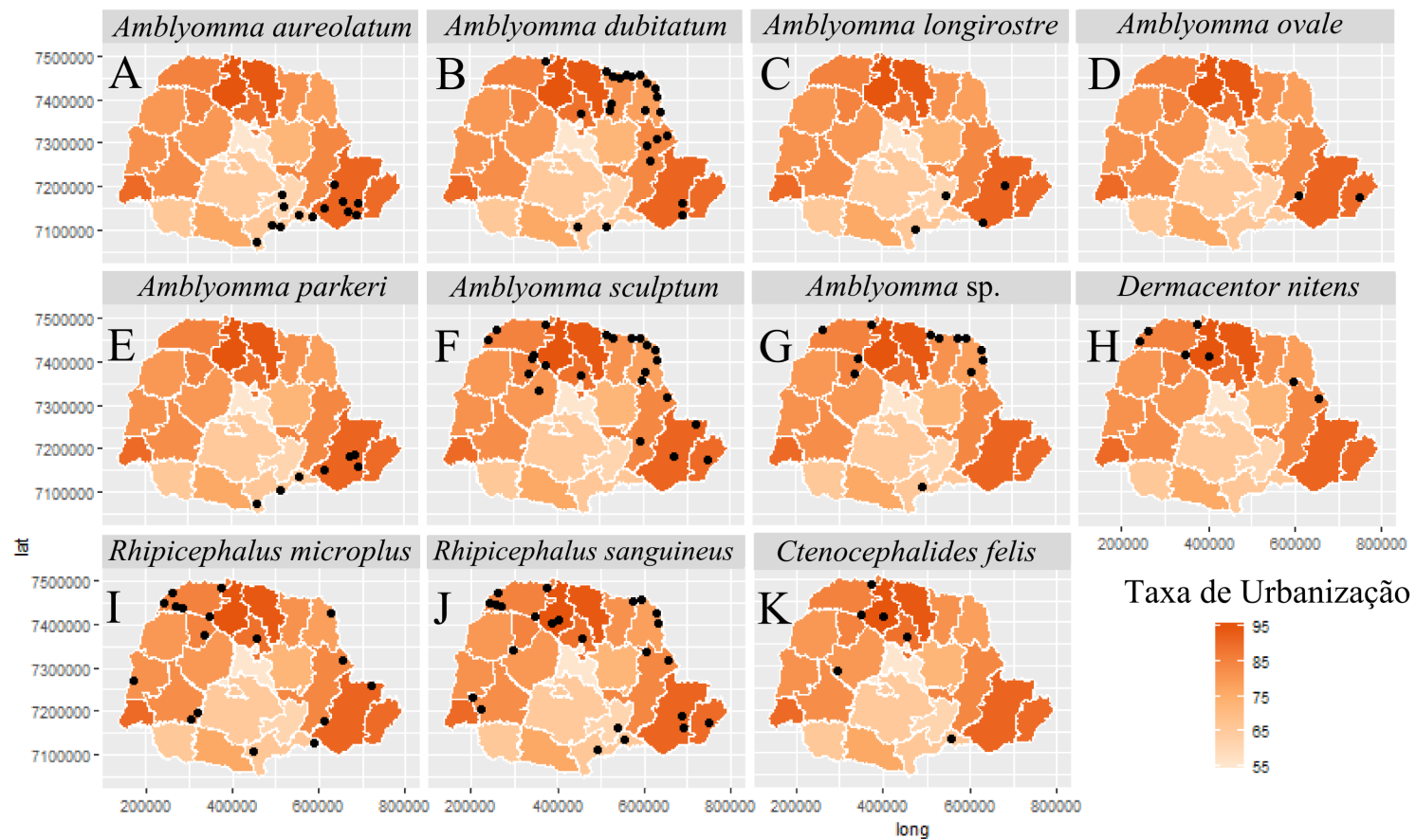
L – larva; N – ninfa; M – macho; F – fêmea; (n) – número de carrapatos

Fonte: Elaborado pela autora (2020).

De forma geral, a maior parte dos potenciais vetores foi coletada em áreas de RS com maiores razões de urbanização (61,10% - 95,00%) (Figura 10). Com relação às características ambientais, a ocorrência dos potenciais vetores se deu em ambos os tipos climáticos (Cfa e Cfb) (Figura 11); contudo, a espécie *A. sculptum* foi amplamente relatada na porção norte do estado, de tipo climático Cfa, onde há registro de óbitos por FM relacionado à *R. rickettsii* (Figura 11F). Já as espécies *A. aureolatum*, *A. longirostre* e *A. parkeri* predominaram na porção sudeste do PR, em áreas de maior altitude e tipo Cfb (Figura 11A, C, E); *A. dubitatum* foi registrado, predominantemente, no nordeste em área Cfa (Figura 11B); enquanto que as espécies *R. sanguineus s.l.*, *R. microplus* e *C. felis* ocorrem nos dois tipos climáticos (Figura 11J, I, K). Quanto ao tipo de solo, os potenciais vetores foram coletados em áreas com agricultura, pastagem e campo, e cobertura florestal (Figura 12). Quase todas as bacias hidrográficas do estado registraram ocorrência dos potenciais vetores (Figura 13).

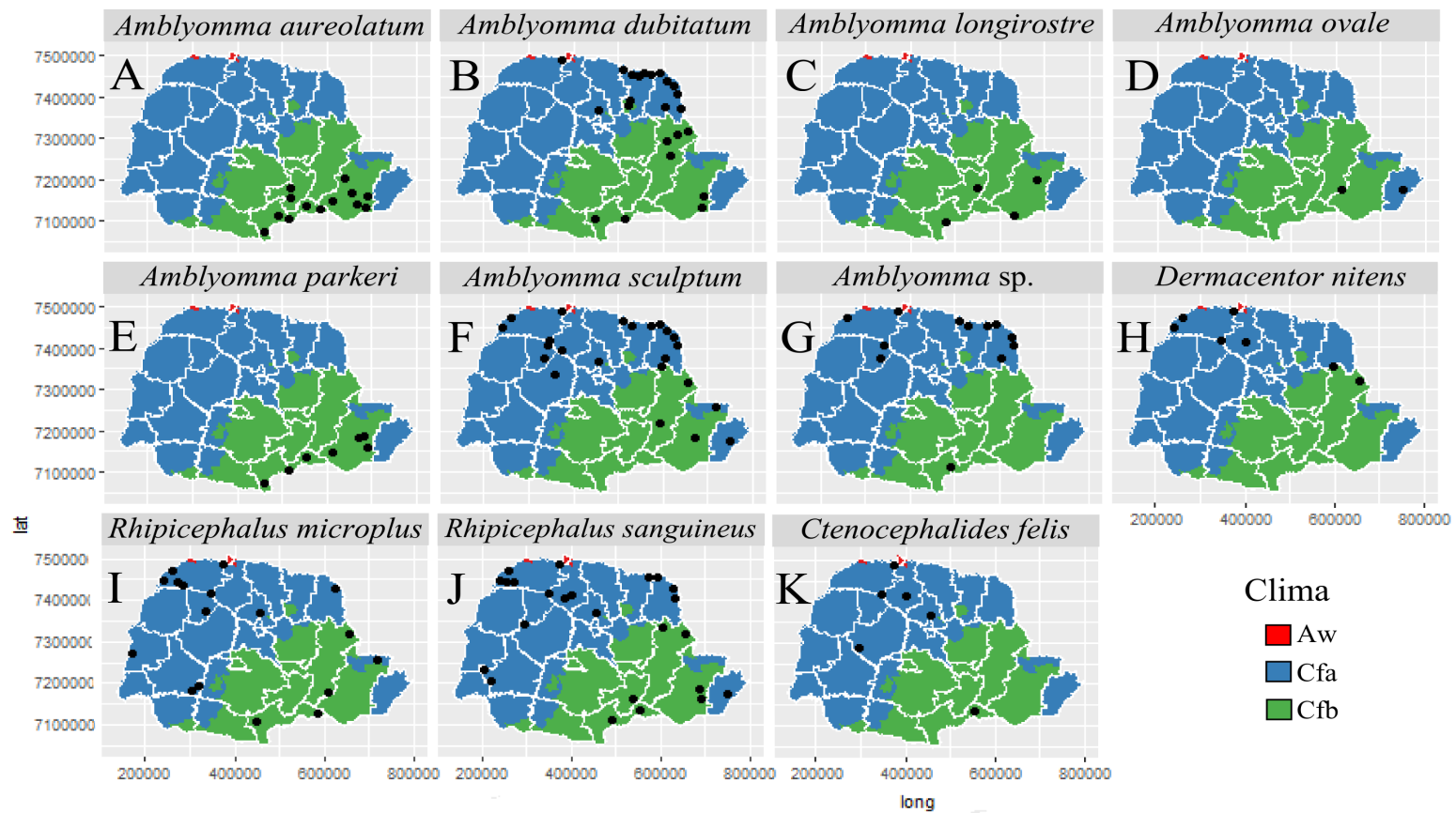


Figura 10 – Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018 no estado do Paraná/Brasil, segundo a razão de urbanização ([A] *Amblyomma aureolatum*, [B] *Amblyomma dubitatum*, [C] *Amblyomma longirostre*, [D] *Amblyomma ovale*, [E] *Amblyomma parkeri*, [F] *Amblyomma sculptum*, [G] *Amblyomma* sp., [H] *Dermacentor nitens*, [I] *Rhipicephalus microplus*, [J] *Rhipicephalus sanguineus* e [K] *Ctenocephalides felis*)



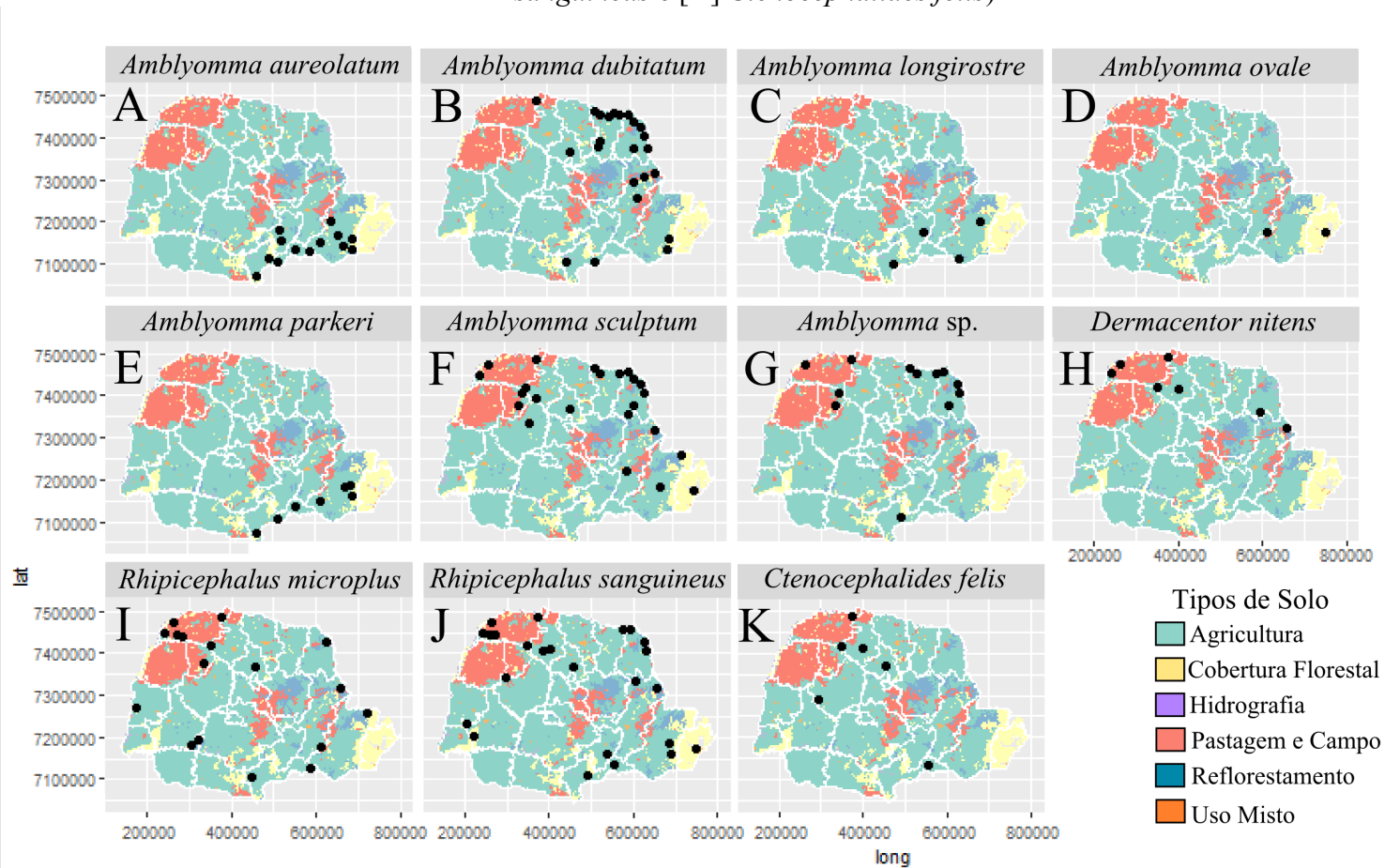
Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Figura 11 – Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018, no estado do Paraná/Brasil, de acordo com indicadores de Tipos climáticos ([A] *Amblyomma aureolatum*, [B] *Amblyomma dubitatum*, [C] *Amblyomma longirostre*, [D] *Amblyomma ovale*, [E] *Amblyomma parkeri*, [F] *Amblyomma sculptum*, [G] *Amblyomma* sp., [H] *Dermacentor nitens*, [I] *Rhipicephalus microplus*, [J] *Rhipicephalus sanguineus* e [K] *Ctenocephalides felis*)



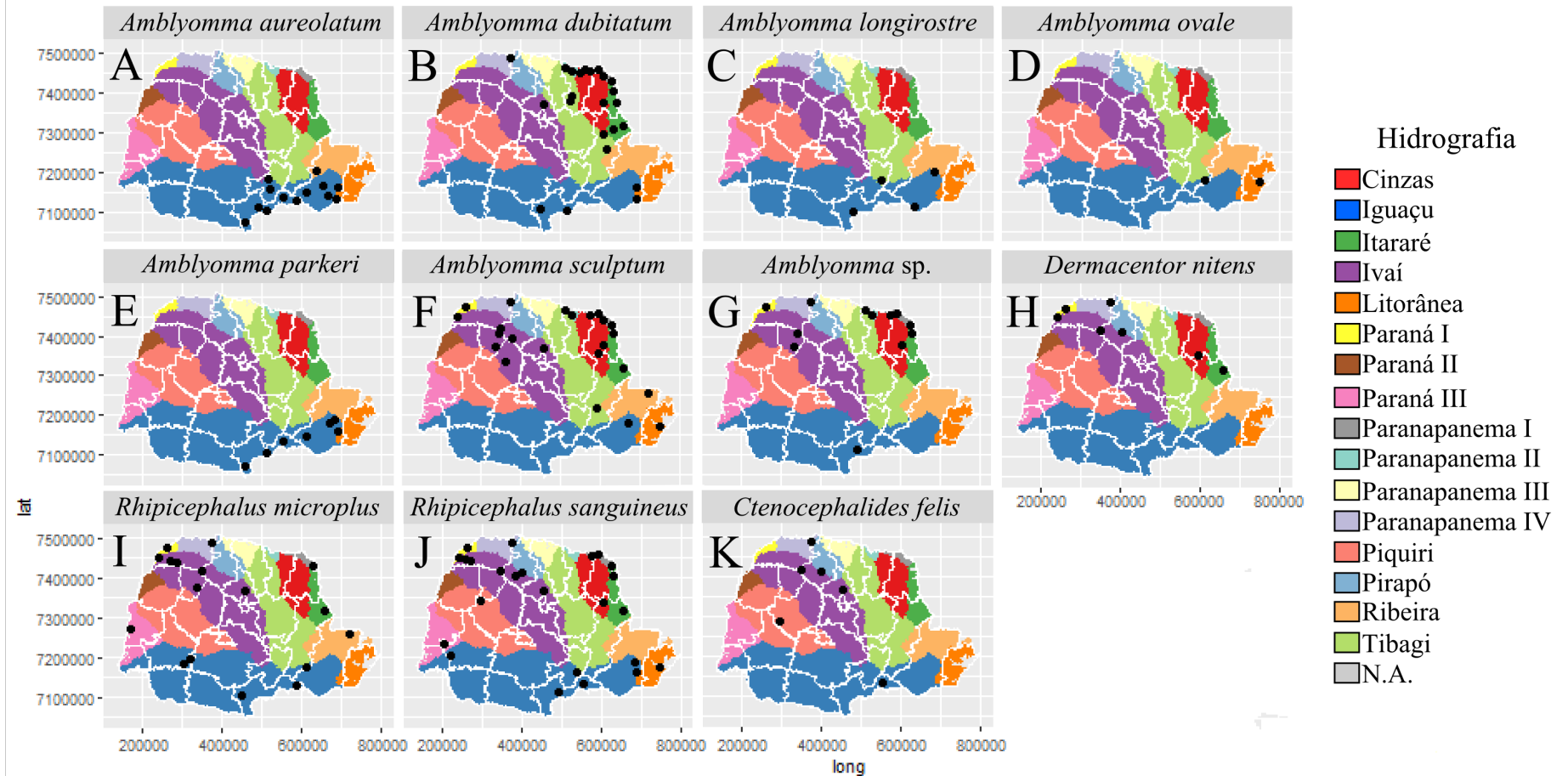
Fonte: Elaborado pela autora (2020).

Figura 12 – Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018, no estado do Paraná/Brasil, de acordo com os Tipos de solo ([A] *Amblyomma aureolatum*, [B] *Amblyomma dubitatum*, [C] *Amblyomma longirostre*, [D] *Amblyomma ovale*, [E] *Amblyomma parkeri*, [F] *Amblyomma sculptum*, [G] *Amblyomma* sp., [H] *Dermacentor nitens*, [I] *Rhipicephalus microplus*, [J] *Rhipicephalus sanguineus* e [K] *Ctenocephalides felis*)



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

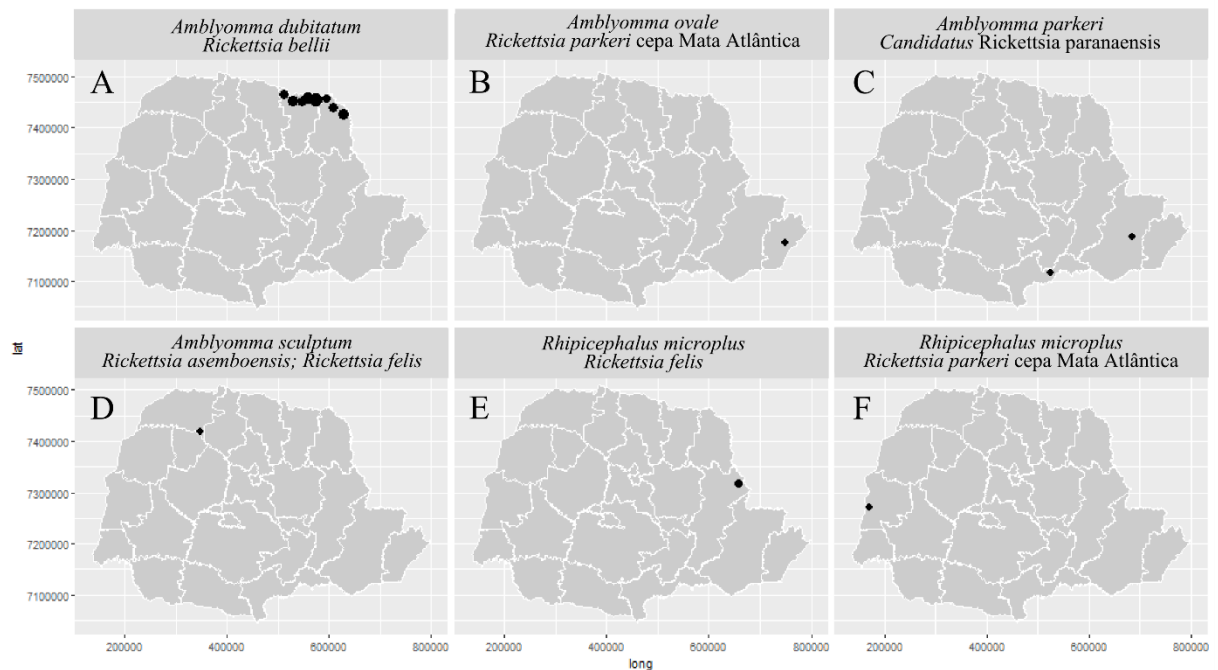
Figura 13 – Distribuição dos potenciais vetores da Febre Maculosa, entre 2013 e 2018, no estado do Paraná/Brasil, de acordo com a Hidrografia ([A] *Amblyomma aureolatum*, [B] *Amblyomma dubitatum*, [C] *Amblyomma longirostre*, [D] *Amblyomma ovale*, [E] *Amblyomma parkeri*, [F] *Amblyomma sculptum*, [G] *Amblyomma* sp., [H] *Dermacentor nitens*, [I] *Rhipicephalus microplus*, [J] *Rhipicephalus sanguineus* e [K] *Ctenocephalides felis*)



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

De acordo com a distribuição espacial dos potenciais vetores e riquetsias nos ambientes/hospedeiros, foi possível observar a potencial dinâmica da FM no estado do PR: ocorrência de *A. ovale* – no cão – com *R. parkeri* cepa Mata Atlântica – no litoral (em área de Mata Atlântica preservada); *A. parkeri* – em humano – infectado com *Ca. R. paranaenses* – em Mata Atlântica não preservada; *A. dubitatum* – com *R. bellii* – associado a antropização; *A. aureolatum* – em humano – infectado com *Rickettsia* sp. – em área de borda de mata de ambiente urbanizado; *R. sanguineus s.l.* – no cão – com infecção por *Rickettsia* sp. – em áreas urbanizadas; *C. felis* – no cão – com RGFM – em áreas antropizadas. Mesmo não tendo encontrado infecção por *R. rickettsii* nos carrapatos analisados, a ocorrência de *A. sculptum* – seu principal vetor – é registrada nas áreas de óbitos em regiões antropizadas (Figuras 9 e 14).

Figura 14 – Distribuição de *Rickettsia* spp. da Febre Maculosa no estado do Paraná/Brasil, de 2013 a 2018, segundo as Regiões de Saúde ([A] *Amblyomma dubitatum/Rickettsia bellii*, [B] *Amblyomma ovale/Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica, [C] *Amblyomma parkeri/Candidatus Rickettsia paranaensis*, [D] *Amblyomma sculptum/Rickettsia asemoensis* e *Rickettsia felis*, [E] *Rhipicephalus microplus/Rickettsia felis* e [F] *Rhipicephalus microplus/Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica)



Fonte: Elaborado pela autora (2020).

## 5 DISCUSSÃO

São raros os estudos ecoepidemiológicos sobre FM no Brasil (e.g. PINTER *et al.*, 2016; MONTENEGRO *et al.*, 2017), especialmente considerando a complexidade dos cenários de transmissão no país ou ausência de conhecimento sobre estes, havendo, principalmente, estudos mais direcionados à sua ecologia ou epidemiologia (SZABÓ *et al.*, 2013a; NASSER *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2016a; KRAWCZAK *et al.*, 2016; MOERBECK *et al.*, 2016; WECK *et al.*, 2016; BITENCOURTH *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2018; BITENCOURTH *et al.*, 2019; SATO *et al.*, 2020), o que dificulta uma análise mais contextualizada e comparativa de resultados que sejam direcionados às ações efetivas em saúde pública.

No PR, o primeiro caso confirmado de FM ocorreu no ano de 2006 (SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ, 2019), estimulando o desenvolvimento de estudos neste estado (BATISTA *et al.*, 2010; FORTES *et al.*, 2010; FREITAS *et al.*, 2010; OTOMURA *et al.*, 2010; TAMEKUNI *et al.*, 2010; FORTES *et al.*, 2011; TAMEKUNI *et al.*, 2011; TOLEDO *et al.*, 2011; PACHECO *et al.*, 2012; OTOMURA *et al.*, 2016), a maioria buscando informações básicas sobre a circulação de riquetsia em uma determinada área, com pouca associação direta à investigação de casos ou ao Sistema de Vigilância. Assim, apesar do avanço no conhecimento sobre riquetsiose, pouco evoluiu o entendimento sobre o seu ciclo enzoótico e epidêmico no PR. Igualmente, o entendimento epidemiológico sobre a FM no território paranaense é incipiente, mesmo considerando que a partir do primeiro caso houve um incremento no número de notificações (Figura 3), sinalizando uma maior sensibilização do sistema de saúde para a detecção de casos. Os resultados obtidos neste estudo nos permitiram um primeiro reconhecimento descritivo da FM no PR que, dentro de um contexto geral, tem um perfil próximo àquele já estudado para outras áreas endêmicas do Brasil, particularmente ao da região Sudeste.

Nesse contexto, a análise da frequência de casos notificados no PR nos permite observar três padrões de frequência (2006-2009, 2010-2014 e 2015-2017) (Figura 3), o que também foi detectado em outros estudos (OLIVEIRA *et al.*, 2016a; MONTENEGRO *et al.*, 2017), evidenciando a relação direta entre as ações em Saúde Pública e o aumento nas notificações de FM, especialmente a partir da Portaria 1.271 do MS, nº 1.271, de 6 de junho de 2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014), redefinindo a classificação da doença para notificação compulsória imediata (em até 24 horas). Igualmente, nossos resultados indicam que a distribuição temporal dos casos notificados é maior no período entre agosto e dezembro, com

pico no mês de outubro (Figura 4). Esse também é o período com maior número de casos confirmados (Figura 5). Assim, entre o terço final do inverno e o início do verão ocorre a maior incidência de FM no PR, o que também já foi observado para outras áreas endêmicas do Brasil (GALVÃO, 1996; LEMOS *et al.*, 1997a; OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Esta sazonalidade da doença coincide com a maior disponibilidade de estádios imaturos do carrapato (LEMOS *et al.*, 1997b) e, dessa forma, a inversão do coeficiente de morbidade para FM no PR deve passar pelo controle de vetores ainda no período de inverno, adotando estratégias específicas às espécies envolvidas no ciclo epidêmico, tanto em ambiente como em vertebrados.

A maioria dos casos confirmados era do sexo masculino, corroborando os dados de estudos sobre a epidemiologia da FM no Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2016a) e do Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 2015). A maior incidência dos casos confirmados foi de homens e mulheres residentes em zona urbana que se infectaram na zona rural. Contudo, indivíduos do sexo masculino adquiriram o agente etiológico especialmente em atividades de lazer, ao que tudo indica durante visita em ambientes de mata, florestas, rios e cachoeiras, enquanto os indivíduos do sexo feminino foram mais infectados durante tarefas domésticas. Esse perfil também já foi observado no Brasil, se assemelhando àquele reconhecido para a região Sudeste, onde existe o maior número de casos e óbitos do país (ANGERAMI *et al.*, 2006). Da mesma forma, pessoas que se declararam brancas constituem a maior parte dos pacientes com FM no PR, o que também parece ser comum para outras regiões do país (OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Provavelmente essa característica étnica se deve à colonização da região sul do Brasil ter se constituído principalmente por europeus (italianos, alemães e poloneses) durante meados do século XIX (SEYFERTH, 1986).

A maioria dos casos usou como critério de confirmação a sorologia, o que também ocorre em outros estados do Brasil (OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Contudo, este método diagnóstico não determina a espécie do bioagente, devendo os resultados serem interpretados dentro de um contexto clínico epidemiológico, uma vez que o contato com carrapatos permanece sendo importante na suspeita de FM (LEMOS *et al.*, 2001; LEMOS *et al.*, 2002; ANGERAMI *et al.*, 2006; MONTENEGRO *et al.*, 2017), enquanto que o contato com capivaras, presente em 5,40% (2/37) dos relatos neste estudo, não parece ser fator relevante na suspeita de FM, como também notado no RJ (MONTENEGRO *et al.*, 2017).

O cenário epidemiológico da FM é bastante variável no Brasil. Assim, casos graves e óbitos ocorrem onde o LPI é principalmente em zona rural ou periurbana do bioma Mata Atlântica da região Sudeste, com o ciclo epidêmico envolvendo a transmissão de *R. rickettsii* por *A. sculptum*. Capivaras e equinos são os principais vertebrados envolvidos na circulação

desse carrapato infectado no ambiente antrópico, e as infecções ocorrem principalmente em homens durante atividades de trabalho ou lazer naqueles ambientes, especialmente em áreas próximas a coleções hídricas ou de plantio, particularmente de cana de açúcar (PINTER *et al.*, 2011; SZABÓ *et al.*, 2013a; SOUZA *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Entretanto, ainda dentro desse cenário, é crescente o número de casos em mulheres e crianças que se infectam em ambiente domiciliar no periurbano e urbano, provavelmente com a transmissão de *R. rickettsii* por *R. sanguineus s.l.* (ANGERAMI *et al.*, 2006; NASSER *et al.*, 2015; SOUZA *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Esse contexto não pode ser descartado para o PR, onde foi detectada a presença de seis amostras de *R. sanguineus s.l.* infectadas com *Rickettsia* sp., dessas três amostras pertenciam as RS com óbitos confirmados no norte do estado (Tabela 1 e 4).

Ainda relacionado ao ciclo da FMB, apesar da presença de *A. aureolatum* infectado com *Rickettsia* sp. na região metropolitana do PR (Tabela 4), esse ixodídeo parece não participar do ciclo da doença fora do estado de SP (SZABÓ *et al.*, 2013a), portanto não teria participação na dinâmica analisada da FM. Apesar de não termos detectado a presença de *R. rickettsii* em nosso estudo, o que não é incomum mesmo em áreas endêmicas onde sabidamente ocorrem casos graves e óbitos associados à *R. rickettsii* (MACALUSO *et al.*, 2002; SANGIONI *et al.*, 2005; PINTER *et al.*, 2006), esse cenário parece ser semelhante àquele observado para o norte do PR, onde se concentra a totalidade dos óbitos no estado (Figura 2C), e onde *A. sculptum* foi encontrado em alta frequência (Figura 11F). Igualmente, dados do presente estudo, bem como aqueles apresentados por Oliveira *et al.* (2016b), apontam o LPI dos óbitos no PR em zona rural, com a infecção ocorrendo durante atividade de lazer e trabalho, ou zona periurbana, em ambiente domiciliar, coincidindo com cenário conhecido para a FMB (PAROLA *et al.*, 2013; SZABÓ *et al.*, 2013a; OLIVEIRA *et al.*, 2016a). Por outro lado, o expressivo encontro de *A. dubitatum* infectado por *R. bellii*, principalmente relatado na área onde se concentram os cinco óbitos no PR, pode estar associado com papel do “efeito diluidor” (OSTFELD; KEESING, 2000), fazendo com que a infecção por *R. rickettsii* seja regulada pela infecção por *R. belli*, devido a primo infecção dos carrapatos (PRICE, 1954; LOVING *et al.*, 1978; BURGDORFER *et al.*, 1981; SAKAI *et al.*, 2014).

O cenário epidemiológico de casos brandos e moderados no Brasil ocorre onde o LPI é o ambiente rural ou urbano, em área de mata ou borda de mata do bioma Mata Atlântica das regiões Sul, Sudeste e Nordeste do país, especialmente aquelas próximas ao litoral, com o ciclo epidêmico envolvendo a transmissão de *R. parkeri* cepa Mata Atlântica por *A. ovale*. O indivíduo adquire o bioagente ao entrar em contato com o carrapato infectado na mata, ou quando cães entram na mata e carregam o vetor para o ambiente peridomiciliar e domiciliar



(PAROLA *et al.*, 2013; SZABÓ *et al.*, 2013a; MOERBECK *et al.*, 2016; VIZZONI *et al.*, 2016). Esse cenário provavelmente ocorre na região litorânea e sul do PR, onde encontramos áreas de mata próximas ao ambiente urbano e onde foi possível detectar *A. ovale* infectado por *R. parkeri* cepa Mata Atlântica (Figura 14B; Tabela 4; BITENCOURTH *et al.*, 2019). Apesar da detecção de *R. microplus* com essa riquetsia, na região oeste do PR (20ª RS - Toledo) esse carrapato é incriminado participando do ciclo enzoótico da FM e pode ser útil para detectar a presença e circulação de riquetsias (SATO *et al.*, 2020). Papel semelhante pode ser desenvolvido por *D. nitens* (MONTENEGRO *et al.*, 2017), que também foi detectado com *Rickettsia* sp. em amostras de larvas no noroeste do PR (14ª RS - Paranavaí) (Figura 9; Tabela 4).

Adicionalmente, na região sul do estado, *A. parkeri*, um carrapato com capacidade antropofílica, já foi detectado infectado por *Ca. R. paranaensis*, espécie genotipicamente próxima a *R. parkeri*, *R. africae* e *R. sibirica*, todas sabidamente patogênicas, e onde os casos são considerados brandos, apontando um provável ciclo epidêmico (BORSOI *et al.*, 2019) (Figuras 9 e 14C; Tabela 4). Outro possível cenário onde ocorrem casos brandos é aquele onde o LPI está em ambiente rural, em área de mata ou borda de mata do bioma Pampa, no Sul do Brasil, onde o ciclo epidêmico parece envolver a transmissão de *R. parkeri* por *A. tigrinum* (WECK *et al.*, 2016). Entretanto, a ausência de *A. tigrinum* nas amostras de carrapatos coletadas nos permite descartar esse cenário no PR.

No Brasil, os cães têm sido indicados como importantes animais sentinelas da situação epidemiológica da FM, devido a sua participação em alguns cenários de infecção por riquetsia, de forma direta ou indireta nos ciclos epidêmico e enzoótico, ou na manutenção de ectoparasitos ou riquetsias (GEHRKE *et al.*, 2009; MORAES-FILHO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2010; ROZENTAL *et al.*, 2015), bem como o risco potencial à transmissão humana, quando carregam vetores para o ambiente doméstico. Assim, o encontro de *C. felis* de cães positivas pra RGFM no norte do PR (Tabela 4) chama a atenção para o potencial envolvimento desse artrópode e seus hospedeiros vertebrados no ciclo enzoótico das riquetsias. Nesse contexto, as bactérias *R. felis* e *R. asemboensis* são geneticamente próximas e relatadas em pulgas e carrapatos parasitos de cães. O bioagente da “Flea-borne spotted fever”, *R. felis* tem ampla distribuição geográfica e está associado a casos brandos de riquetsiose, com caso confirmado no Brasil (RAOULT *et al.*, 2001; FANG *et al.*, 2017). No entanto, além de ser detectada em várias espécies de artrópodes hematófagos, como em *A. sculptum* e *R. microplus* no PR (SATO *et al.*, 2020) (Figuras 9 e 14D, E; Tabela 4), a maioria dos relatos está associada às pulgas *Ctenocephalides* sp. Recentemente descrita, *R. asemboensis* é uma bactéria emergente associada a animais

domésticos, roedores e seus ectoparasitos. Os relatos de *R. asemboensis* em artrópodes no país são recentes (DALL'AGNOL *et al.* 2017; SILVA *et al.* 2017; BITENCOURTH *et al.*, 2019) (Figuras 9 e 14; Tabela 4) e pouco se sabe sobre a biologia e potencial doença associada a essa riquetsia no Brasil.

Não foi possível estabelecer o cenário de áreas do PR onde ocorreram casos com hospitalizações e sem óbitos (Figuras 7 e 8), ou mesmo buscarmos um entendimento presuntivo para esse cenário. Apesar de em essas áreas termos detectado a presença de carrapatos já incriminados na transmissão dos bioagentes da FM (*A. aureolatum*, *A. ovale*, *A. parkeri*, *A. sculptum* e *R. sanguineus s.l.*), não sabemos se as hospitalizações se deram devido a condições inerentes aos pacientes – *e.g.* comorbidades, características gênicas, baixa imunológica – ou próprias do patógeno – *e.g.* espécie de riquetsia ainda não incriminada em casos de FM no Brasil ou já incriminada, mas com patogenicidade diferenciada. A falta de conhecimento sobre o cenário epidêmico da FM não é incomum em outras áreas do país (OLIVEIRA *et al.*, 2016a; BITENCOURTH *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2018; MACHADO *et al.*, 2018; BITENCOURTH *et al.*, 2019; SATO *et al.*, 2020), o que provavelmente está associado à falta de investigação adequada e oportuna no paciente e no ambiente, buscando caracterizar os fatores determinantes e condicionantes de cada caso.

O encontro dos carrapatos *A. incisum* e *A. varium*, da pulga *P. irritans*, dos ácaros *A. rotundus*, *Gigantolaelaps sp.* e *G. wolffsohni*, e do piolho *H. suis* durante as coletas de vigilância e investigação de casos da FM constituem registros isolados; segundo a literatura, esses artrópodes não têm participação nos ciclos epidêmicos da FM. Igualmente, apesar da detecção de exemplares de *A. longirostre* e *Ixodes sp.* infectados com *Rickettsia sp.* e RGFM, respectivamente, eles parecem não participar dos ciclos da FM, mas podem atuar como sinalizadores da circulação de riquetsias na região (Tabela 4).

Todos os cenários analisados para o PR exibem aspectos ecoepidemiológicos bem relacionados aos focos (Norte Pioneiro, regiões metropolitana, litorânea e sul), com os casos variando clinicamente no espaço, ilustrando a complexidade da FM (SILVEIRA *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2016b). A FM ainda é um desafio para Saúde Pública brasileira devido ao desconhecimento das características clínicas pelos profissionais da saúde, aspectos ecoepidemiológicos associados com o risco de infecção (exposição ao potencial vetor-carrapato e às áreas de transmissão), refletindo assim, em prováveis subnotificações (PAROLA *et al.*, 2013; OLIVEIRA *et al.*, 2016a), o que mostra que há muito a ser elucidado sobre a real situação da FM no estado do PR.

Ainda que este estudo tenha exibido espacialmente áreas endêmicas e assinalado aspectos ecoepidemiológicos dos focos para uma melhor compreensão da dinâmica e dos fatores de vulnerabilidade da FM no PR, a fim de ter uma perspectiva mais focada na prevenção e controle de casos, há algumas sugestões que devem ser abordadas:

- 1) capacitação dos profissionais de saúde para diagnosticar precocemente casos suspeitos;
- 2) identificação de novas áreas de transmissão;
- 3) necessidade que a Rede Nacional de Vigilância de Ambientes para Febre Maculosa e outras Riquetsioses investigue vetores em municípios com casos confirmados de FM;
- 4) georreferenciamento dos casos (suspeitos e confirmados);
- 5) melhorias nas técnicas de coleta de vetores;
- 6) preenchimento completo da ficha de investigação;
- 7) estratégias permanentes de educação em saúde, conscientizando a população dos riscos inerentes da FM;
- 8) estudos adicionais nas áreas vulneráveis do Norte Pioneiro, regiões metropolitana, litorânea e sul do estado do PR;
- 9) retirada de dois casos confirmados que evoluíram para óbitos, uma vez que esses indivíduos tiveram como LPI outros estados (São Paulo e Mato Grosso);
- 10) investigação de ambiente em todos os municípios que tiveram casos confirmados de FM, uma vez que verificamos que em seis (Altônia, Capitão Leônidas Marques, Diamante D'Oeste, Medianeira, Rolândia e Tupãssi) onde ocorreram casos com hospitalizações (consideradas áreas vulneráveis) não foi realizada a investigação do ambiente.

## 6 CONCLUSÃO

O presente estudo sobre a biodiversidade de potenciais vetores de riquetsias e aspectos epidemiológico da FM no estado do PR permitiu concluir que:

- Os ectoparasitos coletados no estado do PR foram: *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma incisum*, *Amblyomma longirostre*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma parkeri*, *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma varium*, *Dermacentor nitens*, *Ixodes auritulus*, *Rhipicephalus microplus*, *Rhipicephalus sanguineus sensu lato*, *Ctenocephalides felis*, *Pulex irritans*, *Polygenis roberti*, *Androlaelaps rotundus*, *Gigantolaelaps wolffsohni*, *Haematopinus suis*.
- No PR circulam carrapatos infectados com as seguintes riquetsias detectadas molecularmente: *Candidatus Rickettsia paranaensis*, *Rickettsia asemboensis*, *Rickettsia felis*, *Rickettsia bellii*, *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica.
- Observou-se infecção de *Amblyomma parkeri* por *Candidatus Rickettsia paranaensis*; *Amblyomma ovale* e *Rhipicephalus microplus* por *Rickettsia parkeri* cepa Mata Atlântica; *Amblyomma sculptum* e *Rhipicephalus microplus* por *Rickettsia felis*; *Amblyomma sculptum* por *Rickettsia asemboensis* e *Amblyomma dubitatum* por *Rickettsia bellii* (Haplótipos A e B).
- Existem ao menos quatro cenários de FM no estado do PR, e esses estão localizados na mesorregião do Norte Pioneiro (a qual concentra todos os óbitos por FM), regiões metropolitana, litorânea e sul;
- O parasitismo em humanos por *Amblyomma parkeri* infectado com *Candidatus Rickettsia paranaensis* reforça a importância dessa espécie como vetor do patógeno no estado;
- O contato com carrapato como fator preditivo para perceber casos de infecção por riquetsias continua sendo importante, contudo, o contato com capivaras não parece ser fator relevante na suspeita de FM no PR;

- A maioria dos casos confirmados se deu em homens brancos residentes de zona urbana que se infectaram na zona rural durante atividades de lazer.

## REFERÊNCIAS

- ALJANABI, S. M.; MARTINEZ, I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. **Nucl. Acids. Res.**, v. 25, n. 22, p. 4692-93, 1997.
- ANGERAMI, R. N. *et al.* Brazilian spotted fever: a case series from an endemic área in Southeastern Brazil epidemiological aspects. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1078, n. 1, p. 170-172, 2006.
- ANISIMOVA, M.; GASCUEL, O. Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. **Syst. Biol.**, v. 55, p. 539-552, 2006.
- AUNG, A. K.; SPELMAN, D. W.; MURRAY, R. J.; GRAVES, S. Rickettsial infections in Southeast Asia: implications for local populace and febrile returned travelers. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 91, n. 3, p. 451-460, 2014.
- AZAD, A. F.; RADULOVIC, S.; HIGGINS, J. A.; NODEN, B. H.; TROYER, J. M. Fleaborne Rickettsioses: ecologic considerations. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 3, n. 3, p. 319-327, 1997.
- BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - vectors of diseases of man and animals. **Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America**, v. 8, p. 160-376, 1972.
- BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; BRUHN, F. R. P.; CARDOSO, D. L.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Altitudinal Assessment of *Amblyomma aureolatum* and *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), Vectors of Spotted Fever Group Rickettsiosis in the State of São Paulo, Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 52, n. 5, p. 1170-1174, 2015. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26336213>. Acesso em: 18 jun. 2020.
- BARCI, L. A. G.; NOGUEIRA, A. H. C. Artigo técnico febre maculosa brasileira. **Biológico**, v. 67, n. 1 e 2, p. 23-29, 2005.
- BARLETT, P. C.; JUDGE, L. J. The role of epidemiology in public health. **Office International des Epizooties Scientific and Technical Review**, v. 16, n. 2, p. 331-336, 1997.
- BARROS-BATTESTI, D. M.; LANDULFO, G. A.; LUZ, H. R.; MARCILI, A.; ONOFRIO, V. C.; FAMADAS, K. M. *Ornithodoros faccinii* n. sp. (Acari: Ixodida: Argasidae) parasitizing the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) in Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 8, p. 1-11, 2015.
- BARROS-SILVA, P.; PEREIRA, S. V. C.; FONSECA, L.; MANIGLIA, F. V. P.; OLIVEIRA, S. V.; CALDAS, E. P. Febre maculosa: uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. **Scientia Plena**, v. 10, p. 1-9, 2014.
- 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. Serological survey of *Rickettsia* sp. in horses and dogs in a non-endemic area in Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, p. 205-209, 2010.

BERNABEU-WITTEL, M.; SEGURA-PORTA, F. Rickettsioses. **Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.**, v. 23, n. 3, p. 163-72, 2005.

BICHO, C. L.; RIBEIRO, P. B. Chave Pictórica para as principais espécies de Siphonaptera de importância médica e veterinária, no Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 7, n. 1, p. 47-51, 1998.

BITENCOURTH, K. G.; AMORIM, M.; OLIVEIRA, S. V.; CAETANO, R. L.; VOLOCH, C. M.; GAZÊTA, G. S. *Amblyomma sculptum*: genetic diversity and rickettsias in the Brazilian Cerrado biome. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 31, p. 427-437, 2017.

BITENCOURTH, K.; AMORIM, M.; OLIVEIRA, S. V.; VOLOCH, C. M.; GAZÊTA, G. S. Genetic diversity, population structure and rickettsias in *Amblyomma ovale* in areas of epidemiological interest for spotted fever in Brazil. **Medical and veterinary entomology**, v. 33, n. 2, p. 256-268, jun. 2019.

BORSOI, A. B. P.; BITENCOURTH, K.; OLIVEIRA, S. V.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G. S. Human Parasitism by *Amblyomma parkeri* Ticks Infected with *Candidatus Rickettsia paranaensis*, Brazil. **Emerging infectious diseases**, v. 25, n. 12, 2339-2341, 2019.

BURGDORFER, W.; HAYES, S.; THOMAS, L. J. R.; LANCASTER, J. L. A new spotted fever group *Rickettsia* from the lone star tick, *Amblyomma americanum*. In: BURGDORFER, W.; ANACKER, R. L. (Orgs.). *Rickettsiae and Rickettsial Diseases*. New York: Academic Press, 1981, p. 595-602.

CASTRO, M. C. M.; RAFAEL, J. A. Ectoparasitos de cães e gatos da cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. **Acta Amazon**, v. 36, 535-538, 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Diagnosis and Management of Tickborne Rickettsial Diseases: Rocky Mountain spotted fever, Ehrlichioses, and Anaplasmosis - United States; a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. **Morb. Mort. Week Rep.**, CDC, Atlanta, GA. v. 55, n. 4, p. 36, 2006.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Rocky Mountain Spotted Fever. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases, 2015. Disponível em: <http://www.cdc.gov/rmsf/>. Acesso em: 18 jun. 2020.

CORRÊA, S. H. R.; PASSOS, E. C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M. E.; CUBAS, Z. S. **Biology, medicine and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, 2001, p. 493-499.

COSTA, A. P. *et al.* A survey of ectoparasites infesting urban and rural dogs of Maranhão state, Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 50, n. 3, p. 674-678, 2013.

CUMMING, G. S. Comparing Climate and Vegetation as Limiting Factors for Species Ranges of African Ticks. **Ecology**, v. 83, n. 1, p. 255, jan. 2002. Disponível em: <http://www.jstor.org/stable/2680136?origin=crossref>. Acesso em: 18 jun. 2020.

CUNHA, N. *et al.* First identification of natural infection of *Rickettsia rickettsii* in the *Rhipicephalus sanguineus* tick, in the State of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 105–108, 2009. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2009000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2009000200003&lng=en&nrm=iso&tlng=en). Acesso em: 18 jun. 2020.

DALL'AGNOL, B. S. *et al.* “*Candidatus Rickettsia asemboensis*” in *Rhipicephalus sanguineus* ticks, Brazil. **Acta Trop.**, v. 167, p. 18-20, 2017.

DANTAS-TORRES, F.; MARTINS, T. F.; MUNOZ-LEAL, S.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. Ticks (Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil: Update species checklist and taxonomic keys. **Ticks and Tick-borne Dis.**, v. 10, n. 6, p. 101252, 2019.

DE LA FUENTE, J. *et al.* Tick-Pathogen Interactions and Vector Competence: Identification of Molecular Drivers for Tick-Borne Diseases. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 7, p. 114, abr. 2017. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28439499>. Acesso em: 19 jun. 2020.

DIAS, E.; MARTINS, A.V. Spotted fever in Brazil. **Am. J. Trop. Med.**, v. 19, p. 103-08, 1939.

DIDHAM, R. K.; GHAZOUL, J.; STORK, N. E.; DAVIS, A. J. Insects in fragmented forest: a functional approach. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 11, p. 255-260, 1996.

DOVER, M. J.; TALBOT, L. M. **Paradigmas e princípios ecológicos para agricultura**. Rio de Janeiro: ASPTA, 1992.

DUMLER, J.; STEOHEN, W. D. H. Rickettsiales. In: BRENNER DON, J.; KRIEG NOEL, R. SJT (Orgs.). **Systematic Bacteriology**. 2nd ed. Michigan: Springer; 2005, p. 96-114.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). **Epidemiological situation of rickettsioses in EU/EFTA countries**. Stockholm: ECDC Technical Report, 2013.

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

ESTRADA-PEÑA, A.; GRAY, J. S.; KAHL, O.; LANE, R. S.; NIJHOF, A. M. Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens--methodological principles and caveats. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 3, p. 29, 2013. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3737478&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 19 jun. 2020.

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

FANG, R.; BLANTON, L. S.; WALKER, D. H. Rickettsiae as emerging infectious agents. **Clin. Lab. Med.**, v. 37, p. 382-400, 2017.



FERRIS, G. The sucking lice. **Mem. Pac. Coast Entomol. Soc.**, v. 1, 1-320, 1951.

FORTES, F. S.; SILVEIRA, I.; MORAES-FILHO, J.; LEITE, R. V.; BONACIM, J. E.; BIONDO, A. W.; LABRUNA, M. B.; MOLENTO, M. B. Seroprevalence of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia felis* in dogs, São José dos Pinhais, State of Paraná, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, p. 222-27, 2010.

FORTES, F. S.; SANTOS, L. C.; CUBAS, Z. S.; BARROS-FILHO, I. R.; BIONDO, A. W.; SILVEIRA, I.; LABRUNA, M. B.; MOLENTO, M. B. Anti-Rickettsia spp. Antibodies in Free-Ranging and Captive Capybaras from Southern Brazil. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 31, n. 11, p. 1014-18, 2011.

FREITAS, M. C.; GRYCAJUK, M.; MOLENTO, M. B.; BONACIN, J.; LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; PACHECO, R. C.; MORAES-FILHO, J.; DECONTO, I.; BIONDO, A. W. Brazilian spotted fever in cart horses in a non-endemic area in Southern Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, p. 130-131, 2010.

FURMAN, D. P. Laelapid mites (Laelapidae: Laelapinae) of Venezuela. **Brigham Young Univ. Sci. Bull. Biol. Ser.**, v. 27, n. 3, p. 1-58, 1972.

GALVÃO, M. A. M. **Febre maculosa em Minas Gerais: um estudo sobre a distribuição da doença no Estado e seu comportamento em área de foco peri-urbano.** 1996. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

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

GALVÃO, M. A. M.; CARDOSO, L. D.; MAFRA, C. L.; CALIC, S. B.; WALKER, D. H. Revisiting Brazilian spotted fever focus of Caratinga, Minas Gerais State, Brazil. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1078, p. 255-256, 2006.

GEHRKE, F. S.; GAZETA, G. S.; SOUZA, E. R.; RIBEIRO, A.; MARRELLI, M. T.; SCHUMAKER, T. T. S. *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. Dis.**, v. 15, n. 2, p. 267-68, 2009.

GEHRKE, F.S. **Detecção e caracterização molecular de riquetsias em humanos, potenciais vetores e animais domésticos da Região Sudeste do Brasil.** 2010. Tese (Doutorado em Ciências) Instituto de Ciência Biomédica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

GILLESPIE, J. J. *et al.* Rickettsia phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. **PLoS One**, v. 3, n. 4, p. 1-34, 2008.

GOODMAN, J. L.; DENIS, D. T.; SONENSHINE, D. E. **Tick-borne diseases of humans.** Washington, DC: ASM Press, 2005.

GOUY, M.; GUINDON, S.; GASCUEL, O. SeaView version 4: a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. **Molecular biology and evolution**, v. 27, n. 2, p. 221-224, 2010.

GRAVES, S.; STENOS, J. *Rickettsia honei* - A spotted fever group rickettsia on three continents. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 990, p. 62-66, 2003.

GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M. C. A.; PACHECO, R. C.; WALKER, D. H.; LABRUNA, M. B. 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**, v. 100, p. 841-845, 2005.

GUINDON, S.; DUFAYARD, J. F.; LEFORT, V.; ANISIMOVA, M.; HORDIJK, W.; GASCUEL, O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. **Syst Biol.**, v. 59, p. 307-321, 2010.

HACKSTADT, T.; MESSER, R.; CIEPLAK, W.; PEACOCK, M. G. Evidence for proteolytic cleavage of the 120 kilodalton outer membrane protein of Rickettsiae: Identification of an avirulent mutant deficient in processing. **Infect. Immunity**, v. 60, n. 1, p. 159-165, 1992.

HOOGSTRAAL, H. Ticks in Relation To Human Diseases. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 12, p. 377-420, 1967.

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. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 102, p. 793-801, 2007.

HORTA, M. C. *et al.* Experimental Infection of Opossums *Didelphis aurita* by *Rickettsia rickettsii* and Evaluation of the Transmission of the Infection to Ticks *Amblyomma cajennense*. **Vector-Borne Zoonotic Dis.**, v. 9, n. 1, p. 109-118, 2009. Disponível em: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/vbz.2008.0114>. Acesso em: 19 jun. 2020.

HORTA, M. C.; SCOTT, F. B.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia felis* infection in cat fleas *Ctenocephalides felis felis*. **Braz. J. Microbiol.**, v. 41, n. 3, p. 813-18, 2010.

HORTA, M. C.; OGRZEWALSKA, M.; AZEVEDO, M. C.; COSTA, F. B.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia felis* in *Ctenocephalides felis* from five geographic regions of Brazil. **Am. J. Trop. Med.**, v. 91, p. 96-100, 2014.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Página inicial, 2020. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/>. Acesso em: 19 jun. 2020.

JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 3-14. Suppl. S3-14, 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15938502>. Acesso em: 19 jun. 2020.

KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. **A Manual of Acarology**. 3rd ed. Lubbock, TX: Texas Tech University Press, 2009. 807p.

KRAWCZAK, F. S.; MARTINS, T. F.; OLIVEIRA, C. S.; BINDER, L. C.; COSTA, F. B.; NUNES, P. H.; GREGORI, F.; LABRUNA, M. B. *Amblyomma yucumense* n. sp. (Acari: Ixodidae), a Parasite of Wild Mammals in Southern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 52, p. 28-37, 2015.

KRAWCZAK, F. S.; MUÑOZ-LEAL, S.; GUZTZAZKY, A. C.; OLIVEIRA, S. V.; SANTOS, F. C. P.; ANGERAMI, R. N.; MORAES-FILHO, J.; DE SOUZA, J. C.; LABRUNA, M. B. Case report: *Rickettsia* sp. strain Atlantic Rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 95, p. 551-553, 2016.

LABRUNA, M. B.; KERBER, C. E.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L.; DE WAAL, D. T.; GENNARI, S. M. Risk factors to tick infestations and their occurrence on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.** 9, v. 97, n. 1, p. 1-14, 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11337122>. Acesso em: 19 jun. 2020.

LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; RICHTZENHAIN, L. J.; SZABÓ, M. P. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* ticks in the state of São Paulo, Brazil. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, n. 3, p. 869-873, 2007.

LABRUNA, M. B. Epidemiologia da febre maculosa no Brasil e nas Américas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE ACAROLOGIA, 2006, Viçosa. **Anais [...]** Viçosa: 2006. p. 63-72.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 1, p. 90-98, 2004a.

LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; BOUYER, D. H.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; WALKER D. H. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 41, n. 3, p. 533-537, 2004b.

LABRUNA, M. B. Ecology of rickettsia in South America. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1166, p. 156-166, 2009.

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

LABRUNA, M. B. *et al.* Experimental infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 17, n. 5, p. 829-834, 2011b.

LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; MARCILI, A.; BARBIERI, A. R.; NUNES, P. H.; HORTA, M. C.; VENZAL, J. M. A new argasid tick species (Acari: Argasidae) associated with the Rock Cavy, *Kerodon Rupestris* Wied-Neuwied (Rodentia: Caviidae), in a semiarid region of Brazil. **Parasites and Vectors**, v. 9, p. 1-15, 2016.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; FREIRE, N. M. S. Infestation by ticks and detection of antibodies to spotted fever group Rickettsiae in

wild animals captured in the State of São Paulo, Brazil. A preliminary report. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 6, p. 701–702, 1996.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; PIRES, F. D. A.; MACHADO, S. L.; COSTA, L. M. C.; COURA, J. R. *Rickettsiae*-infected ticks in an endemic área of spotted fever in state of Minas Gerais, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 4, p. 477-481, 1997a.

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; SERRA-FREIRE, N. M.; AMORIM, M.; GAZETA, G. S. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: seasonal activity, of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 30, n. 3, p. 181-85, 1997b.

LEMOS, E. R. *et al.* Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of Sao Paulo. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 65, p. 329–334, 2001. doi:10.4269/ajtmh.2001.65.329

LEMOS, E.; ROZENTAL, T.; VILLELA, C.L. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro [Febre maculosa brasileira: descrição de um caso fatal no Estado do Rio de Janeiro]. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, p. 523-525, 2002. doi:10.1590/S0037-86822002000500017

LEMOS, E. R. S. **Aspectos epidemiológicos da riquetsiose do grupo da febre maculosa em uma área endêmica do estado de Minas Gerais, Brasil**. 1991. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1991.

LINARDI, P. M.; GUIMARÃES, L. R. **Siphonapteros do Brasil**. São Paulo: EDUSP, 2000, 438p.

LOUZADA, J. N. C.; SOUZA, O. F. F.; BERG, E. V. **Ecologia e manejo de fragmentos florestais**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001, 42p.

LOVING, S. M.; SMITH, A. B.; DISALVO, A. F.; BURGDORFER, W. Distribution and prevalence of spotted fever group *Rickettsiae* in ticks from South Carolina, with epidemiological survey of persons bitten by infected ticks. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 27, n. 6, p. 1255-1260, 1978.

LUZ, H. R.; MORGANA, H.; MARTINS, T. F.; PICHORIM, M.; LABRUNA, M. B.; FACCINI, J. L. H. Additional information on ticks (Ixodidae) infesting birds in Atlantic Forest fragments in State of Paraná, South Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 22, n. 11, p. 1813-1821, 2017.

MACALUSO, K. R.; SONENSHINE, D. E.; CERAUL, S. M.; AZAD, A. F. Rickettsial infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second *Rickettsia*. **Journal of medical entomology**, v. 39, n. 6, p. 809-813, 2002.

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

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; CAMARGO, L. M. A.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 62, p. 121-128, 2014.

MARTINS, T. F.; BARBIERI, A. R.; COSTA, F. B.; TERASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M.; PETERKA, C. R.; PACHECO, R. C.; DIAS, R. A.; NUNES, P. H.; MARCILI, A.; SCOFIELD, A.; CAMPOS, A. K.; HORTA, M.C.; GUILLOUX, A. G. A.; BENATTI, H. R.; RAMIREZ, D. G.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (*sensu lato*) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (*sensu stricto*). **Parasites and Vectors**, v. 9, p. 1-14, 2016.

MCDADE, J. E.; NEWHOUSE, V. F. Natural history of *Rickettsia rickettsii*. **Ann. Rev. Microbiol.**, v. 40, p. 287–309, 1986.

MEDEIROS, A. P. *et al.* Spotted fever group Rickettsia infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 106, p. 926-930, 2011.

MICHEL, T.; SOUZA, U.; DALL'AGNOL, B.; WEBSTER, A.; PETERS, F.; CHRISTOFF, A.; LUZA, A. L.; KASPER, N.; BECKER, M.; FIORENTIN, G.; KLAFKE, G.; VENZAL, J.; MARTINS, J. R.; JARDIM, M. M. M.; OTT, R.; RECK, J. *Ixodes* spp. (Acari: Ixodidae) ticks in Rio Grande do Sul state, Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 22, p. 2057-2067, 2017.

MILAGRES, B. S. *et al.* Rickettsia in synanthropic and domestic animals and their hosts from two areas of low endemicity for Brazilian spotted fever in the eastern region of Minas Gerais, Brazil. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 83, n. 6, p. 1305–1307, 2010. Disponível em: <http://www.ajtmh.org/content/83/6/1305>. Acesso em: 20 jun. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan. 2019a. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/14/Casos-de-Febre-Maculosa.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan. 2019b. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/14/Obitos-por-febre-maculosa.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. 3 ed., vol. único. Febre maculosa brasileira e outras riquetsioses. Brasília: Ministério da Saúde; 2019c, p. 445-55. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/25/guia-vigilancia-saude-volume-unico-3ed.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema de Informação de Agravos de Notificação. 2020. Disponível em: <https://portalsinan.saude.gov.br/febre-maculosa>. Acesso em: 23 jan. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria n. 1.943** – Doenças de Notificação Compulsória. 2001. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/iesus/v10n1/v10n1a07.pdf>. Acesso em: 20 jun. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria n. 1.271** – Doenças de Notificação Compulsória e Imediata. 2014. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt1271\\_06\\_06\\_2014.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2014/prt1271_06_06_2014.html). Acesso em: 20 jun. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Resolução 466/12** do Conselho Nacional de Saúde. Dispõe sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo seres humanos. 2012. Disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466\\_12\\_12\\_2012.html](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/cns/2013/res0466_12_12_2012.html). Acesso em: 20 jun. 2020.

MOERBECK, L.; VIZZONI, V. F.; MACHADO-FERREIRA, E.; CAVALCANTE, R. C.; OLIVEIRA, S. V.; SOARES, C. A. G.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G. S. *Rickettsia* (*Rickettsiales: Rickettsiaceae*) vector biodiversity in high altitude Atlantic Forest fragments within a semiarid climate: a new endemic area of spotted-fever in Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 53, p. 1458-1466, 2016. <https://doi.org/10.1093/jme/tjw121>.

MOLITERNO, F. M. **Febre maculosa brasileira**: aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais dos casos ocorridos no Estado do Rio de Janeiro no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2008. Rio de Janeiro. 2009. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

MONTEIRO, L. K. J.; ROZENTAL, T.; LEMOS, S. E. R. Diagnóstico diferencial entre a Febre Maculosa Brasileira e o Dengue no contexto das doenças febris agudas. **Rev. Patol. Trop.**, v. 43, p. 241-250, 2014.

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

MORAES-FILHO, J. *et al.* New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the State of Sao Paulo, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Dis.**, v. 9, n. 73-78, 2009.

MOREIRA, J. A.; MAGALHÃES, O. Typho exanthematico em Minas Gerais. **Brasil Médico**, v. 51, n. 21, p. 20-21, 1937.

MOURA-MARTINIANO, N. O.; MACHADO-FERREIRA, E.; CARDOSO, K. M.; GEHRKE, F. S.; AMORIM, M.; FOGACA, A. C.; SOARES, C. A. G.; GAZÊTA, G. S.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* and Vector Biodiversity of Spotted Fever Focus, Atlantic Rain Forest Biome, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 20, p. 498-500, 2014.

MUÑOZ-LEAL, S.; TOLEDO, L. F.; VENZAL, J. M.; MARCILI, A.; MARTINS, T. F.; ACOSTA, I. C. L.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: *Ornithodoros*) associated with stream-breeding frogs (Anura:

Cycloramphidae: *Cycloramphus*) in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 8, p. 682-692, 2017.

MUÑOZ-LEAL, S.; FACCINI-MARTINEZ, A. A.; COSTA, F. B.; MARCILI, A.; MESQUITA, E. K. C.; MARQUES, E. P.; LABRUNA, M. B. Isolation and molecular characterization of a relapsing fever *Borrelia* recovered from *Ornithodoros rudis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 9, p. 864-871, 2018.

MURCIA, C. Edge effects in fragmented forest: implications for conservation. **Trend in Ecology and Evolution**, v. 10, p. 58-62, 1995.

NASSER, J. T.; LANA, R. C.; SILVA, C. M. D. S.; LOURENÇO, R. W.; SILVA, D. C. D. C. E.; DONALÍSIO, M. R. Urbanization of Brazilian spotted fever in a municipality of the southeastern region: epidemiology and spatial distribution. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v. 18, p. 299–312, 2015. doi: 10.1590/1980-5497201500020002

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

NUNES, E. C. *et al.* *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 8, p. 1058-1061, 2015.

OGRZEWALSKA, M. Relação da ocorrência da febre maculosa em região de Mata Atlântica com a degradação ambiental. *In*: CHAME, M.; LABARTHE, N. (Org.). **Saúde silvestre e humana: experiências e perspectivas**. Rio de Janeiro, FIOCRUZ, 2013, 108 p.

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

OLIVEIRA, P. R. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae): avaliação de técnicas para o estudo de dinâmica populacional e biotecnologia. 1998. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Pós-graduação em Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M. F.; LOPES, C. M. L.; LEITE, R. C. Population dynamics of free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 92, n. 4, p. 295-301, 2000.

OLIVEIRA, S. V.; PEREIRA, S. V. C.; SILVA, P. M. R.; PEREIRA, J. M.; GOMES, V.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N. M.; GAZÊTA, G. S.; CALDAS, E. P. Vigilância de ambientes da febre maculosa brasileira e outras riquetsioses: a etapa inicial de uma proposta para a formação de rede. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 6, n. 1, p. 67-71, 2015. doi: 10.5123/S2176-62232015000300009.

OLIVEIRA, S. V.; GUIMARÃES, J. N.; RECKZIEGEL, G. C.; NEVES DA, B. M. C.; ARAÚJO-VILGES, K. M.; FONSECA, L. X.; PINNA, F. V.; PEREIRA, S. V. C.; DE CALDAS, E. P.; GAZETA, G. S.; GURGEL-GONÇALVES, R. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.**, v. 22, n. 22, 2016a. <http://dx.doi.org/10.1186/s40409-016-0077-4>.

OLIVEIRA, S. V. *et al.* A fatal case of Brazilian spotted fever in a non-endemic area in Brazil: the importance of having health professionals who understand the disease and its areas of transmission. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, p. 653–655, 2016b.

OLIVEIRA, S.V.D., PEREIRA, S.V.C., PINNA, F.V., FONSECA, L.X., FREIRE, N.M.D.S., CARDOSO K.M., BORSOI, A. B. P.; AMORIM, M.; CALDAS, E. P.; GAZETA, G. S. Vigilância de ambientes da febre maculosa: explorando as áreas silenciosas do Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**. v. 7, n. 3, p. 65-72, 2016c.

OLIVEIRA, S. V.; WILLEMANN, M. C. A.; GAZÊTA, G. S.; ANGERAMI, R. N.; GURGEL-GONÇALVES, R. Predictive Factors for Fatal Tick-Borne Spotted Fever in Brazil. **Zoonoses Public Health**, v. 64, p. 44-50, 2017.

OLIVEIRA, S. V.; COSTA, R. F.; FERREIRA, G.; PEREIRA, S. V. C.; AMORIM, M.; MONTEIRO, M. F. M.; ALVES, L. C.; GAZÊTA, G. S. Fatal case of spotted fever in a patient from Northeastern Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, e21, 2018.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Organização Mundial da Saúde. Consulta de especialistas OPAS/OMS sobre rickettsioses nas Américas. **Relatório Final**. Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil, 18-25 de dezembro de 2015. Disponível em: <http://bvs.panaftosa.org.br/textoc/Reuniao-rickett-port-rev.pdf>. Acesso em: 25 dez. 2019.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. **Conservation Biology**, v. 14, p. 722-728, 2000.

OTOMURA, F. H.; SANGIONI, L. A.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; GALHARDO, J. A.; RIBEIRO, M. G.; TEODORO, U. Anticorpos anti-rickettsias do grupo da febre maculosa em equídeos e caninos no norte do Paraná, Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 62, p. 761-764, 2010.

OTOMURA, F. H.; TRUPPEL, J. H.; MORAES FILHO, J.; LABRUNA, M. B.; ROSSONI, D. F.; MASSAFERA, R.; TEODORO, U. Probability of occurrence of the Brazilian spotted fever in northeast of Paraná state, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 25, n. 4, p. 394-400, 2016.

PACHECO, R. C.; ARZUA, M.; NIERI-BASTOS, F. A.; MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A.; RICHTZENHAIN, L. J.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) collected on birds in southern Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 49, p. 710-716, 2012.



- PADDOCK, C. D.; BRENNER, O.; VAID, C.; BOYD, D. B.; BERG, J. M.; JOSEPH, R. J.; ZAKI, S. R.; CHILDS, J. E. Short report: concurrent Rocky Mountain spotted fever in a dog and its owner. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 66, n. 2, p. 197-99, 2002.
- PADDOCK, C. D. *et al.* *Rickettsia parkeri*: a newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clin. Infect. Dis.**, v. 38, p. 805-811, 2004.
- PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Vet. Res.**, v. 36, p. 469-492, 2005.
- PAROLA, P.; LABRUNA, M. B.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses in America: Unanswered questions and emerging diseases. **Curr. Infect. Dis. Rep.**, v. 11, n. 1, p. 40-50, 2009.
- PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; SOCOLOVSKI, C.; LABRUNA, M. B.; MEDIANNIKOV, O.; KERNIF, T.; ABDAD, M. Y.; STENOS, J.; BITAM, I.; FOURNIER, P. E.; RAOULT, D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: A geographic approach. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 26, p. 657-702, 2013.
- PEREIRA, M.; LABRUNA, M. B. Febre Maculosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Rev. Clín. Vet.**, São Paulo, v. 12, p. 19-23, 1998.
- PEREZ, C. A.; ALMEIDA, A. F.; ALMEIDA, A.; CARVALHO, V. H. B.; BALESTRIN, D. C.; GUIMARÃES, M. S.; COSTA, J. C.; RAMOS, L. A.; ARRUDA-SANTOS, A. D.; MÁXIMO-ESPÍNDOLA, C. P.; BARROS-BATTESTI, E. D. Carrapatos do gênero *Amblyomma* spp. e suas relações com os hospedeiros em área endêmica para Febre Maculosa de São Paulo. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, n. 17, p. 210-217, 2008.
- PEREZ-OSORIO, C. E.; ZAVALA-VELAZQUEZ, J. E.; ARIASLEON, J. J.; ZAVALA-CASTRO, J.E. *Rickettsia felis* as emergent global threat for humans. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 14, n. 7, p. 1019-1022, 2008.
- PINTER, A.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B. Study of the Seasonal Dynamics, Life Cycle, and Host Specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). **J. Med. Entomol.**, v. 41, n. 3, p. 324-332, 2004. Disponível em: <https://academic.oup.com/jme/article-lookup/doi/10.1603/0022-2585-41.3.324>. Acesso em: 20 jun. 2020.
- PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia belli* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 1078, p. 523-529, 2006.
- PINTER, A. *et al.* Febre maculosa brasileira. **BEPA, Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 8, n. 1, p. 3-31, 2011. Suplemento.
- PINTER, A.; COSTA, C. S.; HOLCMAN, M. M.; CAMARAAND, M.; LEITE, M. M. A Febre Maculosa Brasileira na Região Metropolitana de São Paulo. **BEPA, Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 13, p. 1-45, 2016.
- PIZA, J. *et al.* O typho exanthematico em S. Paulo. **Rev. Biol. e Hyg.**, v. 2, p. 206, 1931.

PRICE, R.; HELLENTHAL, R.; PALMA, R.; JOHNSON, K.; CLAYTON, D. **The Chewing Lice: World Checklist and Biological Overview**. 1st Ed. Champaign, IL: Illinois Natural History Survey Special Publication, 2004.

QUEIROGAS, V. L. **Capivaras (Rodentia) e carrapatos (Acari: Ixodidae): alterações ecológicas e a interação do hospedeiro e parasita em áreas urbanas**. 2010. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) – Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

RAOULT, D.; BROUQUI, P.; ROUX, V. A new spotted-fever-group rickettsiosis. **The Lancet**, v. 348, n. 9024, p. 412, 1996.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 10, n. 4, p. 694-719, 1997.

RAOULT, D. *et al.* A flea-associated Rickettsia pathogenic for humans. **J. Emerg. Infect. Dis.**, v. 7, p. 73-81, 2001.

REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. Genotypic identification of *Rickettsiae* and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **J. Bacteriol.**, v. 173, p. 1576-1589, 1991.

ROUX, V.; RYDKINA, E.; EREMEEVA, M.; RAOULT, D. Citrate Synthase Gene Comparison, a New Tool for Phylogenetic analysis, and its application for the Rickettsiae. **Intern. J. Syst. Bacteriol.**, v. 47, n. 2, p. 252-261, 1997.

ROUX, V.; RAOULT, D. Phylogenetic analysis of members of the genus Rickettsia using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (OmpB). **Internat. J. Syst. Evol. Microbiol.**, v. 50, p. 1449-1455, 2000.

ROZENTAL, T. **Circulação de Rickettsia do grupo da febre maculosa no município de Barra do Piraí, Rio de Janeiro**. 2003. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2003.

ROZENTAL, T. *et al.* A cluster of *Rickettsia rickettsii* infection at an animal shelter in an urban area of Brazil. **Epidemiol Infect.**, v. 143, n. 11, p. 1-5, 2014.

ROZENTAL, T. *et al.* A cluster of *Rickettsia rickettsii* infection at an animal shelter in an urban area of Brazil. **Epidemiol. Infect.**, v. 143, n. 11, p. 2446-2450, 2015.

RUDAKOV, N. V.; SHPYNOV, S. N.; SAMOILENKO, I. E.; TANKIBAE, M. A. Ecology and epidemiology of spotted fever group rickettsia and new data from their study in Russia and Kazakhstan. **Ann. NY Acad. Sci.**, v. 990, p. 12-24, 2003.

SABATINI, G. S.; PINTER, A.; NIERI-BASTOS, F. A.; MARCILI, A.; LABRUNA, M. B. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic Rainforest reserve in the state of São Paulo, Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 47, p. 913-916, 2010.

SAKAI, R. K.; COSTA, F. B.; UENO, T. E.; RAMIREZ, D. G.; SOARES, J. F.; FONSECA, A. H.; BARROS-BATTESTI, D. M. Experimental infection with *Rickettsia rickettsii* in an *Amblyomma dubitatum* tick colony, naturally infected by *Rickettsia bellii*. **Ticks and tick-borne diseases**, v. 5, n. 6, p. 917-923, 2014.

SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. W. **Molecular cloning**: a laboratory manual. (3rd ed.) New York: Cold Spring Harbor Lab. Press, 2001.

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 11, n. 2, p. 265-70, 2005.

SANTOS, F. C. P. *et al.* Brazilian spotted fever: Real-time PCR for diagnosis of fatal cases. **Ticks Tick Borne Dis.**, v. 3, p. 311-313, 2012.

SATO, T. P.; MOURA-MARTINIANO, N. O.; VIZZONI, V. F.; SILVA, A. B.; OLIVEIRA, S. V.; AMORIM, M.; GAZÊTA, G. S. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Rickettsiae infection in Brazil. **International Journal of Acarology**, v. 46, n. 2, p. 88-93, 2020. DOI: 10.1080/01647954.2020.1720289

SCHOLL, D. C.; EMBERS, M. E.; CASKEY, J. R.; KAUSHAL, D.; MATHER, T. N.; BUCK, W. R.; MORICI, L. A.; PHILIPP, M. T. Immunomodulatory effects of tick saliva on dermal cells exposed to *Borrelia burgdorferi*, the agent of Lyme disease. **Parasites and Vectors**, v. 9, p. 1-17, 2016.

SCHMIDT, K. A.; OSTFELD, R. S. Biodiversity and the dilution effect in disease ecology. **Ecology**, v. 83, p. 609-619, 2001.

SCHWAN, T.G. Ticks and *Borrelia*: model systems for investigating pathogen-arthropod interactions. **Infect. Agents Dis.**, v. 5, n. 3, p. 167-181, 1996.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO PARANÁ. **Nota Técnica nº 001/2019**. Governo do Estado do Paraná. Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores. Coordenadoria de Vigilância Ambiental. Diretoria de Atenção e Vigilância em Saúde. Secretaria de Estado da Saúde do Paraná: relatório de situação: Paraná. 2019. Disponível em: [http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/NT\\_001\\_FebreMaculosa.pdf](http://www.saude.pr.gov.br/arquivos/File/NT_001_FebreMaculosa.pdf). Acesso em: 20 jun. 2020.

SEKEYOVA, Z.; ROUX, V.; RAOULT, D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of gene D', which encodes an intracytoplasmic protein. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 51, n. 4, p. 1353-1360, 2001.

SEYFERTH, G. Imigração, colonização e identidade étnica (notas sobre a emergência da etnicidade em grupos de origem europeia no Sul do Brasil). **Revista de Antropologia**, v. 29, 1986.

SILVA, M. E.; RIBEIRO, R. R.; COSTA, J. O.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B. Prevalência de anticorpos anti-Rickettsia spp. em cães da cidade de Belo

Horizonte, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 4, p. 1007-1010, 2010.

SILVA, A. B.; VIZZONI, V. F.; COSTA, A. P.; COSTA, F. B.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B.; NOGUEIRA, R. D. M. S. First report of a *Rickettsia asebonensis* related infecting fleas in Brazil. **Acta tropica**, v. 172, p. 44-49, 2017.

SILVEIRA, I.; MARTINS, T. F.; OLEGÁRIO, M. M.; PETERKA, C.; GUEDES, E.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Rickettsial Infection in Animals, Humans and Ticks in Paulicéia, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v. 62, p. 525-533, 2015.

SOUZA, C. E.; SOUZA, S. S. L.; LIMA, V. L. C.; CALIC, S. B.; CAMARGO, M. C. G. O.; SAVANI, E. S. M. M.; D'AURIA, S. R. N.; LINHARES, A. X.; YOSHINARI, N. H. Serological identification of *Rickettsia* spp. from the Spotted Fever group in capybaras in the region of Campinas - SP - Brazil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 6, p. 1694-1699, 2008.

SOUZA, C. E. *et al.* Experimental infection of capybaras *Hydrochoerus hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. **Vet. Parasitol.**, v. 161, n. 1-2, p. 116-21, 2009. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19147293>. Acesso em: 20 jun. 2020.

SOUZA, C. E.; PINTER, A.; DONALISIO, M. R. Risk factors associated with the transmission of Brazilian spotted fever in the Piracicaba river basin, State of São Paulo, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 48, p. 11-17, 2015. doi: 10.1590/0037-8682-0281-2014

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

STOTHARD, D. R.; CLARK, J. B.; FUERST, P. A. Ancestral divergence of *Rickettsia bellii* from the spotted fever and typhus groups of *Rickettsia* and antiquity of the genus *Rickettsia*. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v. 44, n. 4, p. 798-804, 1994.

SUMILO, D.; ASOKLIENE, L.; BORMANE, A.; VASILENKO, V.; GOLOVLJOVA, I.; RANDOLPH, S. E. Climate Change Cannot Explain the Upsurge of Tick-Borne Encephalitis in the Baltics. **PLOS ONE**, v. 2, n. 6, 2007.

SUPERINTENDÊNCIA DE CONTROLE DE ENDEMIAS. Febre Maculosa: informações para profissionais da saúde Secretaria de Estado da saúde, Governo do Estado de São Paulo. Disponível em: <http://www.sucen.sp.gov.br>. Acesso em: 20 jun. 2020.

SZABÓ, M. P.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Ecology, biology and distribution of spotted-fever tick vectors in Brazil. **Front. Cell. Infect. Microbiol.**, v. 3, n. 27, 2013a.

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

TAMEKUNI, K.; TOLEDO, R. S.; SILVA FILHO, M. F.; HAYDU, V. B.; PACHECO, R. C.; CAVICCHIOLI, J. H.; LABRUNA, M. B.; DUMLER, J. S.; VIDOTTO, O. Serosurvey of antibodies against spotted fever group *Rickettsia* spp. in horse farms in Northern Paraná, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, p. 1-3, 2010.

TAMEKUNI, K.; TOLEDO, R.S.; SILVA FILHO, M.F.; HAYDU, V.B.; PACHECO, R.C.; LABRUNA, M.B.; DUMLER, J.S.; VIDOTTO, O. Survey of *Rickettsiae* in humans, dogs, horses and ticks in Northern Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1527-38, 2011.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS, D. G.; GIBSON, T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic acids research**, v. 22, n. 22, p. 4673-4680, 1994.

TOLEDO, R. S.; TAMEKUNI, K.; FILHO, M. F.; HAYDU, V. B.; BARBIERI, A. R.; HILTEL, A. C.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; DUMLER, J. S.; VIDOTTO, O. Infection by spotted fever rickettsiae in people, dogs, horses and ticks in Londrina, Parana State, Brazil. **Zoonoses Public Health**, v. 58, p. 416-423, 2011.

UNSWORTH, N. B.; STENOS, J.; FAA, A. G.; GRAVES, S. R. Three Rickettsioses, Darnley Island, Australia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, p. 1105-1107, 2007.

VALENTE, J. D. M.; SILVA, P. W.; ARZUA, M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; MARTINS, T. F.; SILVA, A. M.; VIEIRA, T. S. W. J.; LABRUNA, M. B.; VIEIRA, R. F. C. Records of ticks (Acari: Ixodidae) on humans and distribution of spotted-fever cases and its tick vectors in Paraná State, southern Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 11, n. 6, p. 101510, 2020.

VIANA, V. M.; PINHEIRO, L. A. F. V. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. **Série Técnica IPEF**, v. 12, p. 25-42, 1998.

VIEIRA, A.; DE SOUZA, C.; LABRUNA, M.; MAYO, R.; DE SOUZA, S.; CAMARGO-NEVES, V. **Manual de Vigilância Acarológica**. 1st ed. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo: SUCEN, 2004, p. 1-63. Disponível em: [http://www.saude.sp.gov.br/resources/sucen/homepage/downloads/arquivos-de-febre-maculosa/manual\\_vig\\_acarologica.pdf](http://www.saude.sp.gov.br/resources/sucen/homepage/downloads/arquivos-de-febre-maculosa/manual_vig_acarologica.pdf). Acesso em: 20 jun. 2020.

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

WEBB, L.; MITCHELL, C.; MALLOY, D.C.; DASCH, G.A.; AZAD, A.F. Detection of murine typhus infection in fleas by using the polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol.**, v. 28: 530-534, 1990.

WECK, B.; DALL'AGNOL, B.; SOUZA, U.; WEBSTER, A.; STENZEL, B.; KLAFKE, G.; MARTINS, J. R.; RECK, J. Spotted fever group Rickettsia in the Pampa biome, Brazil, 2015–2016. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 22, p. 2014–2016, 2016.  
<https://doi.org/10.3201/eid2211.160859>.

WECK, B.; DALL'AGNOL, B.; SOUZA, U.; WEBSTER, A.; STENZEL, B.; KLAFKE, G.; RECK, J. Rickettsia parkeri in *Amblyomma dubitatum* ticks in a spotted fever focus from the Brazilian Pampa. **Acta tropica**, v. 171, p. 182–185, 2017.

WOLF, R. W.; ARAGONA, M.; MUÑOZ-LEAL, S.; PINTO, L. B.; MELO, A. L. T.; BRAGA, I. A.; COSTA, J.S.; MARTINS, T. F.; MARCILI, A.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; AGUIAR, D. M. Novel *Babesia* and *Hepatozoon* agents infecting non-volant small mammals in the Brazilian Pantanal, with the first record of the tick *Ornithodoros guaporensis* in Brazil. **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 7, p. 449–456, 2016.

ZERINGÓTA, V. *et al.* Molecular detection of *Rickettsia rhipicephali* and other spotted fever group Rickettsia species in *Amblyomma* ticks infesting wild birds in the state of Minas Gerais, Brazil. **Ticks Tick Borne Dis.**, v. 8, n. 1, p. 81–89, 2017.